(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119790152 A
(43)申请公布日 2025.04.08

(21)申请号 202280090919.7
(22)申请日 2022.12.02
(30)优先权数据
63/285,786 2021.12.03 US
63/350,206 2022.06.08 US
63/398,987 2022.08.18 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.08.02
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/051713 2022.12.02
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/102225 EN 2023.06.08
(71)申请人 奎里斯公司
地址 美国
(72)发明人 S·欣克利 D·布朗 D·艾尔鲍姆 M·E·卡梅尔加恩
(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
专利代理师 黄革生 隋晓平
(51)Int.Cl.
C12N 15/113(2006.01)
A61K 31/7125(2006.01)
A61P 25/16(2006.01)
A61P 25/28(2006.01)

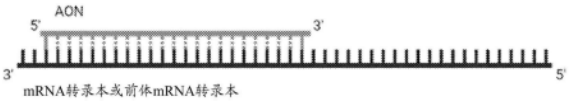
权利要求书20页 说明书224页 附图1页

(54)发明名称

使用UNC13A基因转录本的调节剂治疗神经系统疾病

(57)摘要

本文公开了具有一个或多个间隔区或不含间隔区的UNC13A寡核苷酸。在各种实施方案中，具有间隔区的UNC13A寡核苷酸可减少错误剪接的UNC13A转录本并增加全长UNC13A转录本，从而对抗神经系统疾病如肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)或阿尔茨海默病(AD)产生治疗功效。



CN 119790152 A

1.一种包含修饰的寡核苷酸的化合物,所述修饰的寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键。

2.如权利要求1所述的化合物,其中所述修饰的寡核苷酸包含间隔区。

3.一种包含修饰的寡核苷酸的化合物,所述修饰的寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键,并且其中寡核苷酸包含间隔区。

4.一种寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键。

5.如权利要求4所述的寡核苷酸,其还包含间隔区。

6.一种寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85 98%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键,并且其中寡核苷酸包含间隔区。

7.如权利要求1-3所述的化合物或权利要求5-6所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多11个连接核苷的区段。

8.如权利要求1-3或7所述的化合物或权利要求5-7所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多10、9或8个连接核苷的区段。

9.如权利要求1-3或7-8中任一项所述的化合物或权利要求4-8中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多7个连接核苷的区段。

10.如权利要求1-3或7-9中任一项所述的化合物或权利要求5-9中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段。

11.如权利要求1-3或7-10中任一项所述的化合物或权利要求5-10中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸的每个区段包含至多7个连接核苷。

12.如权利要求7-11中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。

13.如权利要求7-12中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NOs:2529-3792、SEQ ID NOs:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292或中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。

14.如权利要求7-13中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少95%同一性的序列。

15.如权利要求7-13中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有100%同一性的序列。

16.如权利要求7-13中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多11个连接核苷或至多7个连接核苷的区段,以及其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。

17.如权利要求16中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段,以及其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。

18.如权利要求16或17所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段,以及其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。

19.如权利要求1-18中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸长度为至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25个寡核苷酸单元。

20.如权利要求19所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸长度为至少19个寡核苷酸单元。

21.如权利要求1-3和5-20中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区是包含不能连接至核苷酸碱基的非糖取代基的核苷替代基团。

22.如权利要求21所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置10和15之间。

23.如权利要求21所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置7和11之间。

24.如权利要求21或23所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区,其中所述第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置14和22之间。

25.如权利要求24所述的化合物或寡核苷酸,其中间隔区和第二间隔区被至少5个核碱基、至少6个核碱基或至少7个核碱基隔开。

26.如权利要求24或25所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区位于寡核苷酸的位置7和9之间,并且其中所述第二间隔区位于寡核苷酸的位置15和18之间。

27.如权利要求24-26中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区位于寡核苷酸的位置8,并且其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置16。

28.如权利要求24-27中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含第三间隔区,其中所述第三间隔区位于所述寡核苷酸的位置21和24之间。

29.如权利要求21所述的化合物或寡核苷酸,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置2和5之间。

30.如权利要求29所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区,其中所述第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置8和12之间。

31.如权利要求30所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含第三间隔区,其中所述第三间隔区位于所述寡核苷酸的位置18和22之间。

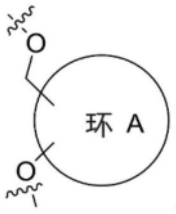
32.如权利要求21所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区和第三间隔区,其中所述三个间隔区位于寡核苷酸中的位置使得寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。

33.如权利要求32所述的化合物或寡核苷酸,其中所述三个间隔区中的至少两个与鸟嘌呤核碱基相邻。

34.如权利要求33所述的化合物或寡核苷酸,其中所述三个间隔区中的至少两个间隔区中的每一个紧邻鸟嘌呤核碱基之前。

35.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区中的每一个是包含非糖取代基的核苷替代基团,其中所述非糖取代基不含有酮、醛、缩酮、半缩酮、缩醛、半缩醛、缩醛胺或半缩醛胺部分并且不能与核苷酸碱基形成共价键。

36.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(X)表示,其中:

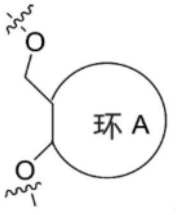


式(X)

环A是任选取代的4-8元单环环烷基或4-8元单环杂环基,其中所述杂环基含有1或2个选自O、S和N的杂原子,条件是A不能与核碱基形成共价键;以及

-⧘-符号表示与核苷间键的连接点。

37.如权利要求36所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Xa)表示,其中:



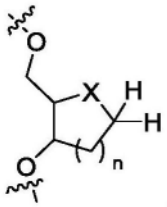
式(Xa)。

38.如权利要求36或37所述的化合物或核苷酸,其中环A为任选取代的4-8元单环环烷基,其选自环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基;或4-8元单环杂环基,其选自氧杂环丁烷基(oxetanyl)、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,4-二氧杂环己烷基(1,4-dioxanyl)、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基和氮杂环庚烷基(azepanyl)。

39.如权利要求38所述的化合物或核苷酸,其中环A是四氢呋喃基。

40.如权利要求38所述的化合物或核苷酸,其中环A是四氢吡喃基。

41.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式I表示,其中:

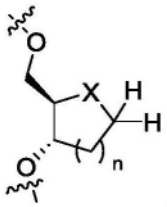


式(I)

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

42.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式I'表示,其中:

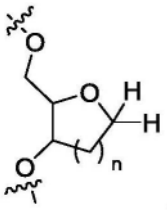


式(I')

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

43.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia)表示,其中:

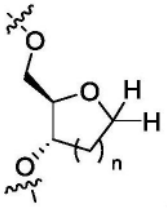


以及

式(Ia);

n为0、1、2或3。

44.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia')表示,其中:

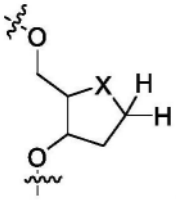


以及

式(Ia');

n为0、1、2或3。

45.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II表示,其中:

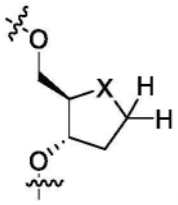


以及

式(II);

X选自-CH_2-和-O-。

46.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II'表示,其中:

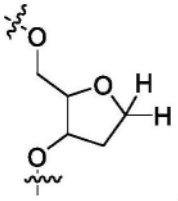


以及

式(II');

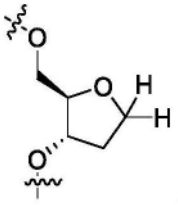
X选自-CH_2-和-O-。

47.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia))表示,其中:



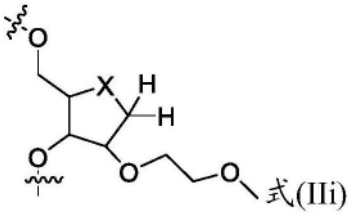
式(Iia)。

48.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia')表示,其中:



式(Iia')。

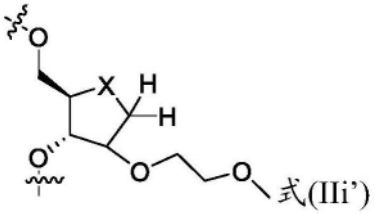
49.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIi)表示,其中:



式(IIi)

X选自-CH_2-和-O-。

50.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIi')表示,其中:

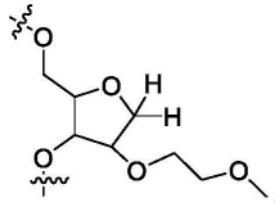


式(IIi')

X选自-CH_2-和-O-。

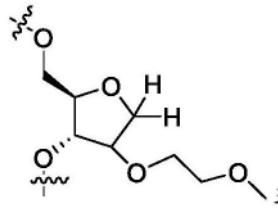
51.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二

间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIib)表示,其中:



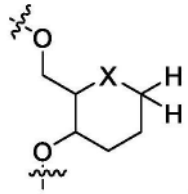
式(IIib)。

52.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIib')表示,其中:



式(IIib')。

53.(原始)如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III表示,其中:

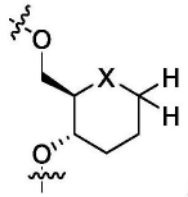


以及

式(III);

X选自-CH_2-和-O-。

54.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III'表示,其中:

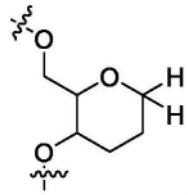


以及

式(III');

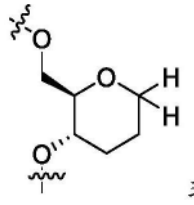
X选自-CH_2-和-O-。

55.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa)表示,其中:



式(IIIa)。

56.如权利要求21-34中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa')表示,其中:



式(IIIa')。

57.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含锁核酸(LNA)。

58.如权利要求57所述的化合物或寡核苷酸,其中所述锁核酸(LNA)位于所述寡核苷酸的位置4、7、9、12、15或20之一。

59.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少10%的GC含量。

60.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少20%的GC含量。

61.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少25%的GC含量。

62.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少30%的GC含量。

63.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少40%的GC含量。

64.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少50%的GC含量。

65.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的长度为12至40个寡核苷酸单元。

66.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键(phosphoramidate linkage)、硫代磷酰胺酯键(phosphoramidothioate linkage)、硫代磷酰二胺酯键(thiophosphorodiamidate linkage)、磷酰二胺酯(phosphorodiamidate)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

67.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的一个或多个核苷键是磷酸二酯键。

68.如权利要求67所述的化合物或寡核苷酸,其中仅一个连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的核苷键为磷酸二酯键。

69.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中连接寡核苷酸的位置3和位置4处的碱基的核苷键均为磷酸二酯键。

70.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

71.如权利要求70所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中只有紧邻间隔区之

前的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。

72.如权利要求71所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键进一步与另一个在前的碱基连接。

73.如权利要求71所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含第二间隔区,其中紧邻所述第二间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与另一个在前的碱基连接。

74.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

75.如权利要求74所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中只有紧邻间隔区之后的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。

76.如权利要求70所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的两个碱基通过磷酸二酯键连接。

77.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

78.如权利要求77所述的化合物或寡核苷酸,其中紧邻间隔区之前的一个碱基和紧邻间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。

79.如权利要求77或78所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包括第二间隔区,并且其中所述寡核苷酸中紧邻第二间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中所述寡核苷酸中紧邻第二间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

80.如权利要求79所述的化合物或寡核苷酸,其中紧邻第二间隔区之前的一个碱基和紧邻第二间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。

81.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,所述一系列碱基包含至少两个碱基。

82.如权利要求1-66中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,所述一系列碱基包含至少五个碱基。

83.如权利要求81或82所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含两个或多个间隔区,并且其中所述一系列碱基位于所述至少两个间隔区之间。

84.一种包含寡核苷酸的化合物,所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的核碱基序列。

85.一种寡核苷酸,其包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO;5066-5166或SEQ ID NO:5168-5202中任一项的等长部分具有至少90%同一性的核碱基序列。

86.如权利要求84所述的化合物或权利要求84或85所述的寡核苷酸,其中核碱基序列与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少95%的同一性。

87.如权利要求84所述的化合物或权利要求84或85所述的寡核苷酸,其中核碱基序列与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-

5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少100％的同一性。

88.如权利要求67-87中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸是19mer、21mer、23mer或25mer中的任一项。

89.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的一个或多个核苷间键是修饰的核苷间键。

90.如权利要求89所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的修饰的核苷间键是硫代磷酸酯键。

91.如权利要求89或90所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的所有核苷间键均为硫代磷酸酯键。

92.如权利要求90所述的化合物或寡核苷酸,其中硫代磷酸酯键是Rp构型或Sp构型之一。

93.如前述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含至少一个修饰的糖部分。

94.如权利要求93所述的化合物或寡核苷酸,其中所述修饰的糖部分是以下之一:2'-OMe修饰的糖部分、双环糖部分、2'-O-(2-甲氧基乙基)(2'-MOE)、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯核苷、锁核酸(LNA)、限制性乙基2'-4'-桥接核酸(cEt)、S-cEt、tcDNA、己糖醇核酸(HNA)和三环类似物(例如tcDNA)。

95.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％的增加。

96.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少100％的增加。

97.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少200％的增加。

98.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少300％的增加。

99.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少400％的增加。

100.如权利要求95-99中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中与使用TDP43反义寡核苷酸实现的全长UNC13A蛋白的降低水平相比,测量出全长UNC13A蛋白的增加。

101.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或100％的挽救。

102.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出错误剪接的UNC13A转录本的至少50％、60％、70％、80％或90％的减少。

103.一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,该方法包括向所述患者施用权利要求1-102中任一项所述的化合物或寡核苷酸。

104.如权利要求103所述的方法,其中所述神经系统疾病选自:肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、神经损伤(例如臂丛神经

损伤)、神经病变(例如化疗诱发的神经病变)、TDP43蛋白病(例如慢性创伤性脑病、Perry综合征、与阿尔茨海默病相关的路易体痴呆、伴有或不伴有痴呆的帕金森病、边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、癫痫、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症。

105.如权利要求104所述的方法,其中所述神经系统疾病是ALS。

106.如权利要求104所述的方法,其中所述神经系统疾病是FTD。

107.如权利要求104所述的方法,其中所述神经系统疾病是伴有FTD的ALS。

108.如权利要求104所述的方法,其中所述神经系统疾病是AD。

109.如权利要求104所述的方法,其中所述神经系统疾病是PD。

110.如权利要求103所述的方法,其中所述神经病变是化疗诱发的神经病变。

111.一种恢复神经元轴突生长和/或再生的方法,该方法包括将所述神经元暴露于权利要求1-102中任一项所述的化合物或寡核苷酸。

112.一种增加、促进、稳定或维持神经元中UNC13A表达和/或功能的方法,该方法包括将所述细胞暴露于权利要求1-102中任一项所述的化合物或寡核苷酸。

113.如权利要求111或112所述的方法,其中所述神经元是运动神经元。

114.如权利要求111或112所述的方法,其中所述神经元是脊髓神经元。

115.如权利要求111-114中任一项所述的方法,其中所述神经元是需要治疗神经系统疾病和/或神经病变的患者的神经元。

116.如权利要求115所述的方法,其中所述神经病变是化疗诱发的神经病变。

117.如权利要求111-116中任一项所述的方法,其中所述暴露在体内或离体进行。

118.如权利要求111-116中任一项所述的方法,其中所述暴露包括向有需要的患者施用所述寡核苷酸。

119.如权利要求111-118中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸通过局部、胃肠外、鞘内、丘脑内、脑池内、口服、直肠、颊内、舌下、阴道、肺部、气管内、鼻内、透皮、十二指肠内或脑室内施用。

120.如权利要求119所述的方法,其中所述寡核苷酸口服施用。

121.如权利要求111-119中任一项所述的方法,其中鞘内、丘脑内或脑池内施用治疗有效量的寡核苷酸。

122.如权利要求111-121任一项所述的方法,其中所述患者是人。

123.一种药物组合物,其包含权利要求1-102中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐和药学上可接受的赋形剂。

124.如权利要求123所述的药物组合物,其中所述药物组合物适用于局部、鞘内、丘脑内、脑池内、脑室内、肠胃外、口服、肺、气管内、鼻内、透皮、直肠、颊内、舌下、阴道或十二指肠内施用。

125.一种治疗有需要的患者的神经系统疾病或神经病变的方法,所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的权利要求123或124的药物组合物。

126.如权利要求125所述的方法,其中所述神经系统疾病选自肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、伴有痴呆的帕

金森病、路易体痴呆、突触核蛋白病、亨廷顿病、臂丛神经损伤、周围神经损伤、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、结节性硬化症、皮克病、tau蛋白病、原发性年龄相关性tau蛋白病、唐氏综合症、癫痫/癫痫发作、抑郁症、创伤性脑损伤(TBI)、慢性创伤性脑病(CTE)、HIV相关神经认知障碍(HAND)、多系统萎缩、遗忘性轻度认知障碍、皮质基底节变性(CBD)和/或神经病变如化疗诱发的神经病变、脊髓小脑共济失调(SCA)、SCA 2型、脊髓性肌萎缩症(SMA)、帕金森氏症、尼曼匹克病C型(NPC)、腓骨肌萎缩症(CMT)、黏多糖贮积症II型(MPSIIA)、黏脂贮积症Ⅳ型、GM1神经节苷脂沉积症、散发性包涵体肌炎(sIBM)、过敏性紫癜(HSP)、边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、戈谢病、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、Perry病和突触疾病如孤独症。

127.如权利要求126所述的方法,其中所述神经系统疾病是ALS。

128.如权利要求126所述的方法,其中所述神经系统疾病是FTD。

129.如权利要求126所述的方法,其中所述神经系统疾病是伴有FTD的ALS。

130.如权利要求126所述的方法,其中所述神经系统疾病是AD。

131.如权利要求126所述的方法,其中所述神经系统疾病是PD。

132.如权利要求125所述的方法,其中所述神经病变是化疗诱发的神经病变。

133.如权利要求125-132中任一项所述的方法,其中所述药物组合物局部、胃肠外、口服、肺部、直肠、颊内、舌下、阴道、气管内、鼻内、脑池内、鞘内、丘脑内、透皮、十二指肠内或脑室内施用。

134.如权利要求125-132中任一项所述的方法,其中所述药物组合物鞘内、丘脑内或脑池内施用。

135.如权利要求125-134中任一项所述的方法,其中鞘内、丘脑内或脑池内施用治疗有效量的寡核苷酸。

136.如权利要求125-135任一项所述的方法,其中所述患者是人。

137.一种用于治疗有需要的受试者的神经疾病的方法,该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中所述寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;

其中所述其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或

其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,

任选地,其中所述寡核苷酸还包含间隔区。

138.一种用于治疗有需要的受试者的肌萎缩性侧索硬化(ALS)的方法,所述方法包括

向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;

其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或

其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,

任选地,其中所述寡核苷酸还包含间隔区。

139.一种用于治疗有需要的受试者的伴有额颞叶痴呆(FTD)的阿尔茨海默病(AD)的方法,所述方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中所述寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;

其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或

其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地,其中所述寡核苷酸还包含间隔区。

140.一种用于治疗有需要的受试者的额颞叶痴呆(FTD)的方法,所述方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中所述寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;

其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或

其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸

(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代，

任选地，其中所述寡核苷酸还包含间隔区。

141.一种用于治疗有需要的受试者的伴有额颞叶痴呆(FTD)的肌萎缩性侧索硬化(ALS)的方法，所述方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐，并且其中所述寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85％的同一性；

其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键，和/或

其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代，

任选地，其中所述寡核苷酸还包含间隔区。

142.如权利要求137-141任一项所述的方法，其中连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的核苷键是磷酸二酯键。

143.如权利要求142所述的方法，其中连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的仅一个核苷键为磷酸二酯键。

144.如权利要求137-141任一项所述的方法，其中连接寡核苷酸的位置3和位置4处的碱基的核苷键均为磷酸二酯键。

145.如权利要求137-141中任一项所述的方法，其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

146.如权利要求145所述的方法，其中所述寡核苷酸中只有紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。

147.如权利要求146的所述方法，其中寡核苷酸中紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键进一步与另一个在前的碱基连接。

148.如权利要求146所述的方法，其中所述寡核苷酸包含第二间隔区，其中紧邻所述第二间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与另一个在前的碱基连接。

149.如权利要求137-141中任一项所述的方法，其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

150.如权利要求149所述的方法，其中所述寡核苷酸中只有紧邻间隔区之后的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。

151.如权利要求137-141中任一项所述的方法，其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的两个碱基通过磷酸二酯键连接。

152.如权利要求137-141中任一项所述的方法，其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接，并且其中所述寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

153.如权利要求152所述的方法,其中紧邻间隔区之前的一个碱基和紧邻间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。

154.如权利要求152或153所述的方法,其中所述寡核苷酸包括第二间隔区,并且其中所述寡核苷酸中紧邻第二间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中所述寡核苷酸中紧邻第二间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。

155.如权利要求154所述的方法,其中紧邻第二间隔区之前的一个碱基和紧邻第二间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。

156.如权利要求137-141中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,所述一系列碱基包含至少两个碱基。

157.如权利要求137-141中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,所述一系列碱基包含至少五个碱基。

158.如权利要求156或157所述的方法,其中所述寡核苷酸包含两个或多个间隔区,并且其中所述一系列碱基位于所述至少两个间隔区之间。

159.如权利要求142-158中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸是19mer、21mer、23mer或25mer中的任一项。

160.如权利要求137-141中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷间键是硫代磷酸酯键。

161.如权利要求137-141中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸的所有核苷间键是硫代磷酸酯键。

162.一种寡核苷酸和药学上可接受的赋形剂,所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,任选地其中所述寡核苷酸包含间隔区,并且其中寡核苷酸能够增加、恢复或稳定在免疫介导的脱髓鞘疾病的细胞或人类患者中能够翻译功能性UNC13A的UNC13A mRNA的表达和/或UNC13A蛋白的活性和/或功能,并且其中表达和/或活性和/或功能的增加、恢复或稳定的水平足以将该寡核苷酸用作治疗免疫介导的脱髓鞘疾病的药物。

163.如权利要求103-122或125-161中任一项所述的方法,权利要求123或124所述的药物组合物,或权利要求1-102或162中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸包含一个或多个手性中心和/或双键。

164.如权利要求103-122、125-161或163中任一项所述的方法,权利要求123、124或163所述的药物组合物,权利要求1-102或162-163中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸作为选自几何异构体、对映异构体和非对映异构体的立体异构体存在。

165.一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的权利要求123或124所述的药物组合物与第二治疗剂的组合。

166.如权利要求165所述的方法,其中所述第二治疗剂选自利鲁唑(Rilutek)、PrimeC、依达拉奉(Radicava)、卡巴拉汀、多奈哌齐、加兰他敏、选择性血清素再摄取抑制剂、抗精神病药、胆碱酯酶抑制剂、美金刚(memantine)、苯并二氮卓类抗焦虑药物、AMX0035(ELYBRIO)、ZILUCOPLAN(RA101495)、普利多匹定、双重AON鞘内施用(例如,BIIB067、

BIIB078和BIIB105)、BIIB100、左旋多巴/卡比多巴、多巴胺能药(例如,罗匹尼罗、普拉克索、罗替戈汀)、甲羟孕酮、KCNQ2/KCNQ3开放剂(例如瑞替加滨、XEN1101或QRL-101)、生物活性支架、抗惊厥药物和精神兴奋剂、疗法(例如,选自呼吸护理、物理疗法、职业疗法、语言疗法、营养支持)、深部脑刺激、左旋多巴和卡比多巴(duopa、rytary、Sinemet、inbrija)、伊曲茶碱(nourianz)、沙芬酰胺(xadago)、普拉克索(Mirapex)、罗替戈汀(neupro)、罗匹尼罗(requip)、金刚烷胺(gocovri、Symmetrel、osmolex)、苯扎托品(Cogentin)、苯海索(artane)、司来吉兰(eldepryl、zelapar)、雷沙吉兰、恩他卡朋(comtan)、奥匹卡朋(ongentys)、托卡朋(tasmar)、阿扑吗啡(apokyn、kynmobi)、艾塞那肽、灵芝、BIIB054、BIIB094、咖啡因、沙立佐坦、胚胎多巴胺细胞植入、阿杜卡单抗(Aduhlem)、美金刚(Namenda)、多奈哌齐(Aricept)、卡巴拉汀(Exelon)、加兰他敏(razadyne)、Namzeric、苏沃雷生(Suvorexant(belsomra))、仑卡奈单抗(lecanemab)、奥氮平(Zyprexa)、喹硫平(Seroquel)、SSRI(西酞普兰(Cipramil))、达泊西汀(Priligy)、依他普仑(Cipralex)、氟西汀(Prozac或Oxactin)、氟伏沙明(Faverin)、帕罗西汀(Seroxat)、舍曲林(Lustral)、沃替西汀(Brintellix)、丙戊酸钠(Depakote)、卡马西平(Tegretol)、甲羟孕酮、布立西坦(briviact)、大麻二酚(epidiolex)、卡马西平(carbatrol、Tegretol)、cenobamate(xcopri)、地西泮(安定)、劳拉西泮(Ativan)、氯硝西泮(klonopin)、艾司利卡西平(aptiom)、乙琥胺(zarontin)、非氨酯(felbatol)、芬氟拉明(fintepla)、拉科沙胺(VIMPAT)、拉莫三嗪(Lamictal)、左乙拉西坦(Keppra)、奥卡西平(oxtellar xr、Trileptal)、吡仑帕奈(fycompa)、苯巴比妥、苯妥英(dilantin)、普瑞巴林(lyrica)、噻加宾(gabitril)、托吡酯(topamax)、丙戊酸钠(depakene、depakote)和唑尼沙胺(zonegran),以用于治疗神经系统疾病。

167.一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,该方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的权利要求123或124所述的药物组合物,其中所述寡核苷酸的至少一个核苷键是非天然键,任选地其中所述寡核苷酸包含间隔区,并且其中所述寡核苷酸还包含选自胆固醇、硫辛酸、泛酸、聚乙二醇和用于穿过血脑屏障的抗体的靶向或缀合部分。

168.如权利要求103-122、125-161或163-167中任一项所述的方法,其中所述间隔区是核苷替代基团,其包含不能与核苷酸碱基连接的非糖取代基。

169.如权利要求168所述的方法,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置10和15之间。

170.如权利要求168所述的方法,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置7和11之间。

171.如权利要求168或170所述的方法,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区,其中所述第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置14和22之间。

172.如权利要求171所述的方法,其中所述间隔区和第二间隔区被至少5个核碱基、至少6个核碱基或至少7个核碱基隔开。

173.如权利要求171或172所述的方法,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置7和9之间,并且其中所述第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置15和18之间。

174.如权利要求171-173中任一项所述的方法,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的

位置8,并且其中第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置16。

175.如权利要求171-174中任一项所述的方法,其中所述寡核苷酸还包含第三间隔区,其中所述第三间隔区位于所述寡核苷酸的位置21和24之间。

176.如权利要求168所述的方法,其中所述间隔区位于所述寡核苷酸的位置2和5之间。

177.如权利要求176所述的方法,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区,其中所述第二间隔区位于所述寡核苷酸的位置8和12之间。

178.如权利要求177所述的方法,其中所述寡核苷酸还包含第三间隔区,其中所述第三间隔区位于所述寡核苷酸的位置18和22之间。

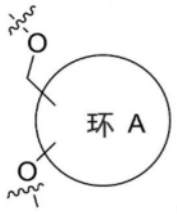
179.如权利要求168所述的方法,其中所述寡核苷酸还包含第二间隔区和第三间隔区,其中所述三个间隔区位于所述寡核苷酸中的位置使得所述寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。

180.如权利要求179所述的方法,其中所述三个间隔区中的至少两个与鸟嘌呤核碱基相邻。

181.如权利要求180所述的方法,其中所述三个间隔区中的至少两个间隔区中的每一个紧邻鸟嘌呤核碱基之前。

182.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区中的每一个是包含非糖取代基的核苷替代基团,其中所述非糖取代基不含有酮、醛、缩酮、半缩酮、缩醛、半缩醛、缩醛胺或半缩醛胺部分并且不能与核苷酸碱基形成共价键。

183.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区中各自独立地由式(X)表示,其中:

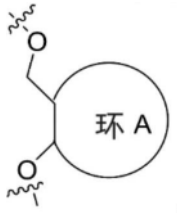


式(X)

环A是任选取代的4-8元单环环烷基或4-8元单环杂环基,其中所述杂环基含有1或2个选自O、S和N的杂原子,条件是A不能与核碱基形成共价键;以及

-⧘-符号表示与核苷间键的连接点。

184.如权利要求183所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Xa)表示,其中:



式(Xa)。

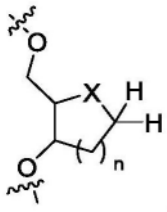
185.如权利要求183或184所述的方法,其中环A为任选取代的4-8元单环环烷基,其选自环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基;或4-8元单环杂环基,其选自氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,4-二氧杂环己烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基和氮杂环

庚烷基。

186.如权利要求185所述的方法,其中环A为四氢呋喃基。

187.如权利要求185所述的方法,其中环A为四氢吡喃基。

188.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(I)表示,其中:

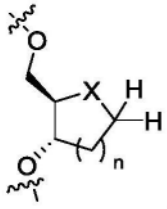


式(I)

X选自-CH_2-和-O-;以及

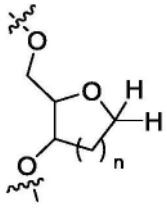
n为0、1、2或3。

189.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(I')表示,其中:



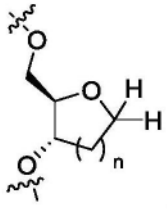
式 (I')。

190.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia)表示,其中:



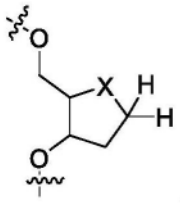
式(Ia)。

191.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia')表示,其中:

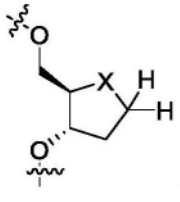


式 (Ia')。

192.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II表示,其中:



以及



式(II);

X选自-CH_2-和-O-。

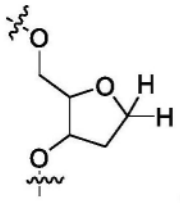
193.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II'表示,其中:

以及

式(II');

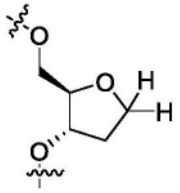
X选自-CH_2-和-O-。

194.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia)表示,其中:



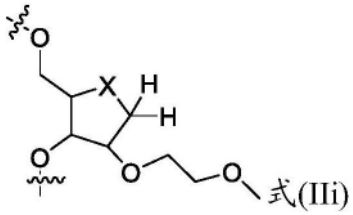
式(Iia)。

195.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia')表示,其中:



式(Iia')。

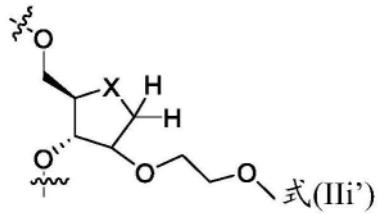
196.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIi)表示,其中:



式(IIi)

X选自-CH_2-和-O-。

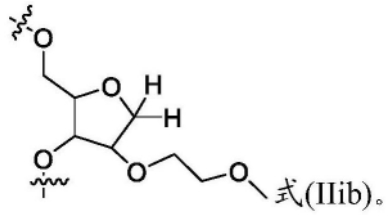
197.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIi')表示,其中:



式(IIi')

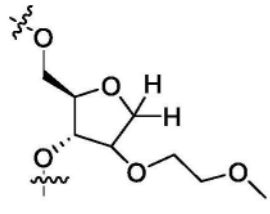
X选自-CH_2-和-O-。

198.如权利要求168-181中任一项的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIib)表示,其中:



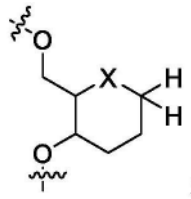
式(IIib)。

199.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIib')表示',其中:



式 (IIib')。

如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III表示,其中:

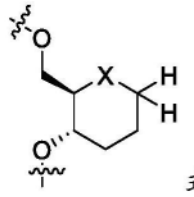


以及

式(III);

X选自-CH_2-和-O-。

200.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III'表示,其中:

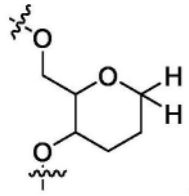


以及

式(III');

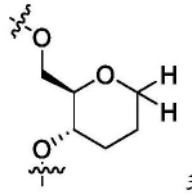
X选自-CH_2-和-O-。

201.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa)表示,其中:



式(IIIa)。

202.如权利要求168-181中任一项所述的方法,其中所述第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa')表示,其中:



式(IIIa')。

203.如权利要求168-202中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少10%的GC含量。

204.如权利要求168-203中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少20%的GC含量。

205.如权利要求168-204中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少25%的GC含量。

206.如权利要求168-205中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少30%的GC含量。

207.如权利要求168-206中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少40%的GC含量。

208.如权利要求168-207中任一项所述的方法,其中所述包含间隔区的寡核苷酸具有至少50%的GC含量。

209.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的减少。

210.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的至少100%的减少。

211.如权利要求200-201中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中与使用TDP43反义寡核苷酸检测的具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的水平相比,测量出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的减少。

212.如上述权利要求中任一项所述的化合物或寡核苷酸,其中所述寡核苷酸表现出具有隐秘外显子的UNC13A转录本的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的减少。

使用UNC13A基因转录本的调节剂治疗神经系统疾病

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求于2021年12月3日提交的美国临时申请第63/285,786号、于2022年6月8日提交的美国临时申请第63/350,206号和于2022年8月18日提交的美国临时申请第63/398,987号的权益,特此将其全部内容以引用的方式并入本文中以用于所有目的。

技术领域

[0002] 本申请一般涉及用UNC13A剪接转换反义寡核苷酸、特别是具有一个或多个靶向UNC13A转录本的间隔区的UNC13A反义寡核苷酸治疗神经系统疾病的方法。

背景技术

[0003] 运动神经元疾病是一类导致运动神经元退化和死亡的神经系统疾病(neurological disease),这些神经元通过大脑协调肌肉的自发运动。运动神经元疾病可以是散发性的或遗传性的,并且可以影响上运动神经元和/或下运动神经元。运动神经元疾病包括肌萎缩性侧索硬化、进行性延髓麻痹、假性延髓麻痹、原发性侧索硬化、进行性肌萎缩、脊髓性肌萎缩和脊髓灰质炎后综合征。

[0004] 肌萎缩性侧索硬化(ALS)是一组在美国影响约15,000名个体的运动神经元疾病。ALS的特征是上下运动神经元的退化和死亡,导致随意肌控制的丧失。运动神经元死亡伴随肌肉肌束震颤和萎缩。ALS的早期症状包括肌肉痛性痉挛(muscle cramps)、肌肉痉挛状态(muscle spasticity)、肌肉无力(例如,影响手臂、腿、颈部或隔膜)、言语不清带鼻音以及咀嚼或吞咽困难。最终,患者会失去力量和对动作的控制,包括说话、进食和呼吸所需的动作。疾病进展可伴有体重减轻、营养不良、焦虑、抑郁、肺炎风险增加、肌肉痛性痉挛、神经病变和可能的痴呆。大多数诊断为ALS的个体在首次出现症状的5年内死于呼吸衰竭。目前,尚无有效的ALS治疗方法。

[0005] ALS发生在所有年龄段的个体中,但最常见于55至75岁的个体中,男性的发病率略高。ALS可具有散发性或家族性特征。散发性ALS似乎随机发生,占所有ALS发病率的90%以上。家族性ALS占所有ALS发病率的5-10%。

[0006] FTD是指由大脑额叶和颞叶中的神经元损失引起的一系列进行性神经变性疾病变。FTD是第三种最常见的痴呆形式(仅次于阿尔茨海默病和路易体痴呆),也是65岁以下个体中第二种最常见的痴呆形式。据估计,FTD在美国影响50,000至60,000名个体。FTD的特征是行为和个性的变化以及语言功能障碍。FTD的形式包括行为变异型FTD(bvFTD)、语义变异型原发性进行性失语症(svPPA)和非流利变异型原发性进行性失语症(nfvPPA)。伴有FTD的ALS的特征是具有与FTD相关的症状,以及ALS的症状如肌肉无力、萎缩、肌束震颤、肌肉痉挛状态、言语障碍(构音障碍)和不能吞咽(吞咽困难)。个体通常在5至10年内死于FTD,而伴有FTD的ALS通常在首次出现疾病症状的2至3年内导致死亡。

[0007] 与ALS一样,对于FTD或伴有FTD的ALS目前尚无已知的治疗方法,也没有已知的预防或延缓这两种疾病进展的治疗方法。

[0008] 因此,迫切需要鉴定能够预防、改善和治疗神经系统疾病的化合物和/或组合物,所述神经系统疾病例如:肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、神经损伤(例如臂丛神经损伤)、神经病变(例如化疗诱发的神经病变)、TDP43蛋白病(例如慢性创伤性脑病、Perry综合征、与阿尔茨海默病相关的路易体痴呆、伴有或不伴有痴呆的帕金森病、以及边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、癫痫、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症。

发明内容

[0009] 本文描述了包含一个或多个间隔区并包含与UNC13A转录本的等长部分至少85%互补的序列的寡核苷酸。在一个方面,本公开提供了靶向UNC13A转录本(例如,错误剪接的UNC13A转录本)的UNC13A寡核苷酸。在各种实施方案中,寡核苷酸靶向转录本用于治疗神经系统疾病,包括运动神经元疾病和/或神经病变。例如,UNC13A寡核苷酸可用于治疗PD、ALS、FTD、伴有FTD的ALS,以及AD。

[0010] 在一个方面,本公开内容提供了一种包含修饰的寡核苷酸的化合物,所述修饰的寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键。在各种实施方案中,寡核苷酸包含间隔区。

[0011] 在一个方面,本公开内容提供了一种包含修饰的寡核苷酸的化合物,所述修饰的寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键是非天然键,并且其中寡核苷酸包含间隔区。在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多11个连接核苷的区段。在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多10、9或8个连接核苷的区段。在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多7个连接核苷的区段。在某些实施方案中,寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段。在某些实施方案中,寡核苷酸的每个区段包含至多7个连接核苷。

[0012] 在各种实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。在各种实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。在各种实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有95%同一性的序列。在各种实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有100%同一性的序列。

[0013] 在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多11个连接核苷或至多7个连接核苷的区段,并且其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段,并且其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。在各种实施方案中,寡核苷酸包含具有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段,并且其中所述寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。

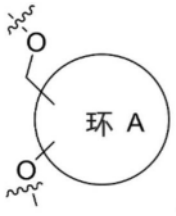
[0014] 在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少19个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,间隔区是核苷替代基团,其包含不能与核苷酸碱基连接的非糖取代基。

[0015] 在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置10和15之间。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置7和11之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置14和22之间。在各种实施方案中,寡核苷酸中的间隔区和第二间隔区被至少5个核碱基、至少6个核碱基或至少7个核碱基隔开。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置7和9之间,并且其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置15和18之间。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置8,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置16。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第三间隔区,其中第三间隔区位于寡核苷酸的位置21和24之间。

[0016] 在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置2和5之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置8和12之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第三间隔区,其中第三间隔区位于寡核苷酸的位置18和22之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区和第三间隔区,其中三个间隔区位于寡核苷酸中的位置使得寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。在各种实施方案中,三个间隔区中的至少两个与鸟嘌呤核碱基相邻。在各种实施方案中,三个间隔区中的至少两个间隔区中的每一个紧邻鸟嘌呤核碱基之前。

[0017] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区中的每一个是包含非糖取代基的核苷替代基团,其中所述非糖取代基不含有酮、醛、缩酮、半缩酮、缩醛、半缩醛、缩醛胺或半缩醛胺部分并且不能与核苷酸碱基形成共价键。

[0018] 在某些实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(X)表示,其中:

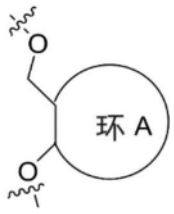


式(X)

环A是任选取代的4-8元单环环烷基或4-8元单环杂环基,其中所述杂环基含有1或2个选自O、S和N的杂原子,条件是A不能与核碱基形成共价键;以及

~符号表示与核苷间键的连接点。

[0019] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Xa)表示,其中:



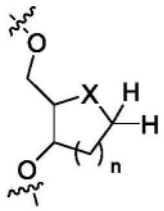
式(Xa)。

[0020] 在一些实施方案中,环A为任选取代的4-8元单环环烷基,其选自环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基;或4-8元单环杂环基,其选自氧杂环丁烷基(oxetanyl)、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,4-二氧杂环己烷基(1,4-dioxanyl)、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基和氮杂环庚烷基(azepanyl)。

[0021] 在其他实施方案中,环A为四氢呋喃基。

[0022] 在其他实施方案中,环A为四氢吡喃基。

[0023] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式I表示,其中:

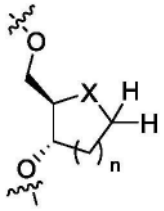


式(I)

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

[0024] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式I'表示,其中:

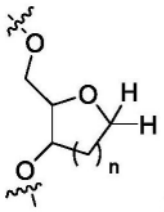


式(I')

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

[0025] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia)表示,其中:

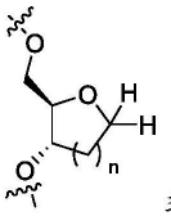


以及

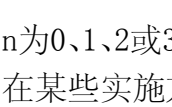
式(Ia);

n为0、1、2或3。

[0026] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia')表示,其中:



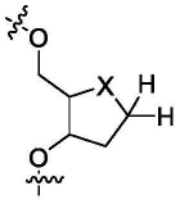
以及



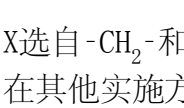
式(Ia');

n为0、1、2或3。

[0027] 在某些实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II表示,其中:



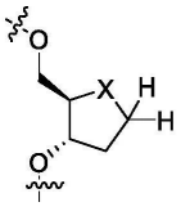
以及



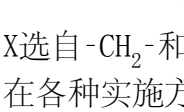
式(II);

X选自-CH_2-和-O-。

[0028] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II'表示,其中:



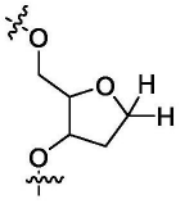
以及



式(II');

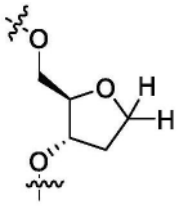
X选自-CH_2-和-O-。

[0029] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia)表示,其中:



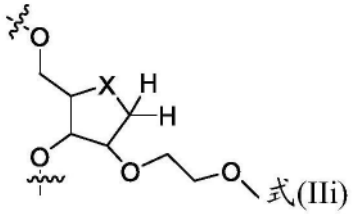
式(Iia)。

[0030] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia')表示,其中:



式(Iia')。

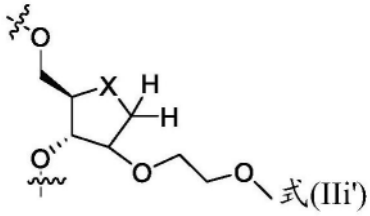
[0031] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi)表示,其中:



式(IIi)

X选自-CH_2-和-O-。

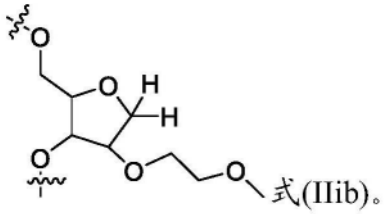
[0032] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi')表示,其中:



式(IIi')

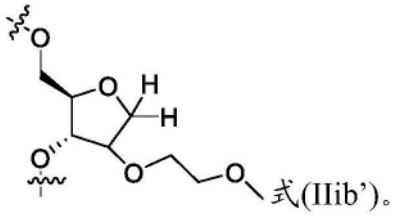
X选自-CH_2-和-O。

[0033] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIib)表示,其中:



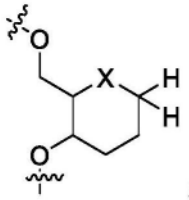
式(IIib)。

[0034] 在一些实施方案中,间隔区由式(Iiib')表示,其中:



式(IIib')。

[0035] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III表示,其中:

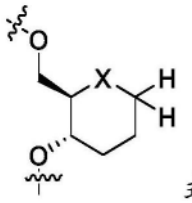


以及

式(III);

X选自-CH_2-和-O-。

[0036] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III'表示,其中:

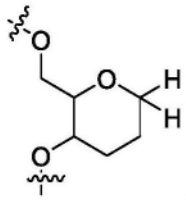


以及

式(III');

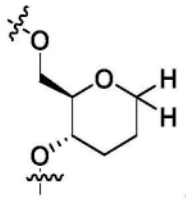
X选自-CH_2-和-O-。

[0037] 在一些实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa)表示,其中:



式(IIIa)。

[0038] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa')表示,其中:



式(IIIa')。

[0039] 在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少10%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少20%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少25%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少30%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少40%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少50%的GC含量。

[0040] 在各种实施方案中,寡核苷酸的长度为12至40个寡核苷酸单元。

[0041] 在各种实施方案中,寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键(phosphoramidate linkage)、硫代磷酰胺酯键(phosphoramidothioate linkage)、硫代磷酰二胺酯键(thiophosphorodiamidate linkage)、磷酰二胺酯(phosphorodiamidate)(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0042] 在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的一个或多个核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的仅一个核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3和位置4处的碱基的核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中只有紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键进一步与另一个在前的碱基连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包含第二间隔区,其中紧邻第二间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与另一个在前的碱基连接。

[0043] 在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中只有紧邻间隔区之后的碱基通过磷酸二酯键与间

隔区连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的两个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,紧邻间隔区之前的一个碱基和紧邻间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包括第二间隔区,并且其中寡核苷酸中紧邻第二间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中寡核苷酸中紧邻第二间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,紧邻第二间隔区之前的一个碱基和紧邻第二间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,该一系列碱基包含至少两个碱基。在各种实施方案中,寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,该一系列碱基包含至少五个碱基。在各种实施方案中,寡核苷酸包含两个或多个间隔区,并且其中该一系列碱基位于至少两个间隔区之间。

[0044] 本文另外公开了一种包含寡核苷酸的化合物,该寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的核碱基序列。本文另外公开了一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的核碱基序列。在各种实施方案中,核碱基与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少95%的同一性。在各种实施方案中,核碱基与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少100%的同一性。在各种实施方案中,寡核苷酸是19mer、21mer、23mer或25mer中的任一项。

[0045] 在各种实施方案中,寡核苷酸的核苷间键是修饰的核苷间键。在各种实施方案中,寡核苷酸的修饰的核苷间键是硫代磷酸酯键。在各种实施方案中,寡核苷酸的所有核苷间键是硫代磷酸酯键。在各种实施方案中,硫代磷酸酯键是Rp构型或Sp构型之一。在各种实施方案中,寡核苷酸包含至少一个修饰的糖部分。在各种实施方案中,修饰的糖部分是以下之一:2'-OMe修饰的糖部分、双环糖部分、2'-O-(2-甲氧基乙基)(MOE)、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸(tcDNA)(例如具有乙基(2'O-CH2-CH2-4'C)作为桥的三环核酸或具有甲基取代的甲基(2'O-CH(CH2)-4'C)桥的三环核酸)、限制性乙基2'-4'-桥核酸(cEt)、S-cEt、tcDNA、己糖醇核酸(HNA)、三环类似物(例如tcDNA)和非锁核酸。

[0046] 在各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的增加。在各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少100%的增加。在各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少200%的增加。在各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少300%的增加。在各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少400%的增加。在各种实施方案中,与使用TDP43反义寡核苷酸实现的全长UNC13A蛋白的降低水平相比,测量出全长UNC13A蛋白的增加。在

各种实施方案中,寡核苷酸表现出全长UNC13A蛋白的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的挽救(rescue)。在各种实施方案中,寡核苷酸表现出错误剪接的UNC13A转录本的至少50%、60%、70%、80%或90%的减少。

[0047] 另外公开了一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,该方法包括向所述患者施用以上公开的任何寡核苷酸。在各种实施方案中,神经系统疾病选自:肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、神经损伤(例如臂丛神经损伤)、神经病变(例如化疗诱发的神经病变)、TDP43蛋白病(例如慢性创伤性脑病、Perry综合征、与阿尔茨海默病相关的路易体痴呆、伴有或不伴有痴呆的帕金森病、以及边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、癫痫、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症。在各种实施方案中,神经系统疾病是ALS。在各种实施方案中,神经系统疾病是FTD。在各种实施方案中,神经系统疾病是伴有FTD的ALS。在各种实施方案中,神经系统疾病是AD。在各种实施方案中,神经系统疾病是PD。在各种实施方案中,神经病变是化疗诱发的神经病变。

[0048] 另外公开了一种恢复神经元轴突生长和/或再生的方法,该方法包括将运动神经元暴露于上述任何寡核苷酸。另外公开了一种增加、促进、稳定或维持神经元中UNC13A表达和/或功能的方法,该方法包括将细胞暴露于上述任何寡核苷酸。

[0049] 在各种实施方案中,神经元是需要治疗神经系统疾病和/或神经病变的患者的神经元。在各种实施方案中,神经病变是化疗诱发的神经病变。在各种实施方案中,暴露在体内或离体进行。在各种实施方案中,暴露包括向有需要的患者施用寡核苷酸。在各种实施方案中,寡核苷酸通过局部、胃肠外、鞘内、丘脑内、脑池内、口服、直肠、颊内(buccally)、舌下、阴道、肺部、气管内、鼻内、透皮或十二指肠内施用。在各种实施方案中,寡核苷酸口服施用。在各种实施方案中,鞘内、丘脑内或脑池内施用治疗有效量的寡核苷酸。在各种实施方案中,患者是人。

[0050] 本文另外公开了一种药物组合物,其包含上文公开的寡核苷酸中的任一种寡核苷酸或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的赋形剂。在各种实施方案中,药物组合物适用于局部、鞘内、丘脑内、脑池内、脑室内、肠胃外、口服、肺、气管内、鼻内、透皮、直肠、颊内、舌下、阴道或十二指肠内施用。

[0051] 本文另外公开了一种治疗有需要的患者的神经系统疾病或神经病变的方法,所述方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的上文公开的药物组合物。在各种实施方案中,神经系统疾病选自肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、伴有痴呆的帕金森病、路易体痴呆、突触核蛋白病、亨廷顿病、臂丛神经损伤、周围神经损伤、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、结节性硬化症、皮克病、tau蛋白病、原发性年龄相关性tau蛋白病、唐氏综合症、癫痫/癫痫发作、抑郁症、创伤性脑损伤(TBI)、慢性创伤性脑病(CTE)、HIV相关神经认知障碍(HAND)、多系统萎缩、遗忘性轻度认知障碍、皮质基底节变性(CBD)和/或神经病变如化疗诱发的神经病变、脊髓小脑共济失调(SCA)、SCA 2型、脊髓性肌萎缩症(SMA)、帕金森氏症、尼曼匹克病C型(NPC)、腓骨肌萎缩症(CMT)、黏多糖贮积症II型(MPSIIA)、黏脂贮积症Ⅳ型、GM1神经节苷脂沉积症、散发性

包涵体肌炎(sIBM)、过敏性紫癜(HSP)、边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、戈谢病、以及面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、Perry病和突触疾病如孤独症。在各种实施方案中,神经系统疾病是ALS。在各种实施方案中,神经系统疾病是FTD。在各种实施方案中,神经系统疾病是伴有FTD的ALS。在各种实施方案中,神经病变是化疗诱发的神经病变。在各种实施方案中,该药物组合物通过局部、胃肠外、口服、肺部、直肠、颊内、舌下、阴道、气管内、鼻内、脑池内、鞘内、丘脑内、静脉内、肌内、透皮或十二指肠内施用。在各种实施方案中,其中药物组合物经鞘内、丘脑内、脑室内或脑池内施用。在各种实施方案中,鞘内、丘脑内或脑池内施用治疗有效量的寡核苷酸。在各种实施方案中,患者是人。

[0052] 本文另外公开了一种用于治疗有需要的受试者的神经疾病的方法,该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括吗啉代磷酰二胺(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0053] 本文另外公开了一种用于治疗有需要的受试者的ALS的方法,该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括吗啉代磷酰二胺(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0054] 本文另外公开了一种用于治疗有需要的受试者的FTD的方法,该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该

寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85％的同一性;其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括吗啉代磷酰二胺(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0055] 本文另外公开了一种用于治疗有需要的受试者的伴有FTD的ALS的方法,该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85％的同一性;其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0056] 在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的一个或多个核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3或位置4处的碱基的仅一个核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,连接寡核苷酸的位置3和位置4处的碱基的核苷键是磷酸二酯键。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中只有紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键进一步与另一个在前的碱基连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包含第二间隔区,其中紧邻第二间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键与另一个在前的碱基连接。

[0057] 在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中只有紧邻间隔区的碱基通过磷酸二酯键与间隔区连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的两个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸中紧邻间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中寡核苷酸中紧邻间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方

案中,紧邻间隔区之前的一个碱基和紧邻间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包括第二间隔区,并且其中寡核苷酸中紧邻第二间隔区之前的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接,并且其中寡核苷酸中紧邻第二间隔区之后的一个或多个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,紧邻第二间隔区之前的一个碱基和紧邻第二间隔区之后的一个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,该一系列碱基包含至少两个碱基。在各种实施方案中,寡核苷酸包含通过磷酸二酯键连接的一系列碱基,该一系列碱基包含至少五个碱基。在各种实施方案中,寡核苷酸包含两个或多个间隔区,并且其中该一系列碱基位于至少两个间隔区之间。在各种实施方案中,寡核苷酸是19mer、21mer、23mer或25mer中的任一项。

[0058] 在各种实施方案中,寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷间键是硫代磷酸酯键。在各种实施方案中,寡核苷酸的所有核苷间键是硫代磷酸酯键。

[0059] 本文还公开了一种寡核苷酸和药学上可接受的赋形剂,该寡核苷酸包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项的等长部分、与其具有90%同一性的序列、或其15至50个连续核碱基部分至少85%互补的序列,其中该寡核苷酸包含间隔区,并且其中寡核苷酸能够增加、恢复或稳定在免疫介导的脱髓鞘疾病的细胞或人类患者中能够翻译功能性UNC13A的UNC13A mRNA的表达和/或UNC13A蛋白的活性和/或功能,并且其中表达和/或活性和/或功能的增加、恢复或稳定的水平足以将该寡核苷酸用作治疗免疫介导的脱髓鞘疾病的药物。

[0060] 在各种实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个手性中心和/或双键。在各种实施方案中,寡核苷酸作为选自几何异构体、对映异构体和非对映异构体的立体异构体存在。

[0061] 本文另外公开了一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,该方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的上文公开的药物组合物与第二治疗剂的组合。在各种实施方案中,第二治疗剂选自利鲁唑(Rilutek)、PrimeC(塞来昔布和环丙沙星的组合)、依达拉奉(Radicava)、卡巴拉汀、多奈哌齐、加兰他敏、选择性血清素再摄取抑制剂、抗精神病药、胆碱酯酶抑制剂、美金刚(memantine)、苯并二氮卓类抗焦虑药物、AMX0035(ELYBRIO)、ZILUCOPLAN(RA101495)、普利多匹定、双重AON鞘内施用(例如,BIIB067、BIIB078和BIIB105)、BIIB100、左旋多巴/卡比多巴、多巴胺能药(例如,罗匹尼罗、普拉克索、罗替戈汀)、甲羟孕酮、KCNQ2/KCNQ3开放剂(例如瑞替加滨、XEN1101、QRL-101)、抗惊厥药物和精神兴奋剂和/或疗法(例如,选自呼吸护理、物理疗法、职业疗法、语言疗法、营养支持),以用于治疗神经系统疾病。

[0062] 本文另外公开了一种治疗有需要的患者的神经系统疾病和/或神经病变的方法,该方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的上文公开的药物组合物,其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷间键是非天然键,其中寡核苷酸包含间隔区,并且其中寡核苷酸还包含选自胆固醇、硫辛酸、泛酸、聚乙二醇和用于穿过血脑屏障的抗体的靶向或缀合部分。

[0063] 在各种实施方案中,间隔区是核苷替代基团,其包含不能与核苷酸碱基连接的非糖取代基。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置10和15之间。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置7和11之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置14和22之间。在各种实施方案中,寡核苷酸中的间

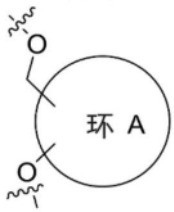
隔区和第二间隔区被至少5个核碱基、至少6个核碱基或至少7个核碱基隔开。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置7和9之间,并且其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置15和18之间。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置8,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置16。

[0064] 在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第三间隔区,其中第三间隔区位于寡核苷酸的位置21和24之间。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸的位置2和5之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区,其中第二间隔区位于寡核苷酸的位置8和12之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第三间隔区,其中第三间隔区位于寡核苷酸的位置18和22之间。在各种实施方案中,寡核苷酸还包含第二间隔区和第三间隔区,其中三个间隔区位于寡核苷酸中的位置使得寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。

[0065] 在各种实施方案中,三个间隔区中的至少两个与鸟嘌呤核碱基相邻。在各种实施方案中,三个间隔区中的至少两个间隔区中的每一个紧邻鸟嘌呤核碱基之前。

[0066] 在本文所述方法的各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区中的每一个是包含非糖取代基的核苷替代基团,其中所述非糖取代基不含有酮、醛、缩酮、半缩酮、缩醛、半缩醛、缩醛胺或半缩醛胺部分并且不能与核苷酸碱基形成共价键。

[0067] 在某些实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(X)表示,其中:

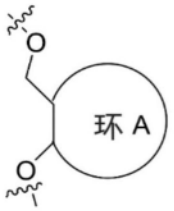


式(X)

环A是任选取代的4-8元单环环烷基或4-8元单环杂环基,其中所述杂环基含有1或2个选自O、S和N的杂原子,条件是A不能与核碱基形成共价键;以及

-⧘-符号表示与核苷间键的连接点。

[0068] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Xa)表示,其中:



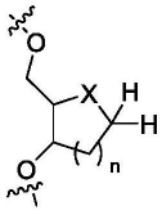
式(Xa)。

[0069] 在一些实施方案中,环A为任选取代的4-8元单环环烷基,其选自环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基;或4-8元单环杂环基,其选自氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,4-二氧杂环己烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基和氮杂环庚烷基。

[0070] 在其他实施方案中,环A为四氢呋喃基。

[0071] 在其他实施方案中,环A为四氢吡喃基。

[0072] 在各种实施方案中,第一间隔区,第二间隔区或第三间隔区中的每一者独立地由式(I)表示,其中:

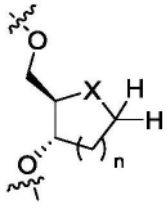


式(I)

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

[0073] 在各种实施方案中,间隔区或第二间隔区由式(I')表示,其中:

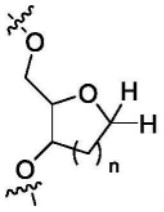


式(I')

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

[0074] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia)表示,其中:

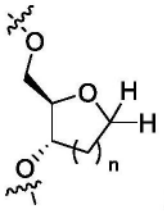


以及

式(Ia);

n为0、1、2或3。

[0075] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Ia')表示,其中:

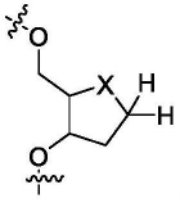


以及

式(Ia');

n为0、1、2或3。

[0076] 在某些实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II表示,其中:

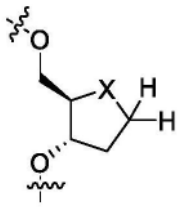


以及

式(II);

X选自-CH_2-和-O-。

[0077] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式II'表示,其中:

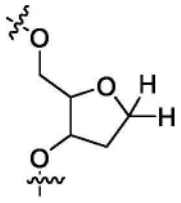


以及

式(II');

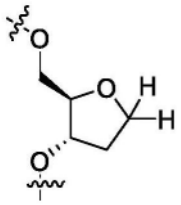
X选自-CH_2-和-O-。

[0078] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia)表示,其中:



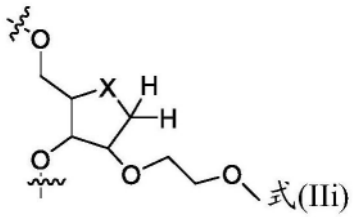
式(Iia)。

[0079] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(Iia')表示,其中:



式(Iia')。

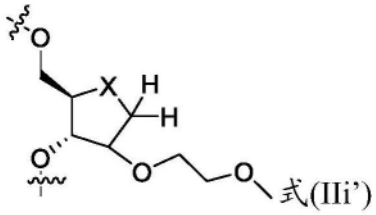
[0080] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi)表示,其中:



式(IIi)

X选自-CH_2-和-O-。

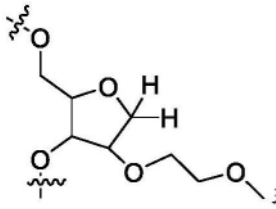
[0081] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi')表示,其中:



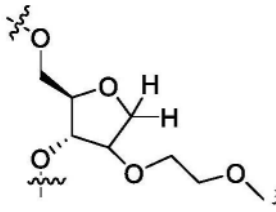
式(IIi')

X选自-CH_2-和-O。

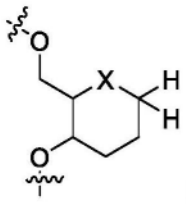
[0082] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIib)表示,其中:


式(IIib)。

[0083] 在一些实施方案中,间隔区由式(Iiib')表示,其中:


式(Iiib')。

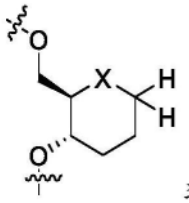
[0084] 在各种实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III表示,其中:


以及

式(III);

X选自-CH_2-和-O-。

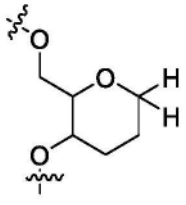
[0085] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式III'表示,其中:


以及

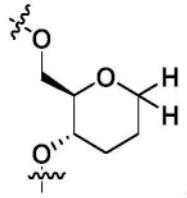
式(III');

X选自-CH_2-和-O-。

[0086] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa)表示,其中:


式(IIIa)。

[0087] 在其他实施方案中,第一间隔区、第二间隔区或第三间隔区各自独立地由式(IIIa')表示,其中:



式(IIIa')。

[0088] 在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少10%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少20%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少25%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少30%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少40%的GC含量。在各种实施方案中,包含间隔区的寡核苷酸具有至少50%的GC含量。

附图说明

[0089] 图1显示了反义寡核苷酸(AON)的示例,其一部分与mRNA转录本或前体mRNA转录本互补。虚线表示AON的位置,其可以被或可以不被间隔区占据。

具体实施方式

[0090] 现在将更具体地描述本公开的特征和其他细节。说明书、实施例和所附权利要求所附权利要求中使用的某些术语。这些定义应根据本公开的其余部分来阅读并且如本领域技术人员所理解。除非另有限定,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0091] 本文公开了能够靶向从基因转录的转录本的区域的寡核苷酸。在各种实施方案中,这类寡核苷酸靶向UNC13A转录本。本文另外公开了包括反义寡核苷酸序列的寡核苷酸,以及使用其治疗神经系统疾病如肌萎缩性侧索硬化和额颞叶痴呆和/或神经病变如化疗诱发的神经病变的方法。在各种实施方案中,寡核苷酸靶向UNC13A转录本的序列,导致错误剪接的UNC13A转录本的水平降低。还公开了包含靶向UNC13A转录本区域的UNC13A寡核苷酸的药物组合物,其用于治疗神经系统疾病和/或神经病变;以及含有所公开的UNC13A寡核苷酸的药物的制备,该寡核苷酸靶向UNC13A转录本的区域以用于治疗神经系统疾病和/或神经病变。

定义

[0092] 本文使用的术语“治疗(treat、treatment、treating)”等一般意指获得期望的药理学和/或生理学效果。该效果可以是治疗性的,即部分或完全治愈疾病和/或由疾病引起的不良反应。本文所用的术语“治疗(treatment)”涵盖哺乳动物、特别是人的疾病的任何治疗,并且包括:(a)抑制疾病,即防止疾病的严重程度或范围增加;(b)缓解疾病,即引起疾病的部分或完全改善;或(c)预防疾病复发,即预防疾病在先前成功治疗疾病的症状或治疗疾病后恢复到活动状态。

[0093] “预防”包括延迟受试者中发展的状态、障碍、疾病或病症的临床症状、并发症或生化指标的发作,该受试者可能患有或易患状态、障碍、疾病或病症但尚未经历或显示状态、障碍、疾病或病症的临床或亚临床症状。“预防”包括预防性地治疗受试者中或受试者中正在发展的状态、障碍、疾病或病症,包括预防性地治疗受试者中或受试者中的状态、障碍、疾

病或病症的临床症状、并发症或生化指标。

[0094] 本文可互换使用的术语“药学上可接受的载体”或“药学上可接受的赋形剂”是指与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、等渗剂和吸收延迟剂等。此类介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域熟知的。该组合物还可含有提供补充、额外或增强的治疗功能的其他活性化合物。

[0095] 本文所用的术语“药物组合物”是指一种组合物,其包含与一种或多种药学上可接受的赋形剂一起配制的本文公开的至少一种生物活性化合物例如UNC13A反义寡核苷酸(AON)。

[0096] “个体”、“患者”或“受试者”可互换使用并且包括任何动物,包括哺乳动物,优选小鼠、大鼠、其他啮齿动物、兔、狗、猫、猪、牛、绵羊、马或非人灵长类动物,并且最优选人。本发明的化合物可以施用于哺乳动物,例如人,但也可以是其他哺乳动物,例如需要兽医治疗的动物,例如家畜(例如狗、猫等)、农场动物(例如牛、绵羊、猪、马等)和实验室动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠、非人灵长类等)。在一些实施方案中,用本发明方法治疗的哺乳动物理想地是需要调节UNC13A表达和/或活性的哺乳动物。

[0097] 如本文所用,“UNC13A”(也称为Unc-13同系物A、Munc13-1、KIAA1032、unc-13同系物A(秀丽隐杆线虫)或蛋白质Unc-13同系物A)是指由Entrez Gene ID No.23025及其等位基因变体鉴定的基因或基因产物(例如,由该基因编码的蛋白质或mRNA转录本(包括前体mRNA)),以及在非人类物种(例如,非人类灵长类或小鼠)中发现的直系同源物。

[0098] 术语“UNC13A转录本”是指可以是UNC13A前体mRNA序列或UNC13A成熟RNA序列的UNC13A转录本。UNC13A转录本序列显示含有胸腺嘧啶(T),但本领域技术人员将理解胸腺嘧啶(T)通常可以在RNA序列中用尿嘧啶(U)代替。

[0099] 术语“UNC13A寡核苷酸”、“UNC13A反义寡核苷酸”或“UNC13A AON”是指能够增加、恢复或稳定全长UNC13A活性,例如全长UNC13A表达,例如全长UNC13A mRNA和/或全长UNC13A蛋白表达的寡核苷酸。通常,UNC13A寡核苷酸通过靶向UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA或具有靶序列的错误剪接的UNC13A)降低错误剪接的UNC13A转录本的水平。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包含与转录本的等长部分至少85%互补的序列,该转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208至少90%同一的序列、或SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208的连续15至50个核碱基部分。UNC13A靶序列显示含有胸腺嘧啶(T),但本领域技术人员将理解胸腺嘧啶(T)通常可以在RNA序列中用尿嘧啶(U)代替。

[0100] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸的特征是具有一个或多个间隔区,其中每个间隔区将UNC13A寡核苷酸分成连接核苷的区段。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸具有两个间隔区。在一个实施方案中,UNC13A寡核苷酸具有由一个间隔区隔开的两个连接核苷区段。在一个实施方案中,UNC13A寡核苷酸具有由两个间隔区隔开的三个连接核苷区段。在这样的实施方案中,UNC13A寡核苷酸具有一个带有至多7个连接核苷的区段。例如,UNC13A寡核苷酸从5’至3’末端可具有5个连接核苷、随后是间隔区、10个连接核苷、随后是第二个间隔区以及8个连接核苷。因此,第一5个连接核苷的区段满足具有至多7个连接核苷的一个区段。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸具有将UNC13A寡核苷酸分成四个区段的三个间隔区。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸的四个区段中的每一个具有至多7个连接核苷。

[0101] 如本文所用,术语“UNC13A寡核苷酸”涵盖“UNC13A亲本寡核苷酸”、“具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸”(例如,具有两个间隔区的UNC13A寡核苷酸或具有三个间隔区的UNC13A寡核苷酸)、“具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸变体”。UNC13A寡核苷酸的示例包括包含SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列的寡核苷酸。

[0102] 术语“UNC13A亲本寡核苷酸”是指靶向UNC13A转录本并且能够增加、恢复或稳定全长UNC13A活性(例如全长UNC13A表达,例如全长UNC13A mRNA和/或全长UNC13A蛋白表达)的寡核苷酸。UNC13A亲本寡核苷酸不包括间隔区。UNC13A亲本寡核苷酸的示例包括包含SEQ ID NO:1-1264中任一序列的寡核苷酸。如下文所述,具有间隔区的UNC13A寡核苷酸和UNC13A寡核苷酸变体相对于相应的UNC13A亲本寡核苷酸进行了描述。

[0103] 术语“UNC13A寡核苷酸变体”是指代表相应UNC13A亲本寡核苷酸的修饰形式的UNC13A寡核苷酸。例如,UNC13A寡核苷酸变体代表缩短形式的UNC13A亲本寡核苷酸。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸变体是15mer、16mer、17mer、18mer、19mer、20mer、21mer、22mer、23mer、24mer、25mer、26mer或27mer中的任一种。UNC13A寡核苷酸变体的示例包括包含SEQ ID NO:2529-3792中任一序列的寡核苷酸。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸变体包含一个或多个间隔区。此类UNC13A寡核苷酸变体包含SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列。

[0104] 术语“具有一个或多个间隔区的寡核苷酸”或“包含间隔区的寡核苷酸”是指具有至少一个间隔区的寡核苷酸。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸可以包括一个间隔区、两个间隔区、三个间隔区、四个间隔区、五个间隔区、六个间隔区、七个间隔区、八个间隔区、九个间隔区或十个间隔区。在各种实施方案中,包含一个或多个间隔区的寡核苷酸包括至少一个具有至多7个连接核苷的区段。例如,如5’至3’方向所述,包含间隔区的寡核苷酸可以包括具有7个连接核苷的区段,随后是间隔区、具有9个连接核苷的第二区段,随后是第二间隔区以及具有7个连接核苷的第三区段。这里,7个连接核苷的第一区段和7个连接核苷的第三区段各自表示具有至多7个连接核苷的区段。作为另一个示例,包含间隔区的寡核苷酸可以包括具有10个连接核苷的区段,随后是间隔区、具有10个连接核苷的第二区段,随后是第二间隔区以及具有3个连接核苷的第三区段。这里,3个连接核苷的第三区段表示具有至多7个连接核苷的区段。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸包括具有至多7个连接核苷的多个区段。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。例如,寡核苷酸可以是23mer并且包括两个间隔区,所述间隔区将23mer分成各自7个连接核苷的三个分开的区段。因此,寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷。

[0105] 通常,包含一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸参照相应的UNC13A亲本寡核苷酸或相应的UNC13A寡核苷酸变体进行描述。包含一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸的示例包括SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项。

[0106] 在各种实施方案中,一个或多个间隔区可以位于寡核苷酸的一个或多个位置。间隔区可以位于寡核苷酸的第一位置和第二位置之间。如本文所用,位于第一位置和第二位置之间的间隔区涵盖位于第一位置、位于第二位置或位于由第一位置和第二位置夹在中间

的寡核苷酸的任意位置的间隔区。

[0107] 在本说明书中,术语“治疗有效量”是指能够引发研究人员、兽医、医生或其他临床医生所寻求的组织、系统、动物或人类的生物或医学反应的寡核苷酸的量。在一个实施方案中,寡核苷酸包含与转录本的等长部分至少85%互补的序列,该转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208至少90%同一的序列、或SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208的连续15至50个核碱基部分。寡核苷酸以治疗有效量施用以治疗和/或预防疾病、病症、障碍或状态,例如神经系统疾病和/或神经病变。或者,寡核苷酸的治疗有效量是达到所需治疗和/或预防效果所需的量,例如导致预防或减少与运动神经元中UNC13A活性降低相关的疾病相关的症状的量。

[0108] 短语“靶向UNC13A转录本的UNC13A寡核苷酸”是指结合UNC13A转录本的UNC13A寡核苷酸。

[0109] 本文所用的术语“药学上可接受的盐”是指可存在于本发明组合物中所用的UNC13A寡核苷酸中的酸性或碱性基团的盐。本组合物中所含的UNC13A寡核苷酸本质上是碱性的,能够与各种无机酸和有机酸形成多种盐。可用于制备此类碱性化合物的药学上可接受的酸加成盐的酸是形成无毒酸加成盐的酸,即含有药学上可接受的阴离子的盐,包括但不限于苹果酸盐、草酸盐、氯化物、溴化物、碘化物、硝酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、酸式磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、油酸盐、丹宁酸盐、泛酸盐、酒石酸氢盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、龙胆酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐和双羟萘酸盐(即1,1’-亚甲基-双-(2-羟基-3-萘甲酸盐))。除上述酸之外,本发明组合物中包括的包含氨基部分的UNC13A寡核苷酸可以与各种氨基酸形成药学上可接受的盐。包括在本发明组合物中的本质上是酸性的化合物能够与各种药理学上可接受的阳离子形成碱盐。这类盐的示例包括碱金属或碱土金属盐,特别是钙盐、镁盐、钠盐和锂盐。本公开的药学上可接受的盐包括例如UNC13A寡核苷酸的药学上可接受的盐,该UNC13A寡核苷酸包括SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一序列。

[0110] 本公开的UNC13A寡核苷酸可以含有一个或多个手性中心、基团、键(linkage)和/或双键,并且因此作为立体异构体,如几何异构体、对映异构体或非对映异构体存在。当在本文中使用时,术语“立体异构体”由所有几何异构体、对映异构体或非对映异构体组成。这些化合物可由符号“R”或“S”(或“Rp”或“Sp”)表示,这取决于立体异构原子周围的取代基(例如立体异构碳、磷或硫原子)的构型。在一些实施方案中,化合物的一个或多个键可以具有Rp或Sp构型(例如,一个或多个硫代磷酸酯键具有Rp或Sp构型)。每个硫代磷酸酯键的构型可以独立于另一个硫代磷酸酯键(例如,一个硫代磷酸酯键具有Rp构型并且第二硫代磷酸酯键具有Sp构型)。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸可以具有硫代磷酸酯键的混合构型。例如,UNC13A寡核苷酸可具有5个Rp构型的硫代磷酸酯键,随后是15个Sp构型的硫代磷酸酯键,随后是5个Rp构型的硫代磷酸酯键。本发明涵盖这些化合物的各种立体异构体及其混合物。立体异构体包括对映异构体和非对映异构体。对映异构体或非对映异构体的混合物在命名法中可指定为“(±)”,但本领域技术人员将认识到,结构可隐含地表示手性中心。

[0111] 本发明的UNC13A寡核苷酸的单个立体异构体可以通过合成方式从含有不对称或

立体异构中心的市售原料制备,或者通过制备外消旋混合物,然后采用本领域普通技术人员熟知的拆分方法制备。这些拆分方法的示例如下:(1)将对映异构体的混合物连接至手性助剂,通过重结晶或色谱法分离所得的非对映异构体的混合物并从助剂释放光学纯产物,(2)使用光学活性拆分剂形成盐,或(3)在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物。立体异构混合物也可以通过熟知的方法拆分成其组分立体异构体,例如手性气相色谱法、手性超临界液相色谱法、手性模拟移动床色谱法、手性高效液相色谱法,将化合物结晶为手性盐络合物,或将化合物在手性溶剂中结晶。立体异构体也可以通过熟知的不对称合成方法由立体异构纯的中间体、试剂和催化剂获得。

[0112] 本文公开的UNC13A寡核苷酸可以与药学上可接受的溶剂如水、乙醇等以溶剂化以及非溶剂化形式存在,并且本发明意欲包括溶剂化和非溶剂化形式。

[0113] 本公开还包括荧光标记的本发明化合物。本公开还包括同位素标记的本发明化合物(即,同位素标记的UNC13A寡核苷酸),其与本文所述的那些相同,除了一个或多个原子被具有与自然界中大量发现的原子质量或质量数不同的原子质量或质量数的原子所替代。可掺入本发明化合物的同位素的示例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,例如分别为^{2}H、^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{14}C、^{15}N、^{18}O、^{17}O、^{31}P、^{32}P、^{33}P、^{35}S、^{18}F和^{36}Cl。

[0114] 某些同位素标记的公开的化合物(例如,用^{3}H、^{14}C或^{35}S标记的那些)可用于化合物和/或底物组织分布测定。氚化(即^{3}H)、碳-14(即^{14}C)同位素因其易于制备和可检测性而特别优选。此外,用较重的同位素如氘(即,^{2}H)取代可以提供由更高的代谢稳定性产生的某些治疗优势(例如,增加的体内半衰期或降低的剂量需求),并且因此在一些情况下可以是优选的。

[0115] 如本文所用,“2'-O-(2-甲氧基乙基)”(也称为2'-MOE和2'-O$(CH_2)_2OCH_3$和MOE)是指呋喃糖环的2'位置的O-甲氧基乙基修饰。2'-O-(2-甲氧基乙基)在本公开中可互换地用作“2'-O-甲氧基乙基”。用2'-MOE修饰的核苷中的糖部分是修饰的糖。

[0116] 如本文所用,“2'-MOE核苷”(也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷)是指包含2'-MOE修饰的糖部分的核苷。

[0117] 如本文所用,“2'-取代的核苷”是指在呋喃糖环的2'-位置包含除H或OH以外的取代基的核苷。在某些实施方案中,2'取代的核苷包括具有双环糖修饰的核苷。

[0118] 如本文所用,“5-甲基胞嘧啶”(5-MeC)是指用连接至位置5的甲基修饰的胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶(5-MeC)是修饰的核碱基。

[0119] 本文所用的“双环糖”是指通过桥接两个原子而修饰的呋喃糖环。双环糖是修饰的糖。

[0120] 如本文所用,“双环核苷”(也称为BNA)是指具有糖部分的核苷,该糖部分包含连接糖环的两个碳原子的桥,从而形成双环系统。在某些实施方案中,桥连接糖环的4'-碳和2'-碳。

[0121] 如本文所用,“帽结构”或“末端帽部分”是指化学修饰,其已并入反义化合物的任一末端。

[0122] 如本文所用,“cEt”或“限制性乙基(constrained ethyl)”是指具有糖部分的双环核苷,该糖部分包含连接4'-碳和2'-碳的桥,其中桥具有下式:4'-$CH(CH_3)$—O-2'。

[0123] 如本文所用,“限制性乙基核苷”(也称为cEt核苷)是指包含双环糖部分的核苷,该

双环糖部分包含4'-CH(CH_3)—O-2'桥。在一些实施方案中,cEt可以进行修饰。在一些实施方案中,cEt可以是S-cEt(在S-限制性乙基2'-4'-桥接的核酸中)。在一些其他实施方案中,cEt可以是R-cEt。

[0124] 如本文所用,"核苷间键(internucleoside linkage)"是指一个寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键。在一些实施方案中,如本文所用,"非天然键"是指"修饰的核苷间键"。

[0125] 如本文所用,在寡核苷酸的上下文中,"连续的"是指彼此紧邻的核苷、核碱基、糖部分或核苷间键。例如,"连续的核碱基"是指在序列中彼此紧邻的核碱基。作为相反的示例,被间隔区分开的两个核苷不是连续的。

[0126] 如本文所用,"锁核酸"或"LNA"或"LNA核苷"是指具有连接核苷糖单元的4'和2'位置之间的两个碳原子的桥(例如,亚甲基、亚乙基、氨氧基或羟基亚氨基桥),从而形成双环糖的核酸单体。此类双环糖的示例包括但不限于(A)α-L-亚甲氧基(Methyleneoxy)(4'-CH_2—O-2')LNA、(B)β-D-亚甲氧基(4'-CH_2—O-2')LNA、(C)亚乙氧基(Ethyleneoxy)(4'-$(CH_2)_2$—O-2')LNA、(D)氨氧基(4'-CH_2—O—N(R)-2')LNA和(E)氧氨基(Oxyamino)(4'-CH_2—N(R)—O-2')LNA;其中R是H、C_1-C_{12}烷基或保护基(参见美国专利第7,427,672号,发布于2008年9月23日)。

[0127] 如本文所用,LNA化合物包括但不限于在糖的4'和2'位置之间具有至少一个桥的化合物,其中每个桥独立地包含1个或2至4个连接基团,该连接基团独立地选自—[C(R_1)(R_2)]$_n$—、—C(R_1)=C(R_2)—、—C(R_1)=N—、—C(=NR_1)—、—C(=O)—、—C(=S)—、—O—、—Si(R_1)$_2$—、—S(=O)$_x$—和—N(R_1)—;其中:x为0、1或2;n为1、2、3或4;R_1和R_2各自独立地为H、保护基、羟基、C_1-C_{12}烷基、取代的C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、取代的C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、取代的C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、取代的C_5-C_{20}芳基、杂环基、取代的杂环基、杂芳基、取代的杂芳基、C_5-C_7脂环族基团、取代的C_5-C_7脂环族基团、卤素、OJ_1、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、COOJ_1、酰基(C(=O)—H)、取代的酰基、CN、磺酰基(S(=O)$_2$-J_1)或硫氧基(S(=O)-J_1);并且J_1和J_2各自独立地为H、C_1-C_{12}烷基、取代的C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、取代的C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、取代的C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、取代的C_5-C_{20}芳基、酰基(C(=O)—H)、取代的酰基、杂环基、取代的杂环基、C_1-C_{12}氨基烷基、取代的C_1-C_{12}氨基烷基或保护基。

[0128] LNA的定义中涵盖的4'-2'桥连基团的示例包括但不限于下式之一:—[C(R_1)(R_2)]$_n$—、—[C(R_1)(R_2)]$_n$—O—、—C(R_1R_2)—N(R_1)—O—或—C(R_1R_2)—O—N(R_1)—。此外,LNA的定义中涵盖的其他桥连基团是4'-CH_2-2'、4'-$(CH_2)_2$-2'、4'-$(CH_2)_3$-2'、4'-CH_2—O-2'、4'-$(CH_2)_2$—O-2'、4'-CH_2—O—N(R_1)-2'和4'-CH_2—N(R_1)—O-2'-桥,其中R_1和R_2各自独立地为H、保护基或C_1-C_{12}烷基。

[0129] 根据本发明的LNA的定义中还包括这样的LNA,其中核糖基糖环的2'-羟基连接至糖环的4'碳原子,从而形成桥以形成双环糖部分。桥可以是连接2'氧原子和4'碳原子的亚甲基(—CH_2—)基团,其中使用术语亚甲氧基(4'-CH_2—O-2')LNA。此外,在双环糖部分在该位置具有亚乙基桥连基团的情况下,使用术语亚乙氧基(4'-CH_2CH_2—O-2')LNA。

[0130] 如本文所用,"间隔区"是指核苷替代基团(例如,替代UNC13A亲本寡核苷酸中存在的核苷的非核苷基团)。间隔区的特征是缺乏核苷酸碱基并用非糖取代物替代核苷糖部分。间隔区的非糖取代基团缺少醛、酮、缩醛、缩酮、半缩醛或半缩酮基团。因此,间隔区的非糖取代基团能够通过如本文所述的核苷间接头连接至与间隔区相邻的核苷的3'和5'位置,但

不能与核苷酸碱基形成共价键(即,不能将核碱基连接至另一基团,如核苷间键、缀合基团或寡核苷酸中的末端基团)。通常,具有间隔区的UNC13A寡核苷酸是相对于UNC13A亲本寡核苷酸描述的,其中间隔区替代UNC13A亲本寡核苷酸的核苷。在本公开的所有实施方案中,间隔区不能与在UNC13A转录本的相应位置处包含核碱基的核苷在AON寡核苷酸的长度的数字顺序内杂交,(即,如果间隔区位于AON的核苷4之后(即,在从5'-末端的位置5处),则间隔区不与靶UNC13A转录本的相同相应位置处的核苷(A、C、G或U)互补)。

[0131] 如本文所用,"错配"或"非互补基团"是指当第一核酸的基团(例如核碱基)不能与第二核酸或靶核酸的相应基团(例如核碱基)配对时的情况。

[0132] 如本文所用,"修饰的核苷间键"是指来自天然存在的核苷间键(例如,磷酸二酯核苷间键)的取代或任何改变。

[0133] 如本文所用,"修饰的核碱基"是指除腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶以外的任何核碱基。修饰的核碱基的示例包括5-甲基胞嘧啶、假尿苷或5-甲氧基尿苷。"未修饰的核碱基"是指嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)、以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。

[0134] 如本文所用,"修饰的核苷"是指独立地具有修饰的糖部分和/或修饰的核碱基的核苷。通用碱基是可以与五个未修饰的核碱基中的任何一个配对的修饰的核碱基。修饰核苷包括脱碱基的核苷,其缺少核碱基。然而,修饰的核苷不包括间隔区或不能连接核碱基的其他基团。

[0135] 如本文所用,"连接核苷"是以连续序列连接的核苷(即,在连接的核苷之间不存在另外的核苷)。在各种实施方案中,寡核苷酸可具有通过间隔区连接的连接核苷的不同区段。这里,间隔区(即核苷替代)不被视为核苷,因此将寡核苷酸分成两个连接核苷的区段。寡核苷酸可具有Y连接核苷的第一区段(例如,以连续序列连接的Y核苷),随后是间隔子,然后是Z连接核苷的第二区段。这里,Y和Z连接核苷以5'至3'方向或3'至5'方向描述。在各种实施方案中,第一区段由7个或更少的连接核苷组成(例如,Y=7或更少),而第二区段包含8个或更多的连接核苷(例如,Z=8或更多)。

[0136] 如本文所用,"修饰的寡核苷酸"是指包含至少一个(即一个或多个)修饰的核苷间键、修饰的糖和/或修饰的核碱基的寡核苷酸。

[0137] 如本文所用,"修饰的糖"或"修饰的糖部分"是指修饰的呋喃糖基糖部分或具有除呋喃糖基部分以外的其他基团的修饰的糖部分,所述修饰的糖部分可以将核碱基连接到另一个基团,例如寡核苷酸中的核苷间键、缀合基团或末端基团。

[0138] 如本文所用,"单体"是指低聚物的单个单元。单体包括但不限于核苷和核苷酸,无论是天然存在的还是修饰的。

[0139] 如本文所用,"基序"是指反义化合物中未修饰和修饰的核苷的模式。

[0140] 如本文所用,"天然糖部分"是指在DNA(2'-H)或RNA(2'-OH)中发现的糖部分。

[0141] 如本文所用,"天然存在的核苷间键"是指3'至5'磷酸二酯键。

[0142] 如本文所用,"非互补核碱基"是指彼此不形成氢键或不支持杂交的一对核碱基。

[0143] 如本文所用,"核酸"是指由单体核苷酸组成的分子。核酸包括但不限于核糖核酸(RNA)、脱氧核糖核酸(DNA)、单链核酸、双链核酸、非编码RNA、小干扰核糖核酸(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)和微RNA(miRNA)。

[0144] 如本文所用,“核碱基”是指能够与另一核酸的碱基进行碱基配对的杂环部分。

[0145] 如本文所用,“核碱基互补性”是指能够与另一核碱基进行碱基配对的核碱基。例如,在DNA中,腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)互补。例如,在RNA中,腺嘌呤(A)与尿嘧啶(U)互补。在某些实施方案中,互补核碱基是指能够与其靶核酸的相应核碱基进行碱基配对的反义化合物的核碱基。例如,如果反义化合物的某一位置处的核碱基能够与靶核酸的某一位置处的核碱基氢键合,则认为寡核苷酸和靶核酸之间的氢键合位置在该核碱基对处是互补的。

[0146] 如本文所用,“核碱基序列”是指不依赖于任何糖、键和/或核碱基修饰的核碱基的顺序。

[0147] 如本文所用,“核苷”是指与糖连接的核碱基。术语“核苷”还包括独立地具有修饰的糖部分和/或修饰的核碱基的“修饰的核苷”。

[0148] 如本文所用,“核苷模拟物”包括用于替代寡聚化合物的糖或糖和碱基而不一定替代一个或多个位置处的键的那些结构,例如,具有吗啉代、环己烯基、环己基、四氢吡喃基、双环或三环糖模拟物(例如,非呋喃糖糖单元)的核苷模拟物。核苷酸模拟物包括用于替代寡聚化合物的核苷和一个或多个位置处的键的那些结构,例如肽核酸或吗啉代(通过二氨基磷酸酯或其他非磷酸二酯键连接的吗啉代)。糖替代物(sugar surrogate)与稍广义的术语核苷模拟物重叠,但旨在仅表示糖单元(呋喃糖环)的替代。本文提供的四氢吡喃基环是糖替代物的示例的说明,其中呋喃糖糖基已被四氢吡喃基环系统替代。“模拟物(mimetic)”是指取代糖、核碱基和/或核苷间键的基团。通常,使用模拟物代替糖或糖-核苷间键的组合,并且保持核碱基与选择的靶杂交。

[0149] 如本文所用,“核苷酸”是指具有与核苷的糖部分共价连接的磷酸基团的核苷。

[0150] 如本文所用,“寡聚化合物”或“寡聚物”是指能够与核酸分子的至少一个区域杂交的连接的单体亚基的聚合物。

[0151] 如本文所用,“寡核苷酸”是指连接核苷的一个或多个区段的聚合物,其各自可彼此独立地被修饰或未修饰。

[0152] 如本文所用,“热点区域”是靶核酸上的一系列核碱基,其可经受寡聚化合物介导的靶核酸剪接的调节。

[0153] 如本文所用,“杂交”是指互补寡核苷酸和/或核酸的配对或退火。尽管不限于特定机制,但最常见的杂交机制涉及氢键,其可以是互补核碱基之间的沃森-克里克氢键、Hoogsteen氢键或反向Hoogsteen氢键。

[0154] 如本文所用,“增加活性的量”是指相对于未处理或对照样品中的转录表达或活性而言,更多的转录表达、导致全长成熟mRNA和/或蛋白质表达的更准确的剪接、和/或更多的活性。

反义治疗药物

[0155] 反义治疗药物是一类可用于调节转录本(例如mRNA)的基于核酸的化合物。在各种实施方案中,反义治疗药物包含一个或多个间隔区并且可用于调节转录自基因(诸如UNC13A前体mRNA)的转录本。

[0156] 反义治疗药物可以是基于单链或双链脱氧核糖核酸(DNA)的、基于核糖核酸(RNA)的、或DNA/RNA化学类似物化合物。通常,反义治疗药物被设计成包括与从给定基因转录的mRNA或前体mRNA序列互补或几乎互补的序列,以促进反义治疗药物与前体mRNA或mRNA之间

的结合。在某些实施方案中,反义治疗药物通过与mRNA或前体mRNA结合起作用,从而抑制蛋白质翻译、(例如,通过阻止适当的蛋白质如剪接激活蛋白的结合)来改变前体mRNA剪接成成熟mRN和/或引起mRNA的破坏。在某些实施方案中,反义治疗药物序列与靶基因或mRNA有义序列的一部分互补。在某些实施方案中,本文所述的反义治疗药物是基于寡核苷酸的化合物,其包括与前体mRNA有义序列或其部分互补的寡核苷酸序列和一个或多个间隔区。在某些实施方案中,本文所述的反义治疗药物还可以是基于核苷酸化学类似物的化合物。

[0157] 在某些实施方案中,寡核苷酸,例如本文公开的寡核苷酸,可以是长度为5至100个寡核苷酸单元的寡核苷酸序列,例如,长度为10至60个寡核苷酸单元,例如,长度为12至50个寡核苷酸单元,长度为14至40个寡核苷酸单元,长度为10至30个寡核苷酸单元,例如,长度为14至30个寡核苷酸单元,例如,长度为14至25或15至22个寡核苷酸单元,或长度为18、19、20、21、22、23、24、25、26或27个寡核苷酸单元。如本文所用,“寡核苷酸单元”是指寡核苷酸的核苷(例如,包括糖和/或核碱基的核苷)或核苷替代基团(例如,间隔区)。

[0158] 在具体的实施方案中,寡核苷酸长度为25个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,寡核苷酸长度为23个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,寡核苷酸长度为21个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,寡核苷酸长度为19个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24、至少25、至少26或至少27个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少18个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少19个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少20个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少21个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少22个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少23个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少24个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少25个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少26个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,寡核苷酸长度为至少27个寡核苷酸单元。

[0159] 在某些实施方案中,AON可以包括化学修饰的核苷(例如,2’-O-甲基化的核苷或2’-O-(2-甲氧基乙基)核苷)以及修饰的核苷间键(例如,硫代磷酸酯键)。在某些实施方案中,本文所述的AON包括与RNA序列如UNC13A mRNA序列互补的寡核苷酸序列。在某些实施方案中,本文所述的AON可包括化学修饰的核苷和修饰的核苷间键(例如,硫代磷酸酯键)。在具体的实施方案中,本文所述的AON包括一个或多个间隔区。

[0160] 在具体的实施方案中,寡核苷酸包含一个或多个间隔区。在具体的实施方案中,寡核苷酸包含一个间隔区。在各种实施方案中,寡核苷酸包含两个间隔区。例如,寡核苷酸包括具有21个核碱基和两个核苷替代基团(例如,两个间隔区)的23个寡核苷酸单元。本文描述了具有一个间隔区的寡核苷酸和具有两个间隔区的寡核苷酸的其他实施方案。在各种实施方案中,寡核苷酸包含三个间隔区。

[0161] 在一些实施方案中,反义寡核苷酸可以是但不限于基因转录本的抑制剂(例如,shRNA、siRNA、PNA、LNA、2’-O-甲基(2’OMe)反义寡核苷酸(AON)、2’-O-(2-甲氧基乙基)(MOE)AON或吗啉代寡聚物(例如,磷酰二胺吗啉代(PMO)))或包含此类化合物的组合物。在一些实施方案中,寡核苷酸是反义寡核苷酸(AON),其包含2’OMe(例如,包含一个或多个2’OMe修饰的糖的AON)、MOE(例如,包含一个或多个MOE修饰的糖的AON)、肽核酸(例如,包含一个或多个N-(2-氨基乙基)-甘氨酸单元的AON,该单元通过酰胺键或羰基亚甲基键连接作为

重复单元替代糖-磷酸主链)、锁核酸(例如,包含一个或多个锁核糖的AON,并且可以是2'-脱氧核苷酸或2'OMe核苷酸的混合物)、c-ET(例如,包含一个或多个cET糖的AON)、限制性甲氧基乙基(cMOE)(例如,包含一个或多个cMOE糖的AON)、吗啉代低聚物(例如,包含含有一个或多个PMO的主链的AON)、脱氧-2'-氟核苷(例如,包含一个或多个2'-氟-β-D-阿拉伯核苷的AON)、三环DNA(tcDNA)(例如,包含一个或多个tcDNA修饰的糖的AON)、2'-O,4'-C-乙烯桥接的核酸(ENA)(例如,包含一个或多个ENA修饰的糖的AON)或己糖醇核酸(HNA)(例如,包含一个或多个HNA修饰的糖的AON)。在一些实施方案中,AON包含一个或多个核苷间键,所述核苷间键独立地选自硫代磷酸酯键、磷酸二酯键、磷酸三酯键、甲基膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺吗啉代(PMO)(吗啉代)键、PNA键,或硫代磷酸酯键、磷酸二酯键、磷酸三酯键、甲基膦酸酯键、磷酰胺酯、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺吗啉代(PMO)(吗啉代)键和PNA键的任何组合。在一些实施方案中,UNC13A AON包含一个或多个硫代磷酸酯键、磷酸二酯键或硫代磷酸酯和磷酸二酯键的组合。

[0162] 肽核酸(PNA)是具有模拟DNA或RNA的结构的短的人工合成的聚合物。PNA包括由通过肽键连接的重复N-(2-氨基乙基)-甘氨酸单元组成的主链。在某些实施方案中,本文所述的PNA可用作反义治疗药物,其以高特异性结合RNA序列并增加、恢复和/或稳定水平(例如,全长UNC13A mRNA或蛋白质水平)和/或活性(例如,生物活性,例如UNC13A活性)。

[0163] 锁核酸(LNA)是包括一个或多个修饰的RNA核苷酸的寡核苷酸序列,其中核糖部分用连接2'氧和4'碳的额外桥修饰。LNA被认为比类似的寡核苷酸序列具有更高的Tm。在某些实施方案中,本文所述的LNA可用作以高特异性结合RNA序列的反义治疗药物。例如,LNA可以结合UNC13A前体mRNA并防止UNC13A前体mRNA的错误剪接,并增加、恢复和/或稳定UNC13A水平(例如,UNC13A mRNA或蛋白质水平)和/或活性(例如,生物活性,例如UNC13A活性)。

[0164] 吗啉代低聚物是寡核苷酸化合物,其包括通过磷酰二胺基团连接的亚甲基吗啉环主链上的DNA碱基。在某些实施方案中,本发明的吗啉代寡聚物可以被设计成结合目的特定前体mRNA序列。例如,吗啉代寡聚物结合UNC13A前体mRNA,从而防止前体mRNA的错误剪接,并增加、恢复和/或稳定UNC13A水平(例如,UNC13A mRNA或蛋白质水平)和/或活性(例如,生物活性,例如UNC13A活性)。在某些实施方案中,本文所述的UNC13A吗啉代低聚物可用作反义治疗药物,其以高特异性结合UNC13A前体mRNA序列并防止UNC13A前体mRNA的错误剪接,并增加、恢复和/或稳定UNC13A水平(例如,UNC13AmRNA或蛋白质水平)和/或活性(例如,生物活性,例如UNC13A活性)。在某些实施方案中,本文所述的UNC13A吗啉代低聚物还可用于结合UNC13A前体mRNA序列、改变UNC13A前体mRNA剪接和UNC13A基因表达,并增加、恢复和/或稳定UNC13A水平(例如,UNC13A mRNA或蛋白质水平)和/或活性(例如,生物活性,例如UNC13A活性)。与UNC13A转录本互补的UNC13A寡核苷酸

[0165] 在一些实施方案中,UNC13A AON包括与UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208)具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少%互补的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包括与UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208)具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少90-95%互补的序列。在具体的实施方案中,UNC13AAON包括与UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208)具有至少90%

(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少85%互补的序列。在具体的实施方案中,UNC13A AON包括与UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208)具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少84%至88%互补的序列。在具体的实施方案中,UNC13A AON包括与错误剪接的UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065)具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少89%至92%互补的序列。在具体的实施方案中,UNC13A AON包括与UNC13A转录本区域(例如,SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208)具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列至少94%至96%互补的序列。

[0166] 在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。在各种实施方案中,UNC13AAON包含与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。

[0167] 在一些实施方案中,UNC13A AON包含间隔区并具有含有至多7个连接核苷的区段。在一些实施方案中,UNC13A AON包含间隔区并具有含有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段。

[0168] UNC13A AON结合特异性可通过测量参数如解离常数、解链温度或其他标准如蛋白质或RNA表达水平的变化或测量UNC13A活性或表达的其他测定法来评估。

[0169] 在一些实施方案中,UNC13A AON可包括非双链寡核苷酸。在一些实施方案中,UNC13A AON可包括两个寡核苷酸的双链体,其中第一寡核苷酸包括与UNC13A前体mRNA序列完全或几乎完全互补的核碱基序列,并且第二寡核苷酸包括与第一寡核苷酸的核碱基序列互补的核碱基序列。

[0170] 在一些实施方案中,UNC13A AON可靶向由一个或多个物种的UNC13A基因产生的UNC13A前体mRNA。例如,UNC13A AON可靶向哺乳动物UNC13A基因,例如人(即,智人)UNC13A基因的UNC13A前体mRNA。在具体的实施方案中,UNC13A AON靶向人UNC13A前体mRNA。在一些实施方案中,UNC13A AON包括与UNC13A基因或UNC13A前体mRNA或其部分的核碱基序列互补的核碱基序列。

[0171] 本文所述的UNC13A AON包括包含下表1中列出的寡核苷酸序列的反义寡核苷酸:

表1示例UNC13A AON序列.

SEQ ID NO:	AON 序列* (5' → 3')	SEQ ID NO:	靶序列 (5' → 3')
1	GGAGGGGCCGAGCAATGACCCTCAC	1265	GTGAGGGTCATTGCTCGGCCCCTCC
2	GGGAGGGGCCGAGCAATGACCCTCA	1266	TGAGGGTCATTGCTCGGCCCCTCCC
3	TGGGAGGGGCCGAGCAATGACCCTC	1267	GAGGGTCATTGCTCGGCCCCTCCCA
4	ATGGGAGGGGCCGAGCAATGACCCT	1268	AGGGTCATTGCTCGGCCCCTCCCAT
5	CATGGGAGGGGCCGAGCAATGACCC	1269	GGGTCATTGCTCGGCCCCTCCCATG
6	GCATGGGAGGGGCCGAGCAATGACC	1270	GGTCATTGCTCGGCCCCTCCCATGC
7	GGCATGGGAGGGGCCGAGCAATGAC	1271	GTCATTGCTCGGCCCCTCCCATGCC
8	TGGCATGGGAGGGGCCGAGCAATGA	1272	TCATTGCTCGGCCCCTCCCATGCCA
9	GTGGCATGGGAGGGGCCGAGCAATG	1273	CATTGCTCGGCCCCTCCCATGCCAC
10	AGTGGCATGGGAGGGGCCGAGCAAT	1274	ATTGCTCGGCCCCTCCCATGCCACT
11	AAGTGGCATGGGAGGGGCCGAGCAA	1275	TTGCTCGGCCCCTCCCATGCCACTT
12	GAAGTGGCATGGGAGGGGCCGAGCA	1276	TGCTCGGCCCCTCCCATGCCACTTC
13	GGAAGTGGCATGGGAGGGGCCGAGC	1277	GCTCGGCCCCTCCCATGCCACTTCC
14	TGGAAGTGGCATGGGAGGGGCCGAG	1278	CTCGGCCCCTCCCATGCCACTTCCA
15	GTGGAAGTGGCATGGGAGGGGCCGA	1279	TCGGCCCCTCCCATGCCACTTCCAC
16	AGTGGAAGTGGCATGGGAGGGGCCG	1280	CGGCCCCTCCCATGCCACTTCCACT
17	GAGTGGAAGTGGCATGGGAGGGGCC	1281	GGCCCCTCCCATGCCACTTCCACTC
18	TGAGTGGAAGTGGCATGGGAGGGGC	1282	GCCCCTCCCATGCCACTTCCACTCA
19	GTGAGTGGAAGTGGCATGGGAGGGG	1283	CCCCTCCCATGCCACTTCCACTCAC
20	GGTGAGTGGAAGTGGCATGGGAGGG	1284	CCCTCCCATGCCACTTCCACTCACC
21	TGGTGAGTGGAAGTGGCATGGGAGG	1285	CCTCCCATGCCACTTCCACTCACCA
22	ATGGTGAGTGGAAGTGGCATGGGAG	1286	CTCCCATGCCACTTCCACTCACCAT
23	AATGGTGAGTGGAAGTGGCATGGGA	1287	TCCCATGCCACTTCCACTCACCATT
24	GAATGGTGAGTGGAAGTGGCATGGG	1288	CCCATGCCACTTCCACTCACCATTC
25	GGAATGGTGAGTGGAAGTGGCATGG	1289	CCATGCCACTTCCACTCACCATTCC
26	AGGAATGGTGAGTGGAAGTGGCATG	1290	CATGCCACTTCCACTCACCATTCCT
27	CAGGAATGGTGAGTGGAAGTGGCAT	1291	ATGCCACTTCCACTCACCATTCCTG
28	GCAGGAATGGTGAGTGGAAGTGGCA	1292	TGCCACTTCCACTCACCATTCCTGC
29	GGCAGGAATGGTGAGTGGAAGTGGC	1293	GCCACTTCCACTCACCATTCCTGCC
30	AGGCAGGAATGGTGAGTGGAAGTGG	1294	CCACTTCCACTCACCATTCCTGCCT
31	CAGGCAGGAATGGTGAGTGGAAGTG	1295	CACTTCCACTCACCATTCCTGCCTG
32	GCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAAGT	1296	ACTTCCACTCACCATTCCTGCCTGC
33	GGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAAG	1297	CTTCCACTCACCATTCCTGCCTGCC
34	GGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAA	1298	TTCCACTCACCATTCCTGCCTGCCC
35	TGGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGA	1299	TCCACTCACCATTCCTGCCTGCCCA
36	CTGGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGG	1300	CCACTCACCATTCCTGCCTGCCCAG
37	GCTGGGCAGGCAGGAATGGTGAGTG	1301	CACTCACCATTCCTGCCTGCCCAGC
38	AGCTGGGCAGGCAGGAATGGTGAGT	1302	ACTCACCATTCCTGCCTGCCCAGCT
39	GAGCTGGGCAGGCAGGAATGGTGAG	1303	CTCACCATTCCTGCCTGCCCAGCTC
40	AGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGTGA	1304	TCACCATTCCTGCCTGCCCAGCTCT
41	AAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGTG	1305	CACCATTCCTGCCTGCCCAGCTCTT

42	GAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGT	1306	ACCATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTC
43	GGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGG	1307	CCATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCC
44	AGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATG	1308	CATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCT
45	GAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAAT	1309	ATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTC
46	AGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAA	1310	TTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCT
47	AAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGA	1311	TCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTT
48	AAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGG	1312	CCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTT
49	GAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAG	1313	CTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTC
50	AGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCA	1314	TGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCT
51	CAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGC	1315	GCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTG
52	CCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGG	1316	CCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGG
53	GCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAG	1317	CTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGC
54	GGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCA	1318	TGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCC
55	TGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGC	1319	GCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCA
56	GTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGG	1320	CCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCAC
57	TGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGG	1321	CCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCACA
58	GTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTG	1322	CAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCACAC
59	GGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCT	1323	AGCTCTTCCTCTTTCTGGCCACACC
60	TGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGC	1324	GCTCTTCCTCTTTCTGGCCACACCA
61	ATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAG	1325	CTCTTCCTCTTTCTGGCCACACCAT
62	GATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGA	1326	TCTTCCTCTTTCTGGCCACACCATC
63	GGATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAG	1327	CTTCCTCTTTCTGGCCACACCATCC
64	TGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAA	1328	TTCCTCTTTCTGGCCACACCATCCA
65	GTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGGA	1329	TCCTCTTTCTGGCCACACCATCCAC
66	TGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGG	1330	CCTCTTTCTGGCCACACCATCCACA
67	GTGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAG	1331	CTCTTTCTGGCCACACCATCCACAC
68	AGTGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGA	1332	TCTTTCTGGCCACACCATCCACACT
69	GAGTGTGGATGGTGTGGCCAGAAAG	1333	CTTTCTGGCCACACCATCCACACTC
70	AGAGTGTGGATGGTGTGGCCAGAAA	1334	TTTCTGGCCACACCATCCACACTCT
71	GAGAGTGTGGATGGTGTGGCCAGAA	1335	TTCTGGCCACACCATCCACACTCTC
72	GGAGAGTGTGGATGGTGTGGCCAGA	1336	TCTGGCCACACCATCCACACTCTCC
73	AGGAGAGTGTGGATGGTGTGGCCAG	1337	CTGGCCACACCATCCACACTCTCCT
74	CAGGAGAGTGTGGATGGTGTGGCCA	1338	TGGCCACACCATCCACACTCTCCTG
75	CCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGGCC	1339	GGCCACACCATCCACACTCTCCTGG
76	GCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGGC	1340	GCCACACCATCCACACTCTCCTGGC
77	GGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGG	1341	CCACACCATCCACACTCTCCTGGCC
78	GGGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTG	1342	CACACCATCCACACTCTCCTGGCCC
79	AGGGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGT	1343	ACACCATCCACACTCTCCTGGCCCT
80	GAGGGCCAGGAGAGTGTGGATGGTG	1344	CACCATCCACACTCTCCTGGCCCTC
81	AGAGGGCCAGGAGAGTGTGGATGGT	1345	ACCATCCACACTCTCCTGGCCCTCT
82	CAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGATGG	1346	CCATCCACACTCTCCTGGCCCTCTG
83	TCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGATG	1347	CATCCACACTCTCCTGGCCCTCTGA
84	CTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGAT	1348	ATCCACACTCTCCTGGCCCTCTGAG

85	TCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGA	1349	TCCACACTCTCCTGGCCCTCTGAGA
86	GTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGG	1350	CCACACTCTCCTGGCCCTCTGAGAC
87	AGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTG	1351	CACACTCTCCTGGCCCTCTGAGACT
88	CAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGT	1352	ACACTCTCCTGGCCCTCTGAGACTG
89	GCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTG	1353	CACTCTCCTGGCCCTCTGAGACTGC
90	GGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGT	1354	ACTCTCCTGGCCCTCTGAGACTGCC
91	GGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAG	1355	CTCTCCTGGCCCTCTGAGACTGCCC
92	CGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGA	1356	TCTCCTGGCCCTCTGAGACTGCCCG
93	GCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAG	1357	CTCCTGGCCCTCTGAGACTGCCCGC
94	GGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGA	1358	TCCTGGCCCTCTGAGACTGCCCGCC
95	TGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGG	1359	CCTGGCCCTCTGAGACTGCCCGCCA
96	ATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAG	1360	CTGGCCCTCTGAGACTGCCCGCCAT
97	CATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCA	1361	TGGCCCTCTGAGACTGCCCGCCATG
98	GCATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCC	1362	GGCCCTCTGAGACTGCCCGCCATGC
99	GGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGC	1363	GCCCTCTGAGACTGCCCGCCATGCC
100	TGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGGG	1364	CCCTCTGAGACTGCCCGCCATGCCA
101	ATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGG	1365	CCTCTGAGACTGCCCGCCATGCCAT
102	AATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAG	1366	CTCTGAGACTGCCCGCCATGCCATT
103	GAATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGA	1367	TCTGAGACTGCCCGCCATGCCATTC
104	GGAATGGCATGGCGGGCAGTCTCAG	1368	CTGAGACTGCCCGCCATGCCATTCC
105	GGGAATGGCATGGCGGGCAGTCTCA	1369	TGAGACTGCCCGCCATGCCATTCCC
106	AGGGAATGGCATGGCGGGCAGTCTC	1370	GAGACTGCCCGCCATGCCATTCCCT
107	AAGGGAATGGCATGGCGGGCAGTCT	1371	AGACTGCCCGCCATGCCATTCCCTT
108	AAAGGGAATGGCATGGCGGGCAGTC	1372	GACTGCCCGCCATGCCATTCCCTTT
109	TAAAGGGAATGGCATGGCGGGCAGT	1373	ACTGCCCGCCATGCCATTCCCTTTA
110	GTAAAGGGAATGGCATGGCGGGCAG	1374	CTGCCCGCCATGCCATTCCCTTTAC
111	GGTAAAGGGAATGGCATGGCGGGCA	1375	TGCCCGCCATGCCATTCCCTTTACC
112	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	1376	GCCCGCCATGCCATTCCCTTTACCT
113	CAGGTAAAGGGAATGGCATGGCGGG	1377	CCCGCCATGCCATTCCCTTTACCTG
114	CCAGGTAAAGGGAATGGCATGGCGG	1378	CCGCCATGCCATTCCCTTTACCTGG
115	TCCAGGTAAAGGGAATGGCATGGCG	1379	CGCCATGCCATTCCCTTTACCTGGA
116	TTCCAGGTAAAGGGAATGGCATGGC	1380	GCCATGCCATTCCCTTTACCTGGAA
117	TTTCCAGGTAAAGGGAATGGCATGG	1381	CCATGCCATTCCCTTTACCTGGAAA
118	TTTTCCAGGTAAAGGGAATGGCATG	1382	CATGCCATTCCCTTTACCTGGAAAA
119	GTTTTCCAGGTAAAGGGAATGGCAT	1383	ATGCCATTCCCTTTACCTGGAAAAC
120	AGTTTTCCAGGTAAAGGGAATGGCA	1384	TGCCATTCCCTTTACCTGGAAAACT
121	GAGTTTTCCAGGTAAAGGGAATGGC	1385	GCCATTCCCTTTACCTGGAAAACTC
122	GGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAATGG	1386	CCATTCCCTTTACCTGGAAAACTCC
123	AGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAATG	1387	CATTCCCTTTACCTGGAAAACTCCT
124	GAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAAT	1388	ATTCCCTTTACCTGGAAAACTCCTC
125	GGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAA	1389	TTCCCTTTACCTGGAAAACTCCTCC
126	GGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGA	1390	TCCCTTTACCTGGAAAACTCCTCCC
127	AGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGG	1391	CCCTTTACCTGGAAAACTCCTCCCT

128	TAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGG	1392	CCTTTACCTGGAAAACTCCTCCCTA
129	ATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAG	1393	CTTTACCTGGAAAACTCCTCCCTAT
130	GATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAA	1394	TTTACCTGGAAAACTCCTCCCTATC
131	GGATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAA	1395	TTACCTGGAAAACTCCTCCCTATCC
132	TGGATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTA	1396	TACCTGGAAAACTCCTCCCTATCCA
133	ATGGATAGGGAGGAGTTTTCCAGGT	1397	ACCTGGAAAACTCCTCCCTATCCAT
134	GATGGATAGGGAGGAGTTTTCCAGG	1398	CCTGGAAAACTCCTCCCTATCCATC
135	TGATGGATAGGGAGGAGTTTTCCAG	1399	CTGGAAAACTCCTCCCTATCCATCA
136	TTGATGGATAGGGAGGAGTTTTCCA	1400	TGGAAAACTCCTCCCTATCCATCAA
137	TTTGATGGATAGGGAGGAGTTTTCC	1401	GGAAAACTCCTCCCTATCCATCAAA
138	CTTTGATGGATAGGGAGGAGTTTTC	1402	GAAAACTCCTCCCTATCCATCAAAG
139	ACTTTGATGGATAGGGAGGAGTTTT	1403	AAAACTCCTCCCTATCCATCAAAGT
140	GACTTTGATGGATAGGGAGGAGTTT	1404	AAACTCCTCCCTATCCATCAAAGTC
141	GGACTTTGATGGATAGGGAGGAGTT	1405	AACTCCTCCCTATCCATCAAAGTCC
142	TGGACTTTGATGGATAGGGAGGAGT	1406	ACTCCTCCCTATCCATCAAAGTCCA
143	CTGGACTTTGATGGATAGGGAGGAG	1407	CTCCTCCCTATCCATCAAAGTCCAG
144	TCTGGACTTTGATGGATAGGGAGGA	1408	TCCTCCCTATCCATCAAAGTCCAGA
145	ATCTGGACTTTGATGGATAGGGAGG	1409	CCTCCCTATCCATCAAAGTCCAGAT
146	AATCTGGACTTTGATGGATAGGGAG	1410	CTCCCTATCCATCAAAGTCCAGATT
147	GAATCTGGACTTTGATGGATAGGGA	1411	TCCCTATCCATCAAAGTCCAGATTC
148	TGAATCTGGACTTTGATGGATAGGG	1412	CCCTATCCATCAAAGTCCAGATTCA
149	CTGAATCTGGACTTTGATGGATAGG	1413	CCTATCCATCAAAGTCCAGATTCAG
150	CCTGAATCTGGACTTTGATGGATAG	1414	CTATCCATCAAAGTCCAGATTCAGG
151	CCCTGAATCTGGACTTTGATGGATA	1415	TATCCATCAAAGTCCAGATTCAGGG
152	ACCCTGAATCTGGACTTTGATGGAT	1416	ATCCATCAAAGTCCAGATTCAGGGT
153	GACCCTGAATCTGGACTTTGATGGA	1417	TCCATCAAAGTCCAGATTCAGGGTC
154	TGACCCTGAATCTGGACTTTGATGG	1418	CCATCAAAGTCCAGATTCAGGGTCA
155	GTGACCCTGAATCTGGACTTTGATG	1419	CATCAAAGTCCAGATTCAGGGTCAC
156	GGTGACCCTGAATCTGGACTTTGAT	1420	ATCAAAGTCCAGATTCAGGGTCACC
157	AGGTGACCCTGAATCTGGACTTTGA	1421	TCAAAGTCCAGATTCAGGGTCACCT
158	GAGGTGACCCTGAATCTGGACTTTG	1422	CAAAGTCCAGATTCAGGGTCACCTC
159	GGAGGTGACCCTGAATCTGGACTTT	1423	AAAGTCCAGATTCAGGGTCACCTCC
160	AGGAGGTGACCCTGAATCTGGACTT	1424	AAGTCCAGATTCAGGGTCACCTCCT
161	GAGGAGGTGACCCTGAATCTGGACT	1425	AGTCCAGATTCAGGGTCACCTCCTC
162	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	1426	GTCCAGATTCAGGGTCACCTCCTCT
163	CAGAGGAGGTGACCCTGAATCTGGA	1427	TCCAGATTCAGGGTCACCTCCTCTG
164	CCAGAGGAGGTGACCCTGAATCTGG	1428	CCAGATTCAGGGTCACCTCCTCTGG
165	CCCAGAGGAGGTGACCCTGAATCTG	1429	CAGATTCAGGGTCACCTCCTCTGGG
166	TCCCAGAGGAGGTGACCCTGAATCT	1430	AGATTCAGGGTCACCTCCTCTGGGA
167	TTCCCAGAGGAGGTGACCCTGAATC	1431	GATTCAGGGTCACCTCCTCTGGGAA
168	CTTCCCAGAGGAGGTGACCCTGAAT	1432	ATTCAGGGTCACCTCCTCTGGGAAG
169	GCTTCCCAGAGGAGGTGACCCTGAA	1433	TTCAGGGTCACCTCCTCTGGGAAGC
170	GGCTTCCCAGAGGAGGTGACCCTGA	1434	TCAGGGTCACCTCCTCTGGGAAGCC

171	GGGCTTCCCAGAGGAGGTGACCCTG	1435	CAGGGTCACCTCCTCTGGGAAGCCC
172	TGGGCTTCCCAGAGGAGGTGACCCT	1436	AGGGTCACCTCCTCTGGGAAGCCCA
173	GTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGACCC	1437	GGGTCACCTCCTCTGGGAAGCCCAC
174	GGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGACC	1438	GGTCACCTCCTCTGGGAAGCCCACC
175	AGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGAC	1439	GTCACCTCCTCTGGGAAGCCCACCT
176	AAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGA	1440	TCACCTCCTCTGGGAAGCCCACCTT
177	CAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTG	1441	CACCTCCTCTGGGAAGCCCACCTTG
178	CCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGT	1442	ACCTCCTCTGGGAAGCCCACCTTGG
179	GCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGG	1443	CCTCCTCTGGGAAGCCCACCTTGGC
180	GGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAG	1444	CTCCTCTGGGAAGCCCACCTTGGCC
181	AGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGA	1445	TCCTCTGGGAAGCCCACCTTGGCCT
182	GAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGG	1446	CCTCTGGGAAGCCCACCTTGGCCTC
183	GGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAG	1447	CTCTGGGAAGCCCACCTTGGCCTCC
184	TGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGA	1448	TCTGGGAAGCCCACCTTGGCCTCCA
185	CTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAG	1449	CTGGGAAGCCCACCTTGGCCTCCAG
186	CCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCA	1450	TGGGAAGCCCACCTTGGCCTCCAGG
187	ACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCC	1451	GGGAAGCCCACCTTGGCCTCCAGGT
188	AACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCC	1452	GGAAGCCCACCTTGGCCTCCAGGTT
189	CAACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTC	1453	GAAGCCCACCTTGGCCTCCAGGTTG
190	TCAACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTT	1454	AAGCCCACCTTGGCCTCCAGGTTGA
191	GTCAACCTGGAGGCCAAGGTGGGCT	1455	AGCCCACCTTGGCCTCCAGGTTGAC
192	AGTCAACCTGGAGGCCAAGGTGGGC	1456	GCCCACCTTGGCCTCCAGGTTGACT
193	GAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTGGG	1457	CCCACCTTGGCCTCCAGGTTGACTC
194	AGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTGG	1458	CCACCTTGGCCTCCAGGTTGACTCT
195	GAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTG	1459	CACCTTGGCCTCCAGGTTGACTCTC
196	TGAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGT	1460	ACCTTGGCCTCCAGGTTGACTCTCA
197	GTGAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGG	1461	CCTTGGCCTCCAGGTTGACTCTCAC
198	AGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCAAG	1462	CTTGGCCTCCAGGTTGACTCTCACT
199	TAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCAA	1463	TTGGCCTCCAGGTTGACTCTCACTA
200	GTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCA	1464	TGGCCTCCAGGTTGACTCTCACTAC
201	AGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCC	1465	GGCCTCCAGGTTGACTCTCACTACT
202	GAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGC	1466	GCCTCCAGGTTGACTCTCACTACTC
203	TGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGG	1467	CCTCCAGGTTGACTCTCACTACTCA
204	ATGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAG	1468	CTCCAGGTTGACTCTCACTACTCAT
205	GATGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGA	1469	TCCAGGTTGACTCTCACTACTCATC
206	TGATGAGTAGTGAGAGTCAACCTGG	1470	CCAGGTTGACTCTCACTACTCATCA
207	ATGATGAGTAGTGAGAGTCAACCTG	1471	CAGGTTGACTCTCACTACTCATCAT
208	GATGATGAGTAGTGAGAGTCAACCT	1472	AGGTTGACTCTCACTACTCATCATC
209	TGATGATGAGTAGTGAGAGTCAACC	1473	GGTTGACTCTCACTACTCATCATCA
210	CTGATGATGAGTAGTGAGAGTCAAC	1474	GTTGACTCTCACTACTCATCATCAG
211	CCTGATGATGAGTAGTGAGAGTCAA	1475	TTGACTCTCACTACTCATCATCAGG
212	ACCTGATGATGAGTAGTGAGAGTCA	1476	TGACTCTCACTACTCATCATCAGGT
213	AACCTGATGATGAGTAGTGAGAGTC	1477	GACTCTCACTACTCATCATCAGGTT

214	GAACCTGATGATGAGTAGTGAGAGT	1478	ACTCTCACTACTCATCATCAGGTTC
215	AGAACCTGATGATGAGTAGTGAGAG	1479	CTCTCACTACTCATCATCAGGTTCT
216	AAGAACCTGATGATGAGTAGTGAGA	1480	TCTCACTACTCATCATCAGGTTCTT
217	GAAGAACCTGATGATGAGTAGTGAG	1481	CTCACTACTCATCATCAGGTTCTTC
218	GGAAGAACCTGATGATGAGTAGTGA	1482	TCACTACTCATCATCAGGTTCTTCC
219	AGGAAGAACCTGATGATGAGTAGTG	1483	CACTACTCATCATCAGGTTCTTCCT
220	AAGGAAGAACCTGATGATGAGTAGT	1484	ACTACTCATCATCAGGTTCTTCCTT
221	GAAGGAAGAACCTGATGATGAGTAG	1485	CTACTCATCATCAGGTTCTTCCTTC
222	AGAAGGAAGAACCTGATGATGAGTA	1486	TACTCATCATCAGGTTCTTCCTTCT
223	TAGAAGGAAGAACCTGATGATGAGT	1487	ACTCATCATCAGGTTCTTCCTTCTA
224	ATAGAAGGAAGAACCTGATGATGAG	1488	CTCATCATCAGGTTCTTCCTTCTAT
225	AATAGAAGGAAGAACCTGATGATGA	1489	TCATCATCAGGTTCTTCCTTCTATT
226	GAATAGAAGGAAGAACCTGATGATG	1490	CATCATCAGGTTCTTCCTTCTATTC
227	GGAATAGAAGGAAGAACCTGATGAT	1491	ATCATCAGGTTCTTCCTTCTATTCC
228	TGGAATAGAAGGAAGAACCTGATGA	1492	TCATCAGGTTCTTCCTTCTATTCCA
229	CTGGAATAGAAGGAAGAACCTGATG	1493	CATCAGGTTCTTCCTTCTATTCCAG
230	GCTGGAATAGAAGGAAGAACCTGAT	1494	ATCAGGTTCTTCCTTCTATTCCAGC
231	GGCTGGAATAGAAGGAAGAACCTGA	1495	TCAGGTTCTTCCTTCTATTCCAGCC
232	GGGCTGGAATAGAAGGAAGAACCTG	1496	CAGGTTCTTCCTTCTATTCCAGCCC
233	AGGGCTGGAATAGAAGGAAGAACCT	1497	AGGTTCTTCCTTCTATTCCAGCCCT
234	TAGGGCTGGAATAGAAGGAAGAACC	1498	GGTTCTTCCTTCTATTCCAGCCCTA
235	TTAGGGCTGGAATAGAAGGAAGAAC	1499	GTTCTTCCTTCTATTCCAGCCCTAA
236	GTTAGGGCTGGAATAGAAGGAAGAA	1500	TTCTTCCTTCTATTCCAGCCCTAAC
237	GGTTAGGGCTGGAATAGAAGGAAGA	1501	TCTTCCTTCTATTCCAGCCCTAACC
238	TGGTTAGGGCTGGAATAGAAGGAAG	1502	CTTCCTTCTATTCCAGCCCTAACCA
239	GTGGTTAGGGCTGGAATAGAAGGAA	1503	TTCCTTCTATTCCAGCCCTAACCAC
240	AGTGGTTAGGGCTGGAATAGAAGGA	1504	TCCTTCTATTCCAGCCCTAACCACT
241	GAGTGGTTAGGGCTGGAATAGAAGG	1505	CCTTCTATTCCAGCCCTAACCACTC
242	TGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGAAG	1506	CTTCTATTCCAGCCCTAACCACTCA
243	CTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGAA	1507	TTCTATTCCAGCCCTAACCACTCAG
244	CCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGA	1508	TCTATTCCAGCCCTAACCACTCAGG
245	TCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAG	1509	CTATTCCAGCCCTAACCACTCAGGA
246	ATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATA	1510	TATTCCAGCCCTAACCACTCAGGAT
247	AATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAAT	1511	ATTCCAGCCCTAACCACTCAGGATT
248	CAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAA	1512	TTCCAGCCCTAACCACTCAGGATTG
249	CCAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGA	1513	TCCAGCCCTAACCACTCAGGATTGG
250	CCCAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGG	1514	CCAGCCCTAACCACTCAGGATTGGG
251	GCCCAATCCTGAGTGGTTAGGGCTG	1515	CAGCCCTAACCACTCAGGATTGGGC
252	GGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGGCT	1516	AGCCCTAACCACTCAGGATTGGGCC
253	CGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGGC	1517	GCCCTAACCACTCAGGATTGGGCCG
254	ACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGG	1518	CCCTAACCACTCAGGATTGGGCCGT
255	AACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGG	1519	CCTAACCACTCAGGATTGGGCCGTT
256	AAACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAG	1520	CTAACCACTCAGGATTGGGCCGTTT

257	CAAACGGCCCAATCCTGAGTGGTTA	1521	TAACCACTCAGGATTGGGCCGTTTG
258	ACAAACGGCCCAATCCTGAGTGGTT	1522	AACCACTCAGGATTGGGCCGTTTGT
259	CACAAACGGCCCAATCCTGAGTGGT	1523	ACCACTCAGGATTGGGCCGTTTGTG
260	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	1524	CCACTCAGGATTGGGCCGTTTGTGT
261	GACACAAACGGCCCAATCCTGAGTG	1525	CACTCAGGATTGGGCCGTTTGTGTC
262	AGACACAAACGGCCCAATCCTGAGT	1526	ACTCAGGATTGGGCCGTTTGTGTCT
263	CAGACACAAACGGCCCAATCCTGAG	1527	CTCAGGATTGGGCCGTTTGTGTCTG
264	CCAGACACAAACGGCCCAATCCTGA	1528	TCAGGATTGGGCCGTTTGTGTCTGG
265	CCCAGACACAAACGGCCCAATCCTG	1529	CAGGATTGGGCCGTTTGTGTCTGGG
266	ACCCAGACACAAACGGCCCAATCCT	1530	AGGATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGT
267	TACCCAGACACAAACGGCCCAATCC	1531	GGATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTA
268	ATACCCAGACACAAACGGCCCAATC	1532	GATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTAT
269	CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT	1533	ATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTATG
270	ACATACCCAGACACAAACGGCCCAA	1534	TTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTATGT
271	GACATACCCAGACACAAACGGCCCA	1535	TGGGCCGTTTGTGTCTGGGTATGTC
272	AGACATACCCAGACACAAACGGCCC	1536	GGGCCGTTTGTGTCTGGGTATGTCT
273	GAGACATACCCAGACACAAACGGCC	1537	GGCCGTTTGTGTCTGGGTATGTCTC
274	AGAGACATACCCAGACACAAACGGC	1538	GCCGTTTGTGTCTGGGTATGTCTCT
275	AAGAGACATACCCAGACACAAACGG	1539	CCGTTTGTGTCTGGGTATGTCTCTT
276	GAAGAGACATACCCAGACACAAACG	1540	CGTTTGTGTCTGGGTATGTCTCTTC
277	GGAAGAGACATACCCAGACACAAAC	1541	GTTTGTGTCTGGGTATGTCTCTTCC
278	TGGAAGAGACATACCCAGACACAAA	1542	TTTGTGTCTGGGTATGTCTCTTCCA
279	CTGGAAGAGACATACCCAGACACAA	1543	TTGTGTCTGGGTATGTCTCTTCCAG
280	GCTGGAAGAGACATACCCAGACACA	1544	TGTGTCTGGGTATGTCTCTTCCAGC
281	AGCTGGAAGAGACATACCCAGACAC	1545	GTGTCTGGGTATGTCTCTTCCAGCT
282	CAGCTGGAAGAGACATACCCAGACA	1546	TGTCTGGGTATGTCTCTTCCAGCTG
283	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	1547	GTCTGGGTATGTCTCTTCCAGCTGC
284	GGCAGCTGGAAGAGACATACCCAGA	1548	TCTGGGTATGTCTCTTCCAGCTGCC
285	AGGCAGCTGGAAGAGACATACCCAG	1549	CTGGGTATGTCTCTTCCAGCTGCCT
286	CAGGCAGCTGGAAGAGACATACCCA	1550	TGGGTATGTCTCTTCCAGCTGCCTG
287	CCAGGCAGCTGGAAGAGACATACCC	1551	GGGTATGTCTCTTCCAGCTGCCTGG
288	CCCAGGCAGCTGGAAGAGACATACC	1552	GGTATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGG
289	ACCCAGGCAGCTGGAAGAGACATAC	1553	GTATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGT
290	AACCCAGGCAGCTGGAAGAGACATA	1554	TATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTT
291	AAACCCAGGCAGCTGGAAGAGACAT	1555	ATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTT
292	GAAACCCAGGCAGCTGGAAGAGACA	1556	TGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTC
293	GGAAACCCAGGCAGCTGGAAGAGAC	1557	GTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCC
294	AGGAAACCCAGGCAGCTGGAAGAGA	1558	TCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCT
295	CAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAGAG	1559	CTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTG
296	CCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAGA	1560	TCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGG
297	TCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAG	1561	CTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGA
298	TTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAA	1562	TTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAA
299	TTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGA	1563	TCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAA

300	CTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGG	1564	CCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAG
301	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG	1565	CAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGA
302	TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCT	1566	AGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAA
303	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	1567	GCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAAC
304	AGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG	1568	CTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAACT
305	GAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	1569	TGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAACTC
306	AGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGC	1570	GCCTGGGTTTCCTGGAAAGAACTCT
307	AAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGG	1571	CCTGGGTTTCCTGGAAAGAACTCTT
308	TAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAG	1572	CTGGGTTTCCTGGAAAGAACTCTTA
309	ATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCA	1573	TGGGTTTCCTGGAAAGAACTCTTAT
310	GATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCC	1574	GGGTTTCCTGGAAAGAACTCTTATC
311	GGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACC	1575	GGTTTCCTGGAAAGAACTCTTATCC
312	GGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAAC	1576	GTTTCCTGGAAAGAACTCTTATCCC
313	GGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAA	1577	TTTCCTGGAAAGAACTCTTATCCCC
314	TGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAA	1578	TTCCTGGAAAGAACTCTTATCCCCA
315	CTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGA	1579	TCCTGGAAAGAACTCTTATCCCCAG
316	CCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGG	1580	CCTGGAAAGAACTCTTATCCCCAGG
317	TCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAG	1581	CTGGAAAGAACTCTTATCCCCAGGA
318	TTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCA	1582	TGGAAAGAACTCTTATCCCCAGGAA
319	GTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCC	1583	GGAAAGAACTCTTATCCCCAGGAAC
320	AGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTC	1584	GAAAGAACTCTTATCCCCAGGAACT
321	TAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTT	1585	AAAGAACTCTTATCCCCAGGAACTA
322	CTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTT	1586	AAGAACTCTTATCCCCAGGAACTAG
323	ACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCT	1587	AGAACTCTTATCCCCAGGAACTAGT
324	AACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTC	1588	GAACTCTTATCCCCAGGAACTAGTT
325	AAACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTT	1589	AACTCTTATCCCCAGGAACTAGTTT
326	CAAACTAGTTCCTGGGGATAAGAGT	1590	ACTCTTATCCCCAGGAACTAGTTTG
327	ACAAACTAGTTCCTGGGGATAAGAG	1591	CTCTTATCCCCAGGAACTAGTTTGT
328	AACAAACTAGTTCCTGGGGATAAGA	1592	TCTTATCCCCAGGAACTAGTTTGTT
329	CAACAAACTAGTTCCTGGGGATAAG	1593	CTTATCCCCAGGAACTAGTTTGTTG
330	TCAACAAACTAGTTCCTGGGGATAA	1594	TTATCCCCAGGAACTAGTTTGTTGA
331	TTCAACAAACTAGTTCCTGGGGATA	1595	TATCCCCAGGAACTAGTTTGTTGAA
332	ATTCAACAAACTAGTTCCTGGGGAT	1596	ATCCCCAGGAACTAGTTTGTTGAAT
333	TATTCAACAAACTAGTTCCTGGGGA	1597	TCCCCAGGAACTAGTTTGTTGAATA
334	TTATTCAACAAACTAGTTCCTGGGG	1598	CCCCAGGAACTAGTTTGTTGAATAA
335	TTTATTCAACAAACTAGTTCCTGGG	1599	CCCAGGAACTAGTTTGTTGAATAAA
336	ATTTATTCAACAAACTAGTTCCTGG	1600	CCAGGAACTAGTTTGTTGAATAAAT
337	CATTTATTCAACAAACTAGTTCCTG	1601	CAGGAACTAGTTTGTTGAATAAATG
338	GCATTTATTCAACAAACTAGTTCCT	1602	AGGAACTAGTTTGTTGAATAAATGC
339	AGCATTTATTCAACAAACTAGTTCC	1603	GGAACTAGTTTGTTGAATAAATGCT
340	CAGCATTTATTCAACAAACTAGTTC	1604	GAACTAGTTTGTTGAATAAATGCTG
341	CCAGCATTTATTCAACAAACTAGTT	1605	AACTAGTTTGTTGAATAAATGCTGG
342	ACCAGCATTTATTCAACAAACTAGT	1606	ACTAGTTTGTTGAATAAATGCTGGT

343	CACCAGCATTTATTCAACAAACTAG	1607	CTAGTTTGTTGAATAAATGCTGGTG
344	TCACCAGCATTTATTCAACAAACTA	1608	TAGTTTGTTGAATAAATGCTGGTGA
345	TTCACCAGCATTTATTCAACAAACT	1609	AGTTTGTTGAATAAATGCTGGTGAA
346	ATTCACCAGCATTTATTCAACAAAC	1610	GTTTGTTGAATAAATGCTGGTGAAT
347	CATTCACCAGCATTTATTCAACAAA	1611	TTTGTTGAATAAATGCTGGTGAATG
348	TCATTCACCAGCATTTATTCAACAA	1612	TTGTTGAATAAATGCTGGTGAATGA
349	TTCATTCACCAGCATTTATTCAACA	1613	TGTTGAATAAATGCTGGTGAATGAA
350	ATTCATTCACCAGCATTTATTCAAC	1614	GTTGAATAAATGCTGGTGAATGAAT
351	CATTCATTCACCAGCATTTATTCAA	1615	TTGAATAAATGCTGGTGAATGAATG
352	TCATTCATTCACCAGCATTTATTCA	1616	TGAATAAATGCTGGTGAATGAATGA
353	TTCATTCATTCACCAGCATTTATTC	1617	GAATAAATGCTGGTGAATGAATGAA
354	ATTCATTCATTCACCAGCATTTATT	1618	AATAAATGCTGGTGAATGAATGAAT
355	CATTCATTCATTCACCAGCATTTAT	1619	ATAAATGCTGGTGAATGAATGAATG
356	TCATTCATTCATTCACCAGCATTTA	1620	TAAATGCTGGTGAATGAATGAATGA
357	ATCATTCATTCATTCACCAGCATTT	1621	AAATGCTGGTGAATGAATGAATGAT
358	AATCATTCATTCATTCACCAGCATT	1622	AATGCTGGTGAATGAATGAATGATT
359	CAATCATTCATTCATTCACCAGCAT	1623	ATGCTGGTGAATGAATGAATGATTG
360	TCAATCATTCATTCATTCACCAGCA	1624	TGCTGGTGAATGAATGAATGATTGA
361	TTCAATCATTCATTCATTCACCAGC	1625	GCTGGTGAATGAATGAATGATTGAA
362	GTTCAATCATTCATTCATTCACCAG	1626	CTGGTGAATGAATGAATGATTGAAC
363	TGTTCAATCATTCATTCATTCACCA	1627	TGGTGAATGAATGAATGATTGAACA
364	CTGTTCAATCATTCATTCATTCACC	1628	GGTGAATGAATGAATGATTGAACAG
365	TCTGTTCAATCATTCATTCATTCAC	1629	GTGAATGAATGAATGATTGAACAGA
366	ATCTGTTCAATCATTCATTCATTCA	1630	TGAATGAATGAATGATTGAACAGAT
367	CATCTGTTCAATCATTCATTCATTC	1631	GAATGAATGAATGATTGAACAGATG
368	TCATCTGTTCAATCATTCATTCATT	1632	AATGAATGAATGATTGAACAGATGA
369	TTCATCTGTTCAATCATTCATTCAT	1633	ATGAATGAATGATTGAACAGATGAA
370	ATTCATCTGTTCAATCATTCATTCA	1634	TGAATGAATGATTGAACAGATGAAT
371	CATTCATCTGTTCAATCATTCATTC	1635	GAATGAATGATTGAACAGATGAATG
372	TCATTCATCTGTTCAATCATTCATT	1636	AATGAATGATTGAACAGATGAATGA
373	CTCATTCATCTGTTCAATCATTCAT	1637	ATGAATGATTGAACAGATGAATGAG
374	ACTCATTCATCTGTTCAATCATTCA	1638	TGAATGATTGAACAGATGAATGAGT
375	CACTCATTCATCTGTTCAATCATTC	1639	GAATGATTGAACAGATGAATGAGTG
376	TCACTCATTCATCTGTTCAATCATT	1640	AATGATTGAACAGATGAATGAGTGA
377	ATCACTCATTCATCTGTTCAATCAT	1641	ATGATTGAACAGATGAATGAGTGAT
378	CATCACTCATTCATCTGTTCAATCA	1642	TGATTGAACAGATGAATGAGTGATG
379	TCATCACTCATTCATCTGTTCAATC	1643	GATTGAACAGATGAATGAGTGATGA
380	CTCATCACTCATTCATCTGTTCAAT	1644	ATTGAACAGATGAATGAGTGATGAG
381	ACTCATCACTCATTCATCTGTTCAA	1645	TTGAACAGATGAATGAGTGATGAGT
382	TACTCATCACTCATTCATCTGTTCA	1646	TGAACAGATGAATGAGTGATGAGTA
383	CTACTCATCACTCATTCATCTGTTC	1647	GAACAGATGAATGAGTGATGAGTAG
384	TCTACTCATCACTCATTCATCTGTT	1648	AACAGATGAATGAGTGATGAGTAGA
385	ATCTACTCATCACTCATTCATCTGT	1649	ACAGATGAATGAGTGATGAGTAGAT

386	TATCTACTCATCACTCATTCATCTG	1650	CAGATGAATGAGTGATGAGTAGATA
387	TTATCTACTCATCACTCATTCATCT	1651	AGATGAATGAGTGATGAGTAGATAA
388	TTTATCTACTCATCACTCATTCATC	1652	GATGAATGAGTGATGAGTAGATAAA
389	TTTTATCTACTCATCACTCATTCAT	1653	ATGAATGAGTGATGAGTAGATAAAA
390	CTTTTATCTACTCATCACTCATTCA	1654	TGAATGAGTGATGAGTAGATAAAAG
391	CCTTTTATCTACTCATCACTCATTC	1655	GAATGAGTGATGAGTAGATAAAAGG
392	TCCTTTTATCTACTCATCACTCATT	1656	AATGAGTGATGAGTAGATAAAAGGA
393	ATCCTTTTATCTACTCATCACTCAT	1657	ATGAGTGATGAGTAGATAAAAGGAT
394	CATCCTTTTATCTACTCATCACTCA	1658	TGAGTGATGAGTAGATAAAAGGATG
395	CCATCCTTTTATCTACTCATCACTC	1659	GAGTGATGAGTAGATAAAAGGATGG
396	TCCATCCTTTTATCTACTCATCACT	1660	AGTGATGAGTAGATAAAAGGATGGA
397	ATCCATCCTTTTATCTACTCATCAC	1661	GTGATGAGTAGATAAAAGGATGGAT
398	CATCCATCCTTTTATCTACTCATCA	1662	TGATGAGTAGATAAAAGGATGGATG
399	CCATCCATCCTTTTATCTACTCATC	1663	GATGAGTAGATAAAAGGATGGATGG
400	TCCATCCATCCTTTTATCTACTCAT	1664	ATGAGTAGATAAAAGGATGGATGGA
401	CTCCATCCATCCTTTTATCTACTCA	1665	TGAGTAGATAAAAGGATGGATGGAG
402	TCTCCATCCATCCTTTTATCTACTC	1666	GAGTAGATAAAAGGATGGATGGAGA
403	CTCTCCATCCATCCTTTTATCTACT	1667	AGTAGATAAAAGGATGGATGGAGAG
404	TCTCTCCATCCATCCTTTTATCTAC	1668	GTAGATAAAAGGATGGATGGAGAGA
405	ATCTCTCCATCCATCCTTTTATCTA	1669	TAGATAAAAGGATGGATGGAGAGAT
406	CATCTCTCCATCCATCCTTTTATCT	1670	AGATAAAAGGATGGATGGAGAGATG
407	CCATCTCTCCATCCATCCTTTTATC	1671	GATAAAAGGATGGATGGAGAGATGG
408	CCCATCTCTCCATCCATCCTTTTAT	1672	ATAAAAGGATGGATGGAGAGATGGG
409	ACCCATCTCTCCATCCATCCTTTTA	1673	TAAAAGGATGGATGGAGAGATGGGT
410	CACCCATCTCTCCATCCATCCTTTT	1674	AAAAGGATGGATGGAGAGATGGGTG
411	TCACCCATCTCTCCATCCATCCTTT	1675	AAAGGATGGATGGAGAGATGGGTGA
412	CTCACCCATCTCTCCATCCATCCTT	1676	AAGGATGGATGGAGAGATGGGTGAG
413	ACTCACCCATCTCTCCATCCATCCT	1677	AGGATGGATGGAGAGATGGGTGAGT
414	TACTCACCCATCTCTCCATCCATCC	1678	GGATGGATGGAGAGATGGGTGAGTA
415	GTACTCACCCATCTCTCCATCCATC	1679	GATGGATGGAGAGATGGGTGAGTAC
416	TGTACTCACCCATCTCTCCATCCAT	1680	ATGGATGGAGAGATGGGTGAGTACA
417	ATGTACTCACCCATCTCTCCATCCA	1681	TGGATGGAGAGATGGGTGAGTACAT
418	CATGTACTCACCCATCTCTCCATCC	1682	GGATGGAGAGATGGGTGAGTACATG
419	CCATGTACTCACCCATCTCTCCATC	1683	GATGGAGAGATGGGTGAGTACATGG
420	TCCATGTACTCACCCATCTCTCCAT	1684	ATGGAGAGATGGGTGAGTACATGGA
421	ATCCATGTACTCACCCATCTCTCCA	1685	TGGAGAGATGGGTGAGTACATGGAT
422	CATCCATGTACTCACCCATCTCTCC	1686	GGAGAGATGGGTGAGTACATGGATG
423	CCATCCATGTACTCACCCATCTCTC	1687	GAGAGATGGGTGAGTACATGGATGG
424	TCCATCCATGTACTCACCCATCTCT	1688	AGAGATGGGTGAGTACATGGATGGA
425	ATCCATCCATGTACTCACCCATCTC	1689	GAGATGGGTGAGTACATGGATGGAT
426	TATCCATCCATGTACTCACCCATCT	1690	AGATGGGTGAGTACATGGATGGATA
427	CTATCCATCCATGTACTCACCCATC	1691	GATGGGTGAGTACATGGATGGATAG
428	TCTATCCATCCATGTACTCACCCAT	1692	ATGGGTGAGTACATGGATGGATAGA

429	ATCTATCCATCCATGTACTCACCCA	1693	TGGGTGAGTACATGGATGGATAGAT
430	CATCTATCCATCCATGTACTCACCC	1694	GGGTGAGTACATGGATGGATAGATG
431	CCATCTATCCATCCATGTACTCACC	1695	GGTGAGTACATGGATGGATAGATGG
432	TCCATCTATCCATCCATGTACTCAC	1696	GTGAGTACATGGATGGATAGATGGA
433	ATCCATCTATCCATCCATGTACTCA	1697	TGAGTACATGGATGGATAGATGGAT
434	CATCCATCTATCCATCCATGTACTC	1698	GAGTACATGGATGGATAGATGGATG
435	TCATCCATCTATCCATCCATGTACT	1699	AGTACATGGATGGATAGATGGATGA
436	CTCATCCATCTATCCATCCATGTAC	1700	GTACATGGATGGATAGATGGATGAG
437	ACTCATCCATCTATCCATCCATGTA	1701	TACATGGATGGATAGATGGATGAGT
438	AACTCATCCATCTATCCATCCATGT	1702	ACATGGATGGATAGATGGATGAGTT
439	CAACTCATCCATCTATCCATCCATG	1703	CATGGATGGATAGATGGATGAGTTG
440	CCAACTCATCCATCTATCCATCCAT	1704	ATGGATGGATAGATGGATGAGTTGG
441	ACCAACTCATCCATCTATCCATCCA	1705	TGGATGGATAGATGGATGAGTTGGT
442	CACCAACTCATCCATCTATCCATCC	1706	GGATGGATAGATGGATGAGTTGGTG
443	CCACCAACTCATCCATCTATCCATC	1707	GATGGATAGATGGATGAGTTGGTGG
444	CCCACCAACTCATCCATCTATCCAT	1708	ATGGATAGATGGATGAGTTGGTGGG
445	ACCCACCAACTCATCCATCTATCCA	1709	TGGATAGATGGATGAGTTGGTGGGT
446	TACCCACCAACTCATCCATCTATCC	1710	GGATAGATGGATGAGTTGGTGGGTA
447	CTACCCACCAACTCATCCATCTATC	1711	GATAGATGGATGAGTTGGTGGGTAG
448	TCTACCCACCAACTCATCCATCTAT	1712	ATAGATGGATGAGTTGGTGGGTAGA
449	ATCTACCCACCAACTCATCCATCTA	1713	TAGATGGATGAGTTGGTGGGTAGAT
450	AATCTACCCACCAACTCATCCATCT	1714	AGATGGATGAGTTGGTGGGTAGATT
451	GAATCTACCCACCAACTCATCCATC	1715	GATGGATGAGTTGGTGGGTAGATTC
452	CGAATCTACCCACCAACTCATCCAT	1716	ATGGATGAGTTGGTGGGTAGATTCG
453	ACGAATCTACCCACCAACTCATCCA	1717	TGGATGAGTTGGTGGGTAGATTCGT
454	CACGAATCTACCCACCAACTCATCC	1718	GGATGAGTTGGTGGGTAGATTCGTG
455	CCACGAATCTACCCACCAACTCATC	1719	GATGAGTTGGTGGGTAGATTCGTGG
456	GCCACGAATCTACCCACCAACTCAT	1720	ATGAGTTGGTGGGTAGATTCGTGGC
457	AGCCACGAATCTACCCACCAACTCA	1721	TGAGTTGGTGGGTAGATTCGTGGCT
458	TAGCCACGAATCTACCCACCAACTC	1722	GAGTTGGTGGGTAGATTCGTGGCTA
459	CTAGCCACGAATCTACCCACCAACT	1723	AGTTGGTGGGTAGATTCGTGGCTAG
460	TCTAGCCACGAATCTACCCACCAAC	1724	GTTGGTGGGTAGATTCGTGGCTAGA
461	ATCTAGCCACGAATCTACCCACCAA	1725	TTGGTGGGTAGATTCGTGGCTAGAT
462	CATCTAGCCACGAATCTACCCACCA	1726	TGGTGGGTAGATTCGTGGCTAGATG
463	CCATCTAGCCACGAATCTACCCACC	1727	GGTGGGTAGATTCGTGGCTAGATGG
464	TCCATCTAGCCACGAATCTACCCAC	1728	GTGGGTAGATTCGTGGCTAGATGGA
465	ATCCATCTAGCCACGAATCTACCCA	1729	TGGGTAGATTCGTGGCTAGATGGAT
466	CATCCATCTAGCCACGAATCTACCC	1730	GGGTAGATTCGTGGCTAGATGGATG
467	TCATCCATCTAGCCACGAATCTACC	1731	GGTAGATTCGTGGCTAGATGGATGA
468	ATCATCCATCTAGCCACGAATCTAC	1732	GTAGATTCGTGGCTAGATGGATGAT
469	CATCATCCATCTAGCCACGAATCTA	1733	TAGATTCGTGGCTAGATGGATGATG
470	CCATCATCCATCTAGCCACGAATCT	1734	AGATTCGTGGCTAGATGGATGATGG
471	TCCATCATCCATCTAGCCACGAATC	1735	GATTCGTGGCTAGATGGATGATGGA

472	ATCCATCATCCATCTAGCCACGAAT	1736	ATTCGTGGCTAGATGGATGATGGAT
473	CATCCATCATCCATCTAGCCACGAA	1737	TTCGTGGCTAGATGGATGATGGATG
474	CCATCCATCATCCATCTAGCCACGA	1738	TCGTGGCTAGATGGATGATGGATGG
475	TCCATCCATCATCCATCTAGCCACG	1739	CGTGGCTAGATGGATGATGGATGGA
476	ATCCATCCATCATCCATCTAGCCAC	1740	GTGGCTAGATGGATGATGGATGGAT
477	CATCCATCCATCATCCATCTAGCCA	1741	TGGCTAGATGGATGATGGATGGATG
478	CCATCCATCCATCATCCATCTAGCC	1742	GGCTAGATGGATGATGGATGGATGG
479	TCCATCCATCCATCATCCATCTAGC	1743	GCTAGATGGATGATGGATGGATGGA
480	GTCCATCCATCCATCATCCATCTAG	1744	CTAGATGGATGATGGATGGATGGAC
481	TGTCCATCCATCCATCATCCATCTA	1745	TAGATGGATGATGGATGGATGGACA
482	CTGTCCATCCATCCATCATCCATCT	1746	AGATGGATGATGGATGGATGGACAG
483	TCTGTCCATCCATCCATCATCCATC	1747	GATGGATGATGGATGGATGGACAGA
484	ATCTGTCCATCCATCCATCATCCAT	1748	ATGGATGATGGATGGATGGACAGAT
485	CATCTGTCCATCCATCCATCATCCA	1749	TGGATGATGGATGGATGGACAGATG
486	CCATCTGTCCATCCATCCATCATCC	1750	GGATGATGGATGGATGGACAGATGG
487	TCCATCTGTCCATCCATCCATCATC	1751	GATGATGGATGGATGGACAGATGGA
488	ATCCATCTGTCCATCCATCCATCAT	1752	ATGATGGATGGATGGACAGATGGAT
489	CATCCATCTGTCCATCCATCCATCA	1753	TGATGGATGGATGGACAGATGGATG
490	CCATCCATCTGTCCATCCATCCATC	1754	GATGGATGGATGGACAGATGGATGG
491	TCCATCCATCTGTCCATCCATCCAT	1755	ATGGATGGATGGACAGATGGATGGA
492	ATCCATCCATCTGTCCATCCATCCA	1756	TGGATGGATGGACAGATGGATGGAT
493	TATCCATCCATCTGTCCATCCATCC	1757	GGATGGATGGACAGATGGATGGATA
494	ATATCCATCCATCTGTCCATCCATC	1758	GATGGATGGACAGATGGATGGATAT
495	TATATCCATCCATCTGTCCATCCAT	1759	ATGGATGGACAGATGGATGGATATA
496	ATATATCCATCCATCTGTCCATCCA	1760	TGGATGGACAGATGGATGGATATAT
497	CATATATCCATCCATCTGTCCATCC	1761	GGATGGACAGATGGATGGATATATG
498	TCATATATCCATCCATCTGTCCATC	1762	GATGGACAGATGGATGGATATATGA
499	ATCATATATCCATCCATCTGTCCAT	1763	ATGGACAGATGGATGGATATATGAT
500	AATCATATATCCATCCATCTGTCCA	1764	TGGACAGATGGATGGATATATGATT
501	CAATCATATATCCATCCATCTGTCC	1765	GGACAGATGGATGGATATATGATTG
502	TCAATCATATATCCATCCATCTGTC	1766	GACAGATGGATGGATATATGATTGA
503	TTCAATCATATATCCATCCATCTGT	1767	ACAGATGGATGGATATATGATTGAA
504	GTTCAATCATATATCCATCCATCTG	1768	CAGATGGATGGATATATGATTGAAC
505	AGTTCAATCATATATCCATCCATCT	1769	AGATGGATGGATATATGATTGAACT
506	TAGTTCAATCATATATCCATCCATC	1770	GATGGATGGATATATGATTGAACTA
507	ATAGTTCAATCATATATCCATCCAT	1771	ATGGATGGATATATGATTGAACTAT
508	AATAGTTCAATCATATATCCATCCA	1772	TGGATGGATATATGATTGAACTATT
509	CAATAGTTCAATCATATATCCATCC	1773	GGATGGATATATGATTGAACTATTG
510	TCAATAGTTCAATCATATATCCATC	1774	GATGGATATATGATTGAACTATTGA
511	TTCAATAGTTCAATCATATATCCAT	1775	ATGGATATATGATTGAACTATTGAA
512	TTTCAATAGTTCAATCATATATCCA	1776	TGGATATATGATTGAACTATTGAAA
513	CTTTCAATAGTTCAATCATATATCC	1777	GGATATATGATTGAACTATTGAAAG
514	ACTTTCAATAGTTCAATCATATATC	1778	GATATATGATTGAACTATTGAAAGT

515	TACTTTCAATAGTTCAATCATATAT	1779	ATATATGATTGAACTATTGAAAGTA
516	ATACTTTCAATAGTTCAATCATATA	1780	TATATGATTGAACTATTGAAAGTAT
517	TATACTTTCAATAGTTCAATCATAT	1781	ATATGATTGAACTATTGAAAGTATA
518	CTATACTTTCAATAGTTCAATCATA	1782	TATGATTGAACTATTGAAAGTATAG
519	TCTATACTTTCAATAGTTCAATCAT	1783	ATGATTGAACTATTGAAAGTATAGA
520	ATCTATACTTTCAATAGTTCAATCA	1784	TGATTGAACTATTGAAAGTATAGAT
521	CATCTATACTTTCAATAGTTCAATC	1785	GATTGAACTATTGAAAGTATAGATG
522	ACATCTATACTTTCAATAGTTCAAT	1786	ATTGAACTATTGAAAGTATAGATGT
523	TACATCTATACTTTCAATAGTTCAA	1787	TTGAACTATTGAAAGTATAGATGTA
524	ATACATCTATACTTTCAATAGTTCA	1788	TGAACTATTGAAAGTATAGATGTAT
525	CATACATCTATACTTTCAATAGTTC	1789	GAACTATTGAAAGTATAGATGTATG
526	CCATACATCTATACTTTCAATAGTT	1790	AACTATTGAAAGTATAGATGTATGG
527	TCCATACATCTATACTTTCAATAGT	1791	ACTATTGAAAGTATAGATGTATGGA
528	ATCCATACATCTATACTTTCAATAG	1792	CTATTGAAAGTATAGATGTATGGAT
529	CATCCATACATCTATACTTTCAATA	1793	TATTGAAAGTATAGATGTATGGATG
530	CCATCCATACATCTATACTTTCAAT	1794	ATTGAAAGTATAGATGTATGGATGG
531	CCCATCCATACATCTATACTTTCAA	1795	TTGAAAGTATAGATGTATGGATGGG
532	ACCCATCCATACATCTATACTTTCA	1796	TGAAAGTATAGATGTATGGATGGGT
533	CACCCATCCATACATCTATACTTTC	1797	GAAAGTATAGATGTATGGATGGGTG
534	TCACCCATCCATACATCTATACTTT	1798	AAAGTATAGATGTATGGATGGGTGA
535	TTCACCCATCCATACATCTATACTT	1799	AAGTATAGATGTATGGATGGGTGAA
536	ATTCACCCATCCATACATCTATACT	1800	AGTATAGATGTATGGATGGGTGAAT
537	AATTCACCCATCCATACATCTATAC	1801	GTATAGATGTATGGATGGGTGAATT
538	AAATTCACCCATCCATACATCTATA	1802	TATAGATGTATGGATGGGTGAATTT
539	CAAATTCACCCATCCATACATCTAT	1803	ATAGATGTATGGATGGGTGAATTTG
540	CCAAATTCACCCATCCATACATCTA	1804	TAGATGTATGGATGGGTGAATTTGG
541	CCCAAATTCACCCATCCATACATCT	1805	AGATGTATGGATGGGTGAATTTGGG
542	CCCCAAATTCACCCATCCATACATC	1806	GATGTATGGATGGGTGAATTTGGGG
543	CCCCCAAATTCACCCATCCATACAT	1807	ATGTATGGATGGGTGAATTTGGGGG
544	ACCCCCAAATTCACCCATCCATACA	1808	TGTATGGATGGGTGAATTTGGGGGT
545	TACCCCCAAATTCACCCATCCATAC	1809	GTATGGATGGGTGAATTTGGGGGTA
546	TTACCCCCAAATTCACCCATCCATA	1810	TATGGATGGGTGAATTTGGGGGTAA
547	ATTACCCCCAAATTCACCCATCCAT	1811	ATGGATGGGTGAATTTGGGGGTAAT
548	AATTACCCCCAAATTCACCCATCCA	1812	TGGATGGGTGAATTTGGGGGTAATT
549	CAATTACCCCCAAATTCACCCATCC	1813	GGATGGGTGAATTTGGGGGTAATTG
550	ACAATTACCCCCAAATTCACCCATC	1814	GATGGGTGAATTTGGGGGTAATTGT
551	AACAATTACCCCCAAATTCACCCAT	1815	ATGGGTGAATTTGGGGGTAATTGTT
552	TAACAATTACCCCCAAATTCACCCA	1816	TGGGTGAATTTGGGGGTAATTGTTA
553	CTAACAATTACCCCCAAATTCACCC	1817	GGGTGAATTTGGGGGTAATTGTTAG
554	TCTAACAATTACCCCCAAATTCACC	1818	GGTGAATTTGGGGGTAATTGTTAGA
555	ATCTAACAATTACCCCCAAATTCAC	1819	GTGAATTTGGGGGTAATTGTTAGAT
556	CATCTAACAATTACCCCCAAATTCA	1820	TGAATTTGGGGGTAATTGTTAGATG
557	TCATCTAACAATTACCCCCAAATTC	1821	GAATTTGGGGGTAATTGTTAGATGA

558	ATCATCTAACAATTACCCCCAAATT	1822	AATTTGGGGGTAATTGTTAGATGAT
559	CATCATCTAACAATTACCCCCAAAT	1823	ATTTGGGGGTAATTGTTAGATGATG
560	CCATCATCTAACAATTACCCCCAAA	1824	TTTGGGGGTAATTGTTAGATGATGG
561	TCCATCATCTAACAATTACCCCCAA	1825	TTGGGGGTAATTGTTAGATGATGGA
562	ATCCATCATCTAACAATTACCCCCA	1826	TGGGGGTAATTGTTAGATGATGGAT
563	CATCCATCATCTAACAATTACCCCC	1827	GGGGGTAATTGTTAGATGATGGATG
564	TCATCCATCATCTAACAATTACCCC	1828	GGGGTAATTGTTAGATGATGGATGA
565	CTCATCCATCATCTAACAATTACCC	1829	GGGTAATTGTTAGATGATGGATGAG
566	ACTCATCCATCATCTAACAATTACC	1830	GGTAATTGTTAGATGATGGATGAGT
567	TACTCATCCATCATCTAACAATTAC	1831	GTAATTGTTAGATGATGGATGAGTA
568	ATACTCATCCATCATCTAACAATTA	1832	TAATTGTTAGATGATGGATGAGTAT
569	TATACTCATCCATCATCTAACAATT	1833	AATTGTTAGATGATGGATGAGTATA
570	CTATACTCATCCATCATCTAACAAT	1834	ATTGTTAGATGATGGATGAGTATAG
571	TCTATACTCATCCATCATCTAACAA	1835	TTGTTAGATGATGGATGAGTATAGA
572	ATCTATACTCATCCATCATCTAACA	1836	TGTTAGATGATGGATGAGTATAGAT
573	CATCTATACTCATCCATCATCTAAC	1837	GTTAGATGATGGATGAGTATAGATG
574	TCATCTATACTCATCCATCATCTAA	1838	TTAGATGATGGATGAGTATAGATGA
575	TTCATCTATACTCATCCATCATCTA	1839	TAGATGATGGATGAGTATAGATGAA
576	ATTCATCTATACTCATCCATCATCT	1840	AGATGATGGATGAGTATAGATGAAT
577	CATTCATCTATACTCATCCATCATC	1841	GATGATGGATGAGTATAGATGAATG
578	TCATTCATCTATACTCATCCATCAT	1842	ATGATGGATGAGTATAGATGAATGA
579	ATCATTCATCTATACTCATCCATCA	1843	TGATGGATGAGTATAGATGAATGAT
580	CATCATTCATCTATACTCATCCATC	1844	GATGGATGAGTATAGATGAATGATG
581	CCATCATTCATCTATACTCATCCAT	1845	ATGGATGAGTATAGATGAATGATGG
582	TCCATCATTCATCTATACTCATCCA	1846	TGGATGAGTATAGATGAATGATGGA
583	ATCCATCATTCATCTATACTCATCC	1847	GGATGAGTATAGATGAATGATGGAT
584	CATCCATCATTCATCTATACTCATC	1848	GATGAGTATAGATGAATGATGGATG
585	CCATCCATCATTCATCTATACTCAT	1849	ATGAGTATAGATGAATGATGGATGG
586	TCCATCCATCATTCATCTATACTCA	1850	TGAGTATAGATGAATGATGGATGGA
587	ATCCATCCATCATTCATCTATACTC	1851	GAGTATAGATGAATGATGGATGGAT
588	TATCCATCCATCATTCATCTATACT	1852	AGTATAGATGAATGATGGATGGATA
589	TTATCCATCCATCATTCATCTATAC	1853	GTATAGATGAATGATGGATGGATAA
590	GTTATCCATCCATCATTCATCTATA	1854	TATAGATGAATGATGGATGGATAAC
591	AGTTATCCATCCATCATTCATCTAT	1855	ATAGATGAATGATGGATGGATAACT
592	AAGTTATCCATCCATCATTCATCTA	1856	TAGATGAATGATGGATGGATAACTT
593	CAAGTTATCCATCCATCATTCATCT	1857	AGATGAATGATGGATGGATAACTTG
594	TCAAGTTATCCATCCATCATTCATC	1858	GATGAATGATGGATGGATAACTTGA
595	ATCAAGTTATCCATCCATCATTCAT	1859	ATGAATGATGGATGGATAACTTGAT
596	CATCAAGTTATCCATCCATCATTCA	1860	TGAATGATGGATGGATAACTTGATG
597	TCATCAAGTTATCCATCCATCATTC	1861	GAATGATGGATGGATAACTTGATGA
598	CTCATCAAGTTATCCATCCATCATT	1862	AATGATGGATGGATAACTTGATGAG
599	ACTCATCAAGTTATCCATCCATCAT	1863	ATGATGGATGGATAACTTGATGAGT
600	CACTCATCAAGTTATCCATCCATCA	1864	TGATGGATGGATAACTTGATGAGTG

601	CCACTCATCAAGTTATCCATCCATC	1865	GATGGATGGATAACTTGATGAGTGG
602	TCCACTCATCAAGTTATCCATCCAT	1866	ATGGATGGATAACTTGATGAGTGGA
603	ATCCACTCATCAAGTTATCCATCCA	1867	TGGATGGATAACTTGATGAGTGGAT
604	TATCCACTCATCAAGTTATCCATCC	1868	GGATGGATAACTTGATGAGTGGATA
605	CTATCCACTCATCAAGTTATCCATC	1869	GATGGATAACTTGATGAGTGGATAG
606	TCTATCCACTCATCAAGTTATCCAT	1870	ATGGATAACTTGATGAGTGGATAGA
607	ATCTATCCACTCATCAAGTTATCCA	1871	TGGATAACTTGATGAGTGGATAGAT
608	TATCTATCCACTCATCAAGTTATCC	1872	GGATAACTTGATGAGTGGATAGATA
609	CTATCTATCCACTCATCAAGTTATC	1873	GATAACTTGATGAGTGGATAGATAG
610	TCTATCTATCCACTCATCAAGTTAT	1874	ATAACTTGATGAGTGGATAGATAGA
611	ATCTATCTATCCACTCATCAAGTTA	1875	TAACTTGATGAGTGGATAGATAGAT
612	AATCTATCTATCCACTCATCAAGTT	1876	AACTTGATGAGTGGATAGATAGATT
613	CAATCTATCTATCCACTCATCAAGT	1877	ACTTGATGAGTGGATAGATAGATTG
614	GCAATCTATCTATCCACTCATCAAG	1878	CTTGATGAGTGGATAGATAGATTGC
615	AGCAATCTATCTATCCACTCATCAA	1879	TTGATGAGTGGATAGATAGATTGCT
616	CAGCAATCTATCTATCCACTCATCA	1880	TGATGAGTGGATAGATAGATTGCTG
617	CCAGCAATCTATCTATCCACTCATC	1881	GATGAGTGGATAGATAGATTGCTGG
618	TCCAGCAATCTATCTATCCACTCAT	1882	ATGAGTGGATAGATAGATTGCTGGA
619	ATCCAGCAATCTATCTATCCACTCA	1883	TGAGTGGATAGATAGATTGCTGGAT
620	TATCCAGCAATCTATCTATCCACTC	1884	GAGTGGATAGATAGATTGCTGGATA
621	CTATCCAGCAATCTATCTATCCACT	1885	AGTGGATAGATAGATTGCTGGATAG
622	TCTATCCAGCAATCTATCTATCCAC	1886	GTGGATAGATAGATTGCTGGATAGA
623	ATCTATCCAGCAATCTATCTATCCA	1887	TGGATAGATAGATTGCTGGATAGAT
624	CATCTATCCAGCAATCTATCTATCC	1888	GGATAGATAGATTGCTGGATAGATG
625	TCATCTATCCAGCAATCTATCTATC	1889	GATAGATAGATTGCTGGATAGATGA
626	ATCATCTATCCAGCAATCTATCTAT	1890	ATAGATAGATTGCTGGATAGATGAT
627	AATCATCTATCCAGCAATCTATCTA	1891	TAGATAGATTGCTGGATAGATGATT
628	CAATCATCTATCCAGCAATCTATCT	1892	AGATAGATTGCTGGATAGATGATTG
629	TCAATCATCTATCCAGCAATCTATC	1893	GATAGATTGCTGGATAGATGATTGA
630	GTCAATCATCTATCCAGCAATCTAT	1894	ATAGATTGCTGGATAGATGATTGAC
631	AGTCAATCATCTATCCAGCAATCTA	1895	TAGATTGCTGGATAGATGATTGACT
632	CAGTCAATCATCTATCCAGCAATCT	1896	AGATTGCTGGATAGATGATTGACTG
633	CCAGTCAATCATCTATCCAGCAATC	1897	GATTGCTGGATAGATGATTGACTGG
634	CCCAGTCAATCATCTATCCAGCAAT	1898	ATTGCTGGATAGATGATTGACTGGG
635	ACCCAGTCAATCATCTATCCAGCAA	1899	TTGCTGGATAGATGATTGACTGGGT
636	CACCCAGTCAATCATCTATCCAGCA	1900	TGCTGGATAGATGATTGACTGGGTG
637	CCACCCAGTCAATCATCTATCCAGC	1901	GCTGGATAGATGATTGACTGGGTGG
638	TCCACCCAGTCAATCATCTATCCAG	1902	CTGGATAGATGATTGACTGGGTGGA
639	ATCCACCCAGTCAATCATCTATCCA	1903	TGGATAGATGATTGACTGGGTGGAT
640	TATCCACCCAGTCAATCATCTATCC	1904	GGATAGATGATTGACTGGGTGGATA
641	CTATCCACCCAGTCAATCATCTATC	1905	GATAGATGATTGACTGGGTGGATAG
642	TCTATCCACCCAGTCAATCATCTAT	1906	ATAGATGATTGACTGGGTGGATAGA
643	ATCTATCCACCCAGTCAATCATCTA	1907	TAGATGATTGACTGGGTGGATAGAT

644	CATCTATCCACCCAGTCAATCATCT	1908	AGATGATTGACTGGGTGGATAGATG
645	TCATCTATCCACCCAGTCAATCATC	1909	GATGATTGACTGGGTGGATAGATGA
646	TTCATCTATCCACCCAGTCAATCAT	1910	ATGATTGACTGGGTGGATAGATGAA
647	TTTCATCTATCCACCCAGTCAATCA	1911	TGATTGACTGGGTGGATAGATGAAA
648	ATTTCATCTATCCACCCAGTCAATC	1912	GATTGACTGGGTGGATAGATGAAAT
649	CATTTCATCTATCCACCCAGTCAAT	1913	ATTGACTGGGTGGATAGATGAAATG
650	ACATTTCATCTATCCACCCAGTCAA	1914	TTGACTGGGTGGATAGATGAAATGT
651	AACATTTCATCTATCCACCCAGTCA	1915	TGACTGGGTGGATAGATGAAATGTT
652	CAACATTTCATCTATCCACCCAGTC	1916	GACTGGGTGGATAGATGAAATGTTG
653	CCAACATTTCATCTATCCACCCAGT	1917	ACTGGGTGGATAGATGAAATGTTGG
654	TCCAACATTTCATCTATCCACCCAG	1918	CTGGGTGGATAGATGAAATGTTGGA
655	ATCCAACATTTCATCTATCCACCCA	1919	TGGGTGGATAGATGAAATGTTGGAT
656	CATCCAACATTTCATCTATCCACCC	1920	GGGTGGATAGATGAAATGTTGGATG
657	TCATCCAACATTTCATCTATCCACC	1921	GGTGGATAGATGAAATGTTGGATGA
658	CTCATCCAACATTTCATCTATCCAC	1922	GTGGATAGATGAAATGTTGGATGAG
659	GCTCATCCAACATTTCATCTATCCA	1923	TGGATAGATGAAATGTTGGATGAGC
660	TGCTCATCCAACATTTCATCTATCC	1924	GGATAGATGAAATGTTGGATGAGCA
661	CTGCTCATCCAACATTTCATCTATC	1925	GATAGATGAAATGTTGGATGAGCAG
662	TCTGCTCATCCAACATTTCATCTAT	1926	ATAGATGAAATGTTGGATGAGCAGA
663	ATCTGCTCATCCAACATTTCATCTA	1927	TAGATGAAATGTTGGATGAGCAGAT
664	AATCTGCTCATCCAACATTTCATCT	1928	AGATGAAATGTTGGATGAGCAGATT
665	TAATCTGCTCATCCAACATTTCATC	1929	GATGAAATGTTGGATGAGCAGATTA
666	TTAATCTGCTCATCCAACATTTCAT	1930	ATGAAATGTTGGATGAGCAGATTAA
667	CTTAATCTGCTCATCCAACATTTCA	1931	TGAAATGTTGGATGAGCAGATTAAG
668	ACTTAATCTGCTCATCCAACATTTC	1932	GAAATGTTGGATGAGCAGATTAAGT
669	AACTTAATCTGCTCATCCAACATTT	1933	AAATGTTGGATGAGCAGATTAAGTT
670	CAACTTAATCTGCTCATCCAACATT	1934	AATGTTGGATGAGCAGATTAAGTTG
671	ACAACTTAATCTGCTCATCCAACAT	1935	ATGTTGGATGAGCAGATTAAGTTGT
672	TACAACTTAATCTGCTCATCCAACA	1936	TGTTGGATGAGCAGATTAAGTTGTA
673	ATACAACTTAATCTGCTCATCCAAC	1937	GTTGGATGAGCAGATTAAGTTGTAT
674	AATACAACTTAATCTGCTCATCCAA	1938	TTGGATGAGCAGATTAAGTTGTATT
675	CAATACAACTTAATCTGCTCATCCA	1939	TGGATGAGCAGATTAAGTTGTATTG
676	CCAATACAACTTAATCTGCTCATCC	1940	GGATGAGCAGATTAAGTTGTATTGG
677	TCCAATACAACTTAATCTGCTCATC	1941	GATGAGCAGATTAAGTTGTATTGGA
678	ATCCAATACAACTTAATCTGCTCAT	1942	ATGAGCAGATTAAGTTGTATTGGAT
679	CATCCAATACAACTTAATCTGCTCA	1943	TGAGCAGATTAAGTTGTATTGGATG
680	CCATCCAATACAACTTAATCTGCTC	1944	GAGCAGATTAAGTTGTATTGGATGG
681	CCCATCCAATACAACTTAATCTGCT	1945	AGCAGATTAAGTTGTATTGGATGGG
682	TCCCATCCAATACAACTTAATCTGC	1946	GCAGATTAAGTTGTATTGGATGGGA
683	ATCCCATCCAATACAACTTAATCTG	1947	CAGATTAAGTTGTATTGGATGGGAT
684	CATCCCATCCAATACAACTTAATCT	1948	AGATTAAGTTGTATTGGATGGGATG
685	CCATCCCATCCAATACAACTTAATC	1949	GATTAAGTTGTATTGGATGGGATGG
686	TCCATCCCATCCAATACAACTTAAT	1950	ATTAAGTTGTATTGGATGGGATGGA

687	ATCCATCCCATCCAATACAACTTAA	1951	TTAAGTTGTATTGGATGGGATGGAT
688	CATCCATCCCATCCAATACAACTTA	1952	TAAGTTGTATTGGATGGGATGGATG
689	CCATCCATCCCATCCAATACAACTT	1953	AAGTTGTATTGGATGGGATGGATGG
690	TCCATCCATCCCATCCAATACAACT	1954	AGTTGTATTGGATGGGATGGATGGA
691	TTCCATCCATCCCATCCAATACAAC	1955	GTTGTATTGGATGGGATGGATGGAA
692	CTTCCATCCATCCCATCCAATACAA	1956	TTGTATTGGATGGGATGGATGGAAG
693	ACTTCCATCCATCCCATCCAATACA	1957	TGTATTGGATGGGATGGATGGAAGT
694	CACTTCCATCCATCCCATCCAATAC	1958	GTATTGGATGGGATGGATGGAAGTG
695	ACACTTCCATCCATCCCATCCAATA	1959	TATTGGATGGGATGGATGGAAGTGT
696	CACACTTCCATCCATCCCATCCAAT	1960	ATTGGATGGGATGGATGGAAGTGTG
697	CCACACTTCCATCCATCCCATCCAA	1961	TTGGATGGGATGGATGGAAGTGTGG
698	ACCACACTTCCATCCATCCCATCCA	1962	TGGATGGGATGGATGGAAGTGTGGT
699	AACCACACTTCCATCCATCCCATCC	1963	GGATGGGATGGATGGAAGTGTGGTT
700	CAACCACACTTCCATCCATCCCATC	1964	GATGGGATGGATGGAAGTGTGGTTG
701	TCAACCACACTTCCATCCATCCCAT	1965	ATGGGATGGATGGAAGTGTGGTTGA
702	CTCAACCACACTTCCATCCATCCCA	1966	TGGGATGGATGGAAGTGTGGTTGAG
703	ACTCAACCACACTTCCATCCATCCC	1967	GGGATGGATGGAAGTGTGGTTGAGT
704	AACTCAACCACACTTCCATCCATCC	1968	GGATGGATGGAAGTGTGGTTGAGTT
705	TAACTCAACCACACTTCCATCCATC	1969	GATGGATGGAAGTGTGGTTGAGTTA
706	ATAACTCAACCACACTTCCATCCAT	1970	ATGGATGGAAGTGTGGTTGAGTTAT
707	AATAACTCAACCACACTTCCATCCA	1971	TGGATGGAAGTGTGGTTGAGTTATT
708	TAATAACTCAACCACACTTCCATCC	1972	GGATGGAAGTGTGGTTGAGTTATTA
709	CTAATAACTCAACCACACTTCCATC	1973	GATGGAAGTGTGGTTGAGTTATTAG
710	TCTAATAACTCAACCACACTTCCAT	1974	ATGGAAGTGTGGTTGAGTTATTAGA
711	TTCTAATAACTCAACCACACTTCCA	1975	TGGAAGTGTGGTTGAGTTATTAGAA
712	CTTCTAATAACTCAACCACACTTCC	1976	GGAAGTGTGGTTGAGTTATTAGAAG
713	CCTTCTAATAACTCAACCACACTTC	1977	GAAGTGTGGTTGAGTTATTAGAAGG
714	TCCTTCTAATAACTCAACCACACTT	1978	AAGTGTGGTTGAGTTATTAGAAGGA
715	TTCCTTCTAATAACTCAACCACACT	1979	AGTGTGGTTGAGTTATTAGAAGGAA
716	CTTCCTTCTAATAACTCAACCACAC	1980	GTGTGGTTGAGTTATTAGAAGGAAG
717	TCTTCCTTCTAATAACTCAACCACA	1981	TGTGGTTGAGTTATTAGAAGGAAGA
718	ATCTTCCTTCTAATAACTCAACCAC	1982	GTGGTTGAGTTATTAGAAGGAAGAT
719	AATCTTCCTTCTAATAACTCAACCA	1983	TGGTTGAGTTATTAGAAGGAAGATT
720	CAATCTTCCTTCTAATAACTCAACC	1984	GGTTGAGTTATTAGAAGGAAGATTG
721	TCAATCTTCCTTCTAATAACTCAAC	1985	GTTGAGTTATTAGAAGGAAGATTGA
722	CTCAATCTTCCTTCTAATAACTCAA	1986	TTGAGTTATTAGAAGGAAGATTGAG
723	ACTCAATCTTCCTTCTAATAACTCA	1987	TGAGTTATTAGAAGGAAGATTGAGT
724	TACTCAATCTTCCTTCTAATAACTC	1988	GAGTTATTAGAAGGAAGATTGAGTA
725	CTACTCAATCTTCCTTCTAATAACT	1989	AGTTATTAGAAGGAAGATTGAGTAG
726	TCTACTCAATCTTCCTTCTAATAAC	1990	GTTATTAGAAGGAAGATTGAGTAGA
727	ATCTACTCAATCTTCCTTCTAATAA	1991	TTATTAGAAGGAAGATTGAGTAGAT
728	TATCTACTCAATCTTCCTTCTAATA	1992	TATTAGAAGGAAGATTGAGTAGATA
729	CTATCTACTCAATCTTCCTTCTAAT	1993	ATTAGAAGGAAGATTGAGTAGATAG

730	CCTATCTACTCAATCTTCCTTCTAA	1994	TTAGAAGGAAGATTGAGTAGATAGG
731	ACCTATCTACTCAATCTTCCTTCTA	1995	TAGAAGGAAGATTGAGTAGATAGGT
732	CACCTATCTACTCAATCTTCCTTCT	1996	AGAAGGAAGATTGAGTAGATAGGTG
733	TCACCTATCTACTCAATCTTCCTTC	1997	GAAGGAAGATTGAGTAGATAGGTGA
734	TTCACCTATCTACTCAATCTTCCTT	1998	AAGGAAGATTGAGTAGATAGGTGAA
735	ATTCACCTATCTACTCAATCTTCCT	1999	AGGAAGATTGAGTAGATAGGTGAAT
736	AATTCACCTATCTACTCAATCTTCC	2000	GGAAGATTGAGTAGATAGGTGAATT
737	AAATTCACCTATCTACTCAATCTTC	2001	GAAGATTGAGTAGATAGGTGAATTT
738	CAAATTCACCTATCTACTCAATCTT	2002	AAGATTGAGTAGATAGGTGAATTTG
739	ACAAATTCACCTATCTACTCAATCT	2003	AGATTGAGTAGATAGGTGAATTTGT
740	AACAAATTCACCTATCTACTCAATC	2004	GATTGAGTAGATAGGTGAATTTGTT
741	CAACAAATTCACCTATCTACTCAAT	2005	ATTGAGTAGATAGGTGAATTTGTTG
742	TCAACAAATTCACCTATCTACTCAA	2006	TTGAGTAGATAGGTGAATTTGTTGA
743	ATCAACAAATTCACCTATCTACTCA	2007	TGAGTAGATAGGTGAATTTGTTGAT
744	TATCAACAAATTCACCTATCTACTC	2008	GAGTAGATAGGTGAATTTGTTGATA
745	CTATCAACAAATTCACCTATCTACT	2009	AGTAGATAGGTGAATTTGTTGATAG
746	ACTATCAACAAATTCACCTATCTAC	2010	GTAGATAGGTGAATTTGTTGATAGT
747	GACTATCAACAAATTCACCTATCTA	2011	TAGATAGGTGAATTTGTTGATAGTC
748	TGACTATCAACAAATTCACCTATCT	2012	AGATAGGTGAATTTGTTGATAGTCA
749	CTGACTATCAACAAATTCACCTATC	2013	GATAGGTGAATTTGTTGATAGTCAG
750	TCTGACTATCAACAAATTCACCTAT	2014	ATAGGTGAATTTGTTGATAGTCAGA
751	ATCTGACTATCAACAAATTCACCTA	2015	TAGGTGAATTTGTTGATAGTCAGAT
752	CATCTGACTATCAACAAATTCACCT	2016	AGGTGAATTTGTTGATAGTCAGATG
753	CCATCTGACTATCAACAAATTCACC	2017	GGTGAATTTGTTGATAGTCAGATGG
754	CCCATCTGACTATCAACAAATTCAC	2018	GTGAATTTGTTGATAGTCAGATGGG
755	ACCCATCTGACTATCAACAAATTCA	2019	TGAATTTGTTGATAGTCAGATGGGT
756	TACCCATCTGACTATCAACAAATTC	2020	GAATTTGTTGATAGTCAGATGGGTA
757	CTACCCATCTGACTATCAACAAATT	2021	AATTTGTTGATAGTCAGATGGGTAG
758	TCTACCCATCTGACTATCAACAAAT	2022	ATTTGTTGATAGTCAGATGGGTAGA
759	ATCTACCCATCTGACTATCAACAAA	2023	TTTGTTGATAGTCAGATGGGTAGAT
760	TATCTACCCATCTGACTATCAACAA	2024	TTGTTGATAGTCAGATGGGTAGATA
761	CTATCTACCCATCTGACTATCAACA	2025	TGTTGATAGTCAGATGGGTAGATAG
762	CCTATCTACCCATCTGACTATCAAC	2026	GTTGATAGTCAGATGGGTAGATAGG
763	ACCTATCTACCCATCTGACTATCAA	2027	TTGATAGTCAGATGGGTAGATAGGT
764	TACCTATCTACCCATCTGACTATCA	2028	TGATAGTCAGATGGGTAGATAGGTA
765	CTACCTATCTACCCATCTGACTATC	2029	GATAGTCAGATGGGTAGATAGGTAG
766	TCTACCTATCTACCCATCTGACTAT	2030	ATAGTCAGATGGGTAGATAGGTAGA
767	ATCTACCTATCTACCCATCTGACTA	2031	TAGTCAGATGGGTAGATAGGTAGAT
768	CATCTACCTATCTACCCATCTGACT	2032	AGTCAGATGGGTAGATAGGTAGATG
769	CCATCTACCTATCTACCCATCTGAC	2033	GTCAGATGGGTAGATAGGTAGATGG
770	TCCATCTACCTATCTACCCATCTGA	2034	TCAGATGGGTAGATAGGTAGATGGA
771	ATCCATCTACCTATCTACCCATCTG	2035	CAGATGGGTAGATAGGTAGATGGAT
772	CATCCATCTACCTATCTACCCATCT	2036	AGATGGGTAGATAGGTAGATGGATG

773	CCATCCATCTACCTATCTACCCATC	2037	GATGGGTAGATAGGTAGATGGATGG
774	TCCATCCATCTACCTATCTACCCAT	2038	ATGGGTAGATAGGTAGATGGATGGA
775	ATCCATCCATCTACCTATCTACCCA	2039	TGGGTAGATAGGTAGATGGATGGAT
776	CATCCATCCATCTACCTATCTACCC	2040	GGGTAGATAGGTAGATGGATGGATG
777	CCATCCATCCATCTACCTATCTACC	2041	GGTAGATAGGTAGATGGATGGATGG
778	TCCATCCATCCATCTACCTATCTAC	2042	GTAGATAGGTAGATGGATGGATGGA
779	ATCCATCCATCCATCTACCTATCTA	2043	TAGATAGGTAGATGGATGGATGGAT
780	CATCCATCCATCCATCTACCTATCT	2044	AGATAGGTAGATGGATGGATGGATG
781	CCATCCATCCATCCATCTACCTATC	2045	GATAGGTAGATGGATGGATGGATGG
782	TCCATCCATCCATCCATCTACCTAT	2046	ATAGGTAGATGGATGGATGGATGGA
783	ATCCATCCATCCATCCATCTACCTA	2047	TAGGTAGATGGATGGATGGATGGAT
784	CATCCATCCATCCATCCATCTACCT	2048	AGGTAGATGGATGGATGGATGGATG
785	CCATCCATCCATCCATCCATCTACC	2049	GGTAGATGGATGGATGGATGGATGG
786	TCCATCCATCCATCCATCCATCTAC	2050	GTAGATGGATGGATGGATGGATGGA
787	ATCCATCCATCCATCCATCCATCTA	2051	TAGATGGATGGATGGATGGATGGAT
788	CATCCATCCATCCATCCATCCATCT	2052	AGATGGATGGATGGATGGATGGATG
789	ACATCCATCCATCCATCCATCCATC	2053	GATGGATGGATGGATGGATGGATGT
790	TACATCCATCCATCCATCCATCCAT	2054	ATGGATGGATGGATGGATGGATGTA
791	ATACATCCATCCATCCATCCATCCA	2055	TGGATGGATGGATGGATGGATGTAT
792	TATACATCCATCCATCCATCCATCC	2056	GGATGGATGGATGGATGGATGTATA
793	CTATACATCCATCCATCCATCCATC	2057	GATGGATGGATGGATGGATGTATAG
794	CCTATACATCCATCCATCCATCCAT	2058	ATGGATGGATGGATGGATGTATAGG
795	GCCTATACATCCATCCATCCATCCA	2059	TGGATGGATGGATGGATGTATAGGC
796	TGCCTATACATCCATCCATCCATCC	2060	GGATGGATGGATGGATGTATAGGCA
797	CTGCCTATACATCCATCCATCCATC	2061	GATGGATGGATGGATGTATAGGCAG
798	TCTGCCTATACATCCATCCATCCAT	2062	ATGGATGGATGGATGTATAGGCAGA
799	ATCTGCCTATACATCCATCCATCCA	2063	TGGATGGATGGATGTATAGGCAGAT
800	CATCTGCCTATACATCCATCCATCC	2064	GGATGGATGGATGTATAGGCAGATG
801	CCATCTGCCTATACATCCATCCATC	2065	GATGGATGGATGTATAGGCAGATGG
802	TCCATCTGCCTATACATCCATCCAT	2066	ATGGATGGATGTATAGGCAGATGGA
803	GTCCATCTGCCTATACATCCATCCA	2067	TGGATGGATGTATAGGCAGATGGAC
804	TGTCCATCTGCCTATACATCCATCC	2068	GGATGGATGTATAGGCAGATGGACA
805	TTGTCCATCTGCCTATACATCCATC	2069	GATGGATGTATAGGCAGATGGACAA
806	TTTGTCCATCTGCCTATACATCCAT	2070	ATGGATGTATAGGCAGATGGACAAA
807	ATTTGTCCATCTGCCTATACATCCA	2071	TGGATGTATAGGCAGATGGACAAAT
808	CATTTGTCCATCTGCCTATACATCC	2072	GGATGTATAGGCAGATGGACAAATG
809	CCATTTGTCCATCTGCCTATACATC	2073	GATGTATAGGCAGATGGACAAATGG
810	TCCATTTGTCCATCTGCCTATACAT	2074	ATGTATAGGCAGATGGACAAATGGA
811	ATCCATTTGTCCATCTGCCTATACA	2075	TGTATAGGCAGATGGACAAATGGAT
812	CATCCATTTGTCCATCTGCCTATAC	2076	GTATAGGCAGATGGACAAATGGATG
813	TCATCCATTTGTCCATCTGCCTATA	2077	TATAGGCAGATGGACAAATGGATGA
814	TTCATCCATTTGTCCATCTGCCTAT	2078	ATAGGCAGATGGACAAATGGATGAA
815	ATTCATCCATTTGTCCATCTGCCTA	2079	TAGGCAGATGGACAAATGGATGAAT

816	CATTCATCCATTTGTCCATCTGCCT	2080	AGGCAGATGGACAAATGGATGAATG
817	CCATTCATCCATTTGTCCATCTGCC	2081	GGCAGATGGACAAATGGATGAATGG
818	CCCATTCATCCATTTGTCCATCTGC	2082	GCAGATGGACAAATGGATGAATGGG
819	ACCCATTCATCCATTTGTCCATCTG	2083	CAGATGGACAAATGGATGAATGGGT
820	CACCCATTCATCCATTTGTCCATCT	2084	AGATGGACAAATGGATGAATGGGTG
821	CCACCCATTCATCCATTTGTCCATC	2085	GATGGACAAATGGATGAATGGGTGG
822	CCCACCCATTCATCCATTTGTCCAT	2086	ATGGACAAATGGATGAATGGGTGGG
823	ACCCACCCATTCATCCATTTGTCCA	2087	TGGACAAATGGATGAATGGGTGGGT
824	CACCCACCCATTCATCCATTTGTCC	2088	GGACAAATGGATGAATGGGTGGGTG
825	CCACCCACCCATTCATCCATTTGTC	2089	GACAAATGGATGAATGGGTGGGTGG
826	TCCACCCACCCATTCATCCATTTGT	2090	ACAAATGGATGAATGGGTGGGTGGA
827	ATCCACCCACCCATTCATCCATTTG	2091	CAAATGGATGAATGGGTGGGTGGAT
828	CATCCACCCACCCATTCATCCATTT	2092	AAATGGATGAATGGGTGGGTGGATG
829	TCATCCACCCACCCATTCATCCATT	2093	AATGGATGAATGGGTGGGTGGATGA
830	TTCATCCACCCACCCATTCATCCAT	2094	ATGGATGAATGGGTGGGTGGATGAA
831	ATTCATCCACCCACCCATTCATCCA	2095	TGGATGAATGGGTGGGTGGATGAAT
832	CATTCATCCACCCACCCATTCATCC	2096	GGATGAATGGGTGGGTGGATGAATG
833	CCATTCATCCACCCACCCATTCATC	2097	GATGAATGGGTGGGTGGATGAATGG
834	TCCATTCATCCACCCACCCATTCAT	2098	ATGAATGGGTGGGTGGATGAATGGA
835	TTCCATTCATCCACCCACCCATTCA	2099	TGAATGGGTGGGTGGATGAATGGAA
836	CTTCCATTCATCCACCCACCCATTC	2100	GAATGGGTGGGTGGATGAATGGAAG
837	CCTTCCATTCATCCACCCACCCATT	2101	AATGGGTGGGTGGATGAATGGAAGG
838	TCCTTCCATTCATCCACCCACCCAT	2102	ATGGGTGGGTGGATGAATGGAAGGA
839	ATCCTTCCATTCATCCACCCACCCA	2103	TGGGTGGGTGGATGAATGGAAGGAT
840	CATCCTTCCATTCATCCACCCACCC	2104	GGGTGGGTGGATGAATGGAAGGATG
841	ACATCCTTCCATTCATCCACCCACC	2105	GGTGGGTGGATGAATGGAAGGATGT
842	CACATCCTTCCATTCATCCACCCAC	2106	GTGGGTGGATGAATGGAAGGATGTG
843	ACACATCCTTCCATTCATCCACCCA	2107	TGGGTGGATGAATGGAAGGATGTGT
844	CACACATCCTTCCATTCATCCACCC	2108	GGGTGGATGAATGGAAGGATGTGTG
845	CCACACATCCTTCCATTCATCCACC	2109	GGTGGATGAATGGAAGGATGTGTGG
846	ACCACACATCCTTCCATTCATCCAC	2110	GTGGATGAATGGAAGGATGTGTGGT
847	AACCACACATCCTTCCATTCATCCA	2111	TGGATGAATGGAAGGATGTGTGGTT
848	CAACCACACATCCTTCCATTCATCC	2112	GGATGAATGGAAGGATGTGTGGTTG
849	TCAACCACACATCCTTCCATTCATC	2113	GATGAATGGAAGGATGTGTGGTTGA
850	TTCAACCACACATCCTTCCATTCAT	2114	ATGAATGGAAGGATGTGTGGTTGAA
851	GTTCAACCACACATCCTTCCATTCA	2115	TGAATGGAAGGATGTGTGGTTGAAC
852	AGTTCAACCACACATCCTTCCATTC	2116	GAATGGAAGGATGTGTGGTTGAACT
853	TAGTTCAACCACACATCCTTCCATT	2117	AATGGAAGGATGTGTGGTTGAACTA
854	ATAGTTCAACCACACATCCTTCCAT	2118	ATGGAAGGATGTGTGGTTGAACTAT
855	AATAGTTCAACCACACATCCTTCCA	2119	TGGAAGGATGTGTGGTTGAACTATT
856	CAATAGTTCAACCACACATCCTTCC	2120	GGAAGGATGTGTGGTTGAACTATTG
857	GCAATAGTTCAACCACACATCCTTC	2121	GAAGGATGTGTGGTTGAACTATTGC
858	TGCAATAGTTCAACCACACATCCTT	2122	AAGGATGTGTGGTTGAACTATTGCA

859	TTGCAATAGTTCAACCACACATCCT	2123	AGGATGTGTGGTTGAACTATTGCAA
860	CTTGCAATAGTTCAACCACACATCC	2124	GGATGTGTGGTTGAACTATTGCAAG
861	ACTTGCAATAGTTCAACCACACATC	2125	GATGTGTGGTTGAACTATTGCAAGT
862	TACTTGCAATAGTTCAACCACACAT	2126	ATGTGTGGTTGAACTATTGCAAGTA
863	ATACTTGCAATAGTTCAACCACACA	2127	TGTGTGGTTGAACTATTGCAAGTAT
864	AATACTTGCAATAGTTCAACCACAC	2128	GTGTGGTTGAACTATTGCAAGTATT
865	CAATACTTGCAATAGTTCAACCACA	2129	TGTGGTTGAACTATTGCAAGTATTG
866	TCAATACTTGCAATAGTTCAACCAC	2130	GTGGTTGAACTATTGCAAGTATTGA
867	ATCAATACTTGCAATAGTTCAACCA	2131	TGGTTGAACTATTGCAAGTATTGAT
868	TATCAATACTTGCAATAGTTCAACC	2132	GGTTGAACTATTGCAAGTATTGATA
869	TTATCAATACTTGCAATAGTTCAAC	2133	GTTGAACTATTGCAAGTATTGATAA
870	ATTATCAATACTTGCAATAGTTCAA	2134	TTGAACTATTGCAAGTATTGATAAT
871	AATTATCAATACTTGCAATAGTTCA	2135	TGAACTATTGCAAGTATTGATAATT
872	CAATTATCAATACTTGCAATAGTTC	2136	GAACTATTGCAAGTATTGATAATTG
873	CCAATTATCAATACTTGCAATAGTT	2137	AACTATTGCAAGTATTGATAATTGG
874	CCCAATTATCAATACTTGCAATAGT	2138	ACTATTGCAAGTATTGATAATTGGG
875	ACCCAATTATCAATACTTGCAATAG	2139	CTATTGCAAGTATTGATAATTGGGT
876	AACCCAATTATCAATACTTGCAATA	2140	TATTGCAAGTATTGATAATTGGGTT
877	GAACCCAATTATCAATACTTGCAAT	2141	ATTGCAAGTATTGATAATTGGGTTC
878	TGAACCCAATTATCAATACTTGCAA	2142	TTGCAAGTATTGATAATTGGGTTCA
879	ATGAACCCAATTATCAATACTTGCA	2143	TGCAAGTATTGATAATTGGGTTCAT
880	TATGAACCCAATTATCAATACTTGC	2144	GCAAGTATTGATAATTGGGTTCATA
881	TTATGAACCCAATTATCAATACTTG	2145	CAAGTATTGATAATTGGGTTCATAA
882	ATTATGAACCCAATTATCAATACTT	2146	AAGTATTGATAATTGGGTTCATAAT
883	AATTATGAACCCAATTATCAATACT	2147	AGTATTGATAATTGGGTTCATAATT
884	AAATTATGAACCCAATTATCAATAC	2148	GTATTGATAATTGGGTTCATAATTT
885	GAAATTATGAACCCAATTATCAATA	2149	TATTGATAATTGGGTTCATAATTTC
886	AGAAATTATGAACCCAATTATCAAT	2150	ATTGATAATTGGGTTCATAATTTCT
887	CAGAAATTATGAACCCAATTATCAA	2151	TTGATAATTGGGTTCATAATTTCTG
888	TCAGAAATTATGAACCCAATTATCA	2152	TGATAATTGGGTTCATAATTTCTGA
889	TTCAGAAATTATGAACCCAATTATC	2153	GATAATTGGGTTCATAATTTCTGAA
890	ATTCAGAAATTATGAACCCAATTAT	2154	ATAATTGGGTTCATAATTTCTGAAT
891	TATTCAGAAATTATGAACCCAATTA	2155	TAATTGGGTTCATAATTTCTGAATA
892	ATATTCAGAAATTATGAACCCAATT	2156	AATTGGGTTCATAATTTCTGAATAT
893	AATATTCAGAAATTATGAACCCAAT	2157	ATTGGGTTCATAATTTCTGAATATT
894	AAATATTCAGAAATTATGAACCCAA	2158	TTGGGTTCATAATTTCTGAATATTT
895	TAAATATTCAGAAATTATGAACCCA	2159	TGGGTTCATAATTTCTGAATATTTA
896	CTAAATATTCAGAAATTATGAACCC	2160	GGGTTCATAATTTCTGAATATTTAG
897	TCTAAATATTCAGAAATTATGAACC	2161	GGTTCATAATTTCTGAATATTTAGA
898	ATCTAAATATTCAGAAATTATGAAC	2162	GTTCATAATTTCTGAATATTTAGAT
899	CATCTAAATATTCAGAAATTATGAA	2163	TTCATAATTTCTGAATATTTAGATG
900	CCATCTAAATATTCAGAAATTATGA	2164	TCATAATTTCTGAATATTTAGATGG
901	TCCATCTAAATATTCAGAAATTATG	2165	CATAATTTCTGAATATTTAGATGGA

902	ATCCATCTAAATATTCAGAAATTAT	2166	ATAATTTCTGAATATTTAGATGGAT
903	CATCCATCTAAATATTCAGAAATTA	2167	TAATTTCTGAATATTTAGATGGATG
904	CCATCCATCTAAATATTCAGAAATT	2168	AATTTCTGAATATTTAGATGGATGG
905	ACCATCCATCTAAATATTCAGAAAT	2169	ATTTCTGAATATTTAGATGGATGGT
906	AACCATCCATCTAAATATTCAGAAA	2170	TTTCTGAATATTTAGATGGATGGTT
907	CAACCATCCATCTAAATATTCAGAA	2171	TTCTGAATATTTAGATGGATGGTTG
908	ACAACCATCCATCTAAATATTCAGA	2172	TCTGAATATTTAGATGGATGGTTGT
909	CACAACCATCCATCTAAATATTCAG	2173	CTGAATATTTAGATGGATGGTTGTG
910	TCACAACCATCCATCTAAATATTCA	2174	TGAATATTTAGATGGATGGTTGTGA
911	CTCACAACCATCCATCTAAATATTC	2175	GAATATTTAGATGGATGGTTGTGAG
912	ACTCACAACCATCCATCTAAATATT	2176	AATATTTAGATGGATGGTTGTGAGT
913	CACTCACAACCATCCATCTAAATAT	2177	ATATTTAGATGGATGGTTGTGAGTG
914	CCACTCACAACCATCCATCTAAATA	2178	TATTTAGATGGATGGTTGTGAGTGG
915	GCCACTCACAACCATCCATCTAAAT	2179	ATTTAGATGGATGGTTGTGAGTGGC
916	AGCCACTCACAACCATCCATCTAAA	2180	TTTAGATGGATGGTTGTGAGTGGCT
917	CAGCCACTCACAACCATCCATCTAA	2181	TTAGATGGATGGTTGTGAGTGGCTG
918	CCAGCCACTCACAACCATCCATCTA	2182	TAGATGGATGGTTGTGAGTGGCTGG
919	ACCAGCCACTCACAACCATCCATCT	2183	AGATGGATGGTTGTGAGTGGCTGGT
920	CACCAGCCACTCACAACCATCCATC	2184	GATGGATGGTTGTGAGTGGCTGGTG
921	CCACCAGCCACTCACAACCATCCAT	2185	ATGGATGGTTGTGAGTGGCTGGTGG
922	TCCACCAGCCACTCACAACCATCCA	2186	TGGATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGA
923	GTCCACCAGCCACTCACAACCATCC	2187	GGATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGAC
924	TGTCCACCAGCCACTCACAACCATC	2188	GATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGACA
925	CTGTCCACCAGCCACTCACAACCAT	2189	ATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGACAG
926	TCTGTCCACCAGCCACTCACAACCA	2190	TGGTTGTGAGTGGCTGGTGGACAGA
927	GTCTGTCCACCAGCCACTCACAACC	2191	GGTTGTGAGTGGCTGGTGGACAGAC
928	CGTCTGTCCACCAGCCACTCACAAC	2192	GTTGTGAGTGGCTGGTGGACAGACG
929	TCGTCTGTCCACCAGCCACTCACAA	2193	TTGTGAGTGGCTGGTGGACAGACGA
930	TTCGTCTGTCCACCAGCCACTCACA	2194	TGTGAGTGGCTGGTGGACAGACGAA
931	TTTCGTCTGTCCACCAGCCACTCAC	2195	GTGAGTGGCTGGTGGACAGACGAAA
932	TTTTCGTCTGTCCACCAGCCACTCA	2196	TGAGTGGCTGGTGGACAGACGAAAA
933	TTTTTCGTCTGTCCACCAGCCACTC	2197	GAGTGGCTGGTGGACAGACGAAAAA
934	ATTTTTCGTCTGTCCACCAGCCACT	2198	AGTGGCTGGTGGACAGACGAAAAAT
935	CATTTTTCGTCTGTCCACCAGCCAC	2199	GTGGCTGGTGGACAGACGAAAAATG
936	CCATTTTTCGTCTGTCCACCAGCCA	2200	TGGCTGGTGGACAGACGAAAAATGG
937	TCCATTTTTCGTCTGTCCACCAGCC	2201	GGCTGGTGGACAGACGAAAAATGGA
938	ATCCATTTTTCGTCTGTCCACCAGC	2202	GCTGGTGGACAGACGAAAAATGGAT
939	CATCCATTTTTCGTCTGTCCACCAG	2203	CTGGTGGACAGACGAAAAATGGATG
940	CCATCCATTTTTCGTCTGTCCACCA	2204	TGGTGGACAGACGAAAAATGGATGG
941	ACCATCCATTTTTCGTCTGTCCACC	2205	GGTGGACAGACGAAAAATGGATGGT
942	AACCATCCATTTTTCGTCTGTCCAC	2206	GTGGACAGACGAAAAATGGATGGTT
943	CAACCATCCATTTTTCGTCTGTCCA	2207	TGGACAGACGAAAAATGGATGGTTG
944	CCAACCATCCATTTTTCGTCTGTCC	2208	GGACAGACGAAAAATGGATGGTTGG

945	TCCAACCATCCATTTTTCGTCTGTC	2209	GACAGACGAAAAATGGATGGTTGGA
946	ATCCAACCATCCATTTTTCGTCTGT	2210	ACAGACGAAAAATGGATGGTTGGAT
947	TATCCAACCATCCATTTTTCGTCTG	2211	CAGACGAAAAATGGATGGTTGGATA
948	TTATCCAACCATCCATTTTTCGTCT	2212	AGACGAAAAATGGATGGTTGGATAA
949	TTTATCCAACCATCCATTTTTCGTC	2213	GACGAAAAATGGATGGTTGGATAAA
950	ATTTATCCAACCATCCATTTTTCGT	2214	ACGAAAAATGGATGGTTGGATAAAT
951	AATTTATCCAACCATCCATTTTTCG	2215	CGAAAAATGGATGGTTGGATAAATT
952	CAATTTATCCAACCATCCATTTTTC	2216	GAAAAATGGATGGTTGGATAAATTG
953	TCAATTTATCCAACCATCCATTTTT	2217	AAAAATGGATGGTTGGATAAATTGA
954	ATCAATTTATCCAACCATCCATTTT	2218	AAAATGGATGGTTGGATAAATTGAT
955	CATCAATTTATCCAACCATCCATTT	2219	AAATGGATGGTTGGATAAATTGATG
956	CCATCAATTTATCCAACCATCCATT	2220	AATGGATGGTTGGATAAATTGATGG
957	CCCATCAATTTATCCAACCATCCAT	2221	ATGGATGGTTGGATAAATTGATGGG
958	ACCCATCAATTTATCCAACCATCCA	2222	TGGATGGTTGGATAAATTGATGGGT
959	CACCCATCAATTTATCCAACCATCC	2223	GGATGGTTGGATAAATTGATGGGTG
960	CCACCCATCAATTTATCCAACCATC	2224	GATGGTTGGATAAATTGATGGGTGG
961	TCCACCCATCAATTTATCCAACCAT	2225	ATGGTTGGATAAATTGATGGGTGGA
962	ATCCACCCATCAATTTATCCAACCA	2226	TGGTTGGATAAATTGATGGGTGGAT
963	CATCCACCCATCAATTTATCCAACC	2227	GGTTGGATAAATTGATGGGTGGATG
964	CCATCCACCCATCAATTTATCCAAC	2228	GTTGGATAAATTGATGGGTGGATGG
965	TCCATCCACCCATCAATTTATCCAA	2229	TTGGATAAATTGATGGGTGGATGGA
966	ATCCATCCACCCATCAATTTATCCA	2230	TGGATAAATTGATGGGTGGATGGAT
967	CATCCATCCACCCATCAATTTATCC	2231	GGATAAATTGATGGGTGGATGGATG
968	CCATCCATCCACCCATCAATTTATC	2232	GATAAATTGATGGGTGGATGGATGG
969	ACCATCCATCCACCCATCAATTTAT	2233	ATAAATTGATGGGTGGATGGATGGT
970	AACCATCCATCCACCCATCAATTTA	2234	TAAATTGATGGGTGGATGGATGGTT
971	CAACCATCCATCCACCCATCAATTT	2235	AAATTGATGGGTGGATGGATGGTTG
972	CCAACCATCCATCCACCCATCAATT	2236	AATTGATGGGTGGATGGATGGTTGG
973	ACCAACCATCCATCCACCCATCAAT	2237	ATTGATGGGTGGATGGATGGTTGGT
974	AACCAACCATCCATCCACCCATCAA	2238	TTGATGGGTGGATGGATGGTTGGTT
975	CAACCAACCATCCATCCACCCATCA	2239	TGATGGGTGGATGGATGGTTGGTTG
976	ACAACCAACCATCCATCCACCCATC	2240	GATGGGTGGATGGATGGTTGGTTGT
977	TACAACCAACCATCCATCCACCCAT	2241	ATGGGTGGATGGATGGTTGGTTGTA
978	ATACAACCAACCATCCATCCACCCA	2242	TGGGTGGATGGATGGTTGGTTGTAT
979	CATACAACCAACCATCCATCCACCC	2243	GGGTGGATGGATGGTTGGTTGTATG
980	TCATACAACCAACCATCCATCCACC	2244	GGTGGATGGATGGTTGGTTGTATGA
981	TTCATACAACCAACCATCCATCCAC	2245	GTGGATGGATGGTTGGTTGTATGAA
982	TTTCATACAACCAACCATCCATCCA	2246	TGGATGGATGGTTGGTTGTATGAAA
983	CTTTCATACAACCAACCATCCATCC	2247	GGATGGATGGTTGGTTGTATGAAAG
984	TCTTTCATACAACCAACCATCCATC	2248	GATGGATGGTTGGTTGTATGAAAGA
985	TTCTTTCATACAACCAACCATCCAT	2249	ATGGATGGTTGGTTGTATGAAAGAA
986	ATTCTTTCATACAACCAACCATCCA	2250	TGGATGGTTGGTTGTATGAAAGAAT
987	CATTCTTTCATACAACCAACCATCC	2251	GGATGGTTGGTTGTATGAAAGAATG

988	TCATTCTTTCATACAACCAACCATC	2252	GATGGTTGGTTGTATGAAAGAATGA
989	TTCATTCTTTCATACAACCAACCAT	2253	ATGGTTGGTTGTATGAAAGAATGAA
990	ATTCATTCTTTCATACAACCAACCA	2254	TGGTTGGTTGTATGAAAGAATGAAT
991	CATTCATTCTTTCATACAACCAACC	2255	GGTTGGTTGTATGAAAGAATGAATG
992	TCATTCATTCTTTCATACAACCAAC	2256	GTTGGTTGTATGAAAGAATGAATGA
993	ATCATTCATTCTTTCATACAACCAA	2257	TTGGTTGTATGAAAGAATGAATGAT
994	AATCATTCATTCTTTCATACAACCA	2258	TGGTTGTATGAAAGAATGAATGATT
995	CAATCATTCATTCTTTCATACAACC	2259	GGTTGTATGAAAGAATGAATGATTG
996	CCAATCATTCATTCTTTCATACAAC	2260	GTTGTATGAAAGAATGAATGATTGG
997	CCCAATCATTCATTCTTTCATACAA	2261	TTGTATGAAAGAATGAATGATTGGG
998	ACCCAATCATTCATTCTTTCATACA	2262	TGTATGAAAGAATGAATGATTGGGT
999	TACCCAATCATTCATTCTTTCATAC	2263	GTATGAAAGAATGAATGATTGGGTA
1000	CTACCCAATCATTCATTCTTTCATA	2264	TATGAAAGAATGAATGATTGGGTAG
1001	CCTACCCAATCATTCATTCTTTCAT	2265	ATGAAAGAATGAATGATTGGGTAGG
1002	ACCTACCCAATCATTCATTCTTTCA	2266	TGAAAGAATGAATGATTGGGTAGGT
1003	CACCTACCCAATCATTCATTCTTTC	2267	GAAAGAATGAATGATTGGGTAGGTG
1004	CCACCTACCCAATCATTCATTCTTT	2268	AAAGAATGAATGATTGGGTAGGTGG
1005	TCCACCTACCCAATCATTCATTCTT	2269	AAGAATGAATGATTGGGTAGGTGGA
1006	ATCCACCTACCCAATCATTCATTCT	2270	AGAATGAATGATTGGGTAGGTGGAT
1007	AATCCACCTACCCAATCATTCATTC	2271	GAATGAATGATTGGGTAGGTGGATT
1008	TAATCCACCTACCCAATCATTCATT	2272	AATGAATGATTGGGTAGGTGGATTA
1009	TTAATCCACCTACCCAATCATTCAT	2273	ATGAATGATTGGGTAGGTGGATTAA
1010	CTTAATCCACCTACCCAATCATTCA	2274	TGAATGATTGGGTAGGTGGATTAAG
1011	ACTTAATCCACCTACCCAATCATTC	2275	GAATGATTGGGTAGGTGGATTAAGT
1012	AACTTAATCCACCTACCCAATCATT	2276	AATGATTGGGTAGGTGGATTAAGTT
1013	CAACTTAATCCACCTACCCAATCAT	2277	ATGATTGGGTAGGTGGATTAAGTTG
1014	GCAACTTAATCCACCTACCCAATCA	2278	TGATTGGGTAGGTGGATTAAGTTGC
1015	CGCAACTTAATCCACCTACCCAATC	2279	GATTGGGTAGGTGGATTAAGTTGCG
1016	CCGCAACTTAATCCACCTACCCAAT	2280	ATTGGGTAGGTGGATTAAGTTGCGG
1017	TCCGCAACTTAATCCACCTACCCAA	2281	TTGGGTAGGTGGATTAAGTTGCGGA
1018	ATCCGCAACTTAATCCACCTACCCA	2282	TGGGTAGGTGGATTAAGTTGCGGAT
1019	GATCCGCAACTTAATCCACCTACCC	2283	GGGTAGGTGGATTAAGTTGCGGATC
1020	TGATCCGCAACTTAATCCACCTACC	2284	GGTAGGTGGATTAAGTTGCGGATCA
1021	TTGATCCGCAACTTAATCCACCTAC	2285	GTAGGTGGATTAAGTTGCGGATCAA
1022	ATTGATCCGCAACTTAATCCACCTA	2286	TAGGTGGATTAAGTTGCGGATCAAT
1023	CATTGATCCGCAACTTAATCCACCT	2287	AGGTGGATTAAGTTGCGGATCAATG
1024	ACATTGATCCGCAACTTAATCCACC	2288	GGTGGATTAAGTTGCGGATCAATGT
1025	TACATTGATCCGCAACTTAATCCAC	2289	GTGGATTAAGTTGCGGATCAATGTA
1026	ATACATTGATCCGCAACTTAATCCA	2290	TGGATTAAGTTGCGGATCAATGTAT
1027	CATACATTGATCCGCAACTTAATCC	2291	GGATTAAGTTGCGGATCAATGTATG
1028	CCATACATTGATCCGCAACTTAATC	2292	GATTAAGTTGCGGATCAATGTATGG
1029	CCCATACATTGATCCGCAACTTAAT	2293	ATTAAGTTGCGGATCAATGTATGGG
1030	TCCCATACATTGATCCGCAACTTAA	2294	TTAAGTTGCGGATCAATGTATGGGA

1031	ATCCCATACATTGATCCGCAACTTA	2295	TAAGTTGCGGATCAATGTATGGGAT
1032	CATCCCATACATTGATCCGCAACTT	2296	AAGTTGCGGATCAATGTATGGGATG
1033	CCATCCCATACATTGATCCGCAACT	2297	AGTTGCGGATCAATGTATGGGATGG
1034	TCCATCCCATACATTGATCCGCAAC	2298	GTTGCGGATCAATGTATGGGATGGA
1035	ATCCATCCCATACATTGATCCGCAA	2299	TTGCGGATCAATGTATGGGATGGAT
1036	CATCCATCCCATACATTGATCCGCA	2300	TGCGGATCAATGTATGGGATGGATG
1037	TCATCCATCCCATACATTGATCCGC	2301	GCGGATCAATGTATGGGATGGATGA
1038	TTCATCCATCCCATACATTGATCCG	2302	CGGATCAATGTATGGGATGGATGAA
1039	ATTCATCCATCCCATACATTGATCC	2303	GGATCAATGTATGGGATGGATGAAT
1040	CATTCATCCATCCCATACATTGATC	2304	GATCAATGTATGGGATGGATGAATG
1041	CCATTCATCCATCCCATACATTGAT	2305	ATCAATGTATGGGATGGATGAATGG
1042	TCCATTCATCCATCCCATACATTGA	2306	TCAATGTATGGGATGGATGAATGGA
1043	ATCCATTCATCCATCCCATACATTG	2307	CAATGTATGGGATGGATGAATGGAT
1044	CATCCATTCATCCATCCCATACATT	2308	AATGTATGGGATGGATGAATGGATG
1045	CCATCCATTCATCCATCCCATACAT	2309	ATGTATGGGATGGATGAATGGATGG
1046	TCCATCCATTCATCCATCCCATACA	2310	TGTATGGGATGGATGAATGGATGGA
1047	ATCCATCCATTCATCCATCCCATAC	2311	GTATGGGATGGATGAATGGATGGAT
1048	CATCCATCCATTCATCCATCCCATA	2312	TATGGGATGGATGAATGGATGGATG
1049	CCATCCATCCATTCATCCATCCCAT	2313	ATGGGATGGATGAATGGATGGATGG
1050	TCCATCCATCCATTCATCCATCCCA	2314	TGGGATGGATGAATGGATGGATGGA
1051	ATCCATCCATCCATTCATCCATCCC	2315	GGGATGGATGAATGGATGGATGGAT
1052	CATCCATCCATCCATTCATCCATCC	2316	GGATGGATGAATGGATGGATGGATG
1053	CCATCCATCCATCCATTCATCCATC	2317	GATGGATGAATGGATGGATGGATGG
1054	TCCATCCATCCATCCATTCATCCAT	2318	ATGGATGAATGGATGGATGGATGGA
1055	ATCCATCCATCCATCCATTCATCCA	2319	TGGATGAATGGATGGATGGATGGAT
1056	CATCCATCCATCCATCCATTCATCC	2320	GGATGAATGGATGGATGGATGGATG
1057	ACATCCATCCATCCATCCATTCATC	2321	GATGAATGGATGGATGGATGGATGT
1058	CACATCCATCCATCCATCCATTCAT	2322	ATGAATGGATGGATGGATGGATGTG
1059	ACACATCCATCCATCCATCCATTCA	2323	TGAATGGATGGATGGATGGATGTGT
1060	CACACATCCATCCATCCATCCATTC	2324	GAATGGATGGATGGATGGATGTGTG
1061	CCACACATCCATCCATCCATCCATT	2325	AATGGATGGATGGATGGATGTGTGG
1062	ACCACACATCCATCCATCCATCCAT	2326	ATGGATGGATGGATGGATGTGTGGT
1063	AACCACACATCCATCCATCCATCCA	2327	TGGATGGATGGATGGATGTGTGGTT
1064	CAACCACACATCCATCCATCCATCC	2328	GGATGGATGGATGGATGTGTGGTTG
1065	TCAACCACACATCCATCCATCCATC	2329	GATGGATGGATGGATGTGTGGTTGA
1066	TTCAACCACACATCCATCCATCCAT	2330	ATGGATGGATGGATGTGTGGTTGAA
1067	ATTCAACCACACATCCATCCATCCA	2331	TGGATGGATGGATGTGTGGTTGAAT
1068	AATTCAACCACACATCCATCCATCC	2332	GGATGGATGGATGTGTGGTTGAATT
1069	TAATTCAACCACACATCCATCCATC	2333	GATGGATGGATGTGTGGTTGAATTA
1070	GTAATTCAACCACACATCCATCCAT	2334	ATGGATGGATGTGTGGTTGAATTAC
1071	AGTAATTCAACCACACATCCATCCA	2335	TGGATGGATGTGTGGTTGAATTACT
1072	CAGTAATTCAACCACACATCCATCC	2336	GGATGGATGTGTGGTTGAATTACTG
1073	TCAGTAATTCAACCACACATCCATC	2337	GATGGATGTGTGGTTGAATTACTGA

1074	TTCAGTAATTCAACCACACATCCAT	2338	ATGGATGTGTGGTTGAATTACTGAA
1075	TTTCAGTAATTCAACCACACATCCA	2339	TGGATGTGTGGTTGAATTACTGAAA
1076	CTTTCAGTAATTCAACCACACATCC	2340	GGATGTGTGGTTGAATTACTGAAAG
1077	CCTTTCAGTAATTCAACCACACATC	2341	GATGTGTGGTTGAATTACTGAAAGG
1078	ACCTTTCAGTAATTCAACCACACAT	2342	ATGTGTGGTTGAATTACTGAAAGGT
1079	AACCTTTCAGTAATTCAACCACACA	2343	TGTGTGGTTGAATTACTGAAAGGTT
1080	CAACCTTTCAGTAATTCAACCACAC	2344	GTGTGGTTGAATTACTGAAAGGTTG
1081	CCAACCTTTCAGTAATTCAACCACA	2345	TGTGGTTGAATTACTGAAAGGTTGG
1082	TCCAACCTTTCAGTAATTCAACCAC	2346	GTGGTTGAATTACTGAAAGGTTGGA
1083	TTCCAACCTTTCAGTAATTCAACCA	2347	TGGTTGAATTACTGAAAGGTTGGAA
1084	CTTCCAACCTTTCAGTAATTCAACC	2348	GGTTGAATTACTGAAAGGTTGGAAG
1085	TCTTCCAACCTTTCAGTAATTCAAC	2349	GTTGAATTACTGAAAGGTTGGAAGA
1086	CTCTTCCAACCTTTCAGTAATTCAA	2350	TTGAATTACTGAAAGGTTGGAAGAG
1087	ACTCTTCCAACCTTTCAGTAATTCA	2351	TGAATTACTGAAAGGTTGGAAGAGT
1088	CACTCTTCCAACCTTTCAGTAATTC	2352	GAATTACTGAAAGGTTGGAAGAGTG
1089	CCACTCTTCCAACCTTTCAGTAATT	2353	AATTACTGAAAGGTTGGAAGAGTGG
1090	TCCACTCTTCCAACCTTTCAGTAAT	2354	ATTACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGA
1091	ATCCACTCTTCCAACCTTTCAGTAA	2355	TTACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGAT
1092	CATCCACTCTTCCAACCTTTCAGTA	2356	TACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGATG
1093	CCATCCACTCTTCCAACCTTTCAGT	2357	ACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGATGG
1094	CCCATCCACTCTTCCAACCTTTCAG	2358	CTGAAAGGTTGGAAGAGTGGATGGG
1095	ACCCATCCACTCTTCCAACCTTTCA	2359	TGAAAGGTTGGAAGAGTGGATGGGT
1096	CACCCATCCACTCTTCCAACCTTTC	2360	GAAAGGTTGGAAGAGTGGATGGGTG
1097	TCACCCATCCACTCTTCCAACCTTT	2361	AAAGGTTGGAAGAGTGGATGGGTGA
1098	TTCACCCATCCACTCTTCCAACCTT	2362	AAGGTTGGAAGAGTGGATGGGTGAA
1099	TTTCACCCATCCACTCTTCCAACCT	2363	AGGTTGGAAGAGTGGATGGGTGAAA
1100	ATTTCACCCATCCACTCTTCCAACC	2364	GGTTGGAAGAGTGGATGGGTGAAAT
1101	AATTTCACCCATCCACTCTTCCAAC	2365	GTTGGAAGAGTGGATGGGTGAAATT
1102	AAATTTCACCCATCCACTCTTCCAA	2366	TTGGAAGAGTGGATGGGTGAAATTT
1103	CAAATTTCACCCATCCACTCTTCCA	2367	TGGAAGAGTGGATGGGTGAAATTTG
1104	CCAAATTTCACCCATCCACTCTTCC	2368	GGAAGAGTGGATGGGTGAAATTTGG
1105	CCCAAATTTCACCCATCCACTCTTC	2369	GAAGAGTGGATGGGTGAAATTTGGG
1106	CCCCAAATTTCACCCATCCACTCTT	2370	AAGAGTGGATGGGTGAAATTTGGGG
1107	ACCCCAAATTTCACCCATCCACTCT	2371	AGAGTGGATGGGTGAAATTTGGGGT
1108	TACCCCAAATTTCACCCATCCACTC	2372	GAGTGGATGGGTGAAATTTGGGGTA
1109	CTACCCCAAATTTCACCCATCCACT	2373	AGTGGATGGGTGAAATTTGGGGTAG
1110	ACTACCCCAAATTTCACCCATCCAC	2374	GTGGATGGGTGAAATTTGGGGTAGT
1111	AACTACCCCAAATTTCACCCATCCA	2375	TGGATGGGTGAAATTTGGGGTAGTT
1112	TAACTACCCCAAATTTCACCCATCC	2376	GGATGGGTGAAATTTGGGGTAGTTA
1113	CTAACTACCCCAAATTTCACCCATC	2377	GATGGGTGAAATTTGGGGTAGTTAG
1114	TCTAACTACCCCAAATTTCACCCAT	2378	ATGGGTGAAATTTGGGGTAGTTAGA
1115	ATCTAACTACCCCAAATTTCACCCA	2379	TGGGTGAAATTTGGGGTAGTTAGAT
1116	CATCTAACTACCCCAAATTTCACCC	2380	GGGTGAAATTTGGGGTAGTTAGATG

1117	CCATCTAACTACCCCAAATTTCACC	2381	GGTGAAATTTGGGGTAGTTAGATGG
1118	CCCATCTAACTACCCCAAATTTCAC	2382	GTGAAATTTGGGGTAGTTAGATGGG
1119	ACCCATCTAACTACCCCAAATTTCA	2383	TGAAATTTGGGGTAGTTAGATGGGT
1120	CACCCATCTAACTACCCCAAATTTC	2384	GAAATTTGGGGTAGTTAGATGGGTG
1121	CCACCCATCTAACTACCCCAAATTT	2385	AAATTTGGGGTAGTTAGATGGGTGG
1122	CCCACCCATCTAACTACCCCAAATT	2386	AATTTGGGGTAGTTAGATGGGTGGG
1123	ACCCACCCATCTAACTACCCCAAAT	2387	ATTTGGGGTAGTTAGATGGGTGGGT
1124	CACCCACCCATCTAACTACCCCAAA	2388	TTTGGGGTAGTTAGATGGGTGGGTG
1125	ACACCCACCCATCTAACTACCCCAA	2389	TTGGGGTAGTTAGATGGGTGGGTGT
1126	CACACCCACCCATCTAACTACCCCA	2390	TGGGGTAGTTAGATGGGTGGGTGTG
1127	ACACACCCACCCATCTAACTACCCC	2391	GGGGTAGTTAGATGGGTGGGTGTGT
1128	CACACACCCACCCATCTAACTACCC	2392	GGGTAGTTAGATGGGTGGGTGTGTG
1129	CCACACACCCACCCATCTAACTACC	2393	GGTAGTTAGATGGGTGGGTGTGTGG
1130	TCCACACACCCACCCATCTAACTAC	2394	GTAGTTAGATGGGTGGGTGTGTGGA
1131	ATCCACACACCCACCCATCTAACTA	2395	TAGTTAGATGGGTGGGTGTGTGGAT
1132	CATCCACACACCCACCCATCTAACT	2396	AGTTAGATGGGTGGGTGTGTGGATG
1133	CCATCCACACACCCACCCATCTAAC	2397	GTTAGATGGGTGGGTGTGTGGATGG
1134	TCCATCCACACACCCACCCATCTAA	2398	TTAGATGGGTGGGTGTGTGGATGGA
1135	ATCCATCCACACACCCACCCATCTA	2399	TAGATGGGTGGGTGTGTGGATGGAT
1136	TATCCATCCACACACCCACCCATCT	2400	AGATGGGTGGGTGTGTGGATGGATA
1137	TTATCCATCCACACACCCACCCATC	2401	GATGGGTGGGTGTGTGGATGGATAA
1138	TTTATCCATCCACACACCCACCCAT	2402	ATGGGTGGGTGTGTGGATGGATAAA
1139	TTTTATCCATCCACACACCCACCCA	2403	TGGGTGGGTGTGTGGATGGATAAAA
1140	CTTTTATCCATCCACACACCCACCC	2404	GGGTGGGTGTGTGGATGGATAAAAG
1141	TCTTTTATCCATCCACACACCCACC	2405	GGTGGGTGTGTGGATGGATAAAAGA
1142	CTCTTTTATCCATCCACACACCCAC	2406	GTGGGTGTGTGGATGGATAAAAGAG
1143	ACTCTTTTATCCATCCACACACCCA	2407	TGGGTGTGTGGATGGATAAAAGAGT
1144	TACTCTTTTATCCATCCACACACCC	2408	GGGTGTGTGGATGGATAAAAGAGTA
1145	CTACTCTTTTATCCATCCACACACC	2409	GGTGTGTGGATGGATAAAAGAGTAG
1146	TCTACTCTTTTATCCATCCACACAC	2410	GTGTGTGGATGGATAAAAGAGTAGA
1147	ATCTACTCTTTTATCCATCCACACA	2411	TGTGTGGATGGATAAAAGAGTAGAT
1148	CATCTACTCTTTTATCCATCCACAC	2412	GTGTGGATGGATAAAAGAGTAGATG
1149	TCATCTACTCTTTTATCCATCCACA	2413	TGTGGATGGATAAAAGAGTAGATGA
1150	TTCATCTACTCTTTTATCCATCCAC	2414	GTGGATGGATAAAAGAGTAGATGAA
1151	ATTCATCTACTCTTTTATCCATCCA	2415	TGGATGGATAAAAGAGTAGATGAAT
1152	CATTCATCTACTCTTTTATCCATCC	2416	GGATGGATAAAAGAGTAGATGAATG
1153	TCATTCATCTACTCTTTTATCCATC	2417	GATGGATAAAAGAGTAGATGAATGA
1154	TTCATTCATCTACTCTTTTATCCAT	2418	ATGGATAAAAGAGTAGATGAATGAA
1155	ATTCATTCATCTACTCTTTTATCCA	2419	TGGATAAAAGAGTAGATGAATGAAT
1156	AATTCATTCATCTACTCTTTTATCC	2420	GGATAAAAGAGTAGATGAATGAATT
1157	TAATTCATTCATCTACTCTTTTATC	2421	GATAAAAGAGTAGATGAATGAATTA
1158	TTAATTCATTCATCTACTCTTTTAT	2422	ATAAAAGAGTAGATGAATGAATTAA
1159	ATTAATTCATTCATCTACTCTTTTA	2423	TAAAAGAGTAGATGAATGAATTAAT

1160	CATTAATTCATTCATCTACTCTTTT	2424	AAAAGAGTAGATGAATGAATTAATG
1161	TCATTAATTCATTCATCTACTCTTT	2425	AAAGAGTAGATGAATGAATTAATGA
1162	TTCATTAATTCATTCATCTACTCTT	2426	AAGAGTAGATGAATGAATTAATGAA
1163	ATTCATTAATTCATTCATCTACTCT	2427	AGAGTAGATGAATGAATTAATGAAT
1164	TATTCATTAATTCATTCATCTACTC	2428	GAGTAGATGAATGAATTAATGAATA
1165	TTATTCATTAATTCATTCATCTACT	2429	AGTAGATGAATGAATTAATGAATAA
1166	TTTATTCATTAATTCATTCATCTAC	2430	GTAGATGAATGAATTAATGAATAAA
1167	GTTTATTCATTAATTCATTCATCTA	2431	TAGATGAATGAATTAATGAATAAAC
1168	TGTTTATTCATTAATTCATTCATCT	2432	AGATGAATGAATTAATGAATAAACA
1169	CTGTTTATTCATTAATTCATTCATC	2433	GATGAATGAATTAATGAATAAACAG
1170	CCTGTTTATTCATTAATTCATTCAT	2434	ATGAATGAATTAATGAATAAACAGG
1171	GCCTGTTTATTCATTAATTCATTCA	2435	TGAATGAATTAATGAATAAACAGGC
1172	TGCCTGTTTATTCATTAATTCATTC	2436	GAATGAATTAATGAATAAACAGGCA
1173	CTGCCTGTTTATTCATTAATTCATT	2437	AATGAATTAATGAATAAACAGGCAG
1174	TCTGCCTGTTTATTCATTAATTCAT	2438	ATGAATTAATGAATAAACAGGCAGA
1175	ATCTGCCTGTTTATTCATTAATTCA	2439	TGAATTAATGAATAAACAGGCAGAT
1176	CATCTGCCTGTTTATTCATTAATTC	2440	GAATTAATGAATAAACAGGCAGATG
1177	CCATCTGCCTGTTTATTCATTAATT	2441	AATTAATGAATAAACAGGCAGATGG
1178	TCCATCTGCCTGTTTATTCATTAAT	2442	ATTAATGAATAAACAGGCAGATGGA
1179	ATCCATCTGCCTGTTTATTCATTAA	2443	TTAATGAATAAACAGGCAGATGGAT
1180	CATCCATCTGCCTGTTTATTCATTA	2444	TAATGAATAAACAGGCAGATGGATG
1181	TCATCCATCTGCCTGTTTATTCATT	2445	AATGAATAAACAGGCAGATGGATGA
1182	ATCATCCATCTGCCTGTTTATTCAT	2446	ATGAATAAACAGGCAGATGGATGAT
1183	CATCATCCATCTGCCTGTTTATTCA	2447	TGAATAAACAGGCAGATGGATGATG
1184	ACATCATCCATCTGCCTGTTTATTC	2448	GAATAAACAGGCAGATGGATGATGT
1185	TACATCATCCATCTGCCTGTTTATT	2449	AATAAACAGGCAGATGGATGATGTA
1186	TTACATCATCCATCTGCCTGTTTAT	2450	ATAAACAGGCAGATGGATGATGTAA
1187	CTTACATCATCCATCTGCCTGTTTA	2451	TAAACAGGCAGATGGATGATGTAAG
1188	GCTTACATCATCCATCTGCCTGTTT	2452	AAACAGGCAGATGGATGATGTAAGC
1189	AGCTTACATCATCCATCTGCCTGTT	2453	AACAGGCAGATGGATGATGTAAGCT
1190	CAGCTTACATCATCCATCTGCCTGT	2454	ACAGGCAGATGGATGATGTAAGCTG
1191	GCAGCTTACATCATCCATCTGCCTG	2455	CAGGCAGATGGATGATGTAAGCTGC
1192	GGCAGCTTACATCATCCATCTGCCT	2456	AGGCAGATGGATGATGTAAGCTGCC
1193	GGGCAGCTTACATCATCCATCTGCC	2457	GGCAGATGGATGATGTAAGCTGCCC
1194	GGGGCAGCTTACATCATCCATCTGC	2458	GCAGATGGATGATGTAAGCTGCCCC
1195	TGGGGCAGCTTACATCATCCATCTG	2459	CAGATGGATGATGTAAGCTGCCCCA
1196	CTGGGGCAGCTTACATCATCCATCT	2460	AGATGGATGATGTAAGCTGCCCCAG
1197	TCTGGGGCAGCTTACATCATCCATC	2461	GATGGATGATGTAAGCTGCCCCAGA
1198	GTCTGGGGCAGCTTACATCATCCAT	2462	ATGGATGATGTAAGCTGCCCCAGAC
1199	GGTCTGGGGCAGCTTACATCATCCA	2463	TGGATGATGTAAGCTGCCCCAGACC
1200	GGGTCTGGGGCAGCTTACATCATCC	2464	GGATGATGTAAGCTGCCCCAGACCC
1201	AGGGTCTGGGGCAGCTTACATCATC	2465	GATGATGTAAGCTGCCCCAGACCCT
1202	CAGGGTCTGGGGCAGCTTACATCAT	2466	ATGATGTAAGCTGCCCCAGACCCTG

1203	CCAGGGTCTGGGGCAGCTTACATCA	2467	TGATGTAAGCTGCCCCAGACCCTGG
1204	CCCAGGGTCTGGGGCAGCTTACATC	2468	GATGTAAGCTGCCCCAGACCCTGGG
1205	TCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTACAT	2469	ATGTAAGCTGCCCCAGACCCTGGGA
1206	GTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTACA	2470	TGTAAGCTGCCCCAGACCCTGGGAC
1207	GGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTAC	2471	GTAAGCTGCCCCAGACCCTGGGACC
1208	AGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTA	2472	TAAGCTGCCCCAGACCCTGGGACCT
1209	GAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTT	2473	AAGCTGCCCCAGACCCTGGGACCTC
1210	AGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCT	2474	AGCTGCCCCAGACCCTGGGACCTCT
1211	CAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGC	2475	GCTGCCCCAGACCCTGGGACCTCTG
1212	TCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAG	2476	CTGCCCCAGACCCTGGGACCTCTGA
1213	GTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCA	2477	TGCCCCAGACCCTGGGACCTCTGAC
1214	GGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGC	2478	GCCCCAGACCCTGGGACCTCTGACC
1215	GGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGG	2479	CCCCAGACCCTGGGACCTCTGACCC
1216	GGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGG	2480	CCCAGACCCTGGGACCTCTGACCCC
1217	GGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGG	2481	CCAGACCCTGGGACCTCTGACCCCC
1218	CGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTG	2482	CAGACCCTGGGACCTCTGACCCCCG
1219	CCGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCT	2483	AGACCCTGGGACCTCTGACCCCCGG
1220	GCCGGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTC	2484	GACCCTGGGACCTCTGACCCCCGGC
1221	CGCCGGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGT	2485	ACCCTGGGACCTCTGACCCCCGGCG
1222	TCGCCGGGGGGTCAGAGGTCCCAGGG	2486	CCCTGGGACCTCTGACCCCCGGCGA
1223	GTCGCCGGGGGGTCAGAGGTCCCAGG	2487	CCTGGGACCTCTGACCCCCGGCGAC
1224	GGTCGCCGGGGGGTCAGAGGTCCCAG	2488	CTGGGACCTCTGACCCCCGGCGACC
1225	GGGTCGCCGGGGGGTCAGAGGTCCCA	2489	TGGGACCTCTGACCCCCGGCGACCC
1226	GGGGTCGCCGGGGGGTCAGAGGTCCC	2490	GGGACCTCTGACCCCCGGCGACCCC
1227	AGGGGTCGCCGGGGGGTCAGAGGTCC	2491	GGACCTCTGACCCCCGGCGACCCCT
1228	AAGGGGTCGCCGGGGGGTCAGAGGTC	2492	GACCTCTGACCCCCGGCGACCCCTT
1229	CAAGGGGTCGCCGGGGGGTCAGAGGT	2493	ACCTCTGACCCCCGGCGACCCCTTG
1230	GCAAGGGGTCGCCGGGGGGTCAGAGG	2494	CCTCTGACCCCCGGCGACCCCTTGC
1231	TGCAAGGGGTCGCCGGGGGGTCAGAG	2495	CTCTGACCCCCGGCGACCCCTTGCA
1232	GTGCAAGGGGTCGCCGGGGGGTCAGA	2496	TCTGACCCCCGGCGACCCCTTGCAC
1233	AGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGGTCAG	2497	CTGACCCCCGGCGACCCCTTGCACT
1234	GAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGGTCA	2498	TGACCCCCGGCGACCCCTTGCACTC
1235	AGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGGTC	2499	GACCCCCGGCGACCCCTTGCACTCT
1236	GAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGGT	2500	ACCCCCGGCGACCCCTTGCACTCTC
1237	GGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGG	2501	CCCCCGGCGACCCCTTGCACTCTCC
1238	TGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGG	2502	CCCCGGCGACCCCTTGCACTCTCCA
1239	ATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGG	2503	CCCGGCGACCCCTTGCACTCTCCAT
1240	CATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGG	2504	CCGGCGACCCCTTGCACTCTCCATG
1241	TCATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCG	2505	CGGCGACCCCTTGCACTCTCCATGA
1242	GTCATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCC	2506	GGCGACCCCTTGCACTCTCCATGAC
1243	TGTCATGGAGAGTGCAAGGGGTCGC	2507	GCGACCCCTTGCACTCTCCATGACA
1244	GTGTCATGGAGAGTGCAAGGGGTCG	2508	CGACCCCTTGCACTCTCCATGACAC
1245	AGTGTCATGGAGAGTGCAAGGGGTC	2509	GACCCCTTGCACTCTCCATGACACT

1246	AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGGGT	2510	ACCCCTTGCACTCTCCATGACACTT
1247	AAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGGG	2511	CCCCTTGCACTCTCCATGACACTTT
1248	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	2512	CCCTTGCACTCTCCATGACACTTTC
1249	AGAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGG	2513	CCTTGCACTCTCCATGACACTTTCT
1250	GAGAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAG	2514	CTTGCACTCTCCATGACACTTTCTC
1251	AGAGAAAGTGTCATGGAGAGTGCAA	2515	TTGCACTCTCCATGACACTTTCTCT
1252	GAGAGAAAGTGTCATGGAGAGTGCA	2516	TGCACTCTCCATGACACTTTCTCTC
1253	GGAGAGAAAGTGTCATGGAGAGTGC	2517	GCACTCTCCATGACACTTTCTCTCC
1254	GGGAGAGAAAGTGTCATGGAGAGTG	2518	CACTCTCCATGACACTTTCTCTCCC
1255	TGGGAGAGAAAGTGTCATGGAGAGT	2519	ACTCTCCATGACACTTTCTCTCCCA
1256	ATGGGAGAGAAAGTGTCATGGAGAG	2520	CTCTCCATGACACTTTCTCTCCCAT
1257	CATGGGAGAGAAAGTGTCATGGAGA	2521	TCTCCATGACACTTTCTCTCCCATG
1258	CCATGGGAGAGAAAGTGTCATGGAG	2522	CTCCATGACACTTTCTCTCCCATGG
1259	ACCATGGGAGAGAAAGTGTCATGGA	2523	TCCATGACACTTTCTCTCCCATGGT
1260	CACCATGGGAGAGAAAGTGTCATGG	2524	CCATGACACTTTCTCTCCCATGGTG
1261	CCACCATGGGAGAGAAAGTGTCATG	2525	CATGACACTTTCTCTCCCATGGTGG
1262	GCCACCATGGGAGAGAAAGTGTCAT	2526	ATGACACTTTCTCTCCCATGGTGGC
1263	TGCCACCATGGGAGAGAAAGTGTCA	2527	TGACACTTTCTCTCCCATGGTGGCA
1264	CTGCCACCATGGGAGAGAAAGTGTC	2528	GACACTTTCTCTCCCATGGTGGCAG

*寡核苷酸序列的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

UNC13A转录本

[0172] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5057所示的序列。GCCCCCGGTGCTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATGCCCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGACATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACACGTACGTGACCCTGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGTTCGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGGCACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCCCAGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCTTTGAGCTACCCTTAGACATTCCTGAAGAGGAGGCTCGCTACTGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCGGGACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCCTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAACTGGAATTATTTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGACTACCGCAGTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACGTCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATATTCTGTTCGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACTCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAGCCCTCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGGACTTCGACCCTGACGAGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTGCCACAGCTCGGTCAGCTACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAGG

ACTTCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCC TGACGATT
TGGGCAGC TATGCCCAGCGTGAAGACGTAGC TGTGGC TGAGCCCAAAGAC TTCAAACGCATCAGCC
TCCCGCCAGC TGCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGG
CCCCCAAGCCAGCCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCC TGAGGC
TGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGT TTCAGGCCGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTC
CAGGGCCAAGGCCAACTGGC TGCGTGCC TTCAACAAGGTGCGGATGCAGC
TGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTC TAAATCCC TATGGTTCAAAGGCGGCCCAGGGGGCGGTCTCATC
ATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACC TATCCCAC TCGTGAGCGACT TGGCCATGTCCCTGG
TCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACC TCGGCC T TGGCCTCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGC
TGAAAAACCACGT TTACAAGAAGACCC TGCAAGCC TTAATCTACCCCATC TCGTGCACGACGCCACACAACT
TCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACC TACTGC TACGAGTGCGAGGGGCTGC
TGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGC TGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACC
TGCTCAACGCCGAC TGCCTGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGC TCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAAC
ATCATCATGGTGC TCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATCT TCGAGC
TCATCCAGGAGATC TTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC TG
GACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTC TGCGCCCAGGGCT TGCAGGCAAAGGACAA
GACAGGATCCAGTGACCCC TATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAA
CCTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATT TCCACT TTGAATGTCACAATTCC TCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTC
TGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGTTCAAGAGGGAATC TGACGATT
TCCTGGGGCAGACGATCAT TGAGGTGCGGACGC TCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGA
AC TGACAAATC TGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGC
CCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACC TGTTCCAC TTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGG
TCGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCCTGGAAGGTT TACTACGATGAGACAGCCCAGGAGATTGTGG
ACGAGT TTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATC TACCAAGCCATGACCCAC TT TGCC TGCCTCTCC
TCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCCTACTACGCACA
CACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCCTCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT TTGGGAAAGAGCGCT
TCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAAC TCCC TGCGGATTGACC TC TCCATGTACCGGAATAACT
TCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACC TCAAATCCAC TGTGGACC TTCTCACCAGCATCACCTTCT
TTCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTAAAGGAC TGTGTGAAAGCCTGCCT
TAAT TC TACC TACGAGTACATC T TCAATAAC TGCCATGAAC TGTACAGCCGGGAGTACCAGACAGACCC
GGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAACCTCGACT TCTGGTCCAAGC TGAT
TACCCTCATAGTGTCCATCAT TGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC TGCCTCAACCAGT
TTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATC TGTT TGCCCAAGACATGAAGTA
CGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTCTATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACTTCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAACT TCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCC TGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGCTGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT T
TCCTGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGT TCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC
TATTCTCCTGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGCT TTGAAATCATCAAGAAAC TCGAG
TGTCCCGACCCTCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC

TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGCCC TGC
ATTCTCATGAATAACACTCAACAGCTACGAGT TCAGCTGGAGAAGATGT TCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGC
TGGATGC TGAAGCCAGTGACATCCTGAAGGAGC TTCAGGTGAAACTCAATAACGTC TTGGATGAGC
TCAGCCGGGTGTTTGCTACCAGC TTCCAGCCGCACAT TGAAGAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCCT
TAGCCAGGT TAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCCTGCAGCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGT
TGCAGCCCATCATGGACCTGC TGGACAGCAACC TGACCC TC T TTGCCAAAATCTGTGAGAAGAC
TGTGCTGAAGCGAGTGC TGAAGGAGCTGTGGAAGC TGGT TATGAACACCATGGAGAAAACCATCGTCC
TGCCGCCCCTCAC TGACCAGACGATGATCGGGAACCTCT TGAGAAAACATGGCAAGGGAT TAGAAAAGGGCAG
GGTGAAATTGCCAAGCCACTCAGACGGAACCCAGATGATC TTCAATGCAGCCAAGGAGC
TGGGTCAGCTGTCCAAAC TCAAGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGC
TTGACCCCAAAGCAGTGCGCGGT TGTTGAGT TGGCCC TGGACACCATCAAGCAATATT
TCCACGCGGGTGGCGTGGGCC TCAAGAAGACCT TCCTGGAGAAGAGCCCGGACCTGCAATCC TTGCGC TATG
CCCTGTCGCTCTACACGCAGGCCACCGACCTGC TAATCAAGACCT TTGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGCT
TGGGTGTAGAAGACCCTGTGGGTGAAGTC TC TGTCCATGTTGAGC TGT TCAC TCATCCAGGAAC TGGGGA
ACACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGC TGCCAATGACCTCAAGTGGCAGACT TC TGGCATCT TCCGGCCGTT
C A T C G A G G T C A A C A T C A T T G G G C C C C A G C T C A G C G A C A A G A A A C G C A A G T
TTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGC TGGGC TCCCAAGTACAATGAGAGCT TCCAGT TCACGC TGAGCGCC
G A C G C G G G T C C C G A G T G C T A T G A G C T G C A G G T G T G C G T C A A G G A C T A C T G C T
TCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGGGGC TGGCCGTGCTGCAGCTGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCC
TGCTGGC TGCCGC TCGGCCGCCGCATCCACATGGACGACACGGGCC TCACGGTGCTGCGAATCC TC TCGCA
GCGCAGCAACGACGAGGTGGCCAAGGAGTTCGTGAAGC TCAAGTCGGACACGCGC TCCGCCGAGGAGGGCGGTG
CCGCGCCTGCGCCT TAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCC TGCGCGGAGGGCGC
TGGGCGGGGAGGGACGGGGCT TGCGCC TTGGTGGGACCTCCCCAGGGGCGGGGC
TCGGGGGGCTCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC TACGCCCT TGAC TCAGCT TTCCCT TT
TGGGGAATTAGGAATGGAGGATGCCCCGCCC TC TCGGGAGGCCACGCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCA
CATCCCCAACT TGAGGCCACGCCCCCAGCACCTAGGGGGCAT TT TGAGCTGGGATGGGGGAAACCTCGTCCCT
ATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGC TC TGGTACCGGGAGGCACCACCTCATGTCCCCTGGAAAAGCCATAAGATG
GGACCCAGACCCCTGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGAAATC TCAGCTCCCTCGAGGGGGGGCCC TGGG
CAAGGGGTAGGGCTCTCTGGAGCGCCCCTCTAGGTGGCC TGGGGACTGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGC
CCCGGAATACCGGAGTCCCT TTAGATAT TTGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGATT
TCAAAAGCACATGCGCCC T TGGGCGCCCAAACCCTGGGGGCCGAGGGGACGGC TC TGGTTCCCCACGC
TGCCCC TACT TCCC TT TGGGAGT TTGCCTCTCCCTCTCCCCCAACAAACCCAGTCCTCATATCATAGAGT
TCAACACACCCATT TGACAGATGGCAAAACTGAGGCT TAAAGAGC TGCT TGAGAC TTGGCCAAGGT
TCCAGGTGCCATACCC TC TGTGCCCCTCCCT TAGGCC TGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGC
TGAGATCGGGATGACCTGACACAGC TCCC TATTGCTGCTAAT TCCCCC TCGGCC
TCCTCCAAGGGGTGGGAAT TCCAGGCCAAGACCCC TACT TCGCCT TTCC T TC TCCGGC
TGCCAAGCAGGACC TT TGCCCTCAGCCC T TTCTCC TGGGATCTCCATGGGGGATGCCATGAGGGCCTCCCA
CCACAAAAGAGAATT TGGGATCCCC TGGTCCCAGGT TTCTCCATCCCT TC TTCC TT TTCCAGAATTT T
CCAAATAGGAAAGAACAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGAGAGA

GAGAAACACAAACACAGTGACACAGTGAGAGC TTAGTC TCCAAGAGCC TATTCATTGAT TCAAACACCCAAG
CCACAGGATACCTCAGATGGCCCTCT TGCCAGCTGGAAGC TC TT TC TCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACC
TGGC TGGAGT TACC TGGTGCACATAGGACCT TAGGGGAAAGTTCAGCGTGGAC TACACTTGC TC
TGGGATCTGC TT TTCCACATGTGTGTATGGCACGCCT TT TTCTGC TGGATTGGGAAGGACAAGATT TTGC
T G T G C T A G G G A G A A A T G A A A A C G G G G T G A G C T G A G T A G C T G G G T T T C
TGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGCT TTCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCAC TTAC
TAGAGAGAAAAGAGCTCCAGGCC TGGGGAACAGCACGTGCGAAGGCCAGGAGAGAAGAAC TGTTGAAACAACGA
GAAGGGTGGCACGGCTGGAGCTGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCCT TGGGGTTGGGGAGATCTGCAGAAG
C A T C A G A C C A G G C A G G G C C T C G T A C G C A G T C C T G A G G A G T T T A C T T T A T T C
TAAGACAGTTGGGGAGCTCCAGGAGC TGT TT TAAGTTGGGGAGAGAC TGGATTCCAGCC TGCAAAAGC
TGTT TTGTGAAGAC TAAAACCAGTGAGGAGAGGTGGAGGTGCT TTGGGGACAC TGAAATGGAT TC
TTGGAAAGATTCTGAAGGC TGTGTTGAAAAGACACC TATAGC TGTGGGGACATGAC TATAATCCCAGCAT
TTGGGGAGACCGAGGCTGGCAGATCAC TTAAGGTCAGGAGTT TGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCGAAACCCC
ATC TC TGCTAAAAATACAAAAAT TAGC TGGGTGCAGTGGTGCATGCCTGTAGTCCCAGCTAC TCAGGAGAC
TGAGGCGGGAGAAT TGTT TGAACCCTGGAGGCAGAGGTTGTAGTGAGTCGTGATCACACAACTGCAC TCCAGCC
TGGGCAACAGAACAATAC TCCATTCCC TCCCCTCTACCCCACCAAAAAAAAAAAAAAATCC TGCCC
TTAGATGAGC TC TAGGGC TGCTGAGTACAGT TGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGTT TGGCAT TGC
T A A G A A G G C C A C G T G C A A A T C C T A G A T A T T G A G T G T T G T A T G T T T G T G A C G T T G G T T
TCCCGACATGTGAATGGCCCAAGTGTC TGGAAGAAGTGGCGCCAC T TTCTAATT TGCT
TGGAGATGTTGCATGTCCCT TAAAT TCAGACAGGTGCAGGTAACTGGAGGT TC TGAACCAAAGGTTAAAATG
CAAATTCTCATACAGGGT TGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAAGC TTATGTGACTGT TATATGGAC
TGAGGAGCAGATGTGAAT TTCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGTGGATGGATGATTCAGGGT TG
TAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACC TGGGGTGAGGGTGATC TGGAAGATTTT TGGATGGC
TGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGTTAT TTCCCAAAAGATTCCTTAGGAGTCT
TTCTGT TCAAGACC TCCGTGTGTGTGTGTGTGTGT TTAGGGTTCCCCAGCAATGGCCCAGGCATGTGAAGGAA
ACAAGCT TC TTCAGGGAATATT TGTTGAATGAGT TT TCCTGACTCCCAGGCTAGAACTGTT TT TGCAAT
TTCCACCC TC TT TTCT TTCCCCCAGAGAACTCC TATTCGTCCT TCAAAACCCATCACGGAAACCCC TC
TTGGAGAAAACCCTCC TTCC TTCCCCTCAGGAC TT TCCCAGCCACCGTC TC TCCTCCAGTCCAGCC
TGATGCCATGGGAC TGGGGGTT TC TC TGTCCAGCTCTGT TTCTCCCAGACTGGGGTC TGAGGACTC
TCAGGACCCCCAAC TT TACC TAGCACAGGC TGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTCTACGCCTAGTGGAATT
ATGTAT TGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACATCCGCATGCATGTCTGTCCATGTCTGTCCGTACCAACC
TTCCCC TTCCACACGGACCTGGGCACATAGGAGGTGTCTGAGCCTGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGCTG
AGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGCTGAAAGCCT TT TGAAATCAGGAAGTTCC TGTATTGG
CAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCT TTCC TCAACGCCACCCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCCT
TGGATGACACCTCCAGGGT TC TGAACCCTGGACCTCGCT TTATGCAAGGAGC TGGCCCCACATT
T C C A T G A A T C G G G G A A A C A G C A C A A G A A G G T T G G C C T G T G G C A G G G C A A G G G T
TAAAGGGGTGACATTGAGGGATGCC TCAGAGTCAAAGTCCCC TGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAG
ACAGAGGGTGAGATCACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAG
AGAAAGATAAATGCAGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGT

TCACTCTTACCAGTCTGTCCTCGAATGATTTGCATAAAATGAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCA
GGCCCCAGAGCCTGAGACCTCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGA
CCTCTCTCGGCTGGGATCTCAGAGCCTTTCTGTCCCCTACCCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGAC
AACCTGGGGCCTCCCGGAACTCTGCCACCCTGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTG
CTCCCCAGAATCCTTTCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCT
TTTATTGTTTCAGAGAAAAATCAAGTTGACTGTGTCAAGTAACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGC
TCTCTGGAGACACAGGTCACAGGCGGAGGGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGT
CCACCCCTGTCTCGTGCTCCCTCAGACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTC
TTAGCATGTGATTGCAGATGTGAAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAG
TGTCTGCACAGACGCCTTCATTTCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCAT
GAATGCATGGTGTTGAGATGTTTTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACAT
TAAAAAAAGAAAAACCACACACA

(SEQ ID NO:5057(SOURCE NCBI参考序列NM_001080421.3))。

[0173] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5058所示的序列。GCC
CCCGGTGCTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATGC
CCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGAC
ATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACACGTACGTGACCC
TGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGTT
CGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGGC
ACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCCC
AGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCTT
TGAGCTACCCTTAGACATTCCTGAAGAGGAGGCTCGCTACTGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCGG
GACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCCTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAACTGGA
ATTATTTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGACTACCGCAG
TGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACGTCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATATTCTGTT
CGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACTCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAG
CCCTCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGGA
CTTCGACCCTGACGAGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTGC
CACAGCTCGGTCAGCTACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAGG
ACTTCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCCTGACGATTT
GGGCAGCTATGCCCAGCGTGAAGACGTAGCTGTGGCTGAGCCCAAAGACTTCAAACGCATCAGCCTCCCGCCAGCT
GCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAG
CCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCCTGAGGCTGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGTTTCAGGCC
GAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTCCAGGGCCAAGGCCAACTGGCTGCGTGCCTTCAAC
AAGGTGCGGATGCAGCTGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTCTAAATCCCTATGGTTCAAAGGCGGCCCAG
GGGGCGGTCTCATCATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACCTATCCCACTCGTGAGCGACTTGTC
CCTGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACCTCGGCCTTGGCCTCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGCTGAAAAAC
CACGTTTACAAGAAGACCCTGCAAGCCTTAATCTACCCCATCTCGTGCACGACGCCACACAACTTCGAAGTGTGGA
CGGCCACCACGCCCACCTACTGCTACGAGTGCGAGGGGCTGCTGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGCTGCAC

CGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACCTGCTCAACGCCGACTGCCTGCAGCGGGCTGCGGAGAAG
AGCTCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAACATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGC
GCAACAAGCCCGAGATCTTCGAGCTCATCCAGGAGATCTTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAA
GGCGGTCAAGCAGAGCGTGCTGGACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTCTGCGCCCAG
GGCTTGCAGGCAAAGGACAAGACAGGATCCAGTGACCCCTATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGA
CAAAAACCATCTATGGGAACCTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATTTCCACTTTGAATGTCACAATTCCTCCGACCG
CATCAAGGTGCGCGTCTGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGTTCAAGAGGGAATCTGAC
GATTTCCTGGGGCAGACGATCATTGAGGTGCGGACGCTCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGC
GAACTGACAAATCTGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGC
CCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACCTGTTCCACTTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGGTC
GTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCCTGGAAGGTTTACTACGATGAGACAGCCCAGGAGATTGTGGACG
AGTTTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATCTACCAAGCCATGACCCACTTTGCCTGCCTC TCC
TCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCC
TACTACGCACACACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCC TCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT
TTGGGAAAGAGCGCTTCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAACTCCC TGCGGATTGACC TC
TCCATGTACCGGAATAAC T TCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACCTCAAATCCAC TGTGGACC
TTCTCACCAGCATCACCT TCT TTCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTA
AAGGAC TGTGTGAAAGCCTGCCT TAAT TC TACC TACGAGTACATC TTCAATAAC TGCCATGAAC TGTA
CAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAAC
CTCGAC TTCTGGTCCAAGC TGAT TACCCTCATAGTGTCCATCATTGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC
TGCC TCAACCAGTTTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATC TGTT TGCC
CAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACT TCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAACT TCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCC TGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT
TTCC TGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC TATTCTCC
TGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAAC
TCGAGTGTCCCGACCC TCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC
TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGCCC TGC
ATTCTCATGAATAACACTCAACAGCTACGAGT TCAGCTGGAGAAGATGTTCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGC T
GGATGCTGAAGCCAGTGACATCCTGAAGGAGC TTCAGGTGAAAC TCAATAACGTC TTGGATGAGC
TCAGCCGGGTGT TTGCTACCAGC TTCCAGCCGCACAT TGAAGAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCCT TA
GCCAGGTTAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCCTGCAGCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGT
TGCAGCCCATCATGGACCTGC TGGACAGCAACC TGACCC TC TT TGCCAAAATCTGTGAGAAGAC
TGTGCTGAAGCGAGTGC TGAAGGAGCTGTGGAAGC TGGT TATGAACACCATGGAGAAAACCATCGTCC TGCC
GCCCCTCACTGACCAGACGGGGAACCTCT TGAGAAAACATGGCAAGGGATTAGAAAAGGGCAGGGTGAAATTGCC
AAGCCAC TCAGACGGAACCCAGATGATC TTCAATGCAGCCAAGGAGC TGGGTCAGCTGTCCAAAC TCAAGGA
TCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGC TTGACCCCAAAGCAGTGCGCGGT TGTTGAGT TGGCCC
TGGACACCATCAAGCAATATT TCCACGCGGGTGGCGTGGGCCTCAAGAAGACCT
TCCTGGAGAAGAGCCCGGACCTGCAATCC TTGCGC TATGCCCTGTCGCTCTACACGCAGGCCACCGACCTGC

TAATCAAGACCT TTGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGCT TGGGTGTAGAAGACCC TGTGGGTGAAGTC TC
TGTCCATGTTGAGC TGTTCACTCATCCAGGAAC TGGGGAACACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGC
TGCCAATGACCTCAAGTGGCAGAC TTCTGGCATCTTCCGGCCGTTCATCGAGGTCAACATCAT TGGGCCCCAGC
TCAGCGACAAGAAACGCAAGTT TGCGACCAAATCCAAGAACAATAGC TGGGCTCCCAAGTACAATGAGAGCT
TCCAGT TCACGC TGAGCGCCGACGCGGGTCCCGAGTGCTATGAGC TGCAGGTGTGCGTCAAGGACTAC TGCT
TCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGGGGCTGGCCGTGCTGCAGCTGCGTGAGC TGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCC
TGCTGGCTGCCGCTCGGCCGCCGCATCCACATGGACGACACGGGCCTCACGGTGC TGCGAATCC TC TCGCAGC
GCAGCAACGACGAGGTGGCCAAGGAGTTCGTGAAGC TCAAGTCGGACACGCGC
TCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCC TGCGCC T TAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCACTGCGCCTGCGCGG
AGGGCGC TGGGCGGGGAGGGACGGGGC TTGCGCCTTGGTGGGACCTCCCCAGGGGCGGGGCTCGGGGGGCTCCA
CGCCAAGGGTGGGCTGCGCCTACGCCCT TGAC TCAGCT TTCCCT TT TGGGGAAT
TAGGAATGGAGGATGCCCCGCCC TC TCGGGAGGCCACGCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCA
AC TTGAGGCCACGCCCCCAGCACCTAGGGGGCATT TTGAGCTGGGATGGGGGAAACCTCGTCCC
TATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGC TC TGGTACCGGGAGGCACCACCTCATGTCCCCTGGAAAAGCCATAAGAT
GGGACCCAGACCCCTGGGACCCCAGACCAAT TGCCAAGTATGGAAATC TCAGCTCCCTCGAGGGGGGGCCCTGG
GCAAGGGGTAGGGCTCTCTGGAGCGCCCC TC TAGGTGGCCTGGGGACTGGAGGGACCAGGATGC TGGT
TGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTCCC TT TAGATATT TGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGG
GATT TCAAAAGCACATGCGCCC TTGGGCGCCCAAACCCTGGGGGCCGAGGGGACGGC TC TGGT TCCCCACGC
TGCCCC TACT TCCC TT TGGGAGTT TGCC TC TCCCTCTCCCCCAACAAACCCAGTCCTCATATCATAGAGT
TCAACACACCCATT TGACAGATGGCAAAAC TGAGGCTTAAAGAGC TGCT TGAGAC
TTGGCCAAGGTTCCAGGTGCCATACCC TC TGTGCCCC TCCC TTAGGCC TGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGC
TGAGATCGGGATGACCTGACACAGC TCCC TATTGC TGCTAATTCCCCC TCGGCC TCCTCCAAGGGGTGGGA
ATTCCAGGCCAAGACCCC TACT TCGCCT TTCC TTCTCCGGCTGCCAAGCAGGACC TT TGCCCTCAGCCC
TT TC TCCTGGGATCTCCATGGGGGATGCCATGAGGGCCTCCCACCACAAAAGAGAATT TGGGATCCCC
TGGTCCCAGGTT TC TCCATCCCT TC TTCC TT TTCCAGAATT TTCCAAATAGGAAAGAACAGAAGGAGAC
CAGAAAC TC TAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGAGAGAGAGAAACACAAACACAGTGACACA
GTGAGAGCT TAGTC TCCAAGAGCC TATTCATTGATTCAAACACCCAAGCCACAGGATACCTCAGATGGCCC TC
TTGCCAGC TGGAAGC TC TT TC TCCAATGAGCAAAGTTACAGTGACCTGGC TGGAGT TACC
TGGTGCACATAGGACC TTAGGGGAAAGTTCAGCGTGGAC TACACT TGCTCTGGGATCTGC TT
TTCCACATGTGTGTATGGCACGCC TT T TTCTGC TGGATTGGGAAGGACAAGAT TT TGCTGTGCTAGGGAG
AAATGAAAACGGGGTGAGCTGAGTAGCTGGGTTTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGCTTTCCGAGGTGAAG
AATGAGAGGGAACCACTTACTAGAGAGAAAAGAGCTCCAGGCCTGGGGAACAGCACGTGCGAAGGCCAGGAGAGAAG
AACTGTTGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGCTGGAGCTGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCCTTGGGGTTGG
GGAGATCTGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCTCGTACGCAGTCCTGAGGAGTTTTACTTTTATTCTAAGACAGT
TGGGGAGCTCCAGGAGCTGTTTTAAGTTGGGGAGAGACTGGATTCCAGCCTGCAAAAGCTGTTTTGTGAAGACTAAA
ACCAGTGAGGAGAGGTGGAGGTGCTTTGGGGACACTGAAATGGATTCTTGGAAAGATTCTGAAGGCTGTGTTGAAAA
GACACCTATAGCTGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATTTGGGGAGACCGAGGCTGGCAGATCACTTAAGGTCAG
GAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCGAAACCCCATCTCTGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGT
GCATGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGACTGAGGCGGGAGAATTGTTTGAACCCTGGAGGCAGAGGTTGTAGTGA

GTCGTGATCACACAACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAACAATACTCCATTCCCTCCCCTCTACCCCACCAAAAAA
AAAAAAAAATCCTGCCCTTAGATGAGCTCTAGGGCTGCTGAGTACAGTTGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGTTT
GGCATTGCTAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATATTGAGTGTTGTATGTTTGTGACGTTGGTTTCCCGACATGTG
AATGGCCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCACTTTCTAATTTGCTTGGAGATGTTGCATGTCCCTTAAATTCAGAC
AGGTGCAGGTAACTGGAGGTTCTGAACCAAAGGTTAAAATGCAAATTCTCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGG
GATAAGCTTATGTGACTGTTATATGGACTGAGGAGCAGATGTGAATTTCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGT
CGGGTGGATGGATGATTCAGGGTTGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACCTGGGGTGAGGGTGAT
CTGGAAGATTTTTGGATGGCTGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGTTATTTCCCAAAAGAT
TCCTTAGGAGTCTTTCTGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTTTAGGGTTCCCCAGCAATGGCCCAGGCAT
GTGAAGGAAACAAGCTTCTTCAGGGAATATTTGTTGAATGAGTTTTCCTGACTCCCAGGCTAGAACTGTTTTTGCAA
TTTCCACCCTCTTTTCTTTCCCCCAGAGAACTCCTATTCGTCCTTCAAAACCCATCACGGAAACCCCTCTTGGAGAA
AACCCTCCTTCCTTCCCCTCAGGACTTTCCCAGCCACCGTCTCTCCTCCAGTCCAGCCTGATGCCATGGGACTGGGG
GTTTCTCTGTCCAGCTCTGTTTCTCCCAGACTGGGGTCTGAGGACTCTCAGGACCCCCAACTTTACCTAGCACAGGC
TGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTCTACGCCTAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACAT
CCGCATGCATGTCTGTCCATGTCTGTCCGTACCAACCTTCCCCTTCCACACGGACCTGGGCACATAGGAGGTGTCTG
AGCCTGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGCTGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGCTGAAA
GCCTTTTGAAATCAGGAAGTTCCTGTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCTTTCCTCAACGCCACCCA
GCAAGTGGACACAGAGCCCGGCCTTGGATGACACCTCCAGGGTTCTGAACCCTGGACCTCGCTTTATGCAAGGAGCT
GGCCCCACATTTCCATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGTTGGCCTGTGGCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTGACA
TTGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCCTGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGATCA
CGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGATAAATGCAG
AGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGTTCACTCTTACCAGTCT
GTCCTCGAATGATTTGCATAAAATGAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCAGGCCCCAGAGCCTGAG
ACCTCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGACCTCTCTCGGCTGGGA
TCTCAGAGCCTTTCTGTCCCCTACCCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGACAACCTGGGGCCTCCCG
GAACTCTGCCACCCTGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTGCTCCCCAGAATCCTTT
CCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCTTTTATTGTTTCAGAGA
AAAATCAAGTTGACTGTGTCAAGTAACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACACAGG
TCACAGGCGGAGGGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCCTGTCTCGTG
CTCCCTCAGACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCATGTGATTGCA
GATGTGAAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGACGCC
TTCATTTCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGTTGA
GATGTTTTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAAACC
ACACACA

SEQ ID NO:5058(SOURCE NCBI参考序列NM_001387021.1))。

[0174] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5059所示的序列。

GCCCCCGGTGCTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAG
CCGGGAGATGCCCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCG
AGCTCGGAGACATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACAC

GTACGTGACCCTGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAG
GATT TCATGT TCGAGATTAACCGTC TGGATT TGGGAC TGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTC TCATCT
GGGACACAATGGTGGGCACTGTGTGGATCCCAC TGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGT
GGC TGACGC TGGACTCCCAGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATC TGTGGCACCAAGGACCCCACC
TTCCACCGCATCCTCC TGGACACGCGC TT TGAGCTACCC TTAGACAT TCCTGAAGAGGAGGC TCGC
TACTGGGCCAAGAAGC TGGAGCAGCTCAATGCTATGCGGGACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGAC
AAGCC TC TGCC TGTCCCCAGCAACCAGTGC TGCAAC TGGAAT TATT TTGGCTGGGGTGAGCAGCACAAC
GATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGAC TACCGCAGTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCC
TAT TATACTACGTCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATAT TC TGTTCGCCCACCACCCC
TGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGAC TCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAGCCC
TCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTC TTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGC TGAGCGAGGAC
TTCGACCC TGACGAGCACAGCC TGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGAC TCCTACCACTCC
TGCCACAGCTCGGTCAGC TACCACAAAGACTCGCC TCGC TGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACC
TGGAGGACT TCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGC TGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCC
TGACGATT TGGGCAGC TATGCCCAGCGTGAAGACGTAGC TGTGGC TGAGCCCAAAGAC
TTCAAACGCATCAGCC TCCCGCCAGC TGCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCC
CGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAGCCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCC TGAGGC
TGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGT TTCAGGCCGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTC
CAGGGCCAAGGCCAACTGGC TGCGTGCC TTCAACAAGGTGCGGATGCAGC
TGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTC TAAATCCC TATGGTTCAAAGGCGGCCCAGGGGGCGGTCTCATC
ATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACC TATCCCAC TCGTGAGCGACT TGTCCC
TGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACC TCGGCC TTGGCC TCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGC
TGAAAAACCACGTTTACAAGAAGACCC TGCAAGCC TTAATC TACCCCATC TCGTGCACGACGCCACACAACT
TCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACC TACTGC TACGAGTGCGAGGGGCTGC
TGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGC TGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACC
TGCTCAACGCCGAC TGCC TGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGC TCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAA
CATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATCT TCGAGC
TCATCCAGGAGATC TTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC TG
GACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTC TGCGCCCAGGGCT TGCAGGCAAAGGACAA
GACAGGATCCAGTGACCCCTATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAAC
CTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATT TCCACT TTGAATGTCACAAT TCC TCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTC
TGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGT TCAAGAGGGAATC TGACGATT
TCCTGGGGCAGACGATCAT TGAGGTGCGGACGC TCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGA
AC TGACAAATC TGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGC
CCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACCTGT TCCAC TTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGG
TCGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCC TGGAAGGTT TACTACGATGAGACAGCCCAGGAGAT
TGTGGACGAGT TTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATC TACCAAGCCATGACCCAC TT TGCC TGCC TC
TCC TCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCC
TACTACGCACACACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCC TCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT

TTGGGAAAGAGCGCTTCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAACTCCC TGCGGATTGACC TC
TCCATGTACCGGAATAAC T TCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACCTCAAATCCAC TGTGGACC
TTCTCACCAGCATCACCT TCT TTCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTA
AAGGAC TGTGTGAAAGCCTGCCT TAAT TC TACC TACGAGTACATC TTCAATAAC TGCCATGAAC TGTA
CAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAAC
CTCGAC TTCTGGTCCAAGC TGAT TACCCTCATAGTGTCCATCATTGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC
TGCC TCAACCAGTTTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATC TGTT TGCC
CAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACT TCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAACT TCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCC TGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT
TTCC TGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC TATTCTCC
TGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAAC
TCGAGTGTCCCGACCC TCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC
TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAACCCTGCAT TC
TCATGAATAACAC TCAACAGC TACGAGTTCAGC TGGAGAAGATGT
TCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGCTGGATGC TGAAGCCAGTGACATCC TGAAGGAGCT
TCAGGTGAAACTCAATAACGTCT TGGATGAGCTCAGCCGGGTGTT TGCTACCAGCT TCCAGCCGCACATTGAA
GAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCC TTAGCCAGGT TAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCC TGCA
GCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGTTGCAGCCCATCATGGACCTGCTGGACAGCAACCTGACCCTCT
TTGCCAAAATC TGTGAGAAGACTGTGC TGAAGCGAGTGC TGAAGGAGC TGTGGAAGCTGGTTATGAACACCA
TGGAGAAAACCATCGTCCTGCCGCCCC TCAC TGACCAGACGGGGAACC TC TTGAGAAAACATGGCAAGGGAT
TAGAAAAGGGCAGGGTGAAAT TGCCAAGCCACTCAGACGGAACCCAGATGATCT TCAATGCAGCCAAGGAGC
TGGGTCAGC TGTCCAAACTCAAGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCT
TGACCCCAAAGCAGTGCGCGGTTGT TGAGTTGGCCCTGGACACCATCAAGCAATATTTCCACGCGGGTGGCGTGG
GCC TCAAGAAGACC TTCC TGGAGAAGAGCCCGGACC TGCAATCC TTGCGCTATGCCC TGTCGC TC
TACACGCAGGCCACCGACC TGCTAATCAAGACC TT TGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGC TTGGGTGTAGAA
GACCCTGTGGGTGAAGTCTCTGTCCATGT TGAGCTGT TCAC TCATCCAGGAACTGGGGAACACAAGGTCACAG
TGAAAGTGGTGGC TGCCAATGACC TCAAGTGGCAGACT TC TGGCATC TTCCGGCCGT TCATCGAGGTCAA
CATCATTGGGCCCCAGCTCAGCGACAAGAAACGCAAGT TTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGC
TCCCAAGTACAATGAGAGC TTCCAGTTCACGCTGAGCGCCGACGCGGGTCCCGAGTGC
TATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGAC TACTGC TTCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGGGGCTGGCCGTGC
TGCAGC TGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGC TGGC TGCCGC TCGGCCGCCGCATCCACATGG
ACGACACGGGCC TCACGGTGCTGCGAATCCTCTCGCAGCGCAGCAACGACGAGGTGGCCAAGGAGT
TCGTGAAGCTCAAGTCGGACACGCGC TCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCCTGCGCCT
TAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCC TGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGGGGCT
TGCGCCT TGGTGGGACC TCCCCAGGGGCGGGGC TCGGGGGGC TCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC
TACGCCCT TGACTCAGC TT TCCC TT TTGGGGAATTAGGAATGGAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCAC
GCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAACT TGAGGCCACGCCCCCAGCACC TAGGGGGCAT TT
TGAGC TGGGATGGGGGAAACC TCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGCTCTGGTACCGGGAGGCACCACC

TCATGTCCCC TGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCC TGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGAAAT
CTCAGC TCCC TCGAGGGGGGGCCC TGGGCAAGGGGTAGGGC TC TC
TGGAGCGCCCCTCTAGGTGGCCTGGGGAC TGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTC
CCT TTAGATAT TTGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGATT TCAAAAGCACATGCGCCCT
TGGGCGCCCAAACCC TGGGGGCCGAGGGGACGGCTCTGGTTCCCCACGC TGCCCCTAC TTCCCT TTGGGAGT
TTGCCTCTCCCTC TCCCCCAACAAACCCAGTCC TCATATCATAGAGT TCAACACACCCAT
TTGACAGATGGCAAAACTGAGGC TTAAAGAGCTGC TTGAGACT TGGCCAAGGT
TCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCT TAGGCC TGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGATCGGGATG
ACC TGACACAGCTCCCTAT TGCTGC TAAT TCCCCC TCGGCCTCC TCCAAGGGGTGGGAAT
TCCAGGCCAAGACCCCTAC TTCGCC TT TCCT TC TCCGGC TGCCAAGCAGGACCT TTGCCC TCAGCCCT
TTCTCC TGGGATCTCCATGGGGGATGCCATGAGGGCC TCCCACCACAAAAGAGAAT
TTGGGATCCCCTGGTCCCAGGT TTCTCCATCCC TTCT TCCT TT TCCAGAAT TT TCCAAATAGGAAAGAA
CAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGAGAGAGAGAAACACAAACAC
AGTGACACAGTGAGAGC TTAGTC TCCAAGAGCCTAT TCAT TGAT TCAAACACCCAAGCCACAGGATACC
TCAGATGGCCCTCT TGCCAGCTGGAAGCTCT TTCTCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACCTGGCTGGAGTTACC
TGGTGCACATAGGACCT TAGGGGAAAGT TCAGCGTGGACTACAC TTGC TC TGGGATC TGCT TT
TCCACATGTGTGTATGGCACGCCT TT TTC TGCTGGAT TGGGAAGGACAAGATT TTGC TGTGC
TAGGGAGAAATGAAAACGGGGTGAGC TGAGTAGC TGGGT TTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGC TT
TCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCAC TTAC TAGAGAGAAAAGAGC TCCAGGCC TGGGGAACAGCACGTGC
GAAGGCCAGGAGAGAAGAAC TGTTGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGC TGGAGC
TGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCC TTGGGGTTGGGGAGATCTGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCTC
GTACGCAGTCCTGAGGAGTT TTAC TT TTAT TC TAAGACAGTTGGGGAGC TCCAGGAGCTGT TT
TAAGTTGGGGAGAGACTGGAT TCCAGCCTGCAAAAGC TGTT TTGTGAAGACTAAAACCAGTGAGGAGAGGTGG
AGGTGCT TTGGGGACACTGAAATGGATTCT TGGAAAGATTCTGAAGGCTGTGT TGAAAAGACACC TATAGC
TGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATT TGGGGAGACCGAGGCTGGCAGATCACT TAAGGTCAGGAGTT
TGAGACCAGCC TGGCCAACATGGCGAAACCCCATC TC TGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGTG
CATGCC TGTAGTCCCAGC TACTCAGGAGAC TGAGGCGGGAGAATTGT TTGAACCC TGGAGGCAGAGGTTGT
AGTGAGTCGTGATCACACAAC TGCACTCCAGCC TGGGCAACAGAACAATACTCCAT TCCC TCCCCTCTACCC
CACCAAAAAAAAAAAAAAATCCTGCCC TTAGATGAGC TC TAGGGCTGC TGAGTACAGT
TGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGT TTGGCATTGC TAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATAT
TGAGTGTTGTATGT TTGTGACGTTGGT TTCCCGACATGTGAATGGCCCAAGTGTC TGGAAGAAGTGGCGCCACT
TTCTAATT TGCT TGGAGATGT TGCATGTCCC TTAAAT TCAGACAGGTGCAGGTAAC TGGAGGTTCTGAAC
CAAAGGTTAAAATGCAAATTC TCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAAGCT TATGTGAC
TGTTATATGGAC TGAGGAGCAGATGTGAATT TCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGTGGATGGAT
GATTCAGGGT TGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACC TGGGGTGAGGGTGATCTGGAAGATT
TT TGGATGGC TGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGT TATT TCCCAAAAGATTCC
TTAGGAGTCT T TC TGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGT TTAGGGT TCCCCAGCAATGGCCCAGG
CATGTGAAGGAAACAAGCTTCTTCAGGGAATATTTGTTGAATGAGTTTTCCTGACTCCCAGGCTAGAACTGTTTTTG
CAATTTCCACCCTCTTTTCTTTCCCCCAGAGAACTCCTATTCGTCCTTCAAAACCCATCACGGAAACCCCTCTTGGA

GAAAACCCTCCTTCCTTCCCCTCAGGACTTTCCCAGCCACCGTCTCTCCTCCAGTCCAGCCTGATGCCATGGGACTG
GGGGTTTCTCTGTCCAGCTCTGTTTCTCCCAGACTGGGGTCTGAGGACTCTCAGGACCCCCAACTTTACCTAGCACA
GGCTGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTCTACGCCTAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACA
CATCCGCATGCATGTCTGTCCATGTCTGTCCGTACCAACCTTCCCCTTCCACACGGACCTGGGCACATAGGAGGTGT
CTGAGCCTGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGCTGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGCTG
AAAGCCTTTTGAAATCAGGAAGTTCCTGTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCTTTCCTCAACGCCAC
CCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCCTTGGATGACACCTCCAGGGTTCTGAACCCTGGACCTCGCTTTATGCAAGGA
GCTGGCCCCACATTTCCATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGTTGGCCTGTGGCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTG
ACATTGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCCTGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGA
TCACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGATAAATG
CAGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGTTCACTCTTACCAG
TCTGTCCTCGAATGATTTGCATAAAATGAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCAGGCCCCAGAGCCT
GAGACCTCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGACCTCTCTCGGCTG
GGATCTCAGAGCCTTTCTGTCCCCTACCCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGACAACCTGGGGCCTC
CCGGAACTCTGCCACCCTGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTGCTCCCCAGAATCC
TTTCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCTTTTATTGTTTCAG
AGAAAAATCAAGTTGACTGTGTCAAGTAACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACAC
AGGTCACAGGCGGAGGGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCCTGTCTC
GTGCTCCCTCAGACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCATGTGATT
GCAGATGTGAAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGAC
GCCTTCATTTCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGT
TGAGATGTTTTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAA
ACCACACACA

(SEQ ID NO:5059(SOURCE NCBI参考序列NM_001387022.1))。

[0175] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5060所示的序列。GCC
CCCGGTGCTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATGC
CCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGAC
ATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACACGTACGTGACCC
TGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGTT
CGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGGC
ACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCCC
AGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCTT
TGAGCTACCCTTAGACATTCCTGAAGAGGAGGCTCGCTACTGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCGG
GACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCCTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAACTGGA
ATTATTTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGACTACCGCAG
TGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACGTCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATATTCTGTT
CGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACTCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAG
CCCTCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGGA
CTTCGACCCTGACGAGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTGC

CACAGCTCGGTCAGCTACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAGG
ACTTCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCCTGACGATTT
GGGCAGCTATGCCCAGCGTGAAGACGTAGCTGTGGCTGAGCCCAAAGACTTCAAACGCATCAGCCTCCCGCCAGCT
GCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAG
CCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCCTGAGGCTGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGTTTCAGGCC
GAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTCCAGGGCCAAGGCCAACTGGCTGCGTGCCTTCAAC
AAGGTGCGGATGCAGCTGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTCTAAATCCCTATGGTTCAAAGGCGGCCCAG
GGGGCGGTCTCATCATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACCTATCCCACTCGTGAGCGACTTGTC
CCTGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACC TCGGCC TTGGCC TCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGC
TGAAAAACCACGTTTACAAGAAGACCC TGCAAGCC TTAATC TACCCCATC TCGTGCACGACGCCACACAACT
TCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACC TACTGC TACGAGTGCGAGGGGCTGC
TGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGC TGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACC
TGCTCAACGCCGAC TGCC TGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGC TCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAA
CATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATCT TCGAGC
TCATCCAGGAGATC TTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC TG
GACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTC TGCGCCCAGGGCT TGCAGGCAAAGGACAA
GACAGGATCCAGTGACCCCTATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAAC
CTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATT TCCACT TTGAATGTCACAAT TCC TCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTC
TGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGT TCAAGAGGGAATC TGACGATT
TCCTGGGGCAGACGATCAT TGAGGTGCGGACGC TCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGA
AC TGACAAATC TGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGC
CCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACCTGT TCCAC TTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGG
TCGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCC TGGAAGGTT TACTACGATGAGACAGCCCAGGAGAT
TGTGGACGAGT TTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATC TACCAAGCCATGACCCAC TT TGCC TGCC TC
TCC TCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCC
TACTACGCACACACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCC TCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT
TTGGGAAAGAGCGCTTCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAACTCCC TGCGGATTGACC TC
TCCATGTACCGGAATAAC T TCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACCTCAAATCCAC TGTGGACC
TTCTCACCAGCATCACCT TCT TTCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTA
AAGGAC TGTGTGAAAGCCTGCCT TAAT TC TACC TACGAGTACATC TTCAATAAC TGCCATGAAC TGTA
CAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAAC
CTCGAC TTCTGGTCCAAGC TGAT TACCCTCATAGTGTCCATCATTGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC
TGCC TCAACCAGTTTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATC TGTT TGCC
CAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACT TCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAACT TCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCC TGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT
TTCC TGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC TATTCTCC
TGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAAC
TCGAGTGTCCCGACCC TCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC

TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGCCC TGC
ATTCTCATGAATAACACTCAACAGCTACGAGT TCAGCTGGAGAAGATGTTCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGC T
GGATGCTGAAGCCAGTGACATCCTGAAGGAGC TTCAGGTGAAAC TCAATAACGTC TTGGATGAGC
TCAGCCGGGTGT TTGCTACCAGC TTCCAGCCGCACAT TGAAGAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCCT TA
GCCAGGTTAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCCTGCAGCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGT
TGCAGCCCATCATGGACCTGC TGGACAGCAACC TGACCC TC TT TGCCAAAATCTGTGAGAAGAC
TGTGCTGAAGCGAGTGC TGAAGGAGCTGTGGAAGC TGGT TATGAACACCATGGAGAAAACCATCGTCC TGCC
GCCCCTCACTGACCAGACGGGAACCCAGATGATCT TCAATGCAGCCAAGGAGCTGGGTCAGC TGTCCAAACTCA
AGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCT TGACCCCAAAGCAGTGCGCGGTTGT
TGAGTTGGCCCTGGACACCATCAAGCAATAT TTCCACGCGGGTGGCGTGGGCC TCAAGAAGACC TTCC
TGGAGAAGAGCCCGGACC TGCAATCCT TGCGCTATGCCC TGTCGC TC TACACGCAGGCCACCGACC
TGCTAATCAAGACC TT TGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGC TTGGGTGTAGAAGACCCTGTGGGTGAAGTCTC
TGTCCATGT TGAGCTGT TCAC TCATCCAGGAACTGGGGAACACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGCTGCCAAT
GACC TCAAGTGGCAGACT TC TGGCATCTTCCGGCCGT TCATCGAGGTCAACATCATTGGGCCCCAGCTCAGC
GACAAGAAACGCAAGT TTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGC TCCCAAGTACAATGAGAGC TTCCAGT
TCACGCTGAGCGCCGACGCGGGTCCCGAGTGC TATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGAC TACTGC TTCGCGCG
CGAGGACCGCACGGTGGGGCTGGCCGTGC TGCAGC TGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGC TGGC
TGCCGC TCGGCCGCCGCATCCACATGGACGACACGGGCC TCACGGTGC TGCGAATCCTCTCGCAGCGCAGCAA
CGACGAGGTGGCCAAGGAGT TCGTGAAGCTCAAGTCGGACACGCGCTCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCCTGC
GCC TTAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCC TGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGGGGCT
TGCGCCT TGGTGGGACC TCCCCAGGGGCGGGGC TCGGGGGGC TCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC
TACGCCC TTGACTCAGC TT TCCC TT TTGGGGAATTAGGAATGGAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCAC
GCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAACT TGAGGCCACGCCCCCAGCACC TAGGGGGCAT TT
TGAGCTGGGATGGGGGAAACC TCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGCTCTGGTACCGGGAGGCACCACC
TCATGTCCCC TGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCC TGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGAAAT
C T C A G C T C C C T C G A G G G G G G G C C C T G G G C A A G G G G T A G G G C T C T C
TGGAGCGCCCCTCTAGGTGGCCTGGGGAC TGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTC
CCT TTAGATAT T TGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGAT TTCAAAAGCACATGCGCCCT
TGGGCGCCCAAACCCTGGGGGCCGAGGGGACGGCTCTGGTTCCCCACGCTGCCCCTAC TTCCCT TTGGGAGT
TTGCCTCTCCC TCTCCCCCAACAAACCCAGTCC TCATATCATAGAGTTCAACACACCCAT TTGACAGATGGCA
AAACTGAGGCTTAAAGAGCTGC TTGAGACT TGGCCAAGGT TCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCT T
AGGCCTGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGATCGGGATGACC TGACACAGCTCCCTAT TGCTGC TAAT
TCCCCCTCGGCCTCC TCCAAGGGGTGGGAAT TCCAGGCCAAGACCCCTAC TTCGCC TT TCCT TC TCCGGC
TGCCAAGCAGGACCT TTGCCC TCAGCCCT TTCTCC TGGGATC TCCATGGGGGATGCCATGAGGGCC
TCCCACCACAAAAGAGAAT TTGGGATCCCCTGGTCCCAGGT TTC TCCATCCC TTCT TCCT TT TCCAGAAT
TT TCCAAATAGGAAAGAACAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGA
GAGAGAGAAACACAAACACAGTGACACAGTGAGAGC TTAGTCTCCAAGAGCCTAT TCAT TGAT
TCAAACACCCAAGCCACAGGATACC TCAGATGGCCCTCT TGCCAGC TGGAAGCTCT
TTCTCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACCTGGCTGGAGTTACCTGGTGCACATAGGACCT TAGGGGAAAGT

TCAGCGTGGACTACAC TTGC TC TGGGATC TGCT TT TCCACATGTGTGTATGGCACGCCT T TT TC
TGCTGGAT TGGGAAGGACAAGATT TTGC TGTGCTAGGGAGAAATGAAAACGGGGTGAGC TGAGTAGCTGGGT
TTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGCTT TCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCAC
TTACTAGAGAGAAAAGAGC TCCAGGCC TGGGGAACAGCACGTGCGAAGGCCAGGAGAGAAGAAC
TGTTGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGC TGGAGC TGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCC
TTGGGGTTGGGGAGATC TGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCTCGTACGCAGTCCTGAGGAGTT TTAC TT
TTAT TC TAAGACAGT TGGGGAGC TCCAGGAGCTGT TT TAAGTTGGGGAGAGACTGGAT
TCCAGCCTGCAAAAGC TGTT TTGTGAAGACTAAAACCAGTGAGGAGAGGTGGAGGTGC TT
TGGGGACACTGAAATGGATTCT TGGAAAGATTCTGAAGGCTGTGT TGAAAAGACACC TATAGC
TGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATT TGGGGAGACCGAGGC TGGCAGATCACT TAAGGTCAGGAGTT
TGAGACCAGCC TGGCCAACATGGCGAAACCCCATC TC TGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGTG
CATGCCTGTAGTCCCAGC TACTCAGGAGAC TGAGGCGGGAGAATTGT TTGAACCC TGGAGGCAGAGGTTGTA
GTGAGTCGTGATCACACAAC TGCACTCCAGCC TGGGCAACAGAACAATACTCCAT TCCC TCCCCTCTACCCC
ACCAAAAAAAAAAAAAAATCCTGCCC TTAGATGAGCTCTAGGGCTGC TGAGTACAGT
TGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGT TTGGCATTGC TAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATAT
TGAGTGTTGTATGT T TGTGACGT TGGT TTCCCGACATGTGAATGGCCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCA
CT TTCTAATT TGC TTGGAGATGT TGCATGTCCC TTAAAT TCAGACAGGTGCAGGTAAC TGGAGGTTCTG
AACCAAAGGTTAAAATGCAAAT TC TCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAAGCT TATGTGAC
TGTTATATGGAC TGAGGAGCAGATGTGAATT TCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGTGGATGGAT
GATTCAGGGT TGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACCTGGGGTGAGGGTGATCTGGAAGATT
TT TGGATGGCTGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGT TATT TCCCAAAAGATTCC
TTAGGAGTC TTTC TGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTT TAGGGT TCCCCAGCAATGGCCCAGGC
ATGTGAAGGAAACAAGC TTCT TCAGGGAATATT TGTTGAATGAGTT TTCC TGAC TCCCAGGC TAGAAC
TGTT TT TGCAATT TCCACCCTCT TT TC TT TCCCCCAGAGAACTCCTAT TCGTCC TTCAAAACCCATC
ACGGAAACCCCTCTTGGAGAAAACCC TCCT TCCT TCCCCTCAGGAC T TTCCCAGCCACCGTCTCTCC
TCCAGTCCAGCC TGATGCCATGGGACTGGGGGT TTCTCTGTCCAGCTCTGTT TC TCCCAGAC
TGGGGTCTGAGGAC TC TCAGGACCCCCAACT TTACCTAGCACAGGCTGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTC
TACGCC TAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACATCCGCATGCATGTC TGTCCATGTC
TGTCCGTACCAACC T TCCCCT TCCACACGGACC TGGGCACATAGGAGGTGTC TGAGCC
TGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGC TGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGC
TGAAAGCC TT TTGAAATCAGGAAGTTCC TGTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCT T TCCTC
AACGCCACCCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCC TTGGATGACACC TCCAGGGT TC TGAACCCTGGACC
TCGC TT TATGCAAGGAGC TGGCCCCACAT TTCCATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGT TGGCC TGTG
GCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTGACATTGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCC TGACCAAGAGGAATAGAGTA
GAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGATCACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGG
TGGAAATATACAGAGAAAGATAAATGCAGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCC
TGAAGAAAGAAGGATC TGT TCAC TC TTACCAGTCTGTCC TCGAATGATT TGCATAAAATGAGGAGGTGCC
TGTCCACACCCCCCAAT TCC TCTC TCAGGCCCCAGAGCCTGAGACC
TCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAAC TAAACACCCAACTAGAAATCC TTGGGACC TC TC

TCGGCTGGGATC TCAGAGCCT TTCTGTCCCC TACCCC TACCCCATGTGCTGTCGAT TT
TGCAGATGGGGACAACCTGGGGCC TCCCGGAAC TC TGCCACCC TGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCC
GGATCACAACCCCGTC TGCTCCCCAGAATCC TT TCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCT TTGC
TGACACGTGT TGCT TT TC TC TT TGCC T TT TATTGT TTCAGAGAAAAATCAAGT TGAC
TGTGTCAAGTAACACCCCACCCC TTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACACAGGTCACAGGCGGAG
GGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCCTGTCTCGTGCTCCCTCAGACC
CCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCATGTGATTGCAGATGTGAAATCA
AAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGACGCCTTCATTTCTCTG
TAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGTTGAGATGTTTTGCAC
TATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAAACCACACACA

(SEQ ID NO:5060(SOURCE NCBI参考序列NM_001387023.1))。

[0176] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5061所示的序列。CTG
AACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATGCCCCAGCCCAG
CGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGACATGTCTCTGC
TTTGCGTTGGAGAGAAATTCAACACGTACGTGACCCTGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCG
GGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGTTCGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTG
TGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGGCACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATG
AGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCCCAGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGA
CCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCTTTGAGCTACCCTTAGACATTCCTGAAGAGGAGGCTCGCTAC
TGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCGGGACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGC
CTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAACTGGAATTATTTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGA
CAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGACTACCGCAGTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACG
TCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATATTCTGTTCGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACT
CCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAGCCCTCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGG
GGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGGACTTCGACCCTGACGAGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATG
GAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTGCCACAGCTCGGTCAGCTACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGG
ACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAGGACTTCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGA
GCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCCTGACGATTTGGGCAGCTATGCCCAGCGTGAAGACGTAGCTGTGGCTGAG
CCCAAAGACTTCAAACGCATCAGCCTCCCGCCAGCTGCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCG
AGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAGCCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCCTGA
GGCTGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGTTTCAGGCCGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATG
TCCAGGGCCAAGGCCAACTGGCTGCGTGCCTTCAACAAGGTGCGGATGCAGCTGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAG
AGATGTCTAAATCCCTATGGTTCAAAGGCGGCCCAGGGGGCGGTCTCATCATCATCGACAGCATGCCAGACATCCG
CAAGAGGAAACCTATCCCACTCGTGAGCGACTTGGCCATGTCCCTGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACCTCG
GCCTTGGCCTCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGCTGAAAAACCACGTTTACAAGAAGACCCTGCAAGCCTTAATCT
ACCCCATCTCGTGCACGACGCCACACAACTTCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACCTACTGCTACGAGTGCGA
GGGGCTGCTGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGCTGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAG
GACCTGCTCAACGCCGACTGCCTGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGCTCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGA
ACATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATCTTCGAGCTCATCCAGGA

GATCTTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGCTGGACGGCACGTCC
AAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTCTGCGCCCAGGGCTTGCAGGCAAAGGACAAGACAGGATCCAGTG
ACCCCTATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAACCTCAACCCGGTGTG
GGAGGAGAATTTCCACTTTGAATGTCACAATTCCTCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTCTGGGACGAGGATGACGAC
ATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGTTCAAGAGGGAATCTGACGATTTCCTGGGGCAGACGATCATTGAGGTGCGGA
CGCTCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGAACTGACAAATCTGCCGTGTCGGGTGCCATCCG
GCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGCCCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAG
AACCTGTTCCACTTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGGTCGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCCT
GGAAGGTTTACTACGATGAGACAGCCCAGGAGATTGTGGACGAGTTTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATCTA
CCAAGCCATGACCCACTTTGCCTGCCTCTCCTCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCCTGCCGTCATGAGCACCCTG
CTCGCCAACATCAATGCCTACTACGCACACACCACCGCCTCCACCAACGTGTCTGCCTCCGACCGCTTCGCCGCCT
CCAACTTTGGGAAAGAGCGCTTCGTGAAACTCCTGGACCAGCTGCATAACTCCCTGCGGATTGACCTCTCCATGTA
CCGGAATAACTTCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGACTCCAGGACCTCAAATCCACTGTGGACCTTCTCACCAGCATC
ACCTTCTTTCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTAAAGGACTGTGTGAAAG
CC TGCC TTAATTCTACCTACGAGTACATCT TCAATAACTGCCATGAACTGTACAGCCGGGAGTACCAGACAGA
CCCGGCCAAGAAGGGGGAAGT TC TCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAACC TCGACT TC
TGGTCCAAGCTGATTACCC TCATAGTGTCCATCAT TGAGGAAGACAAGAATTCC
TACACTCCCTGCCTCAACCAGTT TCCCCAGGAGCTGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATCTGT
TTGCCCAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGACTACATGAACC
TCCAC TTCAAGGTGAAATGGCTCTACAATGAGTATGTGACGGAACTTCCCGCC TTCAAGGACCGCGTGCCTGAG
TACCCTGCATGGTT TGAACCCT TCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGATT
TCCTGCACGGTGCCC TGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGT TCCAGCAGACC TCAGAGCATGCCCTAT TC
TCCTGC TCCGTGGTGGATGTT TTCTCCCAAC TCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAACTCGAGTGTCC
CGACCCTCAGATCGTGGGGCAC TACATGAGGCGC TT TGCCAAGACCATCAGTAATGTGC
TCCTCCAGTATGCAGACATCATC TCCAAGGACT TTGCCTCC TACTGC
TCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGCCCTGCAT TC TCATGAATAACAC TCAACAGC TACGAGTTCAGC TGGAGAA
GATGTTCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGCTGGATGC TGAAGCCAGTGACATCC TGAAGGAGCT TCAGGTGAAAC
TCAATAACGTCT TGGATGAGCTCAGCCGGGTGTT TGC TACCAGCT TCCAGCCGCACATTGAAGAGTGTGTCA
AACAGATGGGTGACATCC TTAGCCAGGT TAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCC TGCAGCAGCGTGGC
CCAGGACGCGGACAATGTGTTGCAGCCCATCATGGACC TGCTGGACAGCAACCTGACCCTCT TTGCCAAAATC
TGTGAGAAGACTGTGC TGAAGCGAGTGC TGAAGGAGC TGTGGAAGCTGGTTATGAACACCATGGAGAAAACCA
TCGTCCTGCCGCCCC TCAC TGACCAGACGATGATCGGGAACC TC TTGAGAAAACATGGCAAGGGATTAGAAA
AGGGCAGGGTGAAAT TGCCAAGCCAC TCAGACGGAACCCAGATGATCT
TCAATGCAGCCAAGGAGCTGGGTCAGC TGTCCAAACTCAAGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCT
TGACCCCAAAGCAGTGCGCGGTTGT TGAGTTGGCCCTGGACACCATCAAGCAATAT TTCCACGCGGGTGGCGTG
GGCCTCAAGAAGACC TTCC TGGAGAAGAGCCCGGACC TGCAATCCT TGCGCTATGCCC TGTCGC TC
TACACGCAGGCCACCGACC TGCTAATCAAGACC TT TGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGC
TTGGGTGTAGAAGACCC TGTGGGTGAAGTCTCTGTCCATGT TGAGCTGT TCAC TCATCCAGGAACTGGGGAA
CACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGCTGCCAATGACC TCAAGTGGCAGACT TCTGGCATC TTCCGGCCGT TC

ATCGAGGTCAACATCATTGGGCCCCAGCTCAGCGACAAGAAACGCAAGT T
TGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGC TCCCAAGTACAATGAGAGC TTCCAGTTCACGCTGAGCGCCGACG
CGGGTCCCGAGTGC TATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGAC TACTGC TTCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGGG
GCTGGCCGTGC TGCAGC TGCGTGAGC TGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGC TGGC TGCCGC TCGGCCGC
CGCATCCACATGGACGACACGGGCC TCACGGTGC TGCGAATCCTCTCGCAGCGCAGCAACGACGAGGTGGCCAA
GGAGT TCGTGAAGCTCAAGTCGGACACGCGCTCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCCTGCGCC
TTAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCCTGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGGGGC
TTGCGCCT TGGTGGGACC TCCCCAGGGGCGGGGCTCGGGGGGC TCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC
TACGCCC TTGACTCAGC TT TCCC TT TTGGGGAAT TAGGAATGGAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCA
CGCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAAC TTGAGGCCACGCCCCCAGCACC TAGGGGGCATT
TTGAGC TGGGATGGGGGAAACC TCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGCTCTGGTACCGGGAGGCACCA
CC TCATGTCCCC TGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCC TGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGA
AATCTCAGC TCCC TCGAGGGGGGGCCCTGGGCAAGGGGTAGGGC TC TC TGGAGCGCCCCTC
TAGGTGGCCTGGGGAC TGGAGGGACCAGGATGC TGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTCCCT TTAGATATT
TGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGAT TTCAAAAGCACATGCGCCCT TGGGCGCCCAAACCC
TGGGGGCCGAGGGGACGGCTCTGGT TCCCCACGCTGCCCCTAC TTCCCT TTGGGAGT TTGCC TC TCCC TC
TCCCCCAACAAACCCAGTCC TCATATCATAGAGTTCAACACACCCAT TTGACAGATGGCAAAAC TGAGGC
TTAAAGAGCTGC TTGAGACT TGGCCAAGGTTCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCT TAGGCCTGTGTG
CCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGATCGGGATGACC TGACACAGCTCCCTAT TGCTGC
TAATTCCCCCTCGGCCTCC TCCAAGGGGTGGGAAT TCCAGGCCAAGACCCCTAC TTCGCC TT TCCT TC
TCCGGCTGCCAAGCAGGACCT TTGCCC TCAGCCCT TTC TCCTGGGATC TCCATGGGGGATGCCATGAGGGCC
TCCCACCACAAAAGAGAAT TTGGGATCCCCTGGTCCCAGGTT TC TCCATCCC TTCT TCCT TT TCCAGAAT
TT TCCAAATAGGAAAGAACAGAAGGAGACCAGAAAC TC TAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGA
GAGAGAGAGAAACACAAACACAGTGACACAGTGAGAGCT TAGTCTCCAAGAGCCTAT TCAT TGAT
TCAAACACCCAAGCCACAGGATACC TCAGATGGCCCTC TTGCCAGC TGGAAGCTCT
TTCTCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACCTGGCTGGAGTTACCTGGTGCACATAGGACC TTAGGGGAAAGT
TCAGCGTGGACTACAC TTGCTCTGGGATC TGCT TT TCCACATGTGTGTATGGCACGCC TT TT TC
TGCTGGAT TGGGAAGGACAAGATT T TGCTGTGC TAGGGAGAAATGAAAACGGGGTGAGCTGAGTAGCTGGGT
TTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGC TT TCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCACT
TACTAGAGAGAAAAGAGC TCCAGGCC TGGGGAACAGCACGTGCGAAGGCCAGGAGAGAAGAAC TGT
TGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGC TGGAGC TGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCC TTGGGGT
TGGGGAGATC TGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCC TCGTACGCAGTCCTGAGGAGTT TTAC TT TTATTC
TAAGACAGTTGGGGAGCTCCAGGAGCTGTTTTAAGTTGGGGAGAGACTGGATTCCAGCCTGCAAAAGCTGTTTTGTG
AAGACTAAAACCAGTGAGGAGAGGTGGAGGTGCTTTGGGGACACTGAAATGGATTCTTGGAAAGATTCTGAAGGCTG
TGTTGAAAAGACACCTATAGCTGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATTTGGGGAGACCGAGGCTGGCAGATCACT
TAAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCGAAACCCCATCTCTGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGG
TGCAGTGGTGCATGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGACTGAGGCGGGAGAATTGTTTGAACCCTGGAGGCAGAGG
TTGTAGTGAGTCGTGATCACACAACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAACAATACTCCATTCCCTCCCCTCTACCCC
ACCAAAAAAAAAAAAAAATCCTGCCCTTAGATGAGCTCTAGGGCTGCTGAGTACAGTTGTCCCAGTTGCACAGTGCC

CAAGGGTTTGGCATTGCTAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATATTGAGTGTTGTATGTTTGTGACGTTGGTTTCC
CGACATGTGAATGGCCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCACTTTCTAATTTGCTTGGAGATGTTGCATGTCCCTTA
AATTCAGACAGGTGCAGGTAACTGGAGGTTCTGAACCAAAGGTTAAAATGCAAATTCTCATACAGGGTTGGGAAGTT
GTAGCCAGGGATAAGCTTATGTGACTGTTATATGGACTGAGGAGCAGATGTGAATTTCGAACCATGACATGGCTGAG
GGTAGGGGTCGGGTGGATGGATGATTCAGGGTTGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACCTGGGGT
GAGGGTGATCTGGAAGATTTTTGGATGGCTGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGTTATTTC
CCAAAAGATTCCTTAGGAGTCTTTCTGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTTTAGGGTTCCCCAGCAATGG
CCCAGGCATGTGAAGGAAACAAGCTTCTTCAGGGAATATTTGTTGAATGAGTTTTCCTGACTCCCAGGCTAGAACTG
TTTTTGCAATTTCCACCCTCTTTTCTTTCCCCCAGAGAACTCCTATTCGTCCTTCAAAACCCATCACGGAAACCCCT
CTTGGAGAAAACCCTCCTTCCTTCCCCTCAGGACTTTCCCAGCCACCGTCTCTCCTCCAGTCCAGCCTGATGCCATG
GGACTGGGGGTTTCTCTGTCCAGCTCTGTTTCTCCCAGACTGGGGTCTGAGGACTCTCAGGACCCCCAACTTTACCT
AGCACAGGCTGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTCTACGCCTAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAG
AATACACATCCGCATGCATGTCTGTCCATGTCTGTCCGTACCAACCTTCCCCTTCCACACGGACCTGGGCACATAGG
AGGTGTCTGAGCCTGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGCTGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGG
GGGCTGAAAGCCTTTTGAAATCAGGAAGTTCCTGTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCTTTCCTCAA
CGCCACCCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCCTTGGATGACACCTCCAGGGTTCTGAACCCTGGACCTCGCTTTATG
CAAGGAGCTGGCCCCACATTTCCATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGTTGGCCTGTGGCAGGGCAAGGGTTAAA
GGGGTGACATTGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCCTGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGG
GTGAGATCACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGA
TAAATGCAGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGTTCACTCT
TACCAGTCTGTCCTCGAATGATTTGCATAAAATGAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCAGGCCCCA
GAGCCTGAGACCTCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGACCTCTCT
CGGCTGGGATCTCAGAGCCTTTCTGTCCCCTACCCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGACAACCTGG
GGCCTCCCGGAACTCTGCCACCCTGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTGCTCCCCA
GAATCCTTTCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCTTTTATTG
TTTCAGAGAAAAATCAAGTTGACTGTGTCAAGTAACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGG
AGACACAGGTCACAGGCGGAGGGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCC
TGTCTCGTGCTCCCTCAGACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCAT
GTGATTGCAGATGTGAAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGC
ACAGACGCCTTCATTTCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCA
TGGTGTTGAGATGTTTTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAA
AGAAAAACCACACACAGCCTTGGA

SEQ ID NO:5061(SOURCE NCBI参考序列XM_011527810.2))。

[0177] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5062所示的序列。

CTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATG
CCCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGA
CATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACACGTACGTGACC
CTGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGT
TCGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGG

CACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCC
CAGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCC TGGACACGCGCT
TTGAGCTACCC TTAGACAT TCCTGAAGAGGAGGCTCGC TACTGGGCCAAGAAGC TGGAGCAGCTCAATGC T
ATGCGGGACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCC TC TGCC
TGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAAC TGGAAT TATT TTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGACAGT
GCAGTGGATGATCGTGACAGTGAC TACCGCAGTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTAT
TATACTACGTCACAACCCAACGCC TCAGTCCACCAATAT TC TGTTCGCCCACCACCCC
TGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGAC TCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAAGCCCTCAGCCCCA
CGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCT TCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGC TGAGCGAGGAC TTCGACCC
TGACGAGCACAGCC TGCAGGGC TCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCC TACCAC TCC
TGCCACAGCTCGGTCAGC TACCACAAAGAC TCGCC TCGC TGGGACCAGGATGAGGAAGAGC
TGGAGGAGGACCTGGAGGACT TCCTGGAGGAGGAGGAGC TGCC TGAAGATGAGGAGGAGC
TGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCC TGACGATT TGGGCAGC TATGCCCAGCGTGAAGACGTAGC TGTGGC
TGAGCCCAAAGACT TCAAACGCATCAGCC TCCCGCCAGC TGCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCA
CCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAGCCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGA
TCCCTGAGGC TGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGTT TCAGGCCGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAG
GAC TCCATGTCCAGGGCCAAGGCCAACTGGCTGCGTGCCT TCAACAAGGTGCGGATGCAGC
TGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTC TAAATCCC TATGGT TCAAAGGCGGCCCAGGGGGCGGTCTCAT
CATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACCTATCCCAC TCGTGAGCGACT TGGCCATGTCCC
TGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACC TCGGCC TTGGCC TCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGC
TGAAAAACCACGT TTACAAGAAGACCC TGCAAGCC TTAATC TACCCCATC TCGTGCACGACGCCACACAACT
TCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACC TACTGC TACGAGTGCGAGGGGCTGC
TGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGC TGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACC
TGCTCAACGCCGAC TGCC TGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGC TCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAA
CATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATC T TCGAGC
TCATCCAGGAGATC TTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC TG
GACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTC TGCGCCCAGGGC TTGCAGGCAAAGGACAA
GACAGGATCCAGTGACCCC TATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAA
CCTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATT TCCACT TTGAATGTCACAAT TCCTCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTC
TGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGT TCAAGAGGGAATC TGACGATT
TCCTGGGGCAGACGATCAT TGAGGTGCGGACGC TCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGA
AC TGACAAATCTGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGCC
CCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACCTGT TCCAC TTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGGT
CGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCC TGGAAGGTT TACTACGATGAGACAGCCCAGGAGAT
TGTGGACGAGT TTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATCTACCAAGCCATGACCCAC TT TGCC TGCC TC
TCCTCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCC
TACTACGCACACACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCC TCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT
TTGGGAAAGAGCGC T TCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAACTCCCTGCGGATTGACC TC
TCCATGTACCGGAATAAC TTCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACCTCAAATCCAC TGTGGACC

TTCTCACCAGCATCACCT TC TT TCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGT
AAAGGAC TGTGTGAAAGCC TGCCTTAAT TC TACC TACGAGTACATC TTCAATAACTGCCATGAAC TGTA
CAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAAC
CTCGAC TTCTGGTCCAAGCTGAT TACCCTCATAGTGTCCATCATTGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC
TGCC TCAACCAGT TTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGC TGAAGTGATGTGGAATC TGTT TG
CCCAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACT TCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAAC TTCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCCTGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT
TTCC TGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC TATTCTCC
TGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAAC
TCGAGTGTCCCGACCC TCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC
TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAACCCTGCAT TC
T C A T G A A T A A C A C T C A A C A G C T A C G A G T T C A G C T G G A G A A G A T G T
TCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGCTGGATGC TGAAGCCAGTGACATCC TGAAGGAGCT
TCAGGTGAAACTCAATAACGTCT TGGATGAGCTCAGCCGGGTGTT TGCTACCAGCT TCCAGCCGCACATTGAA
GAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCC TTAGCCAGGT TAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCC TGCA
GCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGTTGCAGCCCATCATGGACC TGCTGGACAGCAACCTGACCCTCT
TTGCCAAAATCTGTGAGAAGACTGTGC TGAAGCGAGTGC TGAAGGAGC TGTGGAAGCTGGTTATGAACACCAT
GGAGAAAACCATCGTCCTGCCGCCCC TCAC TGACCAGACGATGATCGGGAACC TC
TTGAGAAAACATGGCAAGGGAT TAGAAAAGGGCAGGGTGAAAT TGCCAAGCCACTCAGACGGAACCCAGATGAT
CT TCAATGCAGCCAAGGAGC TGGGTCAGC TGTCCAAACTCAAGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCT
T G A C C C C A A A G C A G T G C G C G G T T G T T G A G T T G G C C C T G G A C A C C A T C A A G C A A T A T
TTCCACGCGGGTGGCGTGGGCC TCAAGAAGACC TTCC TGGAGAAGAGCCCGGACC TGCAATCC T
TGCGCTATGCCC TGTCGC TC TACACGCAGGCCACCGACC TGCTAATCAAGACC TT
TGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGC TTGGGTGTAGAAGACCCTGTGGGTGAAGTCTCTGTCCATGT TGAGCTGT
TCAC TCATCCAGGAACTGGGGAACACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGCTGCCAATGACC TCAAGTGGCAGACT
TC TGGCATC TTCCGGCCGT TCATCGAGGTCAACATCATTGGGCCCCAGCTCAGCGACAAGAAACGCAAGT
TTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGC TCCCAAGTACAATGAGAGC TTCCAGTTCACGCTGAGCGCCGAC
GCGGGTCCCGAGTGC TATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGAC TACTGC TTCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGG
GGCTGGCCGTGC TGCAGC TGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGC TGGC TGCCGC TCGGCCGC
CGCATCCACATGGACGACACGGGCC TCACGGTGCTGCGAATCCTCTCGCAGCGCAGCAACGACGAGGTGGCCAAG
GAGT TCGTGAAGCTCAAGTCGGACACGCGC TCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCCTGCGCCT
TAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCC TGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGGGGCT
TGCGCCTTGGTGGGACC TCCCCAGGGGCGGGGC TCGGGGGGC TCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC
TACGCCC TTGACTCAGC TT TCCC TT TTGGGGAATTAGGAATGGAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCAC
GCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAACT TGAGGCCACGCCCCCAGCACC TAGGGGGCAT TT
TGAGC TGGGATGGGGGAAACC TCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGCTCTGGTACCGGGAGGCACCACC
TCATGTCCCC TGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCC TGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGAAAT
C T C A G C T C C C T C G A G G G G G G G C C C T G G G C A A G G G G T A G G G C T C T C

TGGAGCGCCCCTCTAGGTGGCCTGGGGAC TGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTC
CCT TTAGATAT TTGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGAT TTCAAAAGCACATGCGCCCT
TGGGCGCCCAAACCC TGGGGGCCGAGGGGACGGCTCTGGTTCCCCACGC TGCCCCTAC TTCCCT TTGGGAGT
TTGCCTCTCCC TC TCCCCCAACAAACCCAGTCC TCATATCATAGAGT TCAACACACCCAT
TTGACAGATGGCAAAACTGAGGC TTAAAGAGCTGC TTGAGACT TGGCCAAGGT
TCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCT TAGGCC TGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGATCGGGATG
ACC TGACACAGCTCCCTAT TGCTGC TAAT TCCCCCTCGGCCTCC TCCAAGGGGTGGGAAT
TCCAGGCCAAGACCCCTAC TTCGCC TT TCCT TC TCCGGC TGCCAAGCAGGACCT TTGCCC TCAGCCCT
TTCTCC TGGGATC TCCATGGGGGATGCCATGAGGGCC TCCCACCACAAAAGAGAAT
TTGGGATCCCCTGGTCCCAGGT TTCTCCATCCC TTCT TCCT TT TCCAGAAT TT TCCAAATAGGAAAGAA
CAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGAGAGAGAGAAACACAAACAC
AGTGACACAGTGAGAGC TTAGTCTCCAAGAGCCTAT TCAT TGAT TCAAACACCCAAGCCACAGGATACC
TCAGATGGCCCTCT TGCCAGCTGGAAGCTCT TTCTCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACCTGGCTGGAGTTACC
TGGTGCACATAGGACCT TAGGGGAAAGT TCAGCGTGGACTACAC TTGC TC TGGGATCTGCT TT
TCCACATGTGTGTATGGCACGCCT TT T TC TGCTGGAT TGGGAAGGACAAGATT TTGC TGTGC
TAGGGAGAAATGAAAACGGGGTGAGC TGAGTAGC TGGGT TTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGC
TTTCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCAC TTAC TAGAGAGAAAAGAGC TCCAGGCC TGGGGAACAGCACGT
GCGAAGGCCAGGAGAGAAGAAC TGTTGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGC TGGAGC
TGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCC TTGGGGTTGGGGAGATC TGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCT
CGTACGCAGTCCTGAGGAGTT TTAC TT TTAT TC TAAGACAGT TGGGGAGC TCCAGGAGCTGT TT
TAAGTTGGGGAGAGACTGGAT TCCAGCCTGCAAAAGC TGTT TTGTGAAGACTAAAACCAGTGAGGAGAGGTGG
AGGTGCT T TGGGGACACTGAAATGGATTCT TGGAAAGATTCTGAAGGCTGTGT TGAAAAGACACC TATAGC
TGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATT TGGGGAGACCGAGGC TGGCAGATCACT TAAGGTCAGGAGTT TG
AGACCAGCCTGGCCAACATGGCGAAACCCCATC TC TGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGTGCAT
GCC TGTAGTCCCAGC TACTCAGGAGAC TGAGGCGGGAGAATTGT TTGAACCC TGGAGGCAGAGGTTGTAGT
GAGTCGTGATCACACAAC TGCACTCCAGCC TGGGCAACAGAACAATACTCCAT TCCC TCCCCTCTACCCCAC
CAAAAAAAAAAAAAAATCCTGCCC TTAGATGAGC TCTAGGGCTGC TGAGTACAGT
TGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGT TTGGCATTGC TAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATAT
TGAGTGTTGTATGT TTGTGACGT TGGT TTCCCGACATGTGAATGGCCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCACT
TTCTAATT TGCT TGGAGATGT TGCATGTCCC TTAAAT TCAGACAGGTGCAGGTAAC TGGAGGTTCTGAAC
CAAAGGTTAAAATGCAAAT TC TCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAAGCT TATGTGAC
TGTTATATGGAC TGAGGAGCAGATGTGAATT TCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGTGGATGGAT
GATTCAGGGT TGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACC TGGGGTGAGGGTGATCTGGAAGATT
TT TGGATGGCTGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGT TATT TCCCAAAAGATTCC
TTAGGAGTC TT TCTGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGT T TAGGGT TCCCCAGCAATGGCCCAGG
CATGTGAAGGAAACAAGC TTCT TCAGGGAATATT TGTTGAATGAGTT TTCC TGAC TCCCAGGC TAGAAC
TGTT TT TGCAATTTCCACCCTCT TT TC TT TCCCCCAGAGAACTCC TAT TCGTCC
TTCAAAACCCATCACGGAAACCCC TCT TGGAGAAAACCC TCCT TCCT TCCCCTCAGGAC TT
TCCCAGCCACCGTCTCTCC TCCAGTCCAGCC TGATGCCATGGGACTGGGGGTTTCTCTGTCCAGCTCTGTTTCT

CCCAGACTGGGGTCTGAGGACTCTCAGGACCCCCAACTTTACCTAGCACAGGCTGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAG
TCTACGCCTAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACATCCGCATGCATGTCTGTCCATGTCT
GTCCGTACCAACCTTCCCCTTCCACACGGACCTGGGCACATAGGAGGTGTCTGAGCCTGACACATGGGACAGAGAGT
GGACATGGCTGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGCTGAAAGCCTTTTGAAATCAGGAAGTTCCT
GTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCTTTCCTCAACGCCACCCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCCT
TGGATGACACCTCCAGGGTTCTGAACCCTGGACCTCGCTTTATGCAAGGAGCTGGCCCCACATTTCCATGAATCGGG
GAAACAGCACAAGAAGGTTGGCCTGTGGCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTGACATTGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAG
TCCCCTGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGATCACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGA
CAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGATAAATGCAGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGG
GAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGTTCACTCTTACCAGTCTGTCCTCGAATGATTTGCATAAAAT
GAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCAGGCCCCAGAGCCTGAGACCTCACCATGCCCCCATCAGAGA
TGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGACCTCTCTCGGCTGGGATCTCAGAGCCTTTCTGTCCCCTAC
CCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGACAACCTGGGGCCTCCCGGAACTCTGCCACCCTGGGGAAGTT
GGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTGCTCCCCAGAATCCTTTCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAG
TTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCTTTTATTGTTTCAGAGAAAAATCAAGTTGACTGTGTCAAGT
AACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACACAGGTCACAGGCGGAGGGTCCCCTGATC
ATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCCTGTCTCGTGCTCCCTCAGACCCCCACAAACCGG
CCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCATGTGATTGCAGATGTGAAATCAAAACGTTGTTTG
TTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGACGCCTTCATTTCTCTGTAAATATGTGAC
TTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGTTGAGATGTTTTGCACTATTCTGACTTT
TTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAAACCACACACAGCCTTGGA

SEQ ID NO:5062(SOURCE(NCBI参考序列XM_017026502.1))。

[0178] 在各种实施方案中,UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5063所示的序列。

CTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATG
CCCCAGCCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGA
CATGTCTCTGCTTTGCGTTGGAGTCAAAAAAGCCAAGTTTGATGGTGCCCAAGAGAAATTCAACACGTACGTGACC
CTGAAAGTGCAGAATGTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGT
TCGAGATTAACCGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGG
CACTGTGTGGATCCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCC
CAGGTCATCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCT
TTGAGCTACCCTTAGACATTCCTGAAGAGGAGGCTCGCTACTGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCG
GGACCAGGATGAATATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCCTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGCAACTGG
AATTATTTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAACGATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGATCGTGACAGTGACTACCGCA
GTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACGTCACAACCCAACGCCTCAGTCCACCAATATTCTGT
TCGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACTCCATGCACAGTTACGAGGAGTTCTCTGAGCCACAA
GCCCTCAGCCCCACGGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGG
ACTTCGACCCTGACGAGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTG
CCACAGCTCGGTCAGCTACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAG
GACTTCCTGGAGGAGGAGGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCCTGACGATT

TGGGCAGCTATGCCCAGCGTGAAGACGTAGCTGTGGCTGAGCCCAAAGACTTCAAACGCATCAGCCTCCCGCCAGC
TGCCCCAGGGAAGGAGGACAAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCA
GCCACGCCCGACAAGGTGCCTGCAGCTGAGCAGATCCCTGAGGCTGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGTTTCAGGC
CGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTCCAGGGCCAAGGCCAACTGGCTGCGTGCCTTCAA
CAAGGTGCGGATGCAGCTGCAGGAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTCTAAATCCCTATGGTTCAAAGGCGGCCCA
GGGGGCGGTCTCATCATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAAGAGGAAACCTATCCCACTCGTGAGCGACTTGG
CCATGTCCCTGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACCTCGGCCTTGGCCTCCAGCACGTTGAACAACGAGGAGCT
GAAAAACCACGTTTACAAGAAGACCCTGCAAGCCTTAATCTACCCCATCTCGTGCACGACGCCACACAACTTCGAA
G T G T G G A C G G C C A C C A C G C C C A C C T A C T G C T A C G A G T G C G A G G G G C T G C
TGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGC TGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGCCAGGACC
TGCTCAACGCCGAC TGCC TGCAGCGGGCTGCGGAGAAGAGC TCCAAGCACGGGGCGGAGGACCGGACACAGAA
CATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATC T TCGAGC
TCATCCAGGAGATC TTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC TG
GACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGTGGTC TGCGCCCAGGGC TTGCAGGCAAAGGACAA
GACAGGATCCAGTGACCCC TATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAA
CCTCAACCCGGTGTGGGAGGAGAATT TCCACT TTGAATGTCACAAT TCCTCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTC
TGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAACAGAGGT TCAAGAGGGAATC TGACGATT
TCCTGGGGCAGACGATCAT TGAGGTGCGGACGC TCAGCGGCGAGATGGACGTGTGGTACAACCTGGACAAGCGA
AC TGACAAATCTGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCTCCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGCC
CCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGAACCTGT TCCAC TTCGTGACCGACGTGCAGAACAATGGGGT
CGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCC TGGAAGGTT TACTACGATGAGACAGCCCAGGAGAT
TGTGGACGAGT TTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATCTACCAAGCCATGACCCAC TT TGCC TGCC TC
TCCTCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCC TGCCGTCATGAGCACCC TGCTCGCCAACATCAATGCC
TACTACGCACACACCACCGCC TCCACCAACGTGTC TGCC TCCGACCGC TTCGCCGCCTCCAACT
TTGGGAAAGAGCGC T TCGTGAAACTCC TGGACCAGCTGCATAACTCCCTGCGGATTGACC TC
TCCATGTACCGGAATAAC TTCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGAC TCCAGGACCTCAAATCCAC TGTGGACC
TTCTCACCAGCATCACCT TC TT TCGGATGAAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGT
AAAGGAC TGTGTGAAAGCC TGCCTTAAT TC TACC TACGAGTACATC TTCAATAACTGCCATGAAC TGTA
CAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGCCAAGAAGGGGGAAGTTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAAC
CTCGAC TTCTGGTCCAAGCTGAT TACCCTCATAGTGTCCATCATTGAGGAAGACAAGAAT TCCTACAC TCCC
TGCC TCAACCAGT TTCCCCAGGAGC TGAATGTGGGTAAAATCAGCGC TGAAGTGATGTGGAATC TGTT TG
CCCAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGAGCACGACAAGCATCGTC TATGCAAGAGTGCCGAC TACATGAACC
TCCACT TCAAGGTGAAATGGC TC TACAATGAGTATGTGACGGAAC TTCCCGCCT TCAAGGACCGCGTGCC
TGAGTACCCTGCATGGT TTGAACCC TTCGTCATCCAGTGGC TGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGAT
TTCC TGCACGGTGCCCTGGAGCGAGACAAGAAGGATGGGTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCC TATTCTCC
TGCTCCGTGGTGGATGT TT TC TCCCAACTCAACCAGAGC TT TGAAATCATCAAGAAAC
TCGAGTGTCCCGACCC TCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCT TTGCCAAGACCATCAGTAATGTGCTCC
TCCAGTATGCAGACATCATCTCCAAGGAC TT TGCC TCCTAC TGCTCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGCCC
TGCATTCTCATGAATAACAC TCAACAGCTACGAGT TCAGCTGGAGAAGATGTTCGAAGCCATGGGAGGAAAGGA

GC TGGATGCTGAAGCCAGTGACATCCTGAAGGAGC TTCAGGTGAAAC TCAATAACGTC TTGGATGAGC
TCAGCCGGGTGT TTGC TACCAGCTTCCAGCCGCACAT TGAAGAGTGTGTCAAACAGATGGGTGACATCCT TA
GCCAGGTTAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCCTGCAGCAGCGTGGCCCAGGACGCGGACAATGTGT
TGCAGCCCATCATGGACCTGC TGGACAGCAACC TGACCC TC TT TGCCAAAATCTGTGAGAAGAC TGTGCT
GAAGCGAGTGCTGAAGGAGCTGTGGAAGC TGGT TATGAACACCATGGAGAAAACCATCGTCC TGCCGCCCCTC
ACTGACCAGACGATGATCGGAACCCAGATGATCT TCAATGCAGCCAAGGAGCTGGGTCAGC TGTCCAAACTCAA
GGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCT TGACCCCAAAGCAGTGCGCGGTTGT
TGAGTTGGCCCTGGACACCATCAAGCAATAT TTCCACGCGGGTGGCGTGGGCC TCAAGAAGACC TTCC
TGGAGAAGAGCCCGGACC TGCAATCCTTGCGCTATGCCC TGTCGC TC TACACGCAGGCCACCGACC
TGCTAATCAAGACC TT TGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGC TTGGGTGTAGAAGACCCTGTGGGTGAAGTCTC
TGTCCATGT TGAGCTGT TCAC TCATCCAGGAACTGGGGAACACAAGGTCACAGTGAAAGTGGTGGCTGCCAAT
GACC TCAAGTGGCAGACT TC TGGCATC TTCCGGCCGT TCATCGAGGTCAACATCATTGGGCCCCAGCTCAG
CGACAAGAAACGCAAGT TTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGC TCCCAAGTACAATGAGAGC TTCCAG
TTCACGCTGAGCGCCGACGCGGGTCCCGAGTGC TATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGAC TACTGC TTCGCGC
GCGAGGACCGCACGGTGGGGCTGGCCGTGC TGCAGC TGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGC
TGGC TGCCGC TCGGCCGCCGCATCCACATGGACGACACGGGCC TCACGGTGC TGCGAATCCTCTCGCAGCGC
AGCAACGACGAGGTGGCCAAGGAGT TCGTGAAGCTCAAGTCGGACACGCGCTCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCG
CCTGCGCC TTAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGCGGCAC TGCGCC TGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGG
GGC TTGCGCCT TGGTGGGACC TCCCCAGGGGCGGGGC TCGGGGGGC TCCACGCCAAGGGTGGGC TGCGCC
TACGCCCTTGACTCAGC TT TCCC TT TTGGGGAATTAGGAATGGAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCACG
CCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAAC TTGAGGCCACGCCCCCAGCACC TAGGGGGCAT T
TTGAGC TGGGATGGGGGAAACC TCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGGCTCTGGTACCGGGAGGCACCA
CC TCATGTCCCC TGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCC TGGGACCCCAGACCAATTGCCAAGTATGGA
AATCTCAGC TCCC TCGAGGGGGGGCCC TGGGCAAGGGGTAGGGC TC TC
TGGAGCGCCCCTCTAGGTGGCCTGGGGAC TGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTC
CCT TTAGATATT TGTGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGAT TTCAAAAGCACATGCGCCCT
TGGGCGCCCAAACCC TGGGGGCCGAGGGGACGGCTCTGGTTCCCCACGCTGCCCCTAC TTCCCT TTGGGAGT
TTGCCTC TCCCTC TCCCCCAACAAACCCAGTCC TCATATCATAGAGTTCAACACACCCAT
TTGACAGATGGCAAAAC TGAGGC TTAAAGAGCTGC TTGAGACT TGGCCAAGGT
TCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCT TAGGCCTGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGATCGGGATGA
CC TGACACAGCTCCCTAT TGCTGC TAAT TCCCCCTCGGCCTCC TCCAAGGGGTGGGAAT
TCCAGGCCAAGACCCCTAC TTCGCC TT TCCT TC TCCGGC TGCCAAGCAGGACCT TTGCCC TCAGCCCT
TTCTCC TGGGATC TCCATGGGGGATGCCATGAGGGCC TCCCACCACAAAAGAGAAT
TTGGGATCCCCTGGTCCCAGGT T TC TCCATCCC TTCT TCCT TT TCCAGAAT TT TCCAAATAGGAAAG
AACAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAAGAGAATGAGAGAGAGAGAAACACAAAC
ACAGTGACACAGTGAGAGC T TAGTCTCCAAGAGCCTAT TCAT TGAT TCAAACACCCAAGCCACAGGATACC
TCAGATGGCCCTCT TGCCAGC TGGAAGCTCT TTCTCCAATGAGCAAAGT TACAGTGACCTGGCTGGAGTTAC
CTGGTGCACATAGGACC TTAGGGGAAAGT TCAGCGTGGACTACAC TTGC TCTGGGATC TGCT TT
TCCACATGTGTGTATGGCACGCC TT TT TC TGCTGGAT TGGGAAGGACAAGATT TTGCTGTGC

TAGGGAGAAATGAAAACGGGGTGAGC TGAGTAGCTGGGT TTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGC TT
TCCGAGGTGAAGAATGAGAGGGAACCAC T TACTAGAGAGAAAAGAGC TCCAGGCC TGGGGAACAGCACGTGC
G A A G G C C A G G A G A G A A G A A C T G T T G A A A C A A C G A G A A G G G T G G C A C G G C T G G A G C
TGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCC TTGGGGTTGGGGAGATC TGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCT
CGTACGCAGTCCTGAGGAGTT TTAC TT TTAT TC TAAGACAGT TGGGGAGC TCCAGGAGCTGT TT
TAAGTTGGGGAGAGACTGGAT TCCAGCCTGCAAAAGC TGTT TTGTGAAGACTAAAACCAGTGAGGAGAGGTGG
AGGTGC TTTGGGGACACTGAAATGGATTCT TGGAAAGATTC TGAAGGCTGTGT TGAAAAGACACC TATAGC
TGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATT TGGGGAGACCGAGGC TGGCAGATCACT TAAGGTCAGGAGTT
TGAGACCAGCC TGGCCAACATGGCGAAACCCCATC TC TGC TAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGT
GCATGCC TGTAGTCCCAGC TACTCAGGAGAC TGAGGCGGGAGAATTGT TTGAACCC TGGAGGCAGAGGTTG
TAGTGAGTCGTGATCACACAAC TGCACTCCAGCC TGGGCAACAGAACAATACTCCAT TCCC TCCCCTCTACC
CCACCAAAAAAAAAAAAAAATCCTGCCC TTAGATGAGCTCTAGGGCTGC TGAGTACAGT TGTCCCAGT
TGCACAGTGCCCAAGGGT TTGGCATTGC TAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATAT TGAGTGTTGTATGTT
TGTGACGT TGGT TTCCCGACATGTGAATGGCCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCACT TTCTAATT TGC
TTGGAGATGT TGCATGTCCC TTAAAT TCAGACAGGTGCAGGTAAC TGGAGGTTCTGAACCAAAGGTTAAAAT
GCAAAT TC TCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAAGCT TATGTGAC TGTTATATGGAC
TGAGGAGCAGATGTGAATT TCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGTGGATGGATGATTCAGGGTTGT
AACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACCTGGGGTGAGGGTGATCTGGAAGATT TT TGGATGGCTGG
AAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGT TATT TCCCAAAAGATTCC TTAGGAGTCTT TC T
GTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTT TAGGGT TCCCCAGCAATGGCCCAGGCATGTGAAGGAAACAAGC
TTCT TCAGGGAATATT TGTTGAATGAGTT TTCC TGAC TCCCAGGC TAGAAC TGTT T TTGCAATT
TCCACCCTCT TT TC TT TCCCCCAGAGAAC TCCTAT TCGTCC TTCAAAACCCATCACGGAAACCCCTCT
TGGAGAAAACCC TCCT TCCT TCCCCTCAGGACT TTCCCAGCCACCGTCTCTCC TCCAGTCCAGCCTGATGC
CATGGGACTGGGGGT TTCTCTGTCCAGCTC TGTT TC TCCCAGAC TGGGGTCTGAGGAC TC
TCAGGACCCCCAACT TTACCTAGCACAGGCTGGGCACAAGTGGGTGACAGGGAGTC TACGCC TAGTGGAATTA
TGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACATCCGCATGCATGTC TGTCCATGTC TGTCCGTACCAACCT
TCCCCT TCCACACGGACC TGGGCACATAGGAGGTGTC TGAGCC TGACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGC
TGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGC TGAAAGCC TT TTGAAATCAGGAAGTTCCTGTAT
TGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGC TT TCCTCAACGCCACCCAGCAAGTGGACACAGAGCCCGGCC
TTGGATGACACC TCCAGGGT TC TGAACCC TGGACC TCGC TT TATGCAAGGAGC TGGCCCCACAT TTC
CATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGT TGGCC TGTGGCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTGACAT
TGAGGGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCC TGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGATC
ACGCCCCGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGATAAATGC
AGAGACCAAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCC TGAAGAAAGAAGGATCTGTTCAC TC
TTACCAGTCTGTCC TCGAATGATT TGCATAAAATGAGGAGGTGCC TGTCCACACCCCCAATTCCTC TC
TCAGGCCCCAGAGCCTGAGACC TCACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAAC TAAACACCCAACTAGAAATCC
TTGGGACC TC TC TCGGCTGGGATC TCAGAGCCT TTCTGTCCCC TACCCC TACCCCATGTGCTGTCGAT
TT TGCAGATGGGGACAACCTGGGGCC TCCCGGAAC TC TGCCACCC TGGGGAAGTTGGGGGAGGGCC
TTAGTCCCGGATCACAACCCCGTC TGCTCCCCAGAATCC TT TCCTAAGAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCT

TTGC TGACACGTGT TGCT TT TC TC TT TGCCT TT TATTGT TTCAGAGAAAAATCAAGT TGAC TGTGTCAAGTAACACCCCACCCC TTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACACAGGTCACAGGCGGAG GGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACT TGACCCCTGTCCACCCCTGTCTCGTGC TCCCTCAG ACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCT TCCCCTCCACACAACTCT TAGCATGTGATTGCAGATGTG AAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGACGCCTTCATT TCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGTTGAGATGTT TTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAAACCACACAC AGCCTTGGA

SEQ ID NO:5063(SOURCE NCBI参考序列XM_011527811.2))。

[0179] 在各种实施方案中,UNC13A转录本是前体mRNA UNC13A转录本。在各种实施方案中,UNC13A前体mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5064所示的序列。

CAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGGGTGGATCACTTGAGGTCAGGAGT TGGAGACCAGCTTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTCTCTACAAAAAATACAAAAATTAGCCGGGCATGATAGAGAGT GTACCTGTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGACAATCCCTTGAATCTGCGAGACAGGTTACAGTGAGCTG AGATCTCAACACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAATGTACCCTGTAACAATATATAAG ATGTCAACATTAGTAGAAGCACTCAAGCCTAGATGATAGAGAGAGATTCAGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AGAGAAAGAAATGGATAAAAGACTTGAACAGGCATTTCACCATAAAAAGAAACCAGTAATCACATAAAAAGTTCAAC GTCAAGAGCAATCAGAAAGCAAACCAAAACCCAAATGAGGCACTCCTTCCCTCCCTCCACATAGGCCCAGTGAAAAA ACTTGGACAATTCAAAGTGTTGGCAAGAACTTAGAGCCAGGCACGGTACCTCATGCCTGGAATTCCAGCACTTTGGC AGGCCGAGGCAGGAGGATCACTGGAGCTCAGGAGTTTGAGAACAGCTTGGGCAACATAGGGAGACCCCATCTAAAAA AAATAAAATGAGCCAGGCATGGTAGCACAGGCTTGTAGTCCCAGCTCCTTGGGAAGCTGAGACAGGAGGATCGCTTG AGCCCAGGAGGTGGAGACTGCAGTGAGCTGTGATTGCACCATTGCACTCCAGCCTGGGCCTCAGAGTGAGACTATCT CAAGAAAAAACAAAAACCAATAACAAAACAAAAACAAAACATAGAGGAACCGATGATTATACTGTGTTGGTATGATG AAAATCGCCAGACTCCCAATAAAAAACATGACATTATCAGGTGAAGCTGAGCATATATGTATTTTCTTTTCTTTCTT TCCCTCCTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTTTCCAGGCTAGAGTGCAGTGGCGTGATATCGG CTCACTGCAACTTCCGCCTCCTGGATTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGGGTG TGCCATAATGCCTGGCTATTTTTGTGTGTGTTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGATGGTCTCGA TCTCTTGACCTCATGATCTGCCCATCTCAGCCTCCCAAAATGCTGGGATTACAGGCATGAACCACCATGTCTGGCCA CATATATGTATTTTCTGACCCAGCCATCCTTACTCATGTGTGCCAGCACACAAGTCTGAAGTCTGAGGATGGTCATA AAAACTTTTTTTTGTAATAAACCTGAGCTTGAAACAACCCAAAAGTCCATGACCTGGAGAACAGATGAATAGCCAAT AGAAGATTCATACAAAGGAATACTATGCAGCAGTAAAAAATGCAAGCCTTACAGCCACATGCAGCGATATGGATGAA TATCAGCAGAATCACATTGAGCAAACAAAACAGATTAGCAGTCCAGGTGCTGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAC TTTGGGAGGCTGAGGTGGGTGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTC TCTACTAAAAATACAAAAATTATCACTGCAACCTCCATGGCCAGGCATAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCATTT TGGGAGGCCGAGATGGGCAGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGACCAACATGGAGAAACCCCGTCTC TACTAAAAATTACAAAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCACATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAG GAGAATTGCTTGAACCTGGGAGGCGGAGGTTGCGGTGAGCTGAGATCGTGCCATTGCACTCCAGCTTGGGCAACAAG AGCAAAACTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCCAGGCAAGGTGATGGGCGCCTGTAAT CCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGTAGGAGAATCGCTTGAACCTGGGAGGCAGAGATTGCAGTGAGCGGAGATTGTGC

CACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGCAGCTCTGTTTCAAAAAACAAACAAACAAACAGATTAGTAAAGAATGT
GAACAAAGTCAAATGAGGTGGCTCATGCCTGTAATTTCAGCACTTTGGGAGTCCAAGGCAGGCAGATTGTTTGAACC
CCAGAGTTCAAGACAAGCCTGGGCAACATAGTGAGACCCTCATCTCTAATTAGCCAGGCATGGAGGTGCATGCCTGT
TGTTCCAGGTACTTGGGAGGCTGAGACAGGAGGATTGTCTGAGCTCAGGAGCTCACACCACTGTACTACAGCCTGGG
TGACACAATGAGACCTTGTCTCAAAAAAATAGAAACATGCAAGAGGTAACCATGTATTGTTTGCTAAGGAGCATGTG
GTAAACTATAAGGAAAAGGAAGAAAATGAAAAACAAAATTTGTGATAGTTCTTCCATCTGCAGGGAAGGATTATGAG
ATTGGGGAGAGGCACATGGGGGTCTTTTATTGTGATGGTATTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTCTCTCTCTGTCA
CCCAGGCTGGAGTACAGTGGCCCGATCTCGGCTCACTGCAAGCTCCGCCTCCCGGATTCACGCCTTTCTCCTGCCTC
AGCCTCCTGAGTAGCTGGGAATACAGGCGCCCGCCACCACGCCCGGCTAATTTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGT
TTTACCGTGTTAGCCAGGATGGTCTCGATCTCCTGACCTTGTGATCACCCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGTAT
TATAGGCGTGAGCCACCGAGCCCGGTCGATGGTAATTTTTTTTATCCAAGCCTGCTCCTCATAGTTTATCTACTCAT
TGATGTTTAATAAAACATCAATGTTTTATTGATTATCAATGTTTAATAAAACATCTACTCATTGATGTTTAATAAAA
ATTTAAGACCAGGCATGGTGGCTCATGAGCCTGTAATCCCAACATTTTGGGAGGCTGAGACGGGAGGATCACTTGAG
CCCAGGAGTTTGAGACAGCCTGTGCGACATGGTGAAACTCTGTCTCTACAAAAAATACAAAAATTAGCTGTGCTGAT
TTTTTTAAAAATTTAAAGCAGTGACAGATACAAACATGGTTACTATTAGGCATTAAGATTACAACTGGGGCCAGGCG
CGGTGGCTCATTCGTGTAATCCCAGCATTTTGGGAGGCCACGGTGGGTGGATCACTTGAGGTCAGGAGTTTGAGACC
AGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATCTCTACAAAAAATACAAAAAAATTAGCTGGATGTGGTGGCGAGCGCCTGT
AATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAGGAAGATCACTTGGAGGTTGAGGTTGCAGTGAACTGAGATGGTGCCACT
GCACTCCAGCCTGGGCCACAGATTGAGACTACACCTCCAAAAAAAAAAAAAATTACAACTGGTTTCACATGTTAACTC
ATGTAATACCTCCAGCAACCTTGTGAGGCAGGACTTGTTATCATATTCATTCTACAGGTGCGGAAACTGAGGCACGA
GGAGGTCACAAGACCTGCCCAAGGCCATGCTTGTGATGAGAGACAGAGTTTGGTTTTGAACAATGGCCTCACTCAAC
TCCATGCACATTCTGCATTTATGAAGCTCTTTCATGTGGGCTGGGGGCAGGAGACCCTGTGGGGCTCAGCCTTTCAT
GCTAGTTTAGGTGCCAGTGATACAGCGAGCAGGTTGCAGGGCAAGGGGCCCACATGGAGCTGCCCAGTTTGATATGT
GGGGAGGGGGCCAGGCGCAGTGGCTCAGGTCTGAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGATGGGCGGATCCCCTGAGG
TCAAGTGTTCAAGACCAGGCTGGCCAACATGGTGAAACCTCGTCTCTACTAAAAATAAAAAAAATAAAATAAAAAAA
AAAAGCTGGGCATGGTGGCATGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCTCTTGATCCCA
GGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGATTGCGTCACTGCATTCCAGCCTGGGCTGCAGAGGGAGACTCCATCTAAAA
AAAAGAAAAGTGGGGAGGAGTGGCAGAGTTTCGTTCGGGTCAGGGCCCAATCAGAGGAAGGGATAGGGGCTGGGGGA
GTCCAGAGAGGAGAAACAAAGGCTCAGCTTGGGGCAGTCAGGGAAGCCTTCCTGGAGGAGAGGATATTCAGACAAGA
CATTGATGGATGAAAAGGAGTTCAGAGTGTGGGCAAGGACCCATGGGCTGGATGGCTTAGAGACATAGAGAGAGACC
TAGACAGGATGCAGTAGAGCTGCAAAAAGACTTTACAGAGAGAGGCTAAGAGACACATGACTGAGAGAGCAGTGGAC
AGAGTCAGAGGAACAGAGACCCAGGGAGAGAAAGAGACCAGGCAGTAGAGTTAGAGAGACAGAGACGTAGAGACAGA
GGAAGAGAGATACTCAGAGAACAGGACCATCTGCCCGGTGCTGGTGCCGGGCGTACACACAAGAGCTTGCATTTGCC
TGTACTTGCTTGAGTATTGCAGGGAGGCGTTTGCCCAGGTTACCAGGGCAGGAATGTCCATGCATGGGTGGCGGGGG
CACGTGCACCATTTCAGTGCAGGTGAGGGTCTGCACAGGAGGAAACCTGCTTGGGGGCCGCCGTCGCCCCTTGTCCC
CCTGCAACGAGGAGGTGTGGGGCGAGGCGCCCCTTCCCGGAGCCAGGCCCTTTAACGCCCCCCCAGCCCGCAGCGCC
CCCGCCCCATCAGGCGTCCCTGGGCTCCGCCTGCCCGCCCCGCATCAGCGCCACGTCAGGCGCTGTCCGCGCCCCCG
GTGCTGAACCAAGATGGCCGGTGGCGGCCGGGCCCCGGCGTGAGCCAAGCGCGGGCTGCAGCCGGGAGATGCCCCAG
CCCAGCGGCCGCTGAGCCCGACCCGACAGAGCCGGCCCGGCCGCCTCCGGCCCACCTGCGAGCTCGGAGACATGTCT

CTGCTTTGCGTTGGAGGTAGGAGGCGAGGCTGGGGGTCGGGGGACCCGTGTGGACGCGGGCTGGGGTCGGGGTCCGC
GTGGATGCGGCTCCCAGGGGGTTCCTGGGGGGTGACCCGAGTCCAGGTGGCTGGACTTTTGAGAGGGGTAGCCCTTG
TCGACGCAGCTGGGCCCCGGAGGGGGTGATCCGTGTAGACGCGGCAGGGCTCTCGGGGGTCCTGGTGGCCGCTGCTG
GAGGGGTCGTGTGGACGCGGCTGAACGCGGAGGCCCGTGTGGACGTGGACGGGTATCCGGGGTTCTACCCGGAAACG
ATCTAGACTGGGGCGTCTGTGTAGACCAGGTTTTTAGAGGGTCAGTGAGGAAGAGTCTGGGCTCGGTAGTTTGATTG
AAGCCTGCAGGGGTGCTTGGAAGGGGTCTGGTGTTGTGGGCTGGGTTACGGGTCCTCATGGACGCGGACCCGGCTGG
AAATTCGAAGGAGAGTGCGGTGGGAGGGTTCTCCAAGCCGTGGGGATGTAAGATATAGGTAGAGGGGCTTGGCCATC
AGGGCATCCACGAGTTCTAGGACTCTCCCAGCCCTAGGTGTAAAGAGGACTGGAGTGGGGGGAGTGTGGAGACAGGA
GACCCCTCCCAGCGTCCAGAGAGGGCTGTGACTGGAGGTCTGGGGGCGCTTTTCCAGTTAACTCTTTGGCCTCCCGA
GTGAGGGGGTTGGAGGAATGTCCAGAAGGTCTTCCCGCTCCCTGCCCCCTCCGGTTCTCCCAAACACGTTTCAGGGC
CTTCTCGGCAGGGAGCCTACTTCTTGGAAGAGCAATGTCTCCTGGTCCCCCTCCTGGCCCATCCTCACCTCACCCAC
TTTGCACTGGAGAGAGGGAGGGAGGGAGACGTGAGGTGGGGGGGGAGCTATTTTGGGGCCAGAACGCCATCTGCACA
GAGGCCCACGCCCAGGCCCACGCTCTGCGTTGGGGTTGGAGGAGGGAGGGAGACGTGGGAGGGGCATGACCCCCCAC
CCCACACCTTTATGGCTCTGGGGTCGTGGGGAAGCCAGCCCAACCGAACCCAGGCGTTCTGGGCACTCCCGTTTGAG
AAATCAAACTCTGGGAGACCTTGGGCGGCAGGGGTGGATGTGGACCGCCGTTCCACGCCTACAGAGCTCTGAACCCC
TGGTTCTTAAGGACTGGGGTCCCCCCGTCACTCCCACCCATTTCAAGAAGGCTGGGGTGGGGGAAGGGGTGTGTCTG
CCAAGCCTGAGACTGCAGGCTTCGGGAGACCTCGGGCGACAGGAAGCGTGCGTGTGCTGAACTCCTGCTGCCTGGAC
ACAGGGTGGGCAGGCCGGGGAGCCGGGAACCGCCCCCGCCGCCCCTCCTCCTCCCTCCCCTCCCCCTCGGCCGATTC
ATTCACAAACCCTGCCCCGCCCGCCCGCTCCCCGCCGCGGCAGCTTCCGAGTGCAAATCCGGCCGGGCTGGGCCGGC
GTGGACGCGGGTGTTCTTAAAGGGACAGGGGCCTACTTTCTCTAAGCTCGTTTCTGCTGGACGGGGCTGGGGGTGGT
GGAAGAAGGGTCCCTAGAGTCAAAGGTCAACTCCTCCATCCCCTAGCCTCCAGGCCTATGGAGTTAGGGGAGTAGGG
AAGTGAAGGAGACCCCTAGGCGACCCCCACCGCCTAGGCCTGAGGACGGAATGGGAGGAGAACTTGAATGTCCAGAC
CCCCTACTGACCTCTCCCCCTGCTCTAAGTAGCCGGGCTCTTAAAGGTGGCACTGGAGGAGGTTCCGACGTGGGTGT
TCTTGGCTGACTCCTCTATCCTCTCTCTTCTCCCCCCAGCATCCCGCCCCACCCCGCCTCACATCCTCCAAGTTGGG
CTTCTCTGGAAGGTTTGCCTAGTGGAGTGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGGGGATCTCACCCTTAACTCTGACGCAAA
CAGGAGGCTCGGCTGCGGGGGTGGCATTAAGGGGGGGCAGCAGGAGGCAAGAGGGATGAGGCTTCCAGAAACAGAGA
CGTTGGGGGAGGACTGTGCTGGATTCTGTGGACTTTACAGGGAGGGGCCCGGCTGAGTGGAGAGGAATCGCTGGGAG
GGGCAAGGCTGGGGAAGAGGTTGACAGGGGTGGGAGGTAAGGCCCTCAGGTGTAAAGGGAGGTGTGAGGTTGGAGTG
AGGAGGAGTAGGAGGCAGGGAGGGGTGGGGAGAGGGAGAAGTGCTGGGTGAGGCCAGTCTCCCAGGGAGAGGTGGGA
TGGTGCCCAGAGAGGGGAGGGGCTGGGATGGCTGAGCACGAGAGATGTTGGGGTGGGCTTGGCAGGAGTGAAGCTAG
GCTGAGATGGGTTGCCGTGTTGCCTGAGCTCAGCTGAGGAAATACCTGTCCCCCCTCCCCTCCACCGGGGACCCACA
GGCGTTTGCCAATCCCTACACACATTCATACCCAGACTTGTTCCTGTGTGGACACAAATGCTTAGGATGTATGAAGG
CTCTACGCAGACCATGTGCCTGGGAAGGCACATTCCGTAGGCACACGTGTGTACTCAAATGCCTGTGTGAACACAAG
CATACACGTGTATATAGGACACAGTCTGCCGCTACAGATATAGTCCCAGCAACACACGTGTGAGTGTGTGTCTGC
CAGCACGCATATAGATGTATCCACGTGTCTGATGAATGCTCACAATATACATGTCACATAAAGATCCACCCATGTCC
AGCCGAGCGCGGTGGCTCAGGCCTGTAATCTCATCACTTTGACTTTGGGAGGCCAAGGTGGGCAGATCACTTGAGGT
CAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACTTTGTCACTGCTAAAAAATAAAAAAAATTAGCCAGGTGTG
GTGGCGCGCACCTGTAGTCTCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGAAGGAGAATCACTTGAATAGGGGAGGTGGAGGTTGC
AGTGAGCTGAGATCCTGCCACTGTACTCCAGCCTGGGCAACACAGTGAGACTCTGTCTCAAAAAAAAAGATTCACTC

ATGTCCTAACACTCAGACATGTACCCATACATATCTGTTAAGGTCCCCAACCCCATGAAGCACATATATATTCATAT
AAGCACATGTCAAAGCCATGTGTGTATGCACATGACAACACTTGCCTGGACATTCAAAGCAGCCCCTTTCAACAAGT
GGATGATGATGCATACAAGTAAATACACATTTGAGTATTTCATTGCACACAAGTGCATACATGTATGCAGATAAACA
AATACAGCTGCCACAGAACTGCATCCATGTACACATGCAAACATCAATATGTGTGTTTTCCACCTAACATATCACCC
ACAAGCTCACACACACCAGTGTGTCTCTGATGTAGTGACACCCCACTCCTAGACACACATGTGCAGACTCCCACCTG
CACTTAAATGGTGCACATACTCTGCACACATGCACACTCATATCCATGTAGAGGCAGGCACCTGCCTGCCCTGGTAA
GATGAGCCAACTACTGCTGCAAATACCCAAGCAAGTACAGGCAAATGCAAGCTCTTGTGTATACACCCAGCACCAAC
ACATAGCAGACCACCCTGTATGGTGTATGGGCCTTATCTCTGCCCGCTTCATTTATTTATTCATGTGGTGCCCCGCT
GCTTCCCAACATCGTAATCCACTGACTAGGTCTTGGCAGGATCCTGAGGCTGTGAATGGTAAATGCCACCTGGTTCC
TTCATGAAGTCACTTATTTTATTTATGCAACAAGCATTAATTGAGCACCTACTGTATACCAGGCACTGTTCCTGGCT
CTGGGACCCAGCCCTATTCCTAGCCATCACTCCTGCACGTCCCATGGGGTTAGAATGAAAGAGATGAGGGAGGGCTA
AGGGAGCTGAGGAGTGGGGTATCCAGGGCTCTCTTCCTCTGGGAAGCCTACCCTGATTCCACCACCACCATTTACTT
GAGTCTCAGAAGATGTGATGAGGGGGAGATGAGCAGGAGGGAGATGGTGCTCTGGGTGGAGGGAACAGCATGAGCAA
AAGCATGGTGGTGTGAAGGGTTACTTCCAGATCTTCCTATGTGCCTCACAGCATTTTGCACAGGCCACTTGATGTTT
TGTTTTGTTTTGAGACAGAGTCTCACTCAAAGCCTGTTACTCAGGCTGCAGTGCAGTGGCATGATCTCAGCTTGCTG
CAGCCTTGACCTCCAGGGCTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGAGTATAGGCATGCACCACC
ACACCCGGCTGACTTTTTTCTTTTTAATTTTTTGCAGAAGCAGGGTTTTGCCCTGCTGCCCAGGCTGGTCTTGAACT
CCTGGGCTCAAGTGATTCACCCTCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCACCACGCCCAACTGA
TGTTTTAAAGGCTCTATAAACATGTTATGAATAAATGACATGAACAAATCAGTGAATTTAGGTGAGGGTGGGTTTGC
TTCACAACTTACAATAATATCAACAACAAACCCCATTTATCCAGCTTTTTTGTTTGTTTGTTTGTTTTTTGAGACAC
GGTCTCACTCTGTCACCCGGACTGCAGTGTAGTGGTGTGATCTCGGTTCACTGAAACCTCCACCTTCCAAGTTCAAG
CGATTTTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGCACGTGCTACCACACCTAGCTAGTTTTTGTATTTT
TAGTAGAGATGGGGTTTCTCATCTCTACTAAAAATACAAATACATCTCTAGTGGCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGA
CTTCAAGTGATCCTCTTGCCTCGGCCTCCCAATGTACTGAGATTACAGGCTCGAGCCACCGTGCCCAGCCCAGCATT
TCATAGGCATGATGTTAAGGATTTTTATGCCCATGCCCTCTTTAACTCTTACAGTAGCCCCATTGTACAGATGAGGA
AAACTGAGGCTCAGGGAGCTTTAACAACTTGCCTGGTGGAACAGAGCCAGAGGTGGAGCTGACTGACTCTAGAGCCT
ACTGGGGTTGGCAGAAGTTTGAGCCTTCTCTCAGACCCCAGGACCTCGGAGACAGCCAAGTCCCTTCTGTGGAGTGA
TGTTCTGCCCTGGGATTGCCTTCTTCTTTCTATTTATTTATTTATTGGAGACAGAGTCTGGCTCTGTTGCCCAAGCT
GGAGTGCAGTGGCACAATTTCAGTTCACTGTAACCTCCTCCTCCCGGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCT
GAGTAGCTGAGATTACAGATGCACACCATCATGCCCAGCTAATTTTTTGTATTTTTAGTGGAGATGGGGTTTCACCA
TGCTAGCCAGGCTGGCCTCGAACTCCTGACCACCAAGTGATCTACCTGCTTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACA
GGCATGAGCCACTGTGCCCAGCCAGGATTGCTTTCTTCTCTCATGCATCTAGTAAACAGACATGTCACAATCTCTCC
ATTCATCGGGGCTATTCCCCTGCTCCTTGCCTAAGAAGCCTTCACACATCCCTCCGTTCCTGGCTACTCAGTCCCTG
ATACCCTCCAGCTAGGAGGAGCTGCATCTAGGTCTTAGCTCCTACCGTTCTCATGGGATGCCCTCCAGAGTTGCATC
TTCAGGGCTGCAGCCTAACCCTTTCCCTAACCTGGCCTCACTTTTCTTCCACATACAATGGACCTCTTCTGCAAGGT
GCCAATAAGGGCATCCTGGGTCCAGCAGGCCTGAGTGTGAATTGCTAAGTCCACCACTTCCTGGCAAGTCTCACATC
CTCTGCATTCCTTGGTGTGCTCATCTGTGGAATGGGCACAGGAGTAGCATCCACCATCTACGTTTGCCAGAACTCTC
TAATGAGGCTTGCAGAGCCCCTGGCATGACTCCTGGCCTACGGGAAGGCCCAATAATCGTGAGCAAAAGACATGAAA
AATCAATGATGGGCCGGCCCCGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCTAGGCGGGCAGATCTCCT

GAGCTCAGGAGTTCAAGACCACCCTGGGCAACATGGTGAAACCCTGTCTTTACTAAAATACAAAAAAATTAGCTGGG
TATGGTGGCGCGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGGGGCTGAGGCACGAGAATCGCTTAAGCCCCGAAGGCGGAGG
TTGCAGTGAGCCGAGGTCGCGCCACTGCACTCCAGCTTGGGCTACAGAGTGAGACTCCGTCAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAATCAATGATGATGTTTTTATTAATGGAGACTAAAAGCTTTCTGGAAGGCGGTTCTGAGTGCAGGACATTTCTG
AGAGTCCACTGCATTCTGGGGCCCGAGGAGCGCTCCAAGAGGGGTCCCCCAGGGCCACTCCAGGAGGGAGCCTAGTT
CGTTGAGGGTACACGGGTGGGACCGAGCATTCAGCACCGTGGACAGCGCCTGCCCGCGCCTCTGGGGGACAGCTCTT
AGCTCAGCCTCCCAGGATTAATGGAGGAGGTGACGTCATTCCTTCCGTGAATTACTATTTAATGAGCACCTACTATA
GGCTAGGCCTACTTCTAAGTGGTTCATGGTAAACAACACACACACAAATCCCTTATTCCCGAAGCTCTCTGGAACTC
CAGGTTCTTGGTGTTTTTTACACTGAAGGCTCAGTCTGGCTCTGGTCTATTTGTGTCAACGGAGGATAAGGGTCCTC
ATTTAGTGTCTCCCAGATGCGAAACCAGCACAGCTGAGGTCTTTTATCCTAAAGCCCATCCATCTCCCGCTGAAATG
CCCTCCACCAACATCACACACAAAACGATCAAATCTCCTATAATCTATTTCTGGATTCTCTATGCTTCCTCCCTTCC
CCCAAGCTAATCCTGGGGCGGGTGGGCTTTCAGAAGCCCTAGACGGCTGGATCTCCACCTCCTGTCTCCCCACCCCA
TCCCACGTGGCAGGTCAGGGAGCCAGTGCCCCAAGACTGCAGTCCCCCCTAATTAGAATCCAGGGTCAGTCAGCCAT
GTGGTTCACGCCTGTAATTCCAACACTTTGGGAGGCCGAGGGGATGGCTTGAGCCTTGAAGCCAGCCATAGCAACAT
AGCAAGACCCCATCTCTACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGGAATAGCCAAGCATGGTGATGCGCACCTGCAGTCTC
AGCTACTCGAGAGGCTGAGTGGGGAGGATCGCTTGAACCTGGGAGATCGAGGCTGCAGTGAGCCATGATCACACCAC
TGCCCTCCAGCCTGGAGCCTGGGCAACAGAGAGAGACCCTGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAGAAAAG
AAAAAAAAAGAAGAAGAAGAAGAGAAAAGAAAGAAAAAGAAAAGAATCCAGGGTATTCAAATCCTAGAATCCAGGCC
AGGGACACCTTTAGAACACAACCAAATAATAAAAACAGTAAAGATATCAGTAATAATAATAATAGTATAAATGACAC
TATAATCATTCTGCAGAAGGGGTGAGGGAGGAAGAGGAGGGAAGAAGAGGAGGAGAAAGGAGAGGGAAGGGAGATCA
GCCACTCCGTCTCCCCATTTTCCAGATGCAGAAACGGAGGCGCGAAGCCAGGCTGCAGGGGTGTCCCGCAGCCTGAA
CTCCTGCCTCAGCCTCCCCGGGTACGGCCACTACATTCATCAGTCAGCGCTTCTGGGGGCCCCAAAGACCTTTGAGG
CCGCATGACGCGGTGTCTTCACCCGCTCGTCGCTGGGGACAGCAGTGGGCACCCCCCTCATCCCCGCCCCCCTGTCC
GCCGGCGCGCCTCCCACGCCCTCCGCGCGCCCACGCTATAAATAGCCTCATGCGTGTGACCCGAAGCCCGCTGGGGA
AGGGTGGCGCTTCCGCCCCGCTGACCCTGATACAGCAACCCGGCGCAGGCGGGGAGGTGGCGGGATGTGACGACGAA
GACGGTGACTCAGGGACCATTTACTGACCGGGGAAGACAGGGAGAGAGACTGGGTTCCTTCTCTGAGCCCCCTTCCT
CCTCCAAGCCTCTCCCCCGATACCACCCTCCCCTCTGCGCCCATCCCCCTTCCCGAATCCCCTCCCTCACCGCGAAC
ACCCTTCCCTCCTGAGAACCCCCTCGCCACTCTCGGCCCCCTTTCCTGTCCCCTTTTCCCTCTGAGACCCCTCTCCC
ACTGGGAGCCCCAGTGATGAAAAATCATGGATGTCCTCAACCTGGACCTCGGCAGGGAGCTAAGTGCAGGAGCCTGG
CTTCAGCTATCAGAGGGTACAGCCCTCCAGCCGGTCCCCCACTGCCTGAGGACCCCAACGGAGACCATTCCCCTCTA
GCCAAGAGAGGCTGCAGGAAGGAGCTGAGGCTTAGGGAAGAGGAGCCGGACTGACCAAGGGAGGGGCACAAGAAGGG
CAGAGACAGTGAGAGAGAGAAGGAGAGAACAGAGACCAAAAGAAGACGACCAGAGTGGAGAGAAATAGAACGGGGAG
GAGGGAGATGAGAGACAGGGATTGGGAAAGAGAGAGAGAGAACAGATCAAGGAGCTACTGGGCTCCCCGCTGAGCCT
AAATCCATGGTTTATAAAACAGGGCACAGTTGGAGGAGCTTCAAGTGAGCCCAGCCCAGTCTAGACCCCAGTGAGCC
CCTTGTATCACCCCCCAGAGCCTGTCACTTTCCCACCCCCATATGCATCCCTACTTTTCTCCCCCAACTGCCTCTCC
TCTCCCCAGTGTCTCCTCCACCTGCCTGCCCTCCCTAGTGGAAATCTTTCCCCCTCTCTCTTTTATTATTATTATTA
TTATTATATATTTTTTGAGACAGAGTCTTGCTCTGTCGCCCAGGCTGGAGTGCAATGGCGTGATCTTGGCTCACTGC
AACCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTACAGGCGTGCACCATCA
TGCCCGGCTAATTTTTGTATTTTTAATAGAGATGGGGTTTTACCATGTTGCCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCT

CATGTGATCCACCTGCCTCGGCCTCAAAGTGCTGGGATTACAGATGTGGGCTACCACGCCCAGCCTCTCTCCCTTTT
AAATTATTATTTTTAGACATGGGATCTTACTACATTGCCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGGGCTCAAGGGATCCTCC
TGCCTTAGCCTTCCTAGTAGCTGGGATTACAGGCATGTGCCTCTATGCCTGGTACTCTCGCTGTCTCCTTGTGTCTC
TCTATTTCTCTCCATCTGTCCAGACTCTCCTCTCTTGCTTTCATGCCCATCATTTCTTCCTCTCTCCTCTCCCTTCC
TCTCCCTGTATGAGTCCCTCCAGCTGTGGGTGCCTTTCTCAGCCTCTGTCAGCATCCCCTCCACCCCCGATCCCGTC
ACATTCTACCTCTTGCCCCTTCCCCTGCCCACCCCCTTCACAGAGAGTCCCCACGCCTGCAGGCTGGACCTCCTCCA
GGAGCCAGGCCCAAAGCTCCTGCTGGGCACATTCCTGAGTGTTCCTGAGCCTCTTTCAGTCCCAGGGGTGAGGTGCT
GGGTGGGTGCGCTCCCTGGGGGCTGGGTGGGGCTGAGGATGTGAGCGAACAAACCAGACCTAGAAAAAAAAAAGACA
GAGATGGAAGCAGAGATGAAGGCCCAGAGAGAGGGGTTCACTTGCCCAGGGTCACACAGCTCAGGAATCTGAACCTG
GCTCAAACCAGCATTCACTTCTCTCAAGGCCCACCCAAGGGCTGCAGTGCAGTGGCACAATCTCAGCTCACTGCAAC
CTCTGCCTTCCAGGTTAAAGGGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTAGAGGTGCGTGCCACCACAC
CCGGCTAATTTTTGTTATTTTAGGAGAGACGAGGTTTCCCCATGTTGTTCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACGTCAA
GTGATCCACCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACCGCGCCTGGCCAGGAACAGTCTTT
ACTGACATGTGTTTAGGGCCATCGCACTTCCCCCGCTCTTCACGGGAATTCTCTCTTCACTGGCTCCACTCAGGTGC
CTTTTGTGAGACAGAAATTCAAGCGATGAGGACAGAGATACAAACCCGGGATGGGAGGCTGTGACATCTGCCCATAG
AAACACAATTCTGTTTCTAGGAATTTATCCTTCAACTCGCTAGTACACGCTCTTCAAGACATACTGAAAAAACATGA
AGGATTAGAACAGTGGGTGTCGAATGCTACCATTTGTCTTGGAAATCAAGCAAAACGAACGTGGGTATGGTTGCCGA
CGCATGGACCATCTCCAGTGGAACAAGGAACTGCCAACGTTGATTGCATTTGGGAGGGAGATGAAGGGCTGGGATGG
AAAGAGCTTTATTCTCAGTGCCTCATCTTTTGGTTGTTTTGGATTTTACAACATGTGCATGCATTGCCTACACAAAC
AAAGACACTAATTTGAAAAGGAAAAGGGGAGAAGAAAAGAGGGAGGAAAGAAAAGGGGCCGGTGTGGCAGCTCACAC
CTGTCATCCCAGCACCTTGGGAGGCCAAGGCGGATGGATCACCTGAGATCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCGACA
TATACTGAAACCCTGTCTCTACTAAAAAATACAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCGCACGCCTGTAGTCCCAGCTAC
TTGGGAAGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAATCTGGGAGGTAGAAGTTGCGGTGAGCTGAGATGGCACCACTGCACT
CCAGCCTGGGCAATAGAGCAAGACTCCGTCCCTAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAGAAAAGAAAGAAAGGAAAGGG
AGGGAAGAGCTCAGTGTGGGAGAAGATTGGGGGTGGGAGTAGAGAATTAATGGAGGAAAAAGATGTGGGGGACAAAA
GCAAGGTGTGAGAGGTGTTGGCAATGGAAACTGAATACCTGTTGAGAAGAGCCAGGAGGGGGCGACATGGCTTTGAA
TCTCTTGGGGCTGTGAGATTATGTGAAATGTGAGAAGACTGGACCTCAGTGGGGTGCCTGACATATATTCAGGTTAC
ACCTCCCACAAGCAGGTGGGGCTGGACAATCTCTGTCAACCCTCCAGCCAGGACCCAAGTGTCTCCCTGTACATTAC
TTTTGGTTGTTGTTGAGACAAGAATCTCACTCTGCTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGATCTTGGCTCACTGCA
ATCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTACCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGAGACTATAGGCGCCTGCCACCAC
ACCTGGCAAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAAGGATTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGACCTC
AGGTGATCCACCTGCTTCAGCCACCTAAAGTGCTGGGGTTATAGGTGTGAGCCACCGTGCCTCGCCCTCCACATGCA
TTTTGAGAGCCAGCTCTCTGGGTTGCTTTGTCCCAACTCACCCAGCCTTCTTTGAGGCTTCCCCAAACCCTGGGAGC
ATTTGACATTGCAGACTGAGCTGGACAATCAAGGGAGAGGTCTTGCTGACCTGTCGGGGCTGGTGGAGTCATCAGAG
ATTGTCTTTATCCTCGCCTTCTTCTTCTCCACCTCCTCAACTTCCCCTCTTCTTCTGGGGCAATCCTGGAGGGCTTC
TTGTAGGAGGCCTCTCCCACCATCTGCCCAGCTCTTTCTTTCTAATCTTGTTCAATTGTGGGTAAAGGCACAGCTAG
TTGGGAGCTTGGGGAGTTTGATGGGGACAGGGGATGCAGGGAGAGGGAGGGGCAGGGAATGCTCTCAGGGTCCAAAT
TTCCTTCCATTCTAGGGTTGCCTGTGCTCATCTGTCTGATGGCTTCTCTCTCTCCCTCTCATCCCTGCCTCCTCTTT
CCTACCTCTCCTCCTCCCCTTGTCTCTGTCTCTGACATTGCTTCTATCTTTCTTTTTTAACATCTGTCTCTTTTGCT

TTTTATCTTTGCCTGTCTCTCCTCTGTGTCTCTCTCCTTATGTCTCCATCTTGGTGTGTCTCTGAATCTCTCCGTAT
CTCTGCCTCCTCCTCCCCACATCTCTCCCCACCTCCCTTCCCTATCTCTGTCTCTCTCCACAGTCAAAAAAGCCAAG
TTTGATGGTGCCCAAGGTAAGTGGCTTCTCTTGCTGTCCTGTCCCGTGTTGTCTGTCTGTCTGTCTGTCTCTTGGAG
AGACTGGGAGGGGGTCCCAGCCCAGACTTAGAGTTGGGCTTTATGTCTTCTGAGCATCAGGAGAGGGGTCAGAAGAT
TAAATAGGGGGAGGGGCAGCCATTGGCCTGGGGTCCCTGCAGTTTGTATGGGGGTCCCCGGGTCTCCCCAGCCATCC
TTGGAGAGTCTGTAAGGGGTGGGGCTTGCCCTGAGCCAGTGGCTCTTCCCAGGGTCCTAAGAGGTAGAATGGGGACT
CTTAGATGGGGCTACAGGTGGGAAAAATGAGGCTCAGAGAGGCGAAAGGAGTTTCTTTCTTTTCTTCTTCTTCTTTT
TTTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTCCTTCTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGTGATCTCGGCTCACTGCAACC
TCTGCCTCTGGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCGCCCTCTACCACGCCC
GGCTAATTTTTTTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTCGCCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAACTTCTGACCTTAAAT
GATCCGCCCGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTGCAGGCGTGAGCTACCGTGCCCTGCCTTTTTATTATTATTA
TTTTTATTTAAAATTTTTATTTTTTGAGGCTGGAGTGCCGTGGTGCAATCATGTTTTACTACAGCCTCAACCTCCCA
GGCTCAAGCAATCCTCCCACCTCAGCCTTCCAAGTAGCTGGGACCACAGGCGTGCACCACTGCACCCAGCTAATTAT
TTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGATAGGGTTTTGCCAAGTTGCCCAGGCTGGTCTTGAACTGCTGGGCTCAAGCAATC
CTCCCCCCTTGACCTCCCAAAGTGCTGGCATTATAGGCGCGAGCCACTGCACCCAGCCTGCAAAGGGGGTTTCTTAC
AGTCAATTTTGTTCCCCTTTTCTGGGACCTCAGTCTTTTTAGCTGAAAACCAATGGCATGGTCATTTCGAAGCAGCT
GGATGAAGTATCCCAAAATTCCACGTCTCCCCACACTGAGGCCCCTCCCTTGTGCCCTGAGGGTGGGGTTGTGGGTT
AGGGGGTGAGTGGCCCAGAAATTCCTGAGGGGATCACAGCAGATGGTCTAGAGCTTGGGAAGGGGCATTGGAGAGTC
CCTGAGCCCCAGCGCTGACCCCTACTCTCACTGCCACAGAGAAATTCAACACGTACGTGACCCTGAAAGTGCAGAAT
GTCAAGAGCACGACCATCGCGGTGCGGGGCAGCCAGCCCAGCTGGGAGCAGGATTTCATGTTGTGAGTCTGCAGCGT
CTGGCATGACCTCACTCCCTGGCATAGCCCAGCACCTCGCTGGCCCCTCAGGGCAGAGCTGGACACTGGGGAATCCC
GGGTGACTCCCCTCTGTCCTCCCTCTTCCCCTGTCCACCTTATCACCTTCACCTCCAAAACACATCCCCAATCCAAT
CACTTCCCTTGGTCTCCGCAGCCACCAGCCAAGTCCCTGCTGCCCGCCAGCCTCCGCCCTGGCCTCCTGTGCCATCC
ACCTCCTACAATCTGTTCTCCTCCAGGCAGCCAGGGGGATATTTTTAAAACTGCAAATCACATCCTGTCGCTCCCAT
GTTCCAAACTTGTCCGTGGCTCATCGACCTCACAATAAAACCCACAGCCTTCCCCGTGATTCCCACCAGGTTCTCGC
TCTATCTCCCTCACCTGCCCCAGCCACACCCACCTCTGCCCCTTTCTCCAACACTTCCCAGCTTGTTCTTGCCCCAG
GGCCCTTGCACTTGCTCTCCTGTCCCCAGCTGGCTCTTCTCCTTCAGGTCTCAGCTTGTGTCACCTCCTCAGTGAAG
CCCTCCCTGACCACTACCTCCAAGCTACAATTTCAGGGCATCATGCCTTCCCAGGCCTTGCCACCAATTTTGTTTGT
TTGTTTGTTTGTTTTGAGGCAGAGCCTCACTCTGTTGCCCAGGCTGGAGTACAGTGGCATAATCTCGGCTCACTTCA
ACCTCCACCTCCCAGGTTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCCAACTAGCTGGGATTACAAGCGTGTGCCACCAC
ACCCGGCTAATTTTTGTGTTTTAAGTAGAGATGGTGTTTCACTATGGTGGCCAGGCTAGTCTCAAACTCCTGGACTC
AGGTGATCCGCCCACCTCAGCCTCCCAAGGTGCTGGGATTATAGATGTGAGCCACCATGCCTGGCCAATGGAATTTT
TTTCCTTTTTTTTTTTGTTTTGTTTTGAGACAGAGCCTCACTCTGTGGCCCAGGCTGGAGTGTAGTGGTGCAATCTCG
GCTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGCTATTCTCCTGCCTTAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTACATGTGC
GTGCCACCATGCCCGGCTAATTTTTGTGTATTTAGTAAAGACCGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAAC
TTTTAACCTCAGGTGATCCACCCGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTATAGGCATGAGCCAGGAGCCACCAATC
CCAGCCAACAGATATATATATCAGATATATATATACTTTTTTTTTTTTTTTGAGACTGAGTTTTGCTTTTGTTGCC
CAGGCTGGAGTGCAATGGCGTGATCTCGGCTCACCGCAACCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAG
CCTCCCGAGTAGCTGGAATTACAGACATGCACCACCACGCCCGGCTAATTTTGTATTTTTAGTGGAGATGGGGTTTC

TCCATGTTGGTCAGGCTGGTCTTAAATTCCCAACCTCAGGTGATCCGCCCATCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATT
ACAGGCGTGAGCCACCGTGGTTGGCCATATTTTAAAAATATATTTCTTAAGATAAATCTTTGGTAAACTGTAAATTC
AGTGAATCTCACATTTCACCAAGTTTCCTGCTCCCCCGAATTCACATATGTCTAGGGCGAGGCCTGCAGGGAAAGTG
CTTTGAGGTGGGATCGTGTCCTCACATCATTAGATGGGGATGACACTGGGAAGGACAGAGGTGACCCGAATGTCCTT
ATCCTGTAGGTAAAGGGAGCTATGGAGGGTATTTGAGCCTCTTCCTCACTTACCCAGCATGGTCAGTGTTGGAGGGC
CCAAGGAAGGGCTCAGAAAGATGAAGGTGCAGGCGATGTGTAACATCTGTCCCCACGCCATCCTTCCCGGCTTTGAA
TCCTGGTTCTTTTGTGATACCCCGAGCTCTTAACTTCCCCCACTGGCCTCAGTTTCCCCTCTATAAAATGAGAACCA
CCATGTTACCCTACCACCTAGGACACTCCCAGGCCTAGGTTTGAATTGCAGTATGCTGTGTGTTCTCAGGCGAATCA
ACTAAACTCCCTGGGCCCCCGTTTCCTCCCTCCTGCTCCCTCGACGCCCCCTCTCCTTTTTCTGCAGCGAGATTAAC
CGTCTGGATTTGGGACTGACGGTGGAGGTGTGGAATAAGGGTCTCATCTGGGACACAATGGTGGGCACTGTGTGGAT
CCCACTGAGGACCATCCGCCAGTCCAATGAGGTGAGTGGCGGGTGGCCTGAGGGTGAAGAAGGAGGAGTGCCTTGCA
GAAGCCCAGAGACCAGTGGACTAAACAAGATGGGCATTTATCTCCTATCCCCTGACAACATCAATGTAGACACTTGG
GATTGCCACGAACCTTCCAAAGTCACTAGAGCCTATACACCTTCCATCTTGCTCTGCCTCTCTCTCCATGTGGCTTC
CACCTTGTGGCCCCAAATGGCTGCTTTAGGCTCACCATTGCATCTTCATTCCAACCACCGAAAGGTGCTGGTGGTGG
GGGAGGGGGGTGGTTCATGCACATCTCATTGGCCAGAACTTAGACATGTGGCCAACACCTTGCTGCAAGGGATTCTG
GGAAATGTAGTCCTAGGCTGGAAAATGTAGTCCTGGGCTGTGCTTCCCTAGGCACAGCTAAAAATGTATTACCTTGG
AAGGAGAAAAGGGATAATATAGGCAATTAGCATTTTGTGTCCCAGATGGGCAGCAGCAGGAAGCTTACACCAACTCA
TAAGAAGGTGCTAGGTAACAACCCTGGCCCCTCAGCCTGTGCATCATTGTCAGCAGGTAGTAGTGATGTCTATTTTT
TATTTAATTATTTATTTTTGAGACAGGGTCTCACTCTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCATTGGCATGATCATGGCCCAC
TGCAGCCTCGACTTCCCAGGCTCAAGTGATCCTCCCACCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTGCAGGTGCATGCCA
CCAGGCCCCCCTTATTTTTTTTGTATTTTTAATAGAGACAGGGTTTTGCCATGTTGCCCAGGCTGGTTTCGAACTCC
TGGGCTCAAGCAATCCACCCACCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGTATTACAGGTGCGAGCCACCATGCCAGGCCGTGG
TCATGTCTATTCATCTGTCCCCACAGCCCAATCCCTGGCCTCCTAACCTCAAGTCTCAACCTCTCCATGCTGACCCC
AGGAAGGCCTTATTAGCTGGAGCTCTGATCTGTCCTCCCCTGTCCATCTGCCTTGGGAGGCCCTTCAGATGGCACCT
GCCCACTAGCCTCATCTCCCCCCACACTCTAACCTCTACCCCTCCCAGATTCCACCCTCTGAACCTTTGCATAGTGT
GTTCCCTGAGCTTCAAGTGTCCTCCTTTCCATCACCTTCTAAATTCCCATGTGCCCACCTCCAGGAAGCCCTCTCTG
ACTTCTCTCTAGATCCTTTAGCCCTCCTTCCTCCCTCTGGGCTATGACCTCATGGGGCTGGGGGTGCCTGTGTCCAG
CCCTGTTTCCAAGGGCTATGGGCTCTCAGGAGCCAGGGTGATGATGGCTGGGCCTCTTGGGGACCCTGGCATCACCC
AATATGAACCAGGCATAGAGGAGGGACTGGGGACTGTTTTTTGTTTGTTCGTTTTTGTCATTTTATTTTATTTTATT
TTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTACTGTGAGATGGAGTCTCACTCTGTCACCCAGGCTGGAGT
GCAATGGCACAATCTTGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCTGGCTTAAGTGATTCTCCTGCCTCAACCTCCTGAGTA
GCTGGGATTACAGGGGCCTGCCACCACACCCAACTAATTTTTGCATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTCGCCATGTTGG
CCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGACCTCAAGTGATCCGCCCACCTTGGCCTCGCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGA
GTCACCGCACCTGGCCAGTGAGTGTTTGTTTTTGAATGAATGAATGCAGAGGGACGAAATGGTTGCAACAATCTAGG
TAAGCGAGTCTAAAAGGAAGCCTTGGCTGGGCATGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGC
AGGTGGATTGCCTGAGCTCAGCAGACCAGCCTGGGCAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTCAAAAATACAAAAAAT
TAGCCAGGAGTGCTGGCACGTACCTGTAATCCCAGCAGCTCAGGAGGCTGAGTTAGGAGAATCACTTGAGCCTGGGA
AGCGGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATCACGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGATAGAGAGACTCTGTCTCAAAAAAAT
TAAATTAGGCCGGGCATGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGATGGGTGGATCACGAGGTC

AGGAGATTGAGACCATCCTGGCTAACACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAATATACAAAAAATCAGCCAGGCGTGGT
GGCGGGTGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAAGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCAGGAGGCAGAGCTTGCAG
TGAGCCGAGATCGCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCGAGACTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAGAAA
AGAAAAGAAAAAAGAGAGAGAAAGGAAGGAAGGAAAAGAAAGGAATAAAGGAAGGAAGGGAGGAAGGGAAAGAAAGA
AAGGAAGGAAGCAGGGAGGGAGGGAGGGAAGGAAGGAAGGGAAGGAAGGAAGGACGGAAGGAAAGATAGAGAGGGGA
CATGACTTTGGTTTTGGGGTAGGGGTGAGGGGGATGTCTCATGCGAGAGTAGGGGCCCTGGGGACTAGTGACCAGCA
GATTCCTGACCCACACACCTCCTCCCCCAACCCCCAGGAGGGCCCTGGAGAGTGGCTGACGCTGGACTCCCAGGTCA
TCATGGCAGACAGTGAGATCTGTGGCACCAAGGACCCCACCTTCCACCGCATCCTCCTGGACACGCGCTTTGAGCTA
CCCTTAGGTGAGTACAGGGGCCCGGGACCTTCACCCAGCCCCAGCCCCAGTTGTGGACTCACTCAGCTATTCCAGGA
GAGTGAACAGGCCTGGGTAGGTCTAGCTGACCCTTCAGGCTGAGAATGAGGGTCCTTCGCCCCGGAGGAGAGAGAGT
TTCTTGGGTTGCAGAGAACAGGGATGTGAACCTGCTGGGTGCGGGCCATGACCTGGGCCCCGTAGCTTCCCAGTGAG
CTGCAAGTGCTTCACGACCGAGGGCGTTCAGGGTTGAGCTATCCTGGCTGTTCCTTGGTGATGCCTGAGACTGCAAC
AGTGAACTGGGGATAGGAGGAGAGACAGACAGAGACAGAGAGACAAAGAGAGACAGAGAGAGACATGTAGACAGAGG
CTGAGAACAGATAGTCCCCTCTTCCTTTCCTGGAAGCACCTTGAGTCTCTCCACCTCATTCTTCTAAGAACCCATGG
CTGGCCAGGCATAGCTTCTCATGTCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGGGGGAGGATCATTTGAGGCCAGG
AGTTTGAGACCAGCCTGGGCCATCTAGTGAGATCCCATCTCTATGAAAAAGTTAAAAATTCACCAGGCATGGTGCTG
GGTTTCTGTAGTCCCAACTATTTGGGAGGCTGAGGCAAGAGGATGGCTCAAGCCCAGGAGTTTGAGGCTTCAGTGAG
TTGTGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGCGAGACCCTGTCTCTAAAAAAATAAAAATAAAAACAAT
GGGCTGGGCGTGGTGGCTCATGCCTATAATCCCAGCACTTTGAGAGGCCGAGGCAGATGGATCACCTGATGTCAGGA
GTTTGAGAGCAGCCTGGCCAACATGGAGAAACCCTGTCTCTACTCAAAATACAAAAAAATTAACTGGGCATGGTGGT
GCACACCTGTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGTGGAGGTTGCAGTGA
ACTGAGATTGTACCACTTCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGTGAGACTCCGTCTCAAAAAACAATTTAAAAATTAAAA
AATTAAATAAAAACAATGGCTTCCCCACCCTCGTAAAGGCTAGGAACCATCTCCTGTCATCCTCCAACTATTCTCCA
TTCAGCTCTGGGAAGAGGGGCGTCAGAGGCACCACGGTACCTCCCCTTCATCTCCATCCACCCTCCTGAGACCGCAG
ACCAACCCACCCCTACTTCTGAGGCTTTGCCAAAGACCCCAGAAGCCAGGGCCCGGGTGGAGCTCAGTAGGCCTGGA
GGATGGAGGCTGAGCGGCAGGGAGGGTCTTCCAGGCTCACAGACAGGGCTCTGCTTGCAGACATTCCTGAAGAGGAG
GCTCGCTACTGGGCCAAGAAGCTGGAGCAGCTCAATGCTATGCGGGACCAGGATGAAGTGAGTGTTGGGGTGGGAGG
GGACTGTTTCTTCCTTGTTTCTGTCTCTGTCTCCCCATGATTTTCACTTACAGATGCTGTTTCTCTCTAAGCTTGTC
TTTCCCTGCATCTCTGTTTCTAACTCTTTGTAACCTGACTGCATCCATGACCCATGTGGTCCAGTCTCTAGACAATG
ATGGGGTCAAGAAACACACAGAGGCCAGGCGCAGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGAGAGGCGAAGGTGG
GCAGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGTCAACACAGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAATTAGCCAGGCTTAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAATTTGGGAGGCTGTGGCGGGCAGATTA
TTTGAGGCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAGTACAAAAAATTAGCT
AGGCATGGTGGCGGGCGCCTGTCATTCCAGCTCCTTGGGAGGCTGAGGTGGGAGAATCACTTGAATCTGGGAGGCAG
AAGTTGCAGTGAGCCGAGATCACGCTGCTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGCAAGGCTCTGTCTCAAAATAATAAT
ATTGATAATAATAATAAAATAAAAAATTTTACTTTTCATTTGGCGGATACATGTGCAGGTTTGTTACACGAATATAT
TGCATGATGCTAAGGTCTGGAATTCCATGGCATTACTCAAATTGTAAACACAGTACCTAACGGGTAGTTTTTTCACT
CTTGTCCTGCTCCCTCCTTCCTCCCTTCTGGAGTCCCCAATGTCTACTGTTCCCATCTTTTTTTTTTTTCTTTTTT
GAGACGGAGTCTCGCTGTGTCACCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACGATCTTGGCTCACTGCAACCTCCACCTCCCGGG

TTCAAGTGATTCTCCTGCCTCGGCCTCCCGGGTAACTGGGACTACAGGCATGCGCCACCATACCTGGCTAATTTTTG
TATTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCGTTTAGCTAGGATGGTCTCGATCTCTTGACCTCGTGATCTGCCCGCTTCG
GCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGTCACTGCACCTGGCCCCTAGTCTTTTTTCTATCTCTGTTTCTTAC
TTTTTCTGTCTCTGTCTCTGTCTCTGTCTTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCGTGTGTGTGTGTGTCTT
TCTCTCCTTTTCTCTCTTACTCCCTGTATCCTTCTCATAGAGAGGGAGAGAATTTGGGAGGTAGAGGGAAGTCGGGA
TGGGACAGAACAGAGGACTATCCTGGTCCCCTGGCCTTTGGCCCCTCTGAGAGAAGCCCTTTCTCCTTCCTCCACCC
CTTCAGTATTCGTTCCAAGATGAGCAAGACAAGCCTCTGCCTGTCCCCAGCAACCAGTGCTGTAAGTACCTCTTGAT
TCTTCCTTGGGTATCAGCTGAAATCCTCATCCCTCCCCTACCCCATGACTGTCCTGTCTAAAGGCTCCTCCAGTCCG
GAGATACAAGTCCTGAGAGTGCAGTGTCCACTTACAGTGTATTAGAAATCAGCGTTCTGAGGCTGGGCATGGTGGCT
CACCCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAAGCCGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACAGGGCAAAACCCCA
TCTCTACTATAAATACAAAAAAAATGAACAGGCATGGTGGTGGGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGAAGGCTGAGG
CAGGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGCAGAATCTGCAGTGGGCCAAGATCATGCCACTGTACTCCAGCCTGGGTGAC
AGAGCAAGACTCTGACTCAAAAAAAGAAGGAAGGAAAGAAAGAGAAAGAAAGAGAGAAAGAGAGAGAGAGAAAGAAA
GAAAGGAAGGAAGGAGAGGAGAGGAAAGAAAGAAAGAAAAAGAAAGAAAAGAAAAGAGAAAAGAAAAGAAAGGAAGG
GAAGGAAAGAAAGGAAAGGAAGGAAAGGAAAGAGAAGAGTTCTGAGACTTGGGCTTGATGAAAGACAAGAAGGAAGA
AAGGAAGGAAGGAAGGAGAGTTCTGAGACTTGGGCTTGATTCCCACCTTGCTATGTGGTCATGGGCAGGCCAGTGTC
CCTCTTCGATATTTAGGGGCCCTCTCTTTGAAATAGCGCATCTGACAGCCCCCTCACTCTGAGGGCTGTTGGAAGGA
TCTGGGACATCTAGAGACATGAAAAACACTTCGTAGATGCTTCACTTCCATTCATCAGATCCTGGATGAGGGCGTAT
AACTCATTCCACAAACTATTCATGGGGCCAGCACAAACCCCGAGCAGCCCACGTCAGATGGTGCAGACAGACACAGG
CAGAAGATCCTGCCAGCACATGTACAATGGGCGCACGTACAACAGACGAAGGCTGTTTCACTAACCCATTTTCTTAG
ATGGAGAAACTGAGGCCCAAGAGGAGATGTGATTTACCCAAGGCCACACACCCGGCAACTGGCAGAGCCAGGATTTG
AACCCAGGTCTGAGGGACTCCAACTTTGCTTCCCTTTCCACTGCACCTTGTCTGTTAATGATGATGATGATCACGTT
CCTCTTCCTATTTCCATCAAGGCTGCAGTTGTCAAGATTTTTTATCTTCCTGGGCCTTGTGGACACTCAGATGCATC
CAGACCAGGTCTTTTCATGGATGGAGGAGCTGTCTCCCTCCTTAAAATGACTTCCCATTGCTCTGTGGTGGAGGGGA
AGTAGCAAATCATATAGCCTCAGGGCAGAGCTCCCACCTGCTGACACCAAAACCCCACTGCACTCTTTAGCCTCCTT
CTCCTTTCCCATTTACTTTCTTTTCTTCTTCTCTTTTTTTTTTTCTTGGAGATAGAGTCTCCCTCTGTCACCCAGAC
TGGACTGCAATAGTACTATCTTGGCTCACTGCAGCCTCTGCCTCCCGGATTTGAGTGATTCTTGTGCCTCAGCCTCT
TGAGCAGTGGGGATTACAGGCACATGCCACCACGCCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTTGCCA
TGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAATTTTTTACCTCATGTGATCTGCCCACCTCAGCTTCCCAAAGTGCTGGGATTACAG
GTGTGAGCCACCATGCCTGGCACCTTTTCCATTTGCTTTTCCATCTTCCTTTTCTCCCCTCTCACAGCTCTCCCTGT
ATCTGTGTCTCCCTCACCATGTGTCCAGGAGGGTGGTAATGGAACCGGGGTTGAGGAGGGCTTGGGATACTCCAGCT
GGGGTACCCTGTTTCCACACTAACTTGGGGAGTGATATTGAGAAAGTTCCTTGGCTTCCCTGGCCAGGGAGGGGTCA
TCACTGCCTGGAAGGAATTACAAACCCCCGCTTGGTGAATGGGGTCATTGAGAGGTTGCAATGGGGGCGGGGCCAGG
CAGAGTGGAGGCAGGAAGGCAATGGCAGAGAGCCCCTGGGCAGATGGACTAGAGCTAGGGGCAGGTTCATTTTGGGA
AGTGGAGACCACCACTCAGTATTTACCCACAAGTCCTCCCTTGGAGTATTTTGTCACCCTATTTCTCAGAGAAAGCA
GCCAATGGTCAGAGGAGCCAGGATTCTGGTCCAGGACATTTTTCTGAAGTGCCAGGTACTGCACGTGATAGGCAAAG
GTGGTTCTCGCCCTGGCCCTGATGCGCAGAGGCTCTGTGACTTTGGGCTGCTCACTCCATCCCTCTGAGCCCCATAG
TTTCACCCATAAAATGAGTAGAATGATAAAATCCACCCAACAGGGGTGTTTCAAACCTTAGGGTTTCCAATTTAGTG
TGTCTTTCCTTATCCAAGAGCTGGGAGAGGAAAAGGGTGGAGACTGGGAGACTGCTAACCCTAGACATCATAGTCAG

AAAACCCTGGGCCCAAATACCCACTTTGTTACTTCCTGACTGAGCCTTTCCTCTCATTGAAAACTGAGCCAGGCACA
GTGGCTCATGCCTGTAAATCCCAGCTACTCGGCCTCACTTGAGACCACGTGTTTGAGACCAGCCTGACCAACATAGC
AAGATCCATCTCCACACAAAAAAACAAAAAGAAAACCACCAAGAACCAAAACATTAGCTGAACATGGTGGTGTGTGC
CTGTAATCTCAGTTACTCAGGAGGCTGAGGTGGGAGGATCACTTGAGCTTGGAAATTGGAGGCTGCAGTAAGCCGTG
ATTGCACCACTCTACTCCAGGCTGGATGACAGAGTGAGACCGTGTTTCAAAAAAAAAAATTAAAGAAAAGAAAAAAAT
AAACAAACAGGGATATCCCACCTTCCTCCCAAGGTGGAGAGCAGAGACACAGCAAGTGTCAGCAATGAAGGTGATAC
TCAGGGAAGGTACTCAGGACAAGAGGGACTTTTGGGGTGGGGGGAGCAGTTGGGGAGAGTGAGGACAGCAGGGGAGC
CCCCTTCCTACACCCACCCCTCTGTCTGCTCCCTTTTATTATTTCTGCCCCTTCTCTTTGTAGGCAACTGGAATTAT
TTTGGCTGGGGTGAGCAGCACAGTAAGTACTCAGCCTGATTGATGTTCTGGGAGTTACATGGGAAGGTGGGCACCTT
GGTGATCCCAAGGCCCCTCCCCACTACCACACAGGGAAGCAAGGAGCCTGTGACGAGCACGTGGGGGCCAGAGGGCT
CAGCAAGACCCCTTTCAAGCTTTCCTGTACCCTGTTCATTAGTGCCTGTCTTGGGAGGCCTGCCATCTGCTGGGGAG
TGGGCACCGTCATTGGGGTGGGGTGGGGGGGGTTAGCCTGGAGGAGTGGACATTTAGACCAACAACCTGCTTGTCTC
CAGCTGGGCACTGTGACCCCCGCACCCCACTCCGCCGTATAACCTCACCTCCTCTCCTGTAGCCCCTGCCTTTTGGT
CTTCCTATCTTCCTTCTCCACTTGGAAATGTGTCCAGTGTCACTCAGAGGGTAGTGGGTGGGCGGGGTCTCTAACAG
AACGGCAGGCCAGGGACCTCAGGGAGATGCACACAGGGACCTCAGCACCCCCCAGGTCCACCCACACTCACACCTCA
CCTTCCACCTTCATTTGCTCTCCCAGGGAATAAGGCAAGCCACCCCCTCCCTAAATTAAATGTCCATTTTCCTTTTC
CTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTCTCACTCTATCACCCAGGCTGGAGGGCAGTGGCACGATCTCAGCTCACC
GCAAGCTCTGCCTCCAGGGTTCACGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTAAAGGCGTCCGCCAA
CACGCCCGGCTAATTTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCGTGTTAGCCAGGAGGGTCTCGATCTCCTGA
CCTCGTGATCCACCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCATGGCACCTGGCCCTAATTAAA
TGTCCGTTTTTCTACCTAACAGCGGTTCCCAACCTTTTTGACACAAGGGACCAGTTTCATGGAAGACAATTTTTTTA
TGGACTGGGGTTGGGGGATGGTTTCTGGATGATTCAAGTTCACTGCATTTGTTGTGCACTTTATTTTTATTATTATT
ATTATTACATTATAGTATGTAATGAAATAATGATACAACTCATCATCATGTAGAAGCAGTGGGAGCCCTGAACTTGT
TTTCCTGCAATTAGACAGTCCCATCTTAGGGTGATGGGGGACAGTGACAGATCATCAGGCATTAGATTCTCATAAGG
AGCACACAACCTAGATCCCGCACATGCACAGTTCACAGTAGGGTTCACGCTCCCGTGAGAATCTTTTTTTTTTTTTG
AAACAGAGTCTTGCTCTGTTGCCCAGGCTGGATGGAGTACAGTGGCGCAATCTCGCCTCACTGCAACCTCTGCCTCC
GAGTTCAAGTGATTCTCGTACCTGAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCGCGTGCCACCATGCCCAGCTAATTT
TTTGTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTTGTGAACTCCTGACTTCAGGTGATCCACC
TGCCTTGGCCTCCCAAAGGGCTGGGATTACAAGTTTGAGCCACTGCGCCCGGCCTTCTATGAGAATCTAATGCTGCC
GCTGATCTGACAGGAGGTGGAACTCAGGCGGTAATGTGAGTGATGGGGAGCAACTGTAAATACAGATGAAACTTCAC
TCGCTCACCCAACCGCTGCCCACCTCCTGCTGTGCGCCCCAGCTCCTAACAGGCCACAGACCAGATCCATGCCCTAA
AGAGTTGCTCCCTTTCTCCCATACCCCGCCTCTTCTAGAGAAATCCAGTCCTCTATTCTTTCTTTCCTTCTTTCTTT
TTTCTTTTTTTTGAGATGGAGTCTTGCTCTGTCACCCAGACTGGAGTATAGTGGTGCGATCACTGCTCACTGCAACC
TCCACCTCCCGGGTTCAAGCAGTTCTCTTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGTTGGGATTACAGGTGCACGCCACTATGCC
TGGTTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGACCTCAAG
CAATCCTCCCGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTATAGGTGTGAGCTACCATGCCTGGCCAGTCCTCTATTTTG
AGGATAAATCTGCCTCCTTCTCTCTCCTTCAACTGGGGAGTCCTTCACTCCTTCCTCATATCCTGGTGGACAAACCT
AACTCCAGGACCAGTGAAACTGTTGACAAACACTTTGGTCCACCACAATTTATCAAAAACAAGTTGGTTAAAAATCA
ACTTAGGCCAGCCACACTGGCTCACACCTGTAATTCCAACACTTTGGGAGGCTGAGGCGGGAGGGACGCTTGAGCTC

CAAAGTCTGAAATCAGCCTGGGCAACAGAGCAAGACTCCATCTCTACAAAAAAAAAAAAAAAGGGCCGGGTGTGGTG
GCACGCCCCTGTAGTCCCAGCTATTTGGGAGGCTGAGGTGGGAGGGTTGTTTGAGCCCAGGAGGTTGGGACTGCAGT
GAGCCATGATTGTGCTACTAGACTTTAGCCTAGGCAACAGTGTGAGACCCTGTCTCTAAAAAATAAATAGATTAAAA
TAAATAAATAAAATCAATTTTGCCAAAATGAATGCTTGGCAGACAGGGCAAGCTCGATAACAACCAACTTGCCACAA
ACGAACAGTACGGTCAAAAGCAAAGATAGACCAGGCGTGGCAGCTCACACCATAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGA
GGTAGGCAGATCACTTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACGTGACGAAACCCCATCTCTACTAAAAATA
CAAAAATTAGCCAGGCATGGTGGTGCATGCCTTTAATCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCATTTGAA
CCTGGGAGGTGGAGGCTGCAGTGAGCCGAGATCGTACCATTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGCGAGACTCTGTCT
CAAAAAAAAAAAAAACCCAAAAACCAACAAACAAACAAAACAAAACACCAATGCAGCTAAAGCTGATAGATAATTGG
GTCAAAAAGGAAAGACAATTGAACCGAAAACAGACCGTTGGGTTAAAACAAAAGTGGTTGAAAATAGCCAGAAGCAG
GCAATTTAGTCAAGAGCTACTTAGTAGAAAGCAGAGCCTGGGCAAAAGCAAAAAGAATCCAACTCAAAGTAATTTAC
CCTTCATAAGCAGATAATTTGTCAGGAAAAAAAAAAACTGGGTAAACATGTGCACAGCCTCATGCAATTTGGCTGGA
AACATCTCAGCCCGGTCAAGGACAATTGGATAGAAAGAATGCTGGCCGGCCGAGGTGGCTCACGGCTAATCCCAGCA
CTGTGGGAAGCTGAGGCGGGAGGATCGCTTGAGCCCAGGAGTTCAAGATCAGCCTGGGCAATATAGGGAGATCCCAT
CTCTACAAAATAATAAATAAATAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGTGTGTGCCTGTGGTCCCAGCTACTGTGGAGGCTG
AGATGCGAGGATCTCTTGAGCCCAGGAGGTCGAGGTTTCAGTGAGTTTTGATCGCGCCACTGCGCTCCAGCCCAAGT
GAGAGAGACCCTGTCTAAATGAATGGATGAATACAGCAAAAGTCTGAAGGTTTCACTCATTGCTCTGAGATTTTGGG
GTCTGGGGGTTTTTTCATTTTTTTACATCCTCTTCCCCTTACCCGTACTTCTCATGTTTTCTTCATGGACTACTTTT
TCTTTTTTTCTGGATACAGGGTCTCATTCTGACACCCAGACTGCAGTGCAGAGGCGTAATCATAGCTCACTGCTACC
TCGACCTCCTGGGCTCCAGCAATGCTCCTGCCATACCCTCCCGAATAGCTGGGACTACAGGCGCCCACCACCACGCC
CAGCTAATTTTTAAATTTTTTTAAAGAGATGGGGCCTTACTATGTTGCCCAGGCTGATCTTGAACTCCTGGGCTCAA
GTGATCCTCCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACTTTGCCTGGCCCATGGACTAGGTT
TTACTTTACTTTTATTTTATTTTATTTTTTGGAGACAGGGTCTTGTGTCACCCAGCCCCTGGAGTGCAGAGGTGTGA
TCTTGGCTCACAGCAATCTCCACCTCCTGGGTTCCAGAGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGGAGCTGGGATTACA
GGCACATGCCACCACACCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTCTTGGTATGTTGCCCAGGCTGGTCT
TGAACTCCTGGCCTCAAGTAATCTGCCCGCCTCCGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACTGTGCCC
GGCCTTTGCTTTACTTTTAAAATAAAGATAACTTTATCATTCTTTTTAGTTAAAAAATTAAAAAGATTGCATTATTG
AAATCTTTTTTTTCAGAAGGTACAGAAAAGAATAAAGAAGAAAATGTACAATCCCCAATTATGCCACCACCCAGACA
TGTTGCTTTTAGAATTGGAATTTTTTTTTTTAGGATTTAGAAAACAAACTGTTCTTTTTTCTAAGGAAACCAAACTA
AACCAAAATATCTTTTAGTTCTTATTAAACATGAAGTTTGGCAACTCTACCACATTCCATTTTAGCAATAGATTCCA
AGTGTGTGGTGGCTTTGCCAAGCTAAGAATCTAATCCTTTTTGAAAAAGACAGAACCATGTCTCAGCATCTTCTTGG
TTCTTGCATATTTGTTAAGTTCAGGTCTGGGGTCGTCACCCTCAGATATCAGGAAATCTCTAAGGGTTAAAGAGCGT
TCCGTCCACTTTGAACTCCTGATCTTCTTCCAACTTCCCCCTGACTGTCTGTGTGACTCCTGTTATGGGAAACTAAC
TGCTCAGTGGAAAAAAATCCCATGTCATTTTCAGAGATCCTGACCTTCAGCAAAGTTGTTCTTCACATTTGAGCTGA
AGGATGCCCTCTACTCTGTCCCTGTTTTCTTCACATTGTAGGTCCTACCCTAGCCCCTAGACTTTAGGTCCAATTTG
ACCCACATAAAGCAAAGCAGGGTTTTCACCTCCCTTGTTCTGAAGCCTATATCTCTATTAACATGACCCACAATTCT
TTATCCATACTAGTAAAAAATTCTCTTCTTCGGTAGCGGCACCGTAAGTCTGGGAAATTGTATTGGCTCCCATCATG
TGCACTCTCTCTTCCTCACCCTCTTCCCATACCGCCTCTCTCTTCCAGACGATGACCCCGACAGTGCAGTGGATGAT
CGTGACAGTGACTACCGCAGTGAAACGAGCAACAGCATCCCGCCGCCCTATTATACTACGTCACAACCCAACGCCTC

AGTCCACCAATATTCTGTTCGCCCACCACCCCTGGGCTCCCGGGAGTCCTACAGTGACTCCATGCACAGTTACGAGG
AGTTCTCTGAGCCACAAGCCCTCAGGTAGGTGCTGCGGAGTGCAGCATGCATGTGGGTCCTGCTGTGTCTCCTGGAG
TGGAGAGAGGGGTACGGGGCTGGACAGAGCTGGAGGTGGAGTTCCAGAAGGGCAGAATTCACCCATCCAGGAGGGCA
GAATTCACATTTTCTTGTGGGAATTAACCATTTTTTTCTTTTTTTTTTTCTTTTCTTTTTTTTTTAGACAGAGTCTT
GCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACCATTTCGGCTCACTGCAACCTCCACCACCCAGACTCAAGCGATTC
TCCTGCCTCAGCCTCCCCAGTAGCTGGGACTACAGGCACAGGCCGCCACACCAAGCTAATTTATTTTTATTTTTTGT
GGAGATGGGGGTCTTGCTCCATTGCCTGGGCTAGTCTTGAACCCCTTTTTATTCCTATAGCATCCTCGAGGCTGGCC
AGGGAAGAGGGTCTCAGGCGCTAAGATTGGAGGAGGTATCTAATCGGGAAATGATAAGGTTCGTTGAATGACTAAGT
GAATGGTTAGAAGAGGGCTGAGTGGTGGCCCCTATGTCCCCCTGCCTGTATTTAGACAGAGACAGATATTGCTGTTG
ACGTTGAGCACGATCCTGGGTTCACATAAGCAGCACATAACAGAGGGCCTGACCTGGCCAGACAGTGGGGGGCATTT
GCACAAGTAAGTGATGTTTCAGTGGGTACCAGAGGGTGGGTAGGAGTTTGCTAGATAAAGCAGACAAGGAAGAGACC
ACGGCAAGTGCACAGGTTTATGGTGTTGGAGAGACAACGAGGTGGCCAGCGTGGCCGGAATGGAGGAGGCGGGGAGA
AGTGGAGGGAGGTATGCAGGGGGAGTTTGGAGCGTATGGGCCACACAGGGCTAGCACAGATTTTATTCCAAGGCACT
AGGGAGCCATGGTAGGATTTAGAGCAGGGGAGGGAGGTGATTGGATTTACAATTCCCTGTGGCTTCCAAGGGAAGCA
GGAACTGTGGAGACAGCATCTGGTAGAGACAGCAGAGGCTGGCCTGGGTTGGGGCCCGGGGTACGGGGAAGTGGATG
CATTTCCCATACTTTTTCCAGGTGGAGGACAGGAGACCTGCTGCGGGGCTGTGGTGATGGCGCTGACCCTGAGTTCC
CAGCACAGTCAATTGCCTGTTCCCCACAGACCGCAAATGCCACAAAAGTGGGAATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTGAGACGGAATTTCGCTCTTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAATGGCATGATCCCAGCTCACTGCAACCTCCACCTCC
CGGGTTCAAGTGATTCTTCTACCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGCATACGCCACCATGCGCAGCTAATT
TTTGTATTTTTGGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACTCCTGACCTCAGGTGATCTGCC
CACCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCACCTGGCCAAAAGCGGGGATTTTTGTCTTTT
CTGATCATGGCTGTGTTTTCCAGCCCCTAGAGCAGGACCTGGCACATCGTAGGTGCTCAGTCGGTGATGAGTCAATG
CCTGTGTGACTGGGGCTCAGGTGGGCAGTGACTCGGTACCCCAGTCCCTGAACCCTGTTCCATCCCCACAGCCCCAC
GGGTAGCAGCCGCTATGCCTCTTCCGGGGAGCTGAGCCAGGGAAGCTCTCAGCTGAGCGAGGACTTCGACCCTGACG
AGCACAGCCTGCAGGGCTCCGACATGGAGGATGAGCGGGACCGGGACTCCTACCACTCCTGCCACAGCTCGGTCAGC
TACCACAAAGACTCGCCTCGCTGGGACCAGGATGAGGAAGAGCTGGAGGAGGACCTGGAGGACTTCCTGGAGGAGGA
GGAGCTGCCTGAAGATGAGGAGGAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGTGCCTGACGATTTGGGCAGCTATGCCCAGC
GTGAAGACGTAGCTGTGGCTGAGCCCAAAGACTTCAAACGCATCAGCCTCCCGCCAGCTGCCCCAGGGAAGGAGGAC
AAGGCCCCAGTGGCACCCACCGAGGCCCCCGACATGGCCAAGGTGGCCCCCAAGCCAGCCACGCCCGACAAGGTGCC
TGCAGCTGAGCAGATCCCTGAGGCTGAGCCACCCAAGGACGAGGAGAGGTAACAGGACGGGGCCAAGGGGCCAGAGG
GGCTGCCACAAGGTCACAGGGTCAGCAGGGCTATGATGGGGTCAGCGTGGACCTGGGAAGTTGCTGGGGCTGAAGTT
GTCACAGGCTCTTGGGTTTCTTAAAGGGATCAGAGGTGACAGGGCAGAGTAGGGAGGTCAAAGAGGGTTCAAGGGGC
CGTGAAGGAGACTTAGAGTTTGTGATCTTAGTGGTTGCTGGGGTCGGAGAGGTCAAGATCCTGGGCAAATGGGGGGC
CAGAGGGGCTGGGCTGGTGAAAAGGAAGCCGAGGAACAGTGAAGTGTCACAGAAGCATTGGGTGTGTGGGAAGGGGT
GAGGGGCACTGAGGTGGGCCAGGGGACTCACGTGGGTCCTAATGTCTCTGAGGGGTCAGAGATACCATGGGGAGCTA
TGCATCACTTGCACAGCTGGAGGGTCAAGGGAAGTTCAGGGGTCACGGAGAGCCAGCCCAGAGCCTCATAGCGTTCC
CTGCCTCAGTTTCAGGCCGAGAGAGGATGAGGAAGGCCAGGAGGGGCAGGACTCCATGTCCAGGGCCAAGGCCAACT
GGCTGCGTGCCTTCAACAAGGTGCGGATGCAGCTGCAGGAGGTGAGTGACACGCCCAGCCATGCCCCTGCCACACTT
AGCCAGGCCACGCCCAATGGCAGGCCCACACATGTTTTGGCCACACCCACACCTATATTGGCCACGCCCAACACCCC

ACCCGTACCCAAGCCTAGCCTGGGCATGCCCAGTGCAGTGCCCACACTGTGCCCATGCCCCAGCCACTCGAGCCCTT
CCCTGGCCCCACCCTCATTCAGCCTGGCCTCACCCAATGTCACCGATGCCCCACCCACTCTGACCCTTCCTTAGCCA
CATACACACACAGCCCAGGGTATCCCCATGGCCCGTCCACACCAGCCTGGCTATGCTAACTCCCAAACCATGCACCA
AGTCTGGCCCCACACATCCCCAGCCCAGCCTCCTTCCCAATGTCAGCCTGGGGTTTCTAGATCTAGAGGGAGGAGAG
AAAACTAGGGCTGAAACTGGGCTGAAGTCATGGTTAGGGATCAAGGTCAGGGTTAGTTCAGCCATCAAAGATCAGAG
GTCAGGGTTAGAATTGGTGTTAGGCAAAGGGGTCAGTGCTTAGGGCCAAATTGGAGGTCATTGTCAGGGTTAGGGAA
AGGTCTGGGGCCGGCTCAGTAGGGGAGTAGGAATCAAGGGAAGCAATCAGCATCAGGGGCAAGCTGACTGTTTAGAT
GGGCAGCAGGGTTGAGGCCATTCGTTTATTCCTTCATTCAGCTCACCCTGGGCTGGGGACAGCTGTGTTGCTCTTCA
GAGTTACCCTCCAAACTGCAGTGGGATTGGCAGGAGGAGATTCTAAACAGACTCCCAAAGGTTTAGACCATCAAATA
TCAGAGCCACAAAATTACCAAACGAAATTTCTTAACAGTTTTAAAATAGAAATCTATTTTTTGACTCAGCAGTACAT
ACATATGGTTCTAAATGAGACAGGTGGAAGAGGACACAGTGAAAAGGCTGTTGGATAACTTCCACTAGGTCAAGAAA
TTAAATTGAAAAAATAGCAGCTACTATTGGAACTATGTGATATACAAGAAAAACAAACTATGGAACTAGTAATATGA
CAAGAAAAAGACACATGGAAGGCTCTCTGGGTTTCATAGGAAAAGCATAAAACTAATCCAAGGCAATCAGGAAAACT
CCCTGGAGGAGATGACACTTAAGGAGAAGTGATGGCCGGGCGTGGTTGCTCAAGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGA
GGCCGAGGTGGGTGGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGACCATCCTGGCTAACATGGTGAAACCCCGTCTCTAGTGAA
AGTACAAAAAAATTAGCCGGCTGTGGTTGCAGGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGG
CGTGAACCCGGGAAGCGGAGCTGGCAGTGAGCCGAGATCGCGCCACTGCACACCAGCCTGGGTGACAGAGCGAGACT
CCATTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAGAAGTGATATCCAAAATATTTATTTCAACAATATTTCAGGAGCTC
ATGCCTGTAATCCCAGCAATTTGGGAGGTCGAGGCGGGAGGCTCACTTGCACTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGGC
AACGTAGTGAGACCTCATCTCTAAAAGAAAAAAATAAAAAATATTTCAGAGCCGGATGCAGTGGCTCACGCCTGTAA
TCCCAGCACTTTGGGAGGCAGAGGTGGGTGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATAGTGA
AACCCCACCTCTACTAAAAATACAAAAAATTAATTGGGTGTGGTGGTGGGCACCTGTAATCCCAGCTACTAGGAAGG
CTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATTGCGCCACTGCACTCCAGCCTG
GGCAACAAAAGGGAAACTCCGTCTCAAACAAACAAACAAACAAAATATATATATATATATTTATTTCAGGAGCTGAG
TGTGGTGGCTTGTGTGTGTGGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAAGCAGGAAGATCACATGAGGCCAGGAGTTCAAGA
CCAGTCTGGGCAATATAGCAAGACCCTGTCTTTAAAAAAAAACCAAACACCCCCTCAATATTTCAGAACAGAAGAGT
GCTGCCTGTGTTCCTCATAGGGCCACCCCTCCCCCCATGTTAACCCTTTAGTTACAAGATGGAGGGAAGGTAGGGGC
TGTGGACCCCACGTCTATGCTGAGACCCGAATGATAAATAGAGGCTGGTTGGCTGCAGAAGGTGGGAAGAGGTACAA
GCTGAAGTCACAACTCCTGGAAAGAGCCCGAGGCAAGAGAGCAGATGAACAAGTGAGACTATAGGGGGTTTAGGGAA
TAATCAATGAAGAGACTGAGGTCCATTGAGGTGGTTGAAAGAGAAGAGCTTCTTTCTCCCCCAGCCCATCTTACAGA
TGGACAAACTAAGGCCCAGAGATAGCCACGGAGCTTCCTAAAATCACTCAGCCAGGACTAGGACCCAGGCCATCTGA
CTCCCAGCCCAGAGGGGAGTCAGAAGTGGGTGTGGAGCCTGCTCTGGGGAGGGGAGGGACAGCCACACTGACCATAT
CTGTCTGTCTGTCCTGCAGGCCCGGGGAGAAGGAGAGATGTCTAAATCCCTATGGTTCAAAGGCGGGTAAGTAATGA
AACTGTGAGCGGTGGGAGGAAGATTTGAACCCCAAGTCCAAGGCTGGTTTGCGCCTGAGCCTCAGCCCAGAGAGGAG
GAGGAGGGGTTCCATTTAGACAGGGGACAGATTGAGCTTGGGCAAAATACGTCACTTTCATAAGGCACACAGCCATA
CGCAGACACAAAAGACAGTAATCTTTGAAGACAGGGCGGGGTGCGGTGGCTCATGCCTGTAATCCTAGCACTTTGGG
AGGCCGAGGCGGGAGGATCATTTGAGGTCAGGAGTTCGAAACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTCTCTACT
AAAAACACAAAAATTAGCTGGGCATGCTGGCAGGCGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGATGCTGAGGCAAGATAATT
ACTTGAACCCGAGAGGCAGAGGTTGTAGTGAGCTGAGATTGCACCACTGCACTCCAGCCTGGGAGACAGAGCGGGAC

ACTGTCTCAAAAATAAACAAACAAATAAATAAATAAATAAATGTAAGATAAAGCAGACACTATGAGGAACTAGACAC
TATTGGGAAATGTACACTATATATTTGTAATCCTGGAGCAAAATTTTTGCGTTGATTCTATTTTTAAATCTCTTTGA
TTATTGCTACAGTTGTGGGCTCTTTAATTAAAGATAGTTGTTTAGTCTTCAGTGGAGAATGTGGTCATGTCTAACCT
CTTATGTTATGGATTTTCAGGTTAGAGGATGCACAAGATATTTTAAAAATATGCTCAGGTTTTAAAATAGCAGCACG
ATAGTGACCTTCCTTGTACGTCCTTGGCAAACAGGCAGGGAGACAGCAGCTGGGACTCCTAAATAAATGAGCAGGTA
CCCTAGCTAGAGAGCCTTGGATGCGGGTCCTGAAATGCGGATTCCTGTGCACGTGATTTATGAAGGATGTGCTCTCG
GGAGAAACCTGTCAGACAAGGGGAGGCTGCCGAGAAAAGATGTGGTTTAGGAGTCTCTAAGCCTCAGTTGGCTCCTG
CAGAAAGCTTTGTAGGTTGAATAGCCCTGCAGGGCTTGTCTGGAGTCATTGGCTGCAGGCACCTATCTCACTGGCCA
GTGAAAACCTTTTCGGGGCCAGGCTTGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAACACTTTGGGAGGCTGAAGCAGGTGGAT
CGCCTGACGTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAATCCCGTCTCTACTAAAATATACAAAAAATTA
GCCAGGTGTGGTGGTGCATGCTTGTAATCCCAGCTATTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCACTTGAGGCTAGGAGT
TCAAGACCAGCCTGGGCAACATAGCGAGACCCCCATCTCTACAAAAGAATTTTTTTTTAATTAGCTATGTGTGGGCC
GGGTGCAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCTAGGCGGTTGATCACCTGAGGTCAGGAGTCTGA
GACCAGCCTGGTCAACATGGTGAAACCCCATATCTACGAAAAATACAGAAAATTAGCCAGGTGTCGTGGTGCGCACC
TGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGATAGGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCCAAGA
TCATACCATTGCATTCCAGCCTGGGCGACAGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAATTTGCTGG
GTGTGGCGGTGTACACCTATGGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTAAGGTGGGAGGATTGCTGTAGCCCAGGAGGTGGAG
GCTACAGTGAGCCGTGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGATCTTGTTTCGAAAGATGGCTGG
GCATGGTGGCTCACGCCTGTAATCTCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGTGGGCGGATCGCCTGAGGTCAGGAGTTCGAG
ACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAAGCTTGTTTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCGTTGTGGTGGGCACCTG
TAATCCCAGCTACTTGGGGAGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTAAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAATGAGCCAAGAAA
GGTTTCATCTATATTTTATTTTATTTTTGATACAGAGTCTCGCTCTGTCACCCAGGCTGGATTGCAGTGGCGTGATC
TCGACTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGTTCAAGCAATTATCCTGCTTCAACCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGC
ATGCACTACCATGCCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCACCATGTTGGTCAGGCTGGTCTCGA
ACTCCTAACCTCAGGTGATCCGCCCGCCTCGGCCTCCCAAAGTGTTGGGATTATTACAGGCGTAAGCCACCACTCCT
GGCCTCATTTATATTTTAGTATATTATTTAGATTTGCCTTAATTCACGTTTTCATTCAAGGTGGGCAATTACATCAT
CTCCCCATTTTTCAGATGAGGAGGGTGAGGCCGGGTGTCTCCATTTCTTAGGACTGCTGTCACAAAGTACCACAGAC
GGGTAGCTTAAAACCACAGCAATGTATTCTCTCACAGTTCTGGAGGCCAGAAGTCTGAAATCAAGGCATTGGTAGAG
CCATGCTCCCTCTGAAATCTGTAGAAGAGAATTCCTCCCCTGCCTCTTCTAGCTTCTAGTTTGCTTGAATTCCTTGG
CCCCCGAGTATTGGTTTGTAGATACGTCGCTTTCTGCCTCTGCTGTCACAGAGCCACCTTCTCCCCATGTATCTCTT
CTTCTAAGGACACCAGTCATATTAGATTAAGTGTCTACCCTACTCCAGTATGACCTTATCTTAACTAATTACATCTG
TGACAACCCCGTTTCCAAGTAAGGTCACCTTCTGAGGTAGTGGGGGTTAGGGCATCAGCGTATCTTTTTTTTGAGGG
ACCCAATTCAACCCCTTAACACCTGGGGGAGGTTGAATGTTCTCCCCAGGGCTCTATGTGAGGAATAGGGACATCTG
GGCCCTCAGTGTCCCTCTGTGTCTTTCAGCCCAGGGGGCGGTCTCATCATCATCGACAGCATGCCAGACATCCGCAA
GAGGAAACCTATCCCACTCGTGAGCGACTTGGTAAGCACCCTCGCCCTTTACTCCCTGAGCAGAGCAGGCCTGCTAT
AAGCAGTGCACAACCTGTGGAACTGCCCATGGTCAACCTGGGGTTGGGGGCCAGCTAGGCATTCTCTGAGACTAATG
TAGTCTGATTTCTACCCCCATGTGCTGCGTGGACACTTCAGGCCATGGTGAGTGATGGCGACATGGGCCTCTTGGGA
TCTTCTCCCCAAACTCCCCCACTGGGATCTTCTAACAGGCCCCCAATTCATGGATTATGGGGGAACCTTGCCATGTC
CCACTGTGTTGGATGCTGTGAGTCAGGGGTGCGGGGCTGCTCACTTTCCAGGGTCCCTTCTAACTCAAAGCCTCTGT

CACCTCCTAATTCTTTGTTGGGTCTGGCCCGGATGCTGTCGGTGACCTGTTTCCAACTTGCGGTTGTGGCTCCAAAA
TGTGGCTGCTGGCCCCATCCGTGGCTGTGAACTCTCCTGGTGGTGATCTCATGGATGTCAACCCCCCCGACTCCCTC
TTCTGTGACCTCCCCAGTCCCTGGTCCAGTCCAGGAAAGCGGGCATCACCTCGGCCTTGGCCTCCAGCACGTTGAAC
AACGAGGAGCTGGTGCGTGGGGCACCTCTTTTTCCCCGGGTCAGGGATGGACTGGGCTAGGAGCTTCTGGAATTGTC
CAAGCCTCTGTGGGTCCCCGGGAAGAGGAAGGGTGTGTGTGTGACACAGACTGGCAGAAGGCAGCGTGGATTCCGAC
AGCGTGGAGGCAGGGGAGGGCCTGGGACTTTACCGCGCTCAGTGATGGGGCGGAATGGGGCAGGACAGGGACAGCGC
CAGGTTAGGCGCCCCCAAACCGCACCCCATCCCTCCCTGCAGAAAAACCACGTTTACAAGAAGACCCTGCAAGCCTT
AATCTACCCCATCTCGTGCACGACGCCACACAACTTCGAAGTGTGGACGGCCACCACGCCCACCTACTGCTACGAGT
GCGAGGGGCTGCTGTGGGGCATCGCGAGGCAGGGCATGCGCTGCACCGAGTGCGGTGTCAAGTGCCACGAGAAGTGC
CAGGACCTGCTCAACGCCGACTGCCTGCAGCGTGAGCGCAGGGCCTGAGCGCAGGGCCACGGGTTGGCGTGGGGAGC
CCCGGGGCTTGCATGGCGGGGAAAGGCTGAAGGGCAAGGCGATGGGTGGGGCACCATGGGGCGGGGCAAGGGGCGGG
GCGTCGTGAGGCAGGGGAGGGACTCGCTGAAAGGGAGGGGTGGGGTTAAAGGCGCAGGACTCCCTGGTGGAAGGGCT
AGGGGGTCGAGGGGTGGGGAAAGAAGCTGTGAGGGTGTCAGAGAGGGGTGGGGCAGGGCTCAGGGACTAGCTAGGTT
GTGCAAAGGACAGGCTTAGTGAGAAGAGGCAGCTCCCCTGGATAAAATGGGTTAGCTAGGGGTAGCTCTGAGAGGAA
GAGGGGCTCAGAGAGGGAAGGGGTTCAGACTGCGAGAGGACTGTGGAGGGGGGGATTGGAAGGGGGAGGGGACTCAG
AGGAGGTGGGACCAAGAGAAAGGGAGGGGTCTGAGAGATGGAAGGGGCTCAGGAATGTGGAGGGGACTCGCAGGGGT
GGAGATCAGAGACGAGGAGGGGATTCAGAGGAGTGGGGCTCAGAGAGGCAGCGGGACTCAGAGGGGTGGGACTCAGA
GAGGGGGCGGAGATTCAGAGGGGTGGGACGCAGAGGGGGCGGGGACTCAGAGGGGTGGGGCTTAGGGAAGAGGCCTT
AGAGGGGTGGGGCTCCAAAAACCAGTGGGGACTCCAAGGGGTGCGGGGCAGAGAAGGGCAGGACGCAGGGACATGGC
GACTCAGAGGAGCATGGCTCCGAGAGGAGGTGGAAGGGTGAAGGGTCTGGGTGGGGGGTACAGAAAGCAGGTAGGAA
ACCGGCTTCAGGGGGTGACACCTGAGTCCCCCCGGTTGATGAGTAGGGGCGGGGCTCTCGCCTTGGTGAGGGGCCAC
TATGCAGGGCGCGCTGGGGTCAGCGCCGGCCTCGGGCGTCCTCAGGGGCTGCGGAGAAGAGCTCCAAGCACGGGGCG
GAGGACCGGACACAGAACATCATCATGGTGCTCAAGGACCGCATGAAGATCCGGGAGCGCAACAAGCCCGAGATCTT
CGAGCTCATCCAGGAGATCTTCGCGGTGACCAAGACGGCGCACACGCAGCAGATGAAGGCGGTCAAGCAGAGCGTGC
TGGACGGCACGTCCAAGTGGTCCGCCAAGATCAGCATCACCGGTGAGGGGGCGTGGGCCGCCATAGGGCCCCTCCTT
CTCCACCCTCTGAGACCTGTCTCATGCCCTGTCCCATGGCCTGGTCCCTCTCCTTTGCAGCGCGCACTCACTCGGTC
GGGTGCATTCCATCTCATCTCCGTGTGTGCACGCATATGGGGGGACATGCGTGCCTCCAAACGCCTGTTCATGGCAC
TGTATCTGGGTGCGTCTTGGATGGTGCCCTCCAGAATGAGACTCCAAGAAGAGGAATTGAGGGTGCATGGTTTATCT
GGAAAGTGACCCCAGAAAGTCCTGGTGAGGGGCAAGGACTTGAGACAGGGATGGAAGGAGTCCTGAAGGAGATGCCG
TTGAGCAGACAATGCTGTGGGCAAGGGGGTCAGCCCATCCTGGGGCCACTGGGGACAATGTCGAGCATGCAGCTCAG
TGTGGCCCCACTTAGGGGCGAGGATACTGGCTTTTCTCCACACCCAGCCTCATGTGGGTTTCCCCATAAACAGACCT
GAGGATGAGGATTTCAGGTTATGTGGGTTATCCAGGAAGTGACCCCAGGACGGAGCTGGGGTGGTAAGTCAGGGAGG
GAAGGAACCCTGCAGGGGGCACCAACGAGCAGGAGATCTCGGGGGGCAATGGGTTCTTGTAAGTGTCTGACCTCAGG
GAGTTCACACCTGAGAGAGGTCCTACCCATGCGCAAGGCAGCTGGGGCACCTTCCCATCCTTCATGGTTTGGGGACT
CCTTCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGCTGAGGCAGGCGGATCACCTGAGGTCAGGAATTCGAGACCGACCTGGCCA
ACATGGTGAAACCCCATCTCTACTAAAAATGCAAAACGATTGGCCGGATGGGGTGGCACGTGCGGGTAATCCCAGCT
ACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGTTGCACTCCAGCCTGGGTGACGAGCAAAA
CTCTGTCTCAAAAACAAACAAACAAACAAACAAACACACAAAAAACCTCTCTGGCAAGCCCAGCGTGCCCTGCCATT
GCTCTCCAGCCATGCTGCAGGTGTCCCAATTATCAGCCTGCAGCGTGTGGCAGTGACTGTCCCCAGCATGCCTCGCT

TCTTGAGTGCACACCTGTGTATGCCCTCTGTGTCTTCCAGTGGTCTGCGCCCAGGGCTTGCAGGCAAAGGACAAGAC
AGGATCCAGTGACCCCTATGTCACCGTCCAGGTCGGGAAGACCAAGAAACGGACAAAAACCATCTATGGGAACCTCA
ACCCGGTGTGGGAGGAGAATTTCCACTTGTAAGTGCCTGGCTGGGTCCCTGGCCCCATGTGGGGCATCCTGCTGGGG
CAGCCAAAAGAGGGCTCCAAGGACAGGACTCACACTGGCTGCCTGACCCCTGCCTCTGCCTCCTCCTCCCGCCACAG
TGAATGTCACAATTCCTCCGACCGCATCAAGGTGCGCGTCTGGGACGAGGATGACGACATCAAATCCCGCGTGAAAC
AGAGGTTCAAGAGGGAATCTGACGATTTCCTGGGGCAGACGATCATTGAGGTGCGGACGCTCAGCGGCGAGATGGAC
GTGTGGTACAACCTGGGTGAGAGAAGCTGGGTTCTGAAGCGGGTGGGGACGGGTCCCAGGGATCCAGCCAGAGCATG
GAGCCCACGAAGAGCAGAGAGATGTGTTCTCAGGAGGAGTTTGGTCGAGGAGCATAATCTGATGGGGGAGGCAGGGT
CTAGGAGCCCAGTTTGATGGGAGCAGGAAGCACCCAGGCCAGGAGGGTGAGCAGAGCCCAGGAACCTCTTAGTTCAG
CTTAGGAGGGAGGGTGGGGACAGAATCTCCATGTTCTAGTCTAATGGGGGAGGCAAGAAGCAAGAACTGGGAATCCT
AGTCTGAGGGGAGAGACAGAGACCTAGGAACTAAATCTAAGAAAGAAGATTGAGCTTTAAGAATCCAGGCTGGGGCC
AGGTATGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAAGCTGAGGCAGGCAGATCACATGAGGTCAGGAGTTCG
AGACCAGCCTGGCTAACATGGTGAAACCCCGTCTCCACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCGTGGTGGTGGGTGCC
TGTAGTCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAAGCGGAGGTTGCAGTGAGCTGAGA
CTGCGCCACTGCACTCCAGCCTAGGCAACGAGAGCAAAACTCCCACTCAAAAAAAAAAAAAAAAAGAATCCAGGCTGG
GGGCGCCGGGCAGTGGCTCACATCTGTAATTAATCCTATCACTATGGGAGGCTGAGGCAGGCCAATCACTTGAGTCC
AGGAGTTCAAGACCAGCCTGGGCAACATAGTGAAACCCCATCTCTATAAAAGATACAAAAATTAGCTAGGCAGGGTG
ACACTCACCTGTGGTCCCACCTACTCTGGAGGCTAAGGTGGGAGGATCCCCTGAGCCTGAGAGGTAAAGGCTGCAGT
GAGCTGTGATCACACTGCTGCACTCCAGCCCAGGGAACAGAGTGAGACCCTTTCTCAAAAAACAAATATGGCCGGGT
GCAGTGTCTCACGCCTATAATCCCAACAGTTTGGGACGGCTGAGGCAGGCAGATCACTTGAGGTCAGGAGTTTGAGA
CCAGATTGTCCAACATGGCGAGATCAAGCCCCTGCACTCCAGCCTGGGCAACAAAGGAAGACTCCGTCTCAAAAAAA
AAAAAAAAAAACAAAAGAAAAAGAAAAAAAAAATGGAATCCAGGCTGGGCATGGTGGCTCCCACCTGTTATCCCAAC
ATATTGGTTGGGTGGCTGAGCTGGGAGGGTCACTTGAGCCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGGCAACATAACAAGGC
CTTTGTCTCCATTAAAAAAAAAAAAATAGCTGGGTGTGGTGATGCGTGCCTGTAGTCCCAGCCACTTGGGAGGCTGA
GGTGGAAGCATCATTTGTACCTGGGAGGTTGAAGCTGCAGTGAGCTATGATCATGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCG
ATAGAGCAAGACTCTGTGTCCCCCCGACCCCCCACCACAAGAAAAGAATCCAGTCTAAAGAGGGAGGTATTGTTTGG
GAATCCTAATCTGAGATGGCTGCTACAGATCAAAGAACCCTGTGTAAGGAAGTTGAGTAGAATCTGGGGAGTCCAAT
CTAATGGAGGAAGCAGGGTGTATGAGCCTAATCTGAGGGGGTAGAAAGGACCCAGCCTGAGAGAGGTGAGCAGAGCC
CGGAAACCTCTTAGATTGGAGGACATCTAGATATCCCATTCTGATGGGGGAGGTGGGAGACAAGACCAGGGGGTCCT
AGTCTGAGGAGAGAGGCACAGACCCAGGAACAGTGTCTAAGATGTGTAGTCTCCGGGGAGCATGATCTGATGGGGGA
GGCAGGGCCTGGGAGCTCAGACTGGGAAAGAAGTGGGGCCTAGGGCTGCTAGTCTAAGGAGGGAGGCACATAGCCAG
GAACTTAATCTGAGTGAAGAAGCAAGGTCTGGGATCCTTGTTTGAAGGAAGAGACAGGGCTTAAGGAATTCTAGCCT
AAACAGGGAGACTCAAGCCTAGGGAGCCAATCAGAAGAGAGACACCAAAGCCTTAGTTTCCGGAAGTCTGGGAGGAC
TACAGAATCGTGTATCTATTAAAAATTGCCTTGGGAGGCCGAGGCGGGCGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGAC
CAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCTCGTCTCTACTAAAAATAAAAAATTAGGTGGGTGTGATGGCACATGCCTGTAA
TCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAAGACAATTGCTTGAACTCAGGAGGTGGAGATTGCAGTGAGCCAAGATTGCG
CCACCGCACTCTAACCTGGACCACAGATCTCAAAAAAAAATAAAATAAAAAAAAATTTGCCCATGGCTGGCCGGGCG
CGGTGACTCACGCCTGTAATTCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTAGGTGGATCACCTGAGGTAAGGAGTTCGAGACC
AGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAGTATAAAAATTAGCTGGGCACGGTGGCAGGCACCTGTAA

TTCCAGCTAGTTGGGAGGCTGAGACAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATCGTG
CCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAAGAGCAAGACTCCCTCTTAAAAAAAAAAAAAATTGCCCACTGCTATAGTGGGA
AGTTCTGACACTGTCTTCTTTTTCTGCCCTGCAGACAAGCGAACTGACAAATCTGCCGTGTCGGGTGCCATCCGGCT
CCACATCAGTGTGGAGATCAAAGGCGAGGAGAAGGTGGCCCCGTACCATGTCCAGTACACCTGTCTGCATGAGGTGA
GGGTCATTGCTCGGCCCCTCCCATGCCACTTCCACTCACCATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCACA
CCATCCACACTCTCCTGGCCCTCTGAGACTGCCCGCCATGCCATTCCCTTTACCTGGAAAACTCCTCCCTATCCATC
AAAGTCCAGATTCAGGGTCACCTCCTCTGGGAAGCCCACCTTGGCCTCCAGGTTGACTCTCACTACTCATCATCAGG
TTCTTCCTTCTATTCCAGCCCTAACCACTCAGGATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGG
TTTCCTGGAAAGAACTCTTATCCCCAGGAACTAGTTTGTTGAATAAATGCTGGTGAATGAATGAATGATTGAACAGA
TGAATGAGTGATGAGTAGATAAAAGGATGGATGGAGAGATGGGTGAGTACATGGATGGATAGATGGATGAGTTGGTG
GGTAGATTCGTGGCTAGATGGATGATGGATGGATGGACAGATGGATGGATATATGATTGAACTATTGAAAGTATAGA
TGTATGGATGGGTGAATTTGGGGGTAATTGTTAGATGATGGATGAGTATAGATGAATGATGGATGGATAACTTGATG
AGTGGATAGATAGATTGCTGGATAGATGATTGACTGGGTGGATAGATGAAATGTTGGATGAGCAGATTAAGTTGTAT
TGGATGGGATGGATGGAAGTGTGGTTGAGTTATTAGAAGGAAGATTGAGTAGATAGGTGAATTTGTTGATAGTCAGA
TGGGTAGATAGGTAGATGGATGGATGGATGGATGGATGTATAGGCAGATGGACAAATGGATGAATGGGTGGGTGGAT
GAATGGAAGGATGTGTGGTTGAACTATTGCAAGTATTGATAATTGGGTTCATAATTTCTGAATATTTAGATGGATGG
TTGTGAGTGGCTGGTGGACAGACGAAAAATGGATGGTTGGATAAATTGATGGGTGGATGGATGGTTGGTTGTATGAA
AGAATGAATGATTGGGTAGGTGGATTAAGTTGCGGATCAATGTATGGGATGGATGAATGGATGGATGGATGGATGTG
TGGTTGAATTACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGATGGGTGAAATTTGGGGTAGTTAGATGGGTGGGTGTGTGGATGGAT
AAAAGAGTAGATGAATGAATTAATGAATAAACAGGCAGATGGATGATGTAAGCTGCCCCAGACCCTGGGACCTCTGA
CCCCCGGCGACCCCTTGCACTCTCCATGACACTTTCTCTCCCATGGTGGCAGAACCTGTTCCACTTCGTGACCGACG
TGCAGAACAATGGGGTCGTGAAGATCCCAGATGCCAAGGGTGACGATGCCTGGAAGGTTTACTACGATGAGACAGCC
CAGGAGATTGTGGACGAGTTTGCCATGCGCTACGGCGTCGAGTCCATCTACCAAGCCATGACGTGAGACTGCAGGCT
GGGGTGCAGGAAACAAGAGGGAGGTCACCAAGTGGGCACTGGCAGGTCTGGGGTGGGAGGGATTCTCAGGGGGAAGA
CCCAGAGAGGAAGTGGGCGTGGTGGTGGTGGGTTCCGTAATTCCCCTGGAGATCAGGAGAGCGCTGTGATTGACACC
TGGAGTGACATGGAAGAGAGGGAAGACTTAGAAGCAGAGATAGAGGCTGGGCACAGTGGCTCAAGCCTGTAATCCCA
GCATTTTAGGAGGCTGAGGTGGGCGGATCACTCCAGGTCCAGGAGTACAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACC
CCATCTCTACTAAAAATACAAAAGTTATCCAGGTGTGGTGGCTTGGGCCTGTAATCCCAGCTACTCGGGAAGTTAGG
GTGGGAGAATTGCTTGAACCTGGGGGGCAGGGGTTGCAGTGAGCCGAGATTGCGCCACTAAACTCCAGCCTGGGTGA
CAGAGTGAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAGAAAGAAAAAAAGAAGCAGAATTAGAGCAACTCAAATG
GATATAAAGATGGAGGGGAGAGGAGATGCGGAGACCCAAAGGACAGAATCAGGCAGGGGATGGTTTAGGAGGTGACA
GAGACCCACTCACAGATGCTATCTTGGAGGCATTCTAGGGGGGATCTTGGTCCATCCTGGCTGGACCCCTGGCCTAG
TGCCTCCTGCTCCCTCTCTCCAGCCACTTTGCCTGCCTCTCCTCCAAGTATATGTGCCCAGGGGTGCCTGCCGTCAT
GAGCACCCTGCTCGCCAACATCAATGCCTACTACGCACACACCACCGCCTCCACCAACGTGTCTGCCTCCGACCGCT
TCGCCGCCTCCAACTTTGGGGTCAGTCCTGGGGACTGGGATTGGAGAATTAGGGAGAGCCCAACTTTATGCCGGTCA
GATCTGATGTGACTTCTGGGTCCCCAGTCTAGACCTGATTGCTGTGTGACTTTCCACCAGTCACTTCCCGTCTCTGA
GCCTCCATTTATTCCTCTGTAGAATGCTATAGAATGGAGGTCGGGCGCAGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTT
TGGGAGGCCGAGGCTGGAGAATCACTTGAGGCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACACGGTGAAAACCCGTCTC
TTCTAAAAATCCAAAAGAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGCCTGTGCCTGTAGTCCCAGCCACTTGGGAGGCTGAGGCA

GGAGAATTGCTTGAGCCTAGGAGTCGGAGGTTGCAGTGAGCTGAGACTGCGCCACTACACTCCAGCCTGGGCAACAG
AGCAAGACTCTGTCTCAAAACAAAAAAAAAAAATGCCATAGAATGGAAATGGACATTATGAGGGTGGTGGATGAGGTA
TACTTACTGTACAGTAGGCGCTCAGCCACTATGGCGGCCATGTCCTGCCTCCATCCATCCTCCCTCCTCCCCTTCCT
CCTCAGAAAGAGCGCTTCGTGAAACTCCTGGACCAGCTGCATAACTCCCTGCGGATTGACCTCTCCATGTACCGGGT
AGGAAGTGTGTGCATGAGAATTTGCTCACCCCACGCACATGTGTGTGCCTGGAGGGGAAAGCTACCAGCAGGTGTGT
GCATGGGAGGACCCATCTTCGCATGTACGATGTGTTCCTCCAGCATGTGTGCACCTGCATGGGCACTACCTGCCGTA
ATGTGCTTGGTGCATCCAAGCAGATCCCCAGTTGCTTCGAGGTGCTCTAATCAACCCCCAGCCTGAAACCGGGGAGC
CTTTGTATCCCCCTGAAAAGCAGTCTCCCATCCTCCCCACGCCTTCTTCCATAACCCCACATCTCTTCCTGCTCCCA
ACAGAATAACTTCCCAGCCAGCAGCCCGGAGAGACTCCAGGACCTCAAATCCACTGTGGACCTTCTCACCAGCATCA
CCTTCTTTCGGATGAAGGTAGGAAAGGATCCAGTTGCCTTTGCTCTCCAAGGAGGGTTCTCTAGGATCCCCAGCTCC
CAGGACAAGTGACATTCCTCCTGGAGAGTGGCAGCCTTTCTCAGTAACCTTTTCCTTTCATACCACTTCATTTCCTT
AAACCCAAAATGACTCGCAGTCACTTCCTGGGGACCTCCTGTCACAGCTGTGGCCGCCTATGCCTCTCTCCCTCCCT
TCAGGTACAAGAACTCCAGAGCCCGCCCCGAGCCAGCCAGGTGGTAAAGGACTGTGTGAAAGCCTGCCTTAATTCTA
CCTACGAGTACATCTTCAATAACTGCCATGAACTGTACAGCCGGGAGTACCAGACAGACCCGGTGAGACTCCAGATG
GGTCAGAAGGGAACAGTGATGCCAACTAGACACAGGCTTCAGTCCCAGCCCTGCCCCTTCCCGAGGGATTTAACTCT
TCTGAACCTCAGTATCTTCTTCTATAAAATGGGGTCATTAACCCACATCTCAGGATTAGGGAGAAGAGTTCATGAGC
TGTAAGTTTAGATAAAATATAGTCGGCACTCAGTACATTTGGTTGCGTAGTTGAGTTTGGCATAAAAAAAAATTTTT
TTTTTTTGAGATAAAGTTTCACTCTTGCTTCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGTGATCTCAGCTCACTGCAACCTCTG
CCTCCCAGGTTTAAATGATTCTCCTGCCTCAGACTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGTGCCCACCACCACACCTAGT
TAATTTTTTGTATTTTTAGTAAAAACGGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTTGACCTCAGGTG
ATCCACCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTACTGAGATTATAGGCGTGAGCCACCACTCCCAGCCTGGCATAAAAATTTAT
GTCTGGCATACAGTCACTGTTCAGTAAATGTTGAGTTGAATTGAATTTATTTATTTATTTTGAGATGGGGTCTTGCT
CTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGATGCAATCATGGCTCACTGCAGCCTCGACCTCCCAGGCTCAAGTGATCCTCC
CACCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGACTATAGGCACGCACCACCATGACAGGCTAGTTTTTGTATTTTTGTGGAGAT
GGCATCTCACTATGTTGCCCAGGCTGATCTCCTGGGCTCAAGCGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGA
TTACAGGCATGAGCCACCACCTGTAAGGAGCTTATAGCCTATTATGAGGGAAAGATGTACAAACTGGAAATTTACAA
ACAGGGATGGTTAGTATTGAGATAGTGGGATCTCAGGAGGCTGTGGGAGCTGGAGGCAGCCCCTACCCAGGTTCTGA
TAGGATATAACACATAAGCTGTGTTCAGTTCAATTTGATTTCATTCTGTTCCTTTACATTCAGTTGACTAGAGTTGG
AATCAGTCTCACTCTCATTTGAATTGAGTTGAGGTGAACTGGATTAAATTAGGCTATAAGGAGCTTATAGCCTATTA
TGAGGGAAAGATGTACAAACTGGAAATTTACAAACAGGGATGGTTAGTATTGAGATAGTGGGATCTCAGGAGGCTGT
GGGAGCTGGAGGCAGCCCCTACCCAGGTTCTGATAGGATATAACACATAAGCTGTGTTCAGTTCAATTTGATTTCAT
TCTGTTCCTTTACATTCAGTTGACTAGAGTTGGAATCAGTCTCACTCTCATTTGAATTGAGTTGAGGTGAACTGGAT
TAAATTAGATTGTTTAGTTCAACCATAATCAGTTTAGTTATATTTATTTCTATTTGGTTGACTTAAGTTAAAATTGT
TCTTGACGGCCAGGCACAGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGAGAGGCCGAGGTGGGTGGATCATGAGGTC
AGGAGATCGAGACCATCCTGGCTAACACAGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAAATTAGCCGGGCGTGG
TGGCGGGCACCTGTAGTCCCAGATACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGTGTGAACCTGGGAGGCAGAGCTTGCA
GTGAGCTGAGATCGCATCACTGCACTCCGGCCTGGGTGACAGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAATTG
TTCTTGACAAATTAGTGAGCCAGGCTGGGCTCAGTGGCTCACACCTGTAATGTCAGCACTTTAGGAGGCTGAGGCAG
GAGGATCCCTTGAGGCCAGGAGCTCGAGACCAGTTTGGGCAACATAGCGAGACCCTATCTTTGCAAAATATACAAAA

ATTAGCCAGGTGTGGTGGCGCACCTGTAGTCCTGGCTACTTTGGAGGCTGAGGTGGAAGGATCACTTGAGCCCAGGA
GTTCGAGTCTATGGTGAGCCATGATTGCACCACTGCGCTCCAGCCTGGGTGACAGAATGAGACTCTGTCTCTTGAAA
GAAAAAAAAAAAAAATAGAGAGAAGAACAAGTTGGTTGATTGCATTGAGTTTTATTGAGTACAAATTCATTCATTTC
CATTTAGTTCATTTACATTCAAGTCAAGTTGTTCTCAACTGGGTTAAATTGTCTTGAGTTAGGATGAACTGGGTTGT
TGGATTAGATGCAATTGATTTCAGTTGAATTGGGTTGAATTGGGCTAATTTCAGCTGATTATATTCATTTCCATTGA
TTAACAAAGGTGGGTTGAATTGCCCTGCGTATGTTCAGTTGGGTTTAGATAGGTAGAATCGGATTGGGTTGACTTGG
GTAGAGTTGAGTTCGAGTCGATTTATTTCCATTATTTTGATTTGGGTTGATGTTGATCTTGGACAAGTTGATTAGGT
TCAATCCAACGGAATTCATTTGAGTTTAATTCAATCCAGTTAGGTTGAATTGCACTCCATTCAGTGTGATTGGCCCA
AGTTCAGTTCCATTGATTTAACTCAGAGGAAGAACTTACTTCCGTTAAGCTAAGTGGGCTTAATTTGCATTCATTTC
ATTTCCATTTGGTTTAGTGGAGCTGGGTTTGTTCAACTAAATTTGGTTTCATTTATTTCCATTCACTTTTAGAGTGG
AGTCTAAAAATCTTAAGCTTTATCAAGCTGCATTGACATGAGCTCTGTTTGGGCCAGTTTATGAGTTCAATTCCTCT
CTATATAGATTTCTTACCTGAACCATACACATGATGATGGGATGCATTCCTCTAAAACCTCTTGTTCTTCAGTAATA
AACTGACCGAGGCACCAACCTCTGGACCCCCTATAACCGAGGTCTCCACTGTCCATTTCAGGCCAAGAAGGGGGAAG
TTCTCCCAGAGGAACAGGGGCCCAGCATCAAGAACCTCGACTTCTGGTCCAAGCTGATTACCCTCATAGTGTCCATC
ATTGAGGAAGACAAGAATTCCTACACTCCCTGCCTCAACCAGTGAGTTGTGTATCTGTGTAGTTAATTATCTGGGTG
TCATCGTGTGTATGTATACAACTTTGTGTCTTGTGTGTCAAGATGATTTTGTCTAATTACACAAATGTGCACCTGGG
GGTAATTGTGGGTCTGATTATACCTGTGCAAAATTCAAATATGGGTACAATTTGCAAACATAAACATAAAATTGTGT
GTATGTTCACAATCACTGGTATAATCAGACATGTATTTTGTATGTATTCATTTGCATGCATAACTGTGTGTACATAT
GTGTATAATTTTTTATGTGTATGTAGGTTAATTAATAATAGTGTTGCTCAAGTATTACTATGTGCTACCCTAATACA
TATCATACATTTAAATTGCATTATATCTTATATGTATGGATGTAAGTAATTTTGTATATTGTTGTGGTCAGTGGGTT
TTGGGTTTAATTTGTATATGTGTAAAATCATTGAATGCAATTCAACGTACAATATTGTACAATATACAATATTGTGT
ATTGTGTATGAATATGGGCACAGTTTTCATTTGTGGATTTATATGTCTGTAGAATTTTCATCTGTGTTAGCTGAATG
AGCTACTGTGTTCTATTTCTCTGCCAGATGAGTGCTAGAGAGGACTCTAGCTTTGGGGCGTTAACATATCCTGGTTA
GGGAATTAAGATCAGGGATTTGGATGGATTGAAGGGTGGGTGGATGAATGGATGGATTAATAAACAGATGGGGTCAG
GCACAGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGTGGGTGGATCATTTGAGGTCAGGAGTTTGAG
ACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTATCTTTACTAAAAATACAAAAATTGGCCACGCGCGGTGGCTCACCCCTG
TAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCGGATCATGAGGTCAGATGGAGACCATCCTGGCTAACATGGTGAAA
CCTTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCGGGAGTGGTGGTGGGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTG
AGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCAGGAGGTGGAGCTTGCAGTGAGCCGAGATTGGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCA
ACAGAGTGAGACTCCGTCTCAAAAAAAACAGAAAAAACAAAACAAAAATTAACCGGGCGTGGTGGTACACGTCTGTA
ATCCCAGCTAGTGGGAGACTGAGGCAGGAAAATTGCTTGAACCCAGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGTCGAGATTGCG
CCACTGCACTCCAGCCTGGGGTGACAGAGCGAGACTCCGTCTCTAAATAAATAAGTAAATAACAGATGGACAGATAG
ATTGGTAGAAGGATGACTGTGTGGATAAAGGAACGGATGGGCCAGGTGTGGCAGCTCACGCTTGTAATCCCAGCACT
TTGGGAGGCCGAGGCGGGAGGATCACCTGAGGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCAAAACCCCATCT
CTACTAAAAATATAAAAAATTAGCCGGGCATAGTGGCTCGCGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCACG
AGAATCATTTGAGCCCGGGTGGTGGAGGTTGCAGTGAGCTGAAATCGCACCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAG
TGAGACTCCGTCTCTAAATAAAAAAAAAGGAATGGATGGATGGGTGGACAGATGGATGGGTAAATGGATGGGTGGAT
AGCTGCATAAGTGAGTAAATAAATGGATAGAGGGATGGATGGATAGGTGGATGGATGAATAGATAGATGGGTCATTT
AATGGGTGGGTGGATAGTTGTATGAGTGGGCGAATGAATGGATGGAAGGACAGATAAATAGGTGGATGATGGAAGGA

TGGACGGATGGATGGATGAACAGATAGACGGGTAGGTGGCTGGATGGACAGTTGGATGAATGGGTGGAGGGATAGAT
GGATGAACAGGTAGATGAGTGGTTGAGTGGATGGATGAATAGTTGGATGAATGAGCAAATGAATGGATGGAGGGATG
GATGGATAGATGAATAGATAGATGGATAGGTGAACGGATGGGTGGATAGTTGCATAATTAGGTGAATGAATGGAAAG
AGGGATGGATGGATGGATGGGTGGATAGATGAATAGATAGATGGGTAGGTGGATGGATGGATAGTTGGATGAATGGG
TAGAGGGATAGATGGATGAACAGATAGATGGGTGGTTGAGTGGATGGATGAATAGTTGGATGAATGAGTGAATGAGT
GGATGGAGGGATGGATGGATAAATAGATAGATGGATAGGTGAATGAATGGGTGGATAGTTGCATAAGTAGGTGAATG
AATGGATAGAGGGATGGATGGATGGGTGGATGGATGAATAGATAGATGGGTAGGTGGAGGGATAGATAGTTGCATGA
GTGGGTGAATGAATTGATGAAGGGATGGTTGGATGGGTGGATAATGGGTGGATGGATGAATAGATAGATGGGTACAT
GGATGGGTGGACAGTTGCATGAGTGGGTGAATGAATGGATGGAAGGATGGATGAATGGATGGAGGAATAGATAAATG
AGTTGTTGAATGTATGGGTGGATAGTTGCATGAGTGGATGAATGAATGAATGGAGGGACAAATGGATGAGTGGGTGG
AGGCTCAAAGGGAAACAAAGCCTTAGTGCAGAGTCAGTCAGCAGTGGCTATGAGGGAACCTGAACCCAAATCCCTCT
ACCCTACCCTACACTCCTCTGTGGGGCAGGGAAGGACAAAGCAGCCCATCCCATCTGCCTTCTGCCTGCCAAAGTTT
TATACTTCCATGACTTTGCCAGGTTTCCCCAGGAGCTGAATGTGGGTAAAATCAGCGCTGAAGTGATGTGGAATCTG
TTTGCCCAAGACATGAAGTACGCCATGGAGGGTGAGTTTCCCACCCCAGTGTTCCCCAGCCTGGCCACACCAGGTGG
CTGTACCTCTGTGTCCCCTCCAAGGCTGTGAGCACCCTATAATACCCTCATGCCTGAGTTGGAAATCAGTGATGGCC
AGAGTAGGCAGCCTCTCTGCCGAGACAGAGGGTGGCAGACCCTTCCAGCTGTGCCATCCTCTTTGTCCCTGGCCAGA
GCACGACAAGCATCGTCTATGCAAGAGTGCCGACTACATGAACCTCCACTTCAAGGTGAAATGGCTCTACAATGAGT
ATGTGACGGAACTTCCCGCCTTCAAGGACCGCGTGCCTGAGTACCCTGCGTAAGTCCCCTGCCCCAGGCCCAACCCA
AGCCAGAACTGTAGCACTGACAGCTAGAAGGAAAGCCAGAGAGGAAGACTGACCTACTTAGGGTTACCTGGGCATCA
GGGGCATGGGTGGGGCTTGAATCCAGTGTTCTCCACTCTCAGCCATTGAGCAGTTGACTCCTACAGCCCAGAAAATT
CAGTCAACAGCAACAGGAACCATGTGACTTTCTCATTTTATCCTTTTGACAATTCTATGAGTTAAGGTGGGATCATT
TTAATTCCTATTTTGCGGAGGAGAAATTGGAGAGTTAAAGATGCCAAATGGCCAGGCATGGTGGCACATGCCTGTAG
CCCCGGCAATCTGGGAGACTGAGGCAGGACTTGCTTGAGCCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGAAAAGATAGTCAGA
TCCCATCTCTAAAATTAATGAATGGGTCAGGCACAGTGGCTTGTGCCTGTAATCCCAGGACTTTGGGAGGCCGAAGT
GGGCAGATCACCTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCATAGCCAATAGGGCGAAACCCCAGCTCTACAAAAATACAAA
AATTGGCCGGGCGCAGTGGCTCATGCCTGTAATCTCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGTGGGTGGATCACCAGAGGTCA
GGAGTTTGAGACCGGCCTGGCCAACATGGTGAGACCCTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGTGTGGTGG
CAGATGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCATGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGCGGAGGTTGCAGTG
AGCCGAGATTGCACCACTGGATTCCAGCTGGGGCAACAAAGTGAGACTCCGTCTCAAAAACAAAGAAAAAAATTATC
CGGGTGTGATGGCACACACCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCCGAAGCAGGAGGATCGCTTGAACTCAGGAGGCA
GAGGTTGCAGTAAGCGGAAATCGTGTCACTGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGTGAGACTCCATTTCAAAAAATAAA
TAAATATAAAAATAAAATGAATGAGTGAATAAATGCCACATTCCTTGCCCACGGTGACTCCCAGTACATGACAGACC
CGAGATTTGAACTCGGGACATCTGATTCCTGGGCTGTGTGTTGGAGGATAGTACGGTGCCGCCGGTTCCTGAGAATT
GTGGTGTCGTTCTCTGCTCCCAGCAGCACAGGAGGATGGCTAGTCTTCTGTTGTACAAGAAACGAAAGCTCTGGCTG
GATGCGGTGGCTCATTCCTGTAATCCCAACATTTTGGGAGGCCAAGGTGGGAGGATCACTTGAGGCCAGGAGTTCAA
GGCCTGCCTGGGCAACACAGGGAAATCCTGTCTCTACAAAGAAGACAAAAAAAAAAATTAGCCGGGCATGGTGGCAT
GTGCCTGTAGTGCCAGCTATTCGGGAAGCTGAGGTGGGAGGATTGCTTGAACCCAGCAGGTCAAGGCTGCAGTGAGC
TGTGATCGCACCACTGCACTTTAGCCTGGGCAACAGAACAAGACCCAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGAAGGAAGGA
AGGAAGGAAGGGAGGGAGGGAGGGAAGGAAGGAAAGGAGGGAGGGAGGGAGGGAGGGAGAAAACAAGAGCTCAGAGA

ATAAACCCACTTGCCATGGGCAGTTTATCTGAAGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAAGGAGGGAGGGAGGGAGG
GAAGGATGGACGGAGGACTCAGAGAGGACTCAGAGAATAAACCCACTTGCCATGGGCAGCTTATCTGAACTAGGATT
CCCACAGGCCTGGGCCCTGTTGTAAAAGGGGCCACTCAATCTATTTCATGAGCAAAGTAACTGAGGTTCAGTGCAGG
AGGCGAGCAGAGGAGCAGCCACTCAAGGCTGCAGGGAGAGCTCCAGGCAGAGCAGGAGCAGCCATAGCTCCACTCGT
TAGTGGGTCAGAACCAGGCGGCGCAGAGGTTGAGGAGGACAAGAGGTGGCAGAGCCCCACCCCGGCTCTTCATTCCA
GATGGTTTGAACCCTTCGTCATCCAGTGGCTGGATGAGAATGAGGAGGTGTCCCGGGATTTCCTGCACGGTGCCCTG
GAGCGAGACAAGAAGGATGGGGTAAGAAGGCCCACCCACAACCAAGTTCCTAATCTTCCCACTGGGGTCAATTTAGG
TGGAAATTTGCCCTTGAGATGAGGCCAGTCTCTGGTAGGTGTCCGCCATCTTTGTCTTGCTCATGGTTTTTAAAATC
TTTTGTTCATTCATCAACTACAAAATGTGAGTTCCATCAAGCCGGACACCTCCAGGCACCCCATGGCTTCTGCGTCC
ACCTCTAGAGTTGACTCTAAGTCTACCTCGCCCTCTGTCCATCTCACCCCGGGGAAATTGGTCTCTGGCTCTCCCCG
TGGAGAGTGGGAGAGTTGGGCTCTAGGGATTCTCTGGTGCTGATCTCCTCCTTCCTCTTGGCCTCCTTCCCCCTGCA
GTTCCAGCAGACCTCAGAGCATGCCCTATTCTCCTGCTCCGTGGTGGATGTTTTCTCCCAACTCAACCAGAGCTTTG
AAATCATCAAGAAACTCGAGTGTCCCGACCCTCAGATCGTGGGGCACTACATGAGGCGCTTTGCCAAGGTGTGGGAG
AGTGGGTAGGGTTGGGGCTAGGGGACAGGGTCAGGGTTAGGGAATTGAAGTCTGAGTTGGAGATGGGCTAAGGTTGA
GGTTGAGGTTGGAGTTGGTGATGTCATTGAGGTTGGGATTGAAGTTGGAGTTTGGGTTGAGGTTGGAGTTGAAGTTT
GGGTTGAGGTTGAGGTTGAGATGAGGTTGGAGTTGAGGTTTGAATGGAGGTTGGAGTTGGGGTTAGGGTTTAAATTG
AGATTGGAGTTGAGATTGGGGTTGGAGTTGAGGTGTAGGGTAAGGTTGGAGTTGAGGTGTGGGTTGAGATCAGGGTT
GGAATTGAGGTCATTAGTGCGAGTTGGCAATGCTGTTTGGTTGGAGTTTGAGGCTGTGCTGGGTCTTGATTTGGAAT
TGAGATTGGAGTGAGTGCTGAGATTGATGCACAATTTGAGTGAGTCTTGGGGTGAGTTTGAGGGTTGGGATCATTGG
GGTTGAGGTTTGATTCATTGGCATTAGGCTGTGTTGACCTTGGGAATTACAAGTAGGAATTGGCTTTTGATTTGAGA
TCAGGTCATCTTGTGGTTGAGGCTGGGTTAATATGATGCTTGGTTGCTCTGAAAAAGAGCTGGGTCTACATAAAATG
ATCATCTTCATCGAGCGGTATCTCCTCTAGGTCTTGATGGTCATCTTGAGTGGAGAATTTGCCTAGCCCAAAGGCCC
ATCTTAGGTCCTAATAGGGTTTGGGTTCATCACTGATCTCACTAGTGGCCTTGATGGGACGACTGGCGCCTGCCTTG
GTGCCAGCCTCTCCTCTCACCCACACTCTGTGTCTTCCCCAGACCATCAGTAATGTGCTCCTCCAGTATGCAGACAT
CATCTCCAAGGACTTTGCCTCCTACTGCTCCAAGGAGAAGGAGAAAGTGGTGACCTGAGGGGGCCCCTGACCTATCT
CCCTCCTCAGCCCCATTCAGCATCCCCAGGACTCCCTTCTCCCCAGGGCCCTGACACCTGGGGCTATGTATGTCCAC
CTGTGTGTGATCTGACTGGATTGTCTGTGTGTTTAGAGGTGCTTGTTTGAATGTGTGTGATCAGAGTGTATCTAGTT
GTGTGTGTCTGAGTGTATGGGAAGTAAGTGCATGTGTCTGACTGTGTATTGTCTGTGTTGACTGGTATACTCTGCGT
GTGTGTGTGTGTGTGAGTCTGTGCACATCTGAGTGTGCGTGTCTGATCATGTTTTGTCTGGCTTTGTTAACAGGGTA
TGGCATGAATGTGTGTGTGAGTCCAACTGTGCACGTCTGAGTGTGCGTGTGTGATTGTGTTTCGTCTGGTTGTGTTA
ACTGGGTATAACATGAGTGTGTGTATCTGTGTGATTGTGTTTCGTCTGGCTGTGTTAACTGGGTATAACATGAATGT
GTGTATCTGTGTGTGTCTGTACATATCTGAGTGTGGGTATCTAGCCATGTTTCATCTGTGTTAACCGGGTATAGTGT
GAGTGTATGTATGTGTGAGTATGTGTGTTCAACTATACAACACATCTAGGTGTGTGTCTCATATTTTATCTAGCTGT
GTTAACTGGTTATAGTGTGAGTGTGTGTATGCTTGTGTGTGTGTCCAGCTGTGCATGTCTGGGTGTGTGTGACCGTG
TTTTGTCTGGCTGAGTTAACTGCATATAGTGTGAGTGTGTGTGTGTTTGTGCACGTCTGGGTGGGTGTGTCTCAC
CAGGTTTGGTATGGCGGTGTTGAATGTGCGTGGTGTGAGTGTGTGTCTATGGCTGTGTCTGGCTGTGCATGTCTGAG
TGTGTGTATCTGTGGGGGGGGTCTCGTGTGTATATCTCGGGGTGAGGGCACACGCCTTCAGTGTGTCACTGTCTGGC
TGTTGCAAATGAAGCCTTCAGGGTGTGAGCTGCAAAGCTTTGGGCTCTTGCAGGAAACTCTGCTACTCCCAGAGTTC
CCAGCCCCTCTCATGGACCCCCCACCAGGCCTGGGGTCGTGGGATTACTTGAGTCCTCCTTGCCCCCACCAGTCCCC

AGAGATGCCCGCCCCAACAACACGCCCAGGAACCTGAGCACAAAAGCTCCCTTCCATTTGCAGGTGACCCCATGGGA
CCCCAGCTTCCTCCAGACCCAGACCCTGAAACCATCCCAAGGTCCCTGGCGGTGGGTAGGGGAGGCTCTGGGGAGAG
GTCCTGAGGCTTGACTCCCCTCTCTGTTCCCACCCACAGCCCTGCATTCTCATGAATAACACTCAACAGCTACGAGT
TCAGCTGGAGAAGATGTTCGAAGCCATGGGAGGAAAGGAGGTGAGGCAGGGCCGAGGCAGGGCTGGAGAAGGGATGG
GGCACCCCCACCACTGTGTCCCTGCAGGCCCCTGAGCTCATATGCCACCAGGCCTGGGGATGAATTCCAGCTCAACC
ATGGCCTTAAACCCAGGCTTGCAGCATAACGGTCTGTGCCTCAGTTTCCCCTGCAGCCCCTTGGGATCCCTTTCCCT
GGGTCAGATGAGAAAATGCCCAGTACATGTGGATACTTACTGAACCTGGCCTGGTGTCCCTTCTCCCTCCTTAGCTG
GATGCTGAAGCCAGTGACATCCTGAAGGAGCTTCAGGTGAAACTCAATAACGTCTTGGATGAGCTCAGCCGGGTGTT
TGCTACCAGGTGGGAGCATCTCCAGGGCTGGGGGCAGTGGGGAGGGAACAGCCTTCAGCCCTCTAAGCCTGGGGCAT
CTGGAGGCTCAGCAGATGTAGAGGTGAAGATTGCAGGCTCAGAGTTAGACAAGGCTGAGTTCAAATCTTGGCTTTAC
TGCTTACTAGCTGTGTGGCCTTGGGTGAGTCACTTAACTTCTCTGAGCCTTATTTTTTTTTTTATTGCTCTGTAAAT
TTGGGGTGATGACAATAATAGTACCTGGGTAGGATTTTGAGAATGAAATGAACAATGCGGGCAAATGTCTTATCCCT
TTGCCTGGTTCTGCAGTTACTATTTTCCACTCTTTTTTTTTTTTTGAGACGAAGTCTCGTTCTGTCACCAGGCTGGA
GTGCAGTGGCGCGATCTCGGCTCACTGCACCCTCCACTTCCTGGGTTCAAGTAGCTGGGACTACAGGTGCATGCCAC
CACACCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGGTGGTCTCGATCTCTTGAC
CTCGTGATCCGCCCGCCTTGGCCTCCCAAAGTGCTTGGATTAAAGGCGTGAGCCACCGCATCTGGCCTGTTCTCCAT
TCTTGCTCGGTTATGTGCTGTGATGCAAATGATATGACCTCAAGGACCACAGATCAGCATCTGTGTCCTCATCCAGC
CCTTCCTGTGGTCTGAGCCCTTCCCTTCTGTGTCCCCAGCTTCCAGCCGCACATTGAAGAGTGTGTCAAACAGATGG
GTGACATCCTTAGCCAGGTTAAGGGCACAGGCAATGTGCCAGCCAGTGCCTGCAGCAGCGTGGCCCAGGACGCGGAC
AATGTGTTGCAGCCCATCATGGACCTGCTGGACAGCAAGTGAGCTGGGCCAGGTGGACTGGGCTGGCCGGGGAGGGG
CTGGGGCAGGGCCATAGAGACCCAGGGACTGGCTGGAGAGGGTGTGCAGGGAATGTTTGCTGGGTGGTCACTGGATA
GTTGGATGGCTGAGTAGATGGTGGCATGAAGGGGATGGAAAGTTGGGTGGGTAAATAATTGGAAGGATTGGTGAGTA
AATATTTGTGTGGATGAATGAATGGTGGATGAATAGGTGACATGAGGGATGGGTAGGTGGGTGGACGCATGGATTAA
AAGATAAATGTTTAGAAGGATAGAGGGAGGATAGATGTTTTAAAAAGATGGATGGGTGGATAGTTGGGTAAATATTT
GGATGGATTAATAAATGTTTTGATGCATAGATGGATTGATGCTTAGATGGATGGATGTCTGGCAGGCTGGCTTGATG
GATGGTTGGATGGACGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATGGATAAATGGTTGGATATGTGGA
TAAATATTTGGATGGATGAATAAATGTTTTGATGCATAAATGGATGGACAGATGGGTGGATGGATGAATAAATGGAT
GGGTGGGTAGATGGATGGATAGATAGGTGGATAAATATTTGGATGAATGAATAAATGTTTTGATGTATAGATGGATT
GATGCATAGATGTCTGTCTGGCTGGCTGGATGGATGGATGGATGAATGGATGGATGGATAGGTCAATAGATATTTAG
ATCATTGAATAAATGTTTTAATGCATAAATGGATGGACAGATGGGTGGATGGATGAATGGATGGTTGGATGGGTGGG
TGGGTAGATGGATGGATGCTGGATAGATATAGGTGGATAAATATTTGGATGGATAAATAAATGTTTTGATGCATAAA
TGGTTGGACAGATGGGGGGGTGGGTGGATGAGTGGGTCGATGGATGGATGGATTAATAGGTGAGAAATATTTGGATG
GATGAATAAATGTTTTGATGCATAGATGGATGGACAGATGGATGAATGGACAGGTGGATGGATAGATAAATGGATAA
GTGGATGGATGGGTAGAAGGATGCATGGAAGGATGGATGGATGAACAGATGGATGGATGGATGGATAGAAAAAGAAA
TAGAGAATTAAGGACCACTGGGGGAGGGATGGATTGGTGGGTGACTGGATCAGTTGGTGGATGGATCTTGGTGGACT
GCCTGTCTCCTTCAACCCCTATCCATCCAACCACAATCTCTTTGCTGTTTTCCCTTTCAAGTCTGCCCTCCTCTGAC
CATTCCCCTCCTGTTCCTCTTGGGCATGGCCTTCTCCCTCATAGTCCCTGATCTCCATCCTTCCTGTTTCGGTTCAT
CCCCCACACTGTTCTTTCAAACATGAAAGTCTGGCTGTGTCTCCCTCTTGAACACTCCATGGCTCCCCACTACCCCC
ATCCTGATAAAACCCAAGCCTTCCTCCCAGACATTGGGGCCCCTTCCCATCTGGTCCCTGCTGACTAGTCCAACCAC

CACTCACTCTTCTCTTCATGCATCAGATATCATAGCCCCATCAAACCACCCAGGGGTCCCTGTACAGGCTGTGGGCC
CTCTTTCCTATCTGTGGAATGCCTTGCCCACCTGTTAAGGGAAGGTGATCTGTGGGTGGGGGCGAGCTGGGCCCTCT
CTCAGACCTGCCCCTCGTCCCCAGCCTGACCCTCTTTGCCAAAATCTGTGAGAAGACTGTGCTGAAGCGAGTGCTGA
AGGAGCTGTGGAAGCTGGTTATGAACACCATGGAGAAAACCATCGTCCTGCCGCCCCTCACTGACCAGACGGTGAGA
CCTGCAGGGGGCCCGAGGGGACATTTAGGCCACCTCCCTGGCGAGAGCCCAGAAAACTTGGTGCCTAGAGGCTGGGG
GGTAAGAACAAAGGCATCCGGTCTCAGAGAGGTCATCCAGGCTCAAGGGCCATTCAAGGGTCATGGAAGCCACCAGA
GGTCAGTGGGGGGCCATTCAGAGGTCAGAGAGTTCACACAGGGGTTAAAGATCATCGAAGAGTTAAAGAGGTCATTC
AGAGTCCATTGTATTTTCTCTGGGGTCAAAGACATCAGGTAGAGTCAAGAGACCACTAAAGTCATAGAGGTCACATG
TAGGTCAAAATAGCTTTCAAAGGTCAGAGGTCATCTAGAAAACAGGTCAATTTTGGGATCAAGGTTATCCTTGAGCC
ACGGAAGGCATAGACATTGGCCAGGCACCGTGGCTCACGCCTGCAATCCCAGCACTTTGGGAGGCTCGAGGCGGGCA
GATTGCTTGAGGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGGCAACATGGTGAAATCTCGTCTCTACTAAAAATACAAAAATT
AGCTGGGTGTGATCCTGTGATCCTGGCTTCTTGGGAAACTGAGGCACGAAAACTGTTTGAACCTAAGAGGTAGAGGC
TGCAGTGAGCTGAGATGGCGCCACTGCACACTCCAGCCTGGGCAACAGAACGAGACCCTTTCTCAAAAAAACAAAAA
AAAAAAAGAGAAGGCATAGACATCAATGGGTTTTTCTAAGGGCTTTGGGGCTCATTCAAAAGCCAAAGAGGGGAGAC
ACCATGGACTTCAGACATCAGAGATCAATAGACCAAGGGGCTCCTGGAAGTCAGCCAGAGGTCATGGAGGGCATCCA
AGGTCAGAGAGGTCAAGCAGAGATCATTGGCCATCCAGAGACCAGGACCGATAGACCAGAGGCCATAATCTCTAGGG
ACCAAGGGGACCCAAACATCTGTAGAGGGATGTAGCTGGGCGTGGGTCCCTCCGGGAGGCATCAAGAACCTGAGGAC
AGCAATGGCATGTGGGCTGTGGGCACATTAGGGAGTGGGGAGGTCTTTCCCAGGTGGACCACGGAGGCTTGGGGAGG
GTGAGCGGGGGCCATAGATGGGCGACGATGGTCGGGGAGGCTCGGACTTCCCATCCTTCCACCTCTTCTGGGCTGGG
CTGGGGCAGGGGTCTTGCCCCTCCGTGCTGCCATCTCTGCCCCCTCCCTGGCCTTCCCGGGAGACTCATGGTACCTT
ATTCCCCCCTCCCCCACCGCCCCGCCCCCATCACGGATGACAGATGATCGTAAGTAGAGTCCCGTCTGTCCGTCTGT
CTGTCCGTCCTCTCTGTGTCTGGACTCGGCCCACCGCGTCGCTGCACCCCTCTCCCCACCCACCCAGCGCCCCCTCC
TCACCCACCATCCTCCCTCCCGCCTAGATGTGCCTGTGTCTGTCTGGGGCGGGGCATGGGGAGGGGGCGGGGCTGGG
AGGGAGGGAGACCACGCCCACCCTCCCTGTCCCACTGAAGTCCAGAGGAGCCCCACTACCCACTCCCAAACCCCAAG
CCCAGCTCCTCCTTCGCAGCGGACCTGCCGTCTAAGGGTAGAATCCAACCTTGCTCCCGTGCCCAGATGTCACCAGA
CGCCCTGAAGCTAGAAAGAGGATCAACCCCAGGATTCCTCTGACCTCCTCTTTGGGCTCTGAACTGTCAGCAGCTTC
CCAGAATGCAGGTCCTCACCATGAGGGTCTCTACTTCTGATTCCTCTGAAATTCCATGCTCCAGACCATTCCTTGGT
ACCCCACCACCCTGTCTACCCAACTCCCGCCATCCACACCGACACACACCAATCCCAGACATACACCCAGGTGCCCA
AGTGGGAGACTTTTGTCATGGCTTTGATGTCAGGTAGACTTGGGGTCAAATCCTAGCCCAGCCACTGTCTCTCTCTG
TGACCTTGGGAAGTCACTTGACCTCCCAGCCTCTGTTTCCTTGTCTGGAAAATGGGGCTCATTGCATCACCTCCCTG
AGGGTAGTTCTAAGAACCAAATGGCATGATGCATTAAAATACTCATCTCAGTATTGCCTGAACCCAGGAAGCAGAGG
TTGCAGTGAGCCGAGATCGCGCCACTGCACTCTCAGTGACCGGCCCAGAGGCAGAGCTAATGGTGGTGGTGGTGGTG
GTGGTGGTGGTGGTGATATGCAGACATGTGTAAGAGCAGAGACAAAACAACTTCAGATTTTCCCTTTGTGGGCAAGA
CAAGGCTGTTACAAGATTTCACTTTGTTAAAAGTTTACAAGGGCTCTTACTTCCTGGTAGCTGCAGCCTGGGTCTTT
GGCTATAACCACTTGGTGGCAGCATACCCAACCACAGGCAATGCATTTGTAGGCAGGGGGAATAAAGGAATTCGCAT
TTAATGACTCCCCATATGCCAGGCCTTCTCATAGCTCCTGTTTCAGCTCACCTTCATGATAACCCTTTGAGTGAGGT
GGATATTATTATCCCCATTTTGCAGATGAGGAAAGCTGAGGCTCAGAGAGGAGTCACTTGTTCAAGGTCATATAGTA
AATATATGCCAGAATCAGGATTCAAATTCAGATCTGTCTGAATATGCAGCCCATTTGCTTTCCTGTTAACCCAAGAA
CCAAGAGTCTCATGTGTACAGTAAATGTAAATGGATTATATTTTGGCAGTGGCTTTTTTCCCTTCTTTCTGACTTTC

TTTAGCTCTGTATCTGTATCTTTCTCTCTCTTTCCTGTCTCTGCCTCTCACACCATTTAAGAGTGAGTCACTAAAGC
GCATGCACGTGTGTGCACACACACAGACACACACACAAACACACTATCCCCATGCAACCCAGTCACCAGTACCCTGT
GCAGTGTGGATTCCCCCATCCCCATGAATATTCCTGTGAGCATCCCAGCTTCCCACCCTGCACGACTTGCCAGGTTG
ATCACCCTGTGACATTATCTCTGCAGGGGAACCTCTTGAGAAAACATGGCAAGGGATTAGAAAAGGTAATGAGGGCC
TCGTCTCACTGAGGCCCTGAGCTCCAGTGTCTGGGCATGTGTGTGCATGTGTGTGCGTCTGTGCACCTGGGCAGGAA
GGGCAGCTGGGGGTCGTGGGTAGGAGATAGCTCTCCTAACCAAGTCCTGCAAAACCAGAAGTCAGAGATGAAGTGAT
TCTCCAGGGACAGAACGTGCAGTGTGTGTGTCCACATGTGAACTAATGTGTGTGCACAAACAGCTCCCATCCTCCCA
CAGCAATACCCACAGGGCTCATCTGAGCCCTGGGCTCAGCTGAAATTCTGTGCCTTCTTGAGGAGCCTACACGCTAG
ATCACCACCCTGGACTGAGACGTGTTGTTTTTTACGTAGATTTCTTTTTGTTGCTGTGCTAATGGGTGTTTGTTGTT
AAGGAGATGGGAGCTACAGCAACACGCAAGCAGCTGTCTTGCTGTACACTTGTGCAGAAGATATCGTTGTACATTTG
TGTCTACAAATGGAGTCTTAGCTTTGTGAATGTGGGTCACAGGGGTTCCGTACTCTCTCTGCCAGCCCTTTGCGGGG
CACATTCAGTGTCCCAGGCACCCTATATGTGGATGTGAATCCGTGTGGGGTCAAGAAGGGTGTGTGGGTTTTTGTGT
GTGATATAATTGTGTACGTGCCTGCAAGTGTTTAGGAGTGCACGTATGTAGTTTAGTGTATGGGTTCTTCAGCACTG
AGTGAACTTACAGTATATGTTAATATGTTTTTTGTAGACTTGGGTGCTGGGATATAGGGGCAGCCCCTTAGGGAATG
GAGGAGGAGACAGATTCCTAGCCCTGTCTCATCTCCCCACCTCCCCAGGTGCCCCATCCTGGGGCAGGCTGACTGTG
GGATGAGGCTGCTTCCAGCCTCCTGGGTACCCCGAGAGTGTGCTGGCAGTCAAGGAGTCTGACCTCTAAACCCCTGC
TAGGGGACCAGAGGAGGTGCTAGCTGGGGAGGGGGCCCACCATTAGACCCAGGACCTGGGGAGGAGCTCCTGGGCTG
GGAAGTGAGACTGTGCTTTGAGGGGGCAGGGAAGTCCCACTGAGTATCCTCCCAACAGTCACCAGAACTCTGACCTC
CACCTGATTCTCTCCACAGGGCAGGGTGAAATTGCCAAGCCACTCAGACGTAAGACCGGCCTCTCACTGTCTGTCTG
GCTCCCATCCCACTCCCCCCCACCCCACCCCTGTGCCCCCTTCCACCTCTGTGGTTCGTGCCGTCCGAGGGCGTACT
GTGAACCTGTCTGTTGGTCTCTTCTTCCTTTGTCTGTCTGGCTTGCTCGTGGGGGGTGGTGGGTGGGGGGTTGGTGG
GTAGGGCAGAGGGTACCCAGGAAGGCCCCTGAGCCCTGCCAGACTACAGGTGGGTGCAGCAGGGGAAACTGAGGCCC
AGTCCGCTGGACCCCTGAGTAACTGTGCCTTGTAAGAACCTCAGGATCACAGACAAGAAATAAGAATAGTAACAGCC
AAGATGATAATAGTAATACCTCTAGGAATGACCAGATGGCCAGCTGGTAGACTATGAACATAATTCCAAATATTTCC
ACAGTAAATGGGCCCCCTCCCCACCTAGCCTCACCCAGGACCCCCAGACCACCCCAGGACCCAGTAAGACAAGACTT
GTTACCTCAATACTCAGCCCCACCCTGTCCCCCAAGTTACCATGGGTATCCCTGTTAGCCACAGTGGGAATTGAGGC
TCAGAGCATTCAGGGACAAGCCTGGGGCCATCCAGCAGTGACAGAGGAGGCTAGACACATGCCTTCCAGGCTGGGAC
CCCGTCTCCCTTAGCATTGCCCGTGACTTTGAGACCAAGTGATAATTAGCGAACACTGAGCAAAGACTTGTTCAGTC
CAGACTAAGCCACAAAGTGGATATAATTTTCCTCATCTAGATGGGAAAACTGAGGCTCAGAGAGGTTAAGTGCCTTG
CCCAGGGCCACACAGCAGGACTGCAATTTGAACCCAGGCCCATCTGGCTTGTCAGAGCCATCACCACATCACCATCT
TGCTAGTGTCTGTTTGGGGGTGGGGTGGAGGACGGATATGGAGGTGTTTGTATAGAGGGAGGATTTTTCCTTTAAAA
GGTCAGACTGGCTGGCAATGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTAGGAGGATCGATTGAG
CCCAGGAATTCAAGACCAGCCTGGACAACACAACAAGACCCCATCTCTATGAAAAAAATTTCAAAAACTAGCTGGAT
ATGGTGGCTCACACGTGTAGTCCCAGCTACTGGGGAGGCGGGAGGATTGCTTGAGCCCAGGAGTTTGAGGCTGCAAT
GAGCTATGATCATGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGGGAGACTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAG
AAAAATCAGACTGAAATTCCTCCCAGATTACAGGGGAAATTTCCCTGCAGAGGGGATGCTCCTTGAGGAGGAGGAAG
TGTTTGACCAGAGCCATTTTCTGCAACCTCAGCCTAGCCTATTGTGTTCCCAAAGCTCCCTTTCCCTGGAAACCCTG
CCCACACCCACAAACACCACCGTCTGAGGCTCCCCCAACCCACTGCCCCTCACAGTCTGGTCCCTGTCTGTTTCTCC
TGTTACACAAGCCTGGGTGGGGCTGAGAGGGTGGGGGACTATCCTCACAGGACCGGGATTTTCAGGGACAAGGTCAC

CACATCCTCCTCAGTTCTTCCTGGGGAATTCCAGACCTCTGTCCCTGGGACACAATTATTGCCCTGCCCAGAGCCTT
TGGGCAAGAACCAAGATGGTCTCTGGGGCTGGAGTGTCAGCTGTAGCACCCCTGCCCTCACCCAGCTGTATGTTGTT
ACCTGCAGGGAACCCAGATGATCTTCAATGCAGCCAAGGAGCTGGGTCAGCTGTCCAAACTCAAGGTGAGGAGTGGG
GATAGATTATGGCGTGAGGGACTGCCCCCCAAACTCATGTGGCTTCCAGGTTGCCACCATCCTGGGGGAGGGGTCCC
AGGATGATGACATGCATTACAGGCTCAAAGGACAGAAACTCTACTCACTGAAGCACAAGATATTTGCTCCCCAGTGT
GTCAGAAAGATGTGAATGGTTCAGCTTCAGGTACAGCTTGATCAAGAGGGCAAGTCATTTATTCAACCAATATTTTT
TGAGCACCTGCTGTGTACCAGTCACATATTGGGTGCTGGGATGATGAAAACATAGACCCTCAGCCCAGCTCCTCCAA
GTTGAACAGGGATGAGACCCATAGACACAGATTCCAAAGGTGGAGCCCACTCCACCCACATGGCCCCTCTCCCCATC
CATCCAGGATCACATGGTACGAGAAGAAGCCAAGAGCTTGACCCCAAAGCAGTGCGCGGTTGTTGAGTTGGCCCTGG
ACACCATCAAGGTGAGAGGCCCTACCCCTCCCCATCCCAGGTGGGGGATGTAGAGGGTGTGGCTGCTGTGGTCATGG
ACTTAGGCTCGCCTCGGACCCACATTAATTTGTTCAATTTATGGACACTCCCTCGTTCCCCTGTCTGTGCCAGAGCT
GGGCTGGCTAATGCTGGAGCCTTAAGGAGCCCCAGGTCGGGGAAGACTGCTGGATACAGACATTCTCAGCCTTGTAG
GATTAGGCTTGGGGTAGAGGGAAGGATGTGGGCTGGGGGAGCCCAAAGAGTGAGAAGGTGTAGAGGGAAGGATGTAA
AGGACCTCGTGCCAGGCATTTCTTGAGGTGTAGAAGGGTAGAGGGAAGGATGGGGGCTGGGCGAGCCCAAGGTGGGA
GAAGCCAGGCCTTCCTGGAAGACGGCATGTGAGAGGTGGGTTCTGAGGAATGCATAGGAGTTCACTAGGCAAAGCAA
AGGAAGAGGTGAGAAAGTAGTAGCGGGAAGAATTGGGAGTGGGGACAGCAGGGCTACCCAGCCCTATGAGTGGGTAG
AGGTTCCCACCATCCTCACCTCTCCCCACCCTGTCCTCCCCAGCAATATTTCCACGCGGGTGGCGTGGGCCTCAAGA
AGACCTTCCTGGAGAAGAGCCCGGACCTGCAATCCTTGCGCTATGCCCTGTCGCTCTACACGCAGGCCACCGACCTG
CTAATCAAGACCTTTGTACAGACGCAATCGGCCCAGGGTAAGGGTACCCAGACCGCATCACCCTTTCCCGCTCCGCG
GAGACAGCCCCGCCCCAAGCCTGAACGGCTGCCATTGGCTCACTCCCCTGTGACGTCATGGATGGGGCGGAATTGAC
ATCTCTGCACCAAGTCCAGGGACCAATGAGCGATCAAAGGTTCATGGGGGCGGGGCCTCTGACGTCACAGGCCTGGA
GGTGATCGTCAACCCCTGGGAAAATCTGTGATGTCCTGGGGCCAGACAATGATTAACAGCTCTGGGATGGAATGTCT
TTGACATCAAGGACCAGGGTAGGATTGATGACTCTTAGGTGTGGAACCTGTGACGTCGTAGGGCCACAAGGTGATTG
TCATCTCCTGGGAAAATCAATGGTGTCCCAGGGCCAATGAATGATTGTCAGCTCCTGAGGGACCTGGACAGTCATGG
GTCCAGGGAATCGTTGACAGCTCTGGGAGACTTCAGGAGTGATTGACAGCTCAGGATGGGCAGGACCTCTGATGTCA
AGGGGTCAAGGAATGATTGGCAGGTCCATGGGTGGGAACTTTGACGTCATGGTCCCAGAGAGTGGTTGAACTCCCCT
GAGGAGGGACCTCTGTGATGTCATGGGGCTAAGGAATGATTGACAGCTCCGAGGGCGGGAGGGACCTCGACTTGGTG
GGGGAGGGTGGACGGAGAGGGAGTTCCCATTTCTCAAACTCTCTCTTTCTCTCTGTATTTTGCTTCGGTCTCCTGTC
CCTCTCTGAGCGCACACACACGGCAGCTGGGGCTGGATGGAGGGCAGGATTCCCTGGGGACCCCCCCTTTTCAAAAT
TGGTCCCGACAAGGGGAAGAAGTTTGGCGGCTTGAACTCAGGAGGGGGAGGGAGAATCGCCATCGACACCCAGCCTG
GGGCGAGGGGAGCAAAGCCCTGTGGCCTCCAACGGCCCCCTTCTCCCCCGATCCAGCCAGCCCAAGGGCCCTCCGTG
GGCGCTGGGTCTCTGAGCTCAGCTTCCCTTCCAGTCCTGGCTGCTTTTAGTGTCCCTGGTGTCCCTGGAGCAGGAGG
CTGTCTGTCTCTCCGTCTGTCTGCAGCTGACGTTTCTCTCTCTCTTGTTTTTCCTCCCTCTCACTCGCCGTCCCCTC
TCCGCGCCTCCCCTGCCCCCTCCACACACACTCCTCCATCCTCACCTCTCACTGGCTCGTCTCTCCCCGCTCCCCAT
GCTTCCCACCTCTCTCCCCCTTCCACCCCCACCCCCAATTAGTCCATGGTGGAAAAGGTACTAGGTTTACCCTTAGT
GAAGACATTTATCCTGAGAAGGGTACGTGCCTCCGCCTCCCGCCCGCCGCCCGCGCCTGGTGCCCGGTGCCTGCGCC
CCTCCTGGCCCCGGCTAGTAAAAGGATCGTCCTTCTGCCTCAAGGGCCTGCAGGGCCGCCGCCCAGGCCTGAGCGGC
TTGGAGGGCCCAGGCGGGTGAGGGGGAAGGACGATTTGCTGGTTCTACATGGGGAAGAAGCGATTCCAGTGGGAATC
CCAGAATCCATTTCTCCTGATATGACATATTTTTTAAGCCAGATCCTGGGACCCCGGGACAGGCACCTGTCAGGTTA

AGAGCTGGGCTCTGATTCCAGCCCAGCCACTCCACGGGTAGGCACCTTGGGCAAGAATCTGTCTCCCTGAGCCTCAG
TTTTCTCATCTGTAAAATGGGGACAGTCAAGGACCCTACTTCATAGGATTATTGTTATTGATATTATTATTTAGAGA
CAAGGTCTCCTTCTGTCACCTAGGCTGGAATGCAGTGGTGCAATCACTGCTCACTGCAGCCTCCCTCCTGTGCTCAA
GTGATCCTCCTGCCCCAGCCTCCCGAGGAGCTGGGACTACAGGCACACGTCACATGGCTAGCTAATTTTTAATTTTT
TTTGTAGAGAGGTGGCCTCACTTTGTTGCCCAGGCTGATCTCAGTGAATACTTATCAGGCTCTAAGGCTGAGCAGGA
CCTTGTGCCAGGCATTTCTTGAAGAATCTGTGTTTGGTTTTGTTGTTGTTTGAGACAGAGTCTCACTCTGTCAC
CCAGGCTGGAATGCAGTGGGGAAATCTCAGCTCACTGCAACCTCCGTCCGCCTCCTGGTTTCAAGCGATTCTTGTGC
CTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCCCGCACCACCACGCCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGG
GGTTTTGCCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACTCTTGGCCTCAAGTGGTCCACCCATCTTGGCCTCGGCCTTCCAA
AGTGCTAGGATGACAGGTGTAATCCCAGCGCCTGGCCATTTTGTTTTTAATTTGAGGCAGACGCTGTCACCCAGGCT
GGAGTGCAATGGCGAAATCTCAGGTCACTGCAGCCGCCACCTCCTGGGCTATGTTGCCCAGGCTGGTCTCGAACTCC
TGGCCTCAAATGATCCTCCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCTCCATGCCTAGCCTTCT
TGGGGAAACTGAAACAGATTTCTTTAACTGCCCCACGAGGGGTACATCATTCCACAGATGAGATACTGAGAGCCAAA
GGAGATTCAACCACTTGTCCGAGGAACCTTCCCCTGCAGGGGTCCCGGGACTTGGGGAGTGGGGAGTGGGGTTGGAA
GAAGCACTGAGAGGCCCAGGAAAGACCCTTCCCCGCGAAGCCAGCAAAGCACGGGATGGGGGCACCCAGCACTGCCT
CCCTCCCCCCTTCTTACTAGCTTTGGCCTTGGTCTGACCCCTCACCTGACCCACCACTGTCCAATTCCCCCTGGCAC
CCCCGGCACCCCAGTCTGGCCCGGATTGAGCTTGCTATGAAGCATCGGCCTGGGGGAGGGCGGGGCGGCTGAGCATG
TGACTGGTGGCGGGGGGTGGGGGTGGAATGGGAGCCTGAGGCAACAAGGAAGACGGCCTGGGGCGTGCAGCAAAGAC
CGGGGCCACATACCCCAGTACTGGGGTGATGGGGGTCTCCAGGCCCCTGTGCTCCCCAACCCTCAGTCACTTCCTGT
CCAGCGTGAGGTAACCCAATCAGCGTTTGACTGACCCAACCTCCCACCCTCACCTCTGACTTTCCCCTTCTTCTCCC
CGTGCATGGGGTGGTCCAGGAGTGGGGAGTTGCCTGGTGGGGGGTGGGGAGGGGTTGGTGGAGGTGCTGGCGGTCAC
AGGTCCACAGGCCCCACAGGATGCCCTTTTGAGTCACAGAAGGCGGGACCGGGAGAGATTCTTTTAAGCTGCCCCAT
CAGTGATCCCCATTGGCACCATGGAGGACACGGCTGGTGGCCCCAAACAGAAGCCCACCACACCATGATTCAAGCAG
ACAAGGGAACTTTTTGACTCCATAATGGAAAAATTAGGGGTTGAGGCCTGGCGCGGTGGTGCATGCCTGTAATCCCA
GCACTTTGGGAGGCCAAGTTGGGCGGATCACTTGAAGTCAGGAGTTTGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCC
CATCTCTACTAAAAATAACAAAAATTAGCCAGGCGTGTTGGTGGATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAG
GCAGGAGAATCGCTTTAACCTGGGAGGCGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATGGTGCCATTACACTCCAGCCTGGTGAC
ACAGCAAGACTCTATCTCAAAAACAAAAAAGAAGGCCAGGTGCGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGA
GGCCGAGGCGGGCAGATCACCAGGTCAAGAGATCGAGACCATCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCGTCTCAAAACTA
CAAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGTGTGCACCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAA
CCTGGGAGGCCGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATTTCGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCGACAAAGCAAGACTCCATCT
CAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAACTTAAGATTCTGCACTAGAAGGGAAATAGGGGTAAGGAAAA
TAAAAGATGCCGCTATGAGCTGTCACATCAGGAGGGATGAGGATTCTGGGCCAGGTGATGCAATGAGGTGACCTGTG
GGGCTGGGTCAGAGTTAACAAGGGCAAGAATGGGGTGAGTGGGGAGAGGTAATAGTAACCTATTGGAAAGGGCCACT
ATTGGAAGGGGTGTTGCAGGTCACAAAAACCACTTTGATTATCTCAGAGTGAGGTGGGAGCCATGGAAGAGTTTGGT
TTTGCTTTGTTTTGTTTTTTGAGACAGTCTTGCTCTGTCACCCAGACTGAAGTGCAGTGGCGGGATCATAGCTCACT
GCAGCCTCAACCAGCTGGGATTAAGCGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCTAGATAGCTGGGACTACAGGTGCATGCATC
ACCACACCTGGCTAATTTTCTTTTCTCTCTCTTTTTTTTTTGAGACAGGGTCTCTCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTG
CAGTGGTGCAATCTCAGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCCAGGTTCAAGTGATTCTCCTGTCTCAGCTTCCCAAGTAG

CTGGGATTACAGGCGTGCACTACCACACCCGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCGCCATGTTGGC
CAGGATGGGCTTGAACTCTTGACCTCAAGTTATCTGCCCACCTCAGCCTCCCAAAATGCTAGGATTACAAGCATGAG
CCTCCCAAAGTACTGGGGTTACAGGCATGAGCCACCACTGCCCGACCCATGGAAGAGTTTTGAGCAGAGGAGGGACA
TGATCTGACTTTTAAATGTTATTTATTTATTTTTTAATTTTCTGAGACAGGGTCTTGCTCTGTCACCCAGGTTGAAG
TGCAGTGGTGCGATCTCGTCTCACTGCAGCCTGGACCCTTCTGAGCTCAAGTGTTCCTCCCACCTCAGCCACCAGAG
TAGCTGGGGCTACAAGCACGCCCCACCATGGCCACTAATTTTTGTATTTATTGTAGAGATGGGGTTTTGCCATGTTG
CCCAGGCTAGTCTCAAACTCCTGAGCTCAAGTGAGTTTGCCTCACCCTCCCAAAATGCTGGGATTACAGCTGTGAGC
CACCGCGCCCTGCCGACATGATCTGACTTAATAGGATTTTTCTGGCTGGTATACTGAGAGTAGATGAAAGAGTGGAA
GGAAGACCAGCAAGGAGGCTACTGCAATAGTCCAGGCATGGGATGCTGGGGGCAGGTGTAGGATACAGGGAAAAGAC
ATGGCTCTGCTTCTGGATGTATTTTGAAGGTAGAGCTGGCAGGATTTTCCAGTTTATGGGCACCTAGGGAGGAAGTG
AAGACAAAGAAGAGTGTCAAATATTGAGGTGCAGGGTCAGTTTGAGGACCCACGGAGGAGAAAATGACAAAAGGGGG
TTGGAGGGAGTGACAACTATGTAGGATGAGAATCGAGTTGGTGACATTGTTGCAGCCAAGAGGACAAACAGCCACAG
GAGGCCAGGGTGCCAGATGCTGCCAAGATGTAATGTAACATGAAGACTGAATTTTGACAACATGGCAATCAATGGAA
TAAGAAAAAAGAAAAGAATTGCATTAGGCTCAGAGAGGTTAAGCAATCTACCCAAGATCACACAGCAAGGCAGTAAA
AGGCCAGAACCCAGGATTCTTGGCTTCCCAAGAGCACCTCCCATCCTGGCCCCCCATCAGTGCCTCCCTATCAGGGC
TGATGACCTGGTGCCGCCAGCACAGGTGGGTGGGAGGCCGTCAAGGTCCCTCCTGGTGGGTGGGAAAGAACAGAGCT
CACGCTGACCATCCTCCCCTGCCCTGCCCAGGCTTGGGTGTAGAAGACCCTGTGGGTGAAGTCTCTGTCCATGTTGA
GCTGTTCACTCATCCAGGAACTGGGGAACACAAGGTCACAGTGAAAGGTGAGTGGTCTGAGGTGGGAGGGACTTGCT
AGGTTCTAAAACAGAAACCAAACTCAAACTGGCTTAAGCAACACCCTTTTTTTGTTGTTGTTGTTTAATGGTCCATG
AAACGGAAACGTCCAAAGGTGGCCACCTTCAGGCATGGCTGGATCCAGCAGTGTAAACAGTTTTGTAAGACTGAATC
CCACTTTCTCCATCTCTCAGCCCTGCTTTCCTTTTCTTGGCTTTTGTTGACTAGAACACAGATTGGGCTGTTTTTGA
CATGGCTTAAATAAGACAGAATTAGGCCAGGCACGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAAGC
TGGCGGATCAGGCCAGGAGTTCAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTTTCTACTAAAAATTCAAAAAGTA
GCTGGGTGTGGTGGCGTGTGCTTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGGGAGGATCGCTTGAACCCGGGAGG
TGGAGTTTGCAGTGAGCTGAGATTGCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACTCCATGTAAACAAACA
AACAAAAATGATAGAATTGGTTTTTCTCTGGGATAACAGTTTAAGTAGCAACCAGCCTCGAGCTGATATGGAGGCTT
CGCAGTGTTGGTGATCTGTGCTGCTGCCATCTTTTGTTGCATTTTCATCCCTAATGTGTTGTTGTTGTTTGTTT
GTTTTAGAGGCCAGAGTCTCACTCTGTTGCCCAGGTTGGAGCGCTGTGGTGCAATCACAGCACACTGCAGCCTCAAA
CTCCTGGGCTCTAGCGATCCTCCTGCCTCAGCTTCCGGAGTCGCTGGGATTGCAGGCATGCAGCATCACACCTGGCT
ACTTTTTAAATTATATTTTTGTAGAGATGGTGTCTCACTATGGTATCCAGGCTGGTCTCAAACTCCTGGCCTCAAGC
AGTCCTCCCACCTGGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTCCAGACGTGAGCCACCATACCTGGACCCAAATGTGTTTTTC
CTCCACTATAGGGTCACAAAGAGCTCAGCCCCCACAAGCATTGCAGACTGCGGCTAGAGGAAGGAGAAAGTTTGGGG
TTCACTCCCTGCCTTTTAAGCCACAGTGGAGAAGTAGTACACGTGATTTTTTTCTCTCACCTCATTGGCCAAAACAT
AGTCATATGACCACACTTAGCTTCATGGCAATGCTGGGAAATGTAGTCTTTATTTCAGACAGGGTTTTTGGCGGCGG
GCGAGGGGTGGGGTGTTTTTATTTTTTATTTTTTTTAGACAGGATCTTGCTTTGTCACACAGGCTGGAGTGCAGTGG
CACAATCTCAGCTCACTGCAACTGCCGCCACCCAGGCTCAAGCAATCCTCCTGCTTTAGCCCCACAAGTATGTGGGA
CTACAGGCGCGTGCCACCACGCCCAGCTGATTTTTGTATTTTTCGTAGAGACAGGGTTTCACCATGTTGCCCAGGCT
GGTCTCAAACTCCTGGACTCAAGTGATCCACCCGCCTTGGCCTCCCGAAGTGGTGGGATTACAAGCGTGAGCCACTG
CGCCCAGCCTTGGGCAGGTTTTGAGAGCCACAAACATCTACTTTTTCCAACTGGGAGAACCTGACCTGTCTTACCCT

CTACTTCCTCCAACAGTGGTGGCTGCCAATGACCTCAAGTGGCAGACTTCTGGCATCTTCCGGCCGTTCATCGAGGT
CAACATCATTGGGCCCCAGCTCAGCGACAAGAAACGCAAGTTTGCGACCAAATCCAAGAACAATAGCTGGGCTCCCA
AGTACAATGAGAGCTTCCAGTTGTGAGTTTGGGATGCTTTGAAGAGCATGGGGGCAAGGGAGGGGGCATCCGCCAGG
TGAACCCCAAAGCCAGCTAGGCAGGAGGTATCTGGAATCTGGGCCCGGGAATGGGAGGGGCCACATTCTAGGTGGGG
GTGCTGGAAAGGGAGACCCCTTAGTAGTGCAGGAATGACATCAGGGAGGGGACACGAGGATGGAGGTCACCTTTGGG
GGCTGGCAGATCCAAGGGGAGGCAATGAGTAGAGTGGGGTAACTTCATGATGAAGACTTGCAGAGGGGAGGGAAAGT
CTGGGCAGGAAGTGCATGGTGGGCAGGGCCATTGCTGGGGCTGGAGACTCTGTCTGGTGAAGGAATGAGGGTGGCAG
TGATGACGCTTATGAGCGGGGGGCTGAGGGACCTGGGGACAGGACTGAGGTTGCATGGGGGTGGGGACTACTGGAGT
CTACATTGAGCCTTGTCAGGACCGTTGGGGCAGCCCATCTGGAGGAGTCGGCTCTGGGGACAGGAGTGGAGTGTAGA
TGGATCCCAGGCTTGGGGGTGGGTGTCACGTGGGGTGGAGGTGGGGTCACATTGGATGGAGGTTCTTGGAGTTGGGA
GTGGGCCTAGGCTGCGGGTATCAGGATAGGGTCTAGAGGATGCTGATGATGTGGACAGCATAAAAAAGTCTGCTCTG
GCCGAGTGTGGTGGCTCACACCTGTCATCCCAGCACTCTGGGACGCCGAGGCAGACAGATCACCTGAGGTCAGGAGT
TCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAAAAAAAAAAAAAATTAGCCGGGT
GTGGTGGCGCACGCCTGTGATCCCAGCTACTCGGGATGCTGAGGCAGAAGAATCGCTTGAGTCCGGGAGGCGGAGGG
TGCAGTGAGCCAAGATCGAGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCAACAAAAGCGAAACTCCACCTCAAAAAAAAAAAAAA
AGTCTGCTCTGGCCGAGCATGGTGGCTCACGCCTGTAAGCTCAACACTTTGGGAGGCCAAGGTGGGCAGATAACTTG
AGGCCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACTCCATCTCTATTAAAAATATAAAATATGGCTGGGTG
TGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCGGGCAGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGACCAT
CCTGGCTAACACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAACCTAGCCAGGCGTGGTGGCGGGCGCCTGTAGTC
CCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCCGGGAGGCAGAGCTTGCAGTGAGCCGAGATCGCACC
ACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGCAAGACTCCGTCTAAAAGAAATATATATTATATAATTATATATAAAATATG
TATTTATATTATATAATTATATATAAAATATGTATTTATATTATATTATATAATATATAATAAATATATATCATATA
AATATATTTTTATATATTATATATAAATATATATATATTTATATACATATATAATATATATTTATATTATATATAAA
ATTATATATAGTATATATTATATAGTATAAATAAAATTATATATAGTATATATTATATTATATATAAAAGTATATAT
ATTATATATTTCATATATTATATATTGTATATAATATAGTATATACAAAAAATATTAGCTGTGTGTTGTGGTGGGCG
CCTGTAATCCCAGCTACGCGGGAGGCTGAGACAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGTGGAGGCTGCAATGACCCAA
GATGGCGCTACTGCAGTCCAGCCTGGGCTACAGAGTGAGACTCAAAAAAATAAAAAATACAGAAATTAGCCGGGTGT
GGTGGCAGGCGCTTGTAATCCCAGCTACTCCAGAGGGTGAGGGGTACGAGAATCGCTTGAACCCAGGAGGCACAGGT
TGCAGTGAGCCATGATTGTACCACGGCACTCCAGCCTGGGCGACAGAGCAAGACTCTGCCTCAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAGTCTGTTCACGGGGGTAGATGGATGGTGGTGGTTAGCAAGGGTAGAGTTGGGGTCATCCGGGGTAGATCCT
TGGGTCGAGTGTCAGCCTCACAGAGCACTGGGGCAGGGCAATGTTGTTGGATGTTCTTAGGAGACAGAAGTGCAGAA
GAAAGTAGTCCCAGCTACCTGGGAGGCTGGGGCAGGAAGATCGCTTGAGCTCAGGAGTTTAAGGCTGCAATGAGCTA
TGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACCGACATAGCGAGACCCTGTCTTTAAAAAAACAAAAAACTATGGGC
CAGGCGCGGTGGCTGACGCTTGTAATTCCAACACTTTGGGAGGCCAAGGCAGTGGATCACCTGAGGTTAGGAGTTCG
AGACCAGCGTGGCCAACATGGTGAGACCCCCCCCCCCGCCACCCCCATCTGTACTAAAAACACAAAAAATCAGCCCG
GTGTGGTGGTGCATGCCTGTAATCCCAGCTACTAGGGAGGCTGAGGCAGAAGAATCGTTTGAACCCGGGAGACAGAG
GTTGCAGTGAGCCGCGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGGGAGATGCCCACTCAAAAAATAAAAAT
AAATAAAAATAAATAAAAATGCACAGGGGTAAGGGTAAATCAGAGCTGGTTAGCTGGTATTATCTAGGGGGCCTGGG
AGCTCTTATGGGACAAGATTGAAGCCAGTTCCATGTCGTGTCAGCACAGGGCTCTTGGTCAGAAGGTTTTGGGGCGA

TTGGCCCCTTTAGGGGATACTCAGGAGGAGAAGCATGGTCTAGTGGGAGGTCAGATGTCAGCCAGGGTGGGCCGGAG
TACTTCAGGGATAGAGGTACAACCTGGGAGGTGGACAAGAGGGAGAAGCTGGGCGTGACCCTGTAGGAGGGGCTCTT
ATCCAGCTGGCGTCAGGGCAGGTCACTGGGACTGCTTAGGGGCAGGAGCACAGGTGAGGGGCATGCGGGAGGCGGTG
TCACCCATGGTGAGGCACCAGGGCAGGCTCATGTCTGGAGGGCATCTTGGAAGTAAGAGGGGTGGGCTGGGGGTGTG
GGGGGCTGGGGAAAGGGCCACGTCGTGGGTCTAGAGGAGAGCCTGGTTAAAGAGCTTCTGGGTGGGACATTAGGGGC
AGGGCCGTGCGGGCAGCAGTTCAGCCGGCAGAGGGCACAGGCGCGGGTATCTCAGGGTGGGAGCATGGCCTTGCAGG
GCGGTGTCTGAGGGGCGGGAGCTGGATGTAAAACTATGCGGTCATTTTTCGGTGGGTGGAAAAATGGGAAGAACAGG
CGTGGGCGTGGCCCAGCTCGGGGTCAGCTGCTGTGGGCGCGGCCAAGCACAGGGTTGTAGGTCAAGTAACGGGGCAG
GGGCGGGGCTAGCGTAGCGTGGGAGGTGACAGGTGTGGGCACCCCGGTGTGGGCGTGGCCCGCAAATGCGGTGGGGA
CGGGGCCGTGGGCGGGGCATCACAGTAGGTGTGGCCTGTCTCACGTTCCGCCCCTCCCCACGCAGCACGCTGAGCGC
CGACGCGGGTCCCGAGTGCTATGAGCTGCAGGTGTGCGTCAAGGACTACTGCTTCGCGCGCGAGGACCGCACGGTGG
GGCTGGCCGTGCTGCAGCTGCGTGAGCTGGCCCAGCGCGGGAGCGCCGCCTGCTGGCTGCCGCTCGGCCGCCGCATC
CACATGGACGACACGGGCCTCACGGTGCTGCGAATCCTCTCGCAGCGCAGCAACGACGAGGTGGCCAAGGAGTTCGT
GAAGCTCAAGTCGGACACGCGCTCCGCCGAGGAGGGCGGTGCCGCGCCTGCGCCTTAGCGCGGGCGGTCGGCCGAGC
GGCACTGCGCCTGCGCGGAGGGCGCTGGGCGGGGAGGGACGGGGCTTGCGCCTTGGTGGGACCTCCCCAGGGGCGGG
GCTCGGGGGGCTCCACGCCAAGGGTGGGCTGCGCCTACGCCCTTGACTCAGCTTTCCCTTTTGGGGAATTAGGAATG
GAGGATGCCCCGCCCTCTCGGGAGGCCACGCCCAAGGGCGCGACGAAGGAAGGAGCCACATCCCCAACTTGAGGCCA
CGCCCCCAGCACCTAGGGGGCATTTTGAGCTGGGATGGGGGAAACCTCGTCCCTATGGAGGAGGCCACATCCCGGGG
CTCTGGTACCGGGAGGCACCACCTCATGTCCCCTGGAAAAGCCATAAGATGGGACCCAGACCCCTGGGACCCCAGAC
CAATTGCCAAGTATGGAAATCTCAGCTCCCTCGAGGGGGGGCCCTGGGCAAGGGGTAGGGCTCTCTGGAGCGCCCCT
CTAGGTGGCCTGGGGACTGGAGGGACCAGGATGCTGGTTGGAGGGCCCCGGAATACCGGAGTCCCTTTAGATATTTG
TGCAAAAAATAAATGGGGGGAGGGGGGAGGATGGGATTTCAAAAGCACATGCGCCCTTGGGCGCCCAAACCCTGGGG
GCCGAGGGGACGGCTCTGGTTCCCCACGCTGCCCCTACTTCCCTTTGGGAGTTTGCCTCTCCCTCTCCCCCAACAAA
CCCAGTCCTCATATCATAGAGTTCAACACACCCATTTGACAGATGGCAAAACTGAGGCTTAAAGAGCTGCTTGAGAC
TTGGCCAAGGTTCCAGGTGCCATACCCTCTGTGCCCCTCCCTTAGGCCTGTGTGCCCCATGGAAGGGTGGGCTGAGA
TCGGGATGACCTGACACAGCTCCCTATTGCTGCTAATTCCCCCTCGGCCTCCTCCAAGGGGTGGGAATTCCAGGCCA
AGACCCCTACTTCGCCTTTCCTTCTCCGGCTGCCAAGCAGGACCTTTGCCCTCAGCCCTTTCTCCTGGGATCTCCAT
GGGGGATGCCATGAGGGCCTCCCACCACAAAAGAGAATTTGGGATCCCCTGGTCCCAGGTTTCTCCATCCCTTCTTC
CTTTTCCAGAATTTTCCAAATAGGAAAGAACAGAAGGAGACCAGAAACTCTAGGGGGGAGAAAGAGAATGAGAGAAA
GAGAATGAGAGAGAGAGAAACACAAACACAGTGACACAGTGAGAGCTTAGTCTCCAAGAGCCTATTCATTGATTCAA
ACACCCAAGCCACAGGATACCTCAGATGGCCCTCTTGCCAGCTGGAAGCTCTTTCTCCAATGAGCAAAGTTACAGTG
ACCTGGCTGGAGTTACCTGGTGCACATAGGACCTTAGGGGAAAGTTCAGCGTGGACTACACTTGCTCTGGGATCTGC
TTTTCCACATGTGTGTATGGCACGCCTTTTTCTGCTGGATTGGGAAGGACAAGATTTTGCTGTGCTAGGGAGAAATG
AAAACGGGGTGAGCTGAGTAGCTGGGTTTCTGGAGGATAGAACATCAGATGGGGAGGCTTTCCGAGGTGAAGAATGA
GAGGGAACCACTTACTAGAGAGAAAAGAGCTCCAGGCCTGGGGAACAGCACGTGCGAAGGCCAGGAGAGAAGAACTG
TTGAAACAACGAGAAGGGTGGCACGGCTGGAGCTGAGCCAGCAAGGGGGATCGTGAGGAGCCTTGGGGTTGGGGAGA
TCTGCAGAAGCATCAGACCAGGCAGGGCCTCGTACGCAGTCCTGAGGAGTTTTACTTTTATTCTAAGACAGTTGGGG
AGCTCCAGGAGCTGTTTTAAGTTGGGGAGAGACTGGATTCCAGCCTGCAAAAGCTGTTTTGTGAAGACTAAAACCAG
TGAGGAGAGGTGGAGGTGCTTTGGGGACACTGAAATGGATTCTTGGAAAGATTCTGAAGGCTGTGTTGAAAAGACAC

CTATAGCTGTGGGGACATGACTATAATCCCAGCATTTGGGGAGACCGAGGCTGGCAGATCACTTAAGGTCAGGAGTT
TGAGACCAGCCTGGCCAACATGGCGAAACCCCATCTCTGCTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGCAGTGGTGCATG
CCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGACTGAGGCGGGAGAATTGTTTGAACCCTGGAGGCAGAGGTTGTAGTGAGTCGT
GATCACACAACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAACAATACTCCATTCCCTCCCCTCTACCCCACCAAAAAAAAAAA
AAAATCCTGCCCTTAGATGAGCTCTAGGGCTGCTGAGTACAGTTGTCCCAGTTGCACAGTGCCCAAGGGTTTGGCAT
TGCTAAGAAGGCCACGTGCAAATCCTAGATATTGAGTGTTGTATGTTTGTGACGTTGGTTTCCCGACATGTGAATGG
CCCAAGTGTCTGGAAGAAGTGGCGCCACTTTCTAATTTGCTTGGAGATGTTGCATGTCCCTTAAATTCAGACAGGTG
CAGGTAACTGGAGGTTCTGAACCAAAGGTTAAAATGCAAATTCTCATACAGGGTTGGGAAGTTGTAGCCAGGGATAA
GCTTATGTGACTGTTATATGGACTGAGGAGCAGATGTGAATTTCGAACCATGACATGGCTGAGGGTAGGGGTCGGGT
GGATGGATGATTCAGGGTTGTAACCCATAGAGCCCAAAGGGGAAGTGATCTGTGACCTGGGGTGAGGGTGATCTGGA
AGATTTTTGGATGGCTGGAAAGAAATGGGGAAGTCGAGCTGCCTGAGAGAGCCAAGTTATTTCCCAAAAGATTCCTT
AGGAGTCTTTCTGTTCAAGACCTCCGTGTGTGTGTGTGTGTGTTTAGGGTTCCCCAGCAATGGCCCAGGCATGTGAA
GGAAACAAGCTTCTTCAGGGAATATTTGTTGAATGAGTTTTCCTGACTCCCAGGCTAGAACTGTTTTTGCAATTTCC
ACCCTCTTTTCTTTCCCCCAGAGAACTCCTATTCGTCCTTCAAAACCCATCACGGAAACCCCTCTTGGAGAAAACCC
TCCTTCCTTCCCCTCAGGACTTTCCCAGCCACCGTCTCTCCTCCAGTCCAGCCTGATGCCATGGGACTGGGGGTTTC
TCTGTCCAGCTCTGTTTCTCCCAGACTGGGGTCTGAGGACTCTCAGGACCCCCAACTTTACCTAGCACAGGCTGGGC
ACAAGTGGGTGACAGGGAGTCTACGCCTAGTGGAATTATGTATTGGGGCAGGGTCAGTGTGAGAATACACATCCGCA
TGCATGTCTGTCCATGTCTGTCCGTACCAACCTTCCCCTTCCACACGGACCTGGGCACATAGGAGGTGTCTGAGCCT
GACACATGGGACAGAGAGTGGACATGGCTGAGACACGGACAGAGAAAAGACAAGGAGTCCAGGGGGCTGAAAGCCTT
TTGAAATCAGGAAGTTCCTGTATTGGCAGAACAAAGCCCAGAGAGGAGCAGGGCTTTCCTCAACGCCACCCAGCAAG
TGGACACAGAGCCCGGCCTTGGATGACACCTCCAGGGTTCTGAACCCTGGACCTCGCTTTATGCAAGGAGCTGGCCC
CACATTTCCATGAATCGGGGAAACAGCACAAGAAGGTTGGCCTGTGGCAGGGCAAGGGTTAAAGGGGTGACATTGAG
GGATGCCTCAGAGTCAAAGTCCCCTGACCAAGAGGAATAGAGTAGAAAACACAGAGACAGAGGGTGAGATCACGCCC
CGATGAGGACGGAGAGAGACAGAGATGGAGAGAGACATAGAGGTGGAAATATACAGAGAAAGATAAATGCAGAGACC
AAGGCAGGGAGTGTCGGGGGAAGTAAAGAGGGTGTCCTGAAGAAAGAAGGATCTGTTCACTCTTACCAGTCTGTCCT
CGAATGATTTGCATAAAATGAGGAGGTGCCTGTCCACACCCCCAATTCCTCTCTCAGGCCCCAGAGCCTGAGACCTC
ACCATGCCCCCATCAGAGATGCAAAAAACTAAACACCCAACTAGAAATCCTTGGGACCTCTCTCGGCTGGGATCTCA
GAGCCTTTCTGTCCCCTACCCCTACCCCATGTGCTGTCGATTTTGCAGATGGGGACAACCTGGGGCCTCCCGGAACT
CTGCCACCCTGGGGAAGTTGGGGGAGGGCCTTAGTCCCGGATCACAACCCCGTCTGCTCCCCAGAATCCTTTCCTAA
GAATCGTTGAGGACCAAAGTTGTCTTTGCTGACACGTGTTGCTTTTCTCTTTGCCTTTTATTGTTTCAGAGAAAAAT
CAAGTTGACTGTGTCAAGTAACACCCCACCCCTTACCCCCGTCCAGCCATAGTGGCTCTCTGGAGACACAGGTCACA
GGCGGAGGGTCCCCTGATCATCCCCAACCACACAGCCAGGGGGACTTGACCCCTGTCCACCCCTGTCTCGTGCTCCC
TCAGACCCCCACAAACCGGCCAAGCAGTCCGGGGAGGCTTCCCCTCCACACAACTCTTAGCATGTGATTGCAGATGT
GAAATCAAAACGTTGTTTGTTTTTTGTTTTGTTTTGATTCTACCCCGTCGGTCCAGTGTCTGCACAGACGCCTTCAT
TTCTCTGTAAATATGTGACTTGGAACAAATGTTTAACACAAACGAGAAGTGGTCATGAATGCATGGTGTTGAGATGT
TTTGCACTATTCTGACTTTTTGGTCTCTGTAAAAATATTTTATTAACAGCAGACATTAAAAAAAGAAAAACCACACA
CAGCCTTGGACACGTGGTTGCCTCCTCCTTGCATTCCTTTATCAGCAAAAAAACAAAAACAAAAACCTCACGTACGA
TTAGCACCTACTAGGTAGGCGCAGACTCAGTAGAACACACTGCTTGCCCATGAACGCGGCTCATCCGCAACTGGAGT
CATCCCCATTTTACAGAGAAGGAAACTGAAGTACAGAGAGACAAGATCTTGCTCAGATCACATAGCCAGGAAGAGAT

GGAGCTGGGACTTGAACTCAGAACATTTGCAACCATTGCTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGAAGTCTCTGTTGCCC
AGGCTGGAATGCAGTGGTGCAATCTCAGCTCACTGCAATCTCCACCTCCCAGATTCAAGCGATTCTCCTGCCTTAGC
CTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGCGCCCGCCACCTTGCCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGATAGGATTTC
ACCATGTTGGCCAGGCTGGTCGCGAACCCCTGACCTCAGGTGATCCACTCCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTA
CAGGCGTGAGCCACCGCACCCGGCCATCTGTTGCCCTTAAGGAAGTTAAGATACAAACACTAGGAATACATGCCCTT
AATTCAACCCACACCCCCATGCTTGTTTGGTTTTGTTGGGTTTTTTGGGATCTTCTTGTTTGTTTGTTTTTGAGACA
GGGTCTTGCTCTGTCACCCAGGATGGAGTTCAGTGTCACAATCTCAACTCACTGCATCCTCAACCTCCCAGGCTCAG
GTGATCCTCCCACCTCAGCCTCCTGAGTAGTGTGCACCACCACACCTGGCTAATTTGTGTATTTTTTGTAGTGATAG
GATGTCGCCATGTTGCCCAGACTGCTCTCGAACTCCTCACTTTGGGCAATCCTCTCTCCTCAGCCCTCCAAAGTGTT
GGGATTACAGGCGTGAGCCACTGTGCCTGGCCATGTCTGTTTTAAATGTAGCAGCTGGGGCCAGGCGCAGTGGCTCA
CGCCTGTAATCCCAGCACTTTAGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCACGAGGTCAGGAGATCGAGACCATCCTGGCTAAC
ACGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAGTACCAAAAATTAGCCGGGCACGGTGGCAGGCACCTGTAGTTCCAGCTACT
CGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGTGTGAACTGGGGAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCCAAGATCACGCCACTGCATTC
CAGCCTGGGTGACGGAGCGAGACTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAGTAGCAGCTGGGAATCTCATTTCA
TAAACTCAGATGTGTGAGGAATGAAACTCCATTTTCCAACAGCTGAATTTAATTTCTGTTTTGAGTCTCCATCCCAC
GAGGAAGCAGAAATGGAATCTCATTCAGCCCAGTTTCCTCGGTAAATTCCGAAATTCCCCTCCTTATGTCTGGGGTT
ATTTCTACATTTGAGCGGACAGGACGGGAGCTGCGGGATCCACCACCAGGAGTGGGTTCAGTGAGTGCTTTTGGTTG
CAAGTAACAGACAGCAGGACTAAAAGTGGGGCCAGAAAGTGGCTTACACCAGGAGTTATCCAGCACGCAGCAATCCC
GCTCCTGGGGGACTTTTCTCCTTTGAGAAACTTGCACGTGGGGGTGTGGTATCTTCTCAAAGAATAGCATATAGCTG
GGAAAAGGGGACAAACCGCAGCTGTCTGCATGATGTCTGCAGAGGCAGCCTGCAGGTCCTTGAGTGCCCCTGCTCAT
TAGCTGTTTCTGTACCCAAGTGCATAGGCTACGCACTGTGACTGATGTGGATCTATTTGCCCCTCGCTACAAAAGGG
TCTCAAGTCTTGTCCTTCAGTGTGTGGGACCCATCGTGTTACCAATGGGGCTTGGGGACTGAGGCTCAAGACTGCTT
GCTGGGAAATGTAACCCCTTTGTTCTGGACAGGTAGAAGGAGAGGAGAATGGTCATCCAGGCCTAATGTAAAGTTTC
TGCAACCC

(SEQ ID NO:5064(SOURCE NCBI参考序列NG_052872.1))。

[0180] 在各种实施方案中,UNC13A转录本是前体mRNA UNC13A转录本。在各种实施方案中,UNC13A前体mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5065所示的序列。NCBI参考序列NC_000019.10Reference GRCh38.p13的Primary Assembly是SEQ ID NO:5065。

具有隐蔽外显子的UNC13A转录本

[0181] 在一些实施方案中,UNC13A AON靶向包含隐蔽外显子序列的UNC13A转录本的区域,该UNC13A mRNA转录本包含如SEQ ID NO:5206所示的序列。

TTCTGCCACCATGGGAGAGAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGTCAGAGGTCCCAGGG
TCTGGGGCAGCTTACATCATCCATCTGCCTGTTTATTCATTAATTCATTCATCTACTCTTTTATCCATCCACACACC
CACCCATCTAACTACCCCAAATTTCACCCATCCACTCTTCCAACCTTTCAGTAATTCAACCACACATCCATCCATCC
ATCCATTCATCCATCCCATACATTGATCCGCAACTTAATCCACCTACCCAATCATTCATTCTTTCATACAACCAACC
ATCCATCCACCCATCAATTTATCCAACCATCCATTTTTCGTCTGTCCACCAGCCACTCACAACCATCCATCTAAATA
TTCAGAAATTATGAACCCAATTATCAATACTTGCAATAGTTCAACCACACATCCTTCCATTCATCCACCCACCCATT
CATCCATTTGTCCATCTGCCTATCATCCATCCATCCATCCATCTACCTATCTACCCATCTGACTATCAACAAA
TTCACCTATCTACTCAATCTTCCTTCTAATAACTCAACCACACTTCCATCCATCCCATCCAATACAACTTAATCTGC

TCATCCAACATTTCATCTATCCACCCAGTCAATCATCTATCCAGCAATCTATCTATCCACTCATCAAGTTATCCATC
CATCATTCATCTATACTCATCCATCATCTAACAATTACCCCCAAATTCACCCATCCATACATCTATACTTTCAATAG
TTCAATCATATATCCATCCATCTGTCCATCCATCCATCATCCATCTAGCCACGAATCTACCCACCAACTCATCCATC
TATCCATCCATGTACTCACCCATCTCTCCATCCATCCTTTTATCTACTCATCACTCATTCATCTGTTCAATCATTCA
TTCATTCACCAGCATTTATTCAACAAACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAG
AGACATACCCAGACACAAACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGAAGGAAGAACCTGATGATGAGTAGT
GAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGACCCTGAATCTGGACTTTGATGGATAGGGAGGAG
TTTTCCAGGTAAAGGGAATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGG
AAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAAGTGGCATGGGAGGGGCCGAGCAATGACCCTCAC

(SEQ ID NO:5206)其中下划线＝TDP-43结合位点。

[0182] 在一些实施方案中,UNC13A mRNA转录本内的隐蔽外显子序列如SEQ ID NO:5207所示。

CCATCTCTCCATCCATCCTTTTATCTACTCATCACTCATTCATCTGTTCAATCATTCATTCATTCACCA
GCATTTATTCAACAAACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAGAGACATACCCA
GACACAAACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGG

(SEQ ID NO:5207)。

[0183] 在一些实施方案中,UNC13A mRNA转录本内的隐蔽外显子序列如SEQ ID NO:5208所示。

CCATCTCTCCATCCATCCTTTTATCTACTCATCACTCATTCATCTGTTCAATCATTCATTCATTCACCA
GCATTTATTCAACAAACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG

(SEQ ID NO:5208)。

UNC13A转录本的UNC13A寡核苷酸靶向区域

[0184] 在各种实施方案中,本文公开的UNC13A AON与UNC13A转录本的特定区域(例如,UNC13A前体mRNA)互补,该特定区域包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中的任一项具有至少90％(例如,90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％)同一性的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域互补的序列,该特定区域包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中的任一项具有至少90％(例如,90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％)同一性的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域至少85％互补的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域至少86％、至少87％、至少88％、至少89％、至少90％、至少91％、至少92％、至少93％、至少94％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％、至少99％或至少100％互补的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域90％至99％互补的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域90％至95％互补的序列。在一些实施方案中,UNC13A AON包含与UNC13A转录本的特定区域95％至99％互补的序列。

[0185] 在一些实施方案中,UNC13A AON(例如,UNC13A AON)具有含有至多7个连接核苷的区段。在一些实施方案中,UNC13A AON具有含有至多6、5、4、3或2个连接核苷的区段。UNC13A_AON的区段可以通过间隔区与UNC13A_AON的其他区段分开。UNC13AAON的区段与UNC13A转录本的特定区域(例如,UNC13A转录本)互补,该特定区域包含与SEQ ID NO:5057-

5063中的任一项或由SEQ ID NO:5064或5065或SEQ ID NO:5206-5208转录的UNC13A前体mRNA转录本具有至少90％(例如,90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％)同一性的序列。

UNC13A寡核苷酸变体

[0186] 在各种实施方案中,UNC13A AON包括不同的变体,下文称为UNC13A AON变体。UNC13A AON变体可以是长度为5至100个核碱基的寡核苷酸序列,例如,长度为10至40个核碱基,例如,长度为14至40个核碱基,长度为10至30个核碱基,例如,长度为14至30个核碱基,例如,长度为16至28个核碱基,例如,长度为19至23个核碱基,例如,长度为21至23个核碱基,例如,或长度为18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核碱基。UNC13A AON变体可以是与UNC13A前体mRNA序列或UNC13A基因序列的一部分互补的寡核苷酸序列。

[0187] 在各种实施方案中,UNC13A AON变体代表相应的UNC13A亲本寡核苷酸的修饰版本,其包括选自SEQ ID NO:1-1264中的任一项的核碱基序列。在一些实施方案中,UNC13AAON变体包括代表选自SEQ ID NO:1-1264中任一项的UNC13A AON的核碱基序列的缩短版本的核碱基序列。作为一个示例,如果UNC13A亲本寡核苷酸包括25mer(例如,长度为25个寡核苷酸单元),则变体(例如,UNC13A变体)可包括25mer UNC13A亲本寡核苷酸的较短版本(例如,15mer、16mer、17mer、18mer、19mer、20mer、21mer或23mer)。在一个实施方案中,UNC13A AON变体的核碱基序列与UNC13A亲本寡核苷酸的相应核碱基序列的不同之处在于,从UNC13A亲本寡核苷酸的核碱基序列的3'和5'末端中的一个或两个去除1、2、3、4、5或6个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括23mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端之一去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括23mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'和5'末端中的每一个去除一个核苷酸碱基。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括21mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'和5'末端中的每一个去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括21mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除四个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括20mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除三个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括20mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除三个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括20mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除5个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括19mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'和5'末端的每一个去除三个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括19mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除四个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括19mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除四个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括19mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除六个寡核苷酸单元。

[0188] 在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括18mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除五个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括18mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除五个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括18mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除一个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除六个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括18mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除六个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除一个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括18mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除七个寡核苷酸单元。

[0189] 在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括17mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除六个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括17mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除六个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括17mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除八个寡核苷酸单元。

[0190] 在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括16mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除七个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括16mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除七个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括16mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除九个寡核苷酸单元。

[0191] 在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括15mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除两个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除八个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括15mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'末端去除八个寡核苷酸单元,并且从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的5'末端去除两个寡核苷酸单元。在一个实施方案中,相应的UNC13A AON变体可包括15mer,其中从UNC13A亲本寡核苷酸中包括的25mer的3'或5'末端去除十个寡核苷酸单元。下表2A和表2B示出了UNC13A AON变体的示例序列。

表2A.示例UNC13A寡核苷酸变体序列

SEQ ID NO:	AON序列* (5'→3')	SEQ ID NO:	靶序列 (5'→3')
2529	GGAGGGGCCGAGCAATGACCCTC	3793	GAGGGTCATTGCTCGGCCCCTCC
2530	GGGAGGGGCCGAGCAATGACCCT	3794	AGGGTCATTGCTCGGCCCCTCCC
2531	TGGGAGGGGCCGAGCAATGACCC	3795	GGGTCATTGCTCGGCCCCTCCCA

2532	ATGGGAGGGGCCGAGCAATGACC	3796	GGTCATTGCTCGGCCCCTCCCAT
2533	CATGGGAGGGGCCGAGCAATGAC	3797	GTCATTGCTCGGCCCCTCCCATG
2534	GCATGGGAGGGGCCGAGCAATGA	3798	TCATTGCTCGGCCCCTCCCATGC
2535	GGCATGGGAGGGGCCGAGCAATG	3799	CATTGCTCGGCCCCTCCCATGCC
2536	TGGCATGGGAGGGGCCGAGCAAT	3800	ATTGCTCGGCCCCTCCCATGCCA
2537	GTGGCATGGGAGGGGCCGAGCAA	3801	TTGCTCGGCCCCTCCCATGCCAC
2538	AGTGGCATGGGAGGGGCCGAGCA	3802	TGCTCGGCCCCTCCCATGCCACT
2539	AAGTGGCATGGGAGGGGCCGAGC	3803	GCTCGGCCCCTCCCATGCCACTT
2540	GAAGTGGCATGGGAGGGGCCGAG	3804	CTCGGCCCCTCCCATGCCACTTC
2541	GGAAGTGGCATGGGAGGGGCCGA	3805	TCGGCCCCTCCCATGCCACTTCC
2542	TGGAAGTGGCATGGGAGGGGCCG	3806	CGGCCCCTCCCATGCCACTTCCA
2543	GTGGAAGTGGCATGGGAGGGGCC	3807	GGCCCCTCCCATGCCACTTCCAC
2544	AGTGGAAGTGGCATGGGAGGGGC	3808	GCCCCTCCCATGCCACTTCCACT
2545	GAGTGGAAGTGGCATGGGAGGGG	3809	CCCCTCCCATGCCACTTCCACTC
2546	TGAGTGGAAGTGGCATGGGAGGG	3810	CCCTCCCATGCCACTTCCACTCA
2547	GTGAGTGGAAGTGGCATGGGAGG	3811	CCTCCCATGCCACTTCCACTCAC
2548	GGTGAGTGGAAGTGGCATGGGAG	3812	CTCCCATGCCACTTCCACTCACC
2549	TGGTGAGTGGAAGTGGCATGGGA	3813	TCCCATGCCACTTCCACTCACCA
2550	ATGGTGAGTGGAAGTGGCATGGG	3814	CCCATGCCACTTCCACTCACCAT
2551	AATGGTGAGTGGAAGTGGCATGG	3815	CCATGCCACTTCCACTCACCATT
2552	GAATGGTGAGTGGAAGTGGCATG	3816	CATGCCACTTCCACTCACCATTC
2553	GGAATGGTGAGTGGAAGTGGCAT	3817	ATGCCACTTCCACTCACCATTCC
2554	AGGAATGGTGAGTGGAAGTGGCA	3818	TGCCACTTCCACTCACCATTCCT
2555	CAGGAATGGTGAGTGGAAGTGGC	3819	GCCACTTCCACTCACCATTCCTG
2556	GCAGGAATGGTGAGTGGAAGTGG	3820	CCACTTCCACTCACCATTCCTGC
2557	GGCAGGAATGGTGAGTGGAAGTG	3821	CACTTCCACTCACCATTCCTGCC
2558	AGGCAGGAATGGTGAGTGGAAGT	3822	ACTTCCACTCACCATTCCTGCCT
2559	CAGGCAGGAATGGTGAGTGGAAG	3823	CTTCCACTCACCATTCCTGCCTG
2560	GCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAA	3824	TTCCACTCACCATTCCTGCCTGC
2561	GGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGA	3825	TCCACTCACCATTCCTGCCTGCC
2562	GGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGG	3826	CCACTCACCATTCCTGCCTGCCC
2563	TGGGCAGGCAGGAATGGTGAGTG	3827	CACTCACCATTCCTGCCTGCCCA
2564	CTGGGCAGGCAGGAATGGTGAGT	3828	ACTCACCATTCCTGCCTGCCCAG
2565	GCTGGGCAGGCAGGAATGGTGAG	3829	CTCACCATTCCTGCCTGCCCAGC
2566	AGCTGGGCAGGCAGGAATGGTGA	3830	TCACCATTCCTGCCTGCCCAGCT
2567	GAGCTGGGCAGGCAGGAATGGTG	3831	CACCATTCCTGCCTGCCCAGCTC
2568	AGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGT	3832	ACCATTCCTGCCTGCCCAGCTCT
2569	AAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGG	3833	CCATTCCTGCCTGCCCAGCTCTT
2570	GAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATG	3834	CATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTC
2571	GGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAAT	3835	ATTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCC
2572	AGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGAA	3836	TTCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCT
2573	GAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGGA	3837	TCCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTC
2574	AGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAGG	3838	CCTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCT

2575	AAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCAG	3839	CTGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTT
2576	AAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGCA	3840	TGCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTT
2577	GAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGGC	3841	GCCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTC
2578	AGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAGG	3842	CCTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCT
2579	CAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCAG	3843	CTGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTG
2580	CCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGCA	3844	TGCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGG
2581	GCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGGC	3845	GCCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGC
2582	GGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGGG	3846	CCCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCC
2583	TGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTGG	3847	CCAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCA
2584	GTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCTG	3848	CAGCTCTTCCTCTTTCTGGCCAC
2585	TGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGCT	3849	AGCTCTTCCTCTTTCTGGCCACA
2586	GTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAGC	3850	GCTCTTCCTCTTTCTGGCCACAC
2587	GGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGAG	3851	CTCTTCCTCTTTCTGGCCACACC
2588	TGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAGA	3852	TCTTCCTCTTTCTGGCCACACCA
2589	ATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAAG	3853	CTTCCTCTTTCTGGCCACACCAT
2590	GATGGTGTGGCCAGAAAGAGGAA	3854	TTCCTCTTTCTGGCCACACCATC
2591	GGATGGTGTGGCCAGAAAGAGGA	3855	TCCTCTTTCTGGCCACACCATCC
2592	TGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGG	3856	CCTCTTTCTGGCCACACCATCCA
2593	GTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAG	3857	CTCTTTCTGGCCACACCATCCAC
2594	TGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGA	3858	TCTTTCTGGCCACACCATCCACA
2595	GTGTGGATGGTGTGGCCAGAAAG	3859	CTTTCTGGCCACACCATCCACAC
2596	AGTGTGGATGGTGTGGCCAGAAA	3860	TTTCTGGCCACACCATCCACACT
2597	GAGTGTGGATGGTGTGGCCAGAA	3861	TTCTGGCCACACCATCCACACTC
2598	AGAGTGTGGATGGTGTGGCCAGA	3862	TCTGGCCACACCATCCACACTCT
2599	GAGAGTGTGGATGGTGTGGCCAG	3863	CTGGCCACACCATCCACACTCTC
2600	GGAGAGTGTGGATGGTGTGGCCA	3864	TGGCCACACCATCCACACTCTCC
2601	AGGAGAGTGTGGATGGTGTGGCC	3865	GGCCACACCATCCACACTCTCCT
2602	CAGGAGAGTGTGGATGGTGTGGC	3866	GCCACACCATCCACACTCTCCTG
2603	CCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGG	3867	CCACACCATCCACACTCTCCTGG
2604	GCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTG	3868	CACACCATCCACACTCTCCTGGC
2605	GGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGT	3869	ACACCATCCACACTCTCCTGGCC
2606	GGGCCAGGAGAGTGTGGATGGTG	3870	CACCATCCACACTCTCCTGGCCC
2607	AGGGCCAGGAGAGTGTGGATGGT	3871	ACCATCCACACTCTCCTGGCCCT
2608	GAGGGCCAGGAGAGTGTGGATGG	3872	CCATCCACACTCTCCTGGCCCTC
2609	AGAGGGCCAGGAGAGTGTGGATG	3873	CATCCACACTCTCCTGGCCCTCT
2610	CAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGAT	3874	ATCCACACTCTCCTGGCCCTCTG
2611	TCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGGA	3875	TCCACACTCTCCTGGCCCTCTGA
2612	CTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTGG	3876	CCACACTCTCCTGGCCCTCTGAG
2613	TCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGTG	3877	CACACTCTCCTGGCCCTCTGAGA
2614	GTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTGT	3878	ACACTCTCCTGGCCCTCTGAGAC
2615	AGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGTG	3879	CACTCTCCTGGCCCTCTGAGACT
2616	CAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAGT	3880	ACTCTCCTGGCCCTCTGAGACTG
2617	GCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGAG	3881	CTCTCCTGGCCCTCTGAGACTGC

2618	GGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAGA	3882	TCTCCTGGCCCTCTGAGACTGCC
2619	GGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGAG	3883	CTCCTGGCCCTCTGAGACTGCCC
2620	CGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGGA	3884	TCCTGGCCCTCTGAGACTGCCCG
2621	GCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAGG	3885	CCTGGCCCTCTGAGACTGCCCGC
2622	GGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCAG	3886	CTGGCCCTCTGAGACTGCCCGCC
2623	TGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCCA	3887	TGGCCCTCTGAGACTGCCCGCCA
2624	ATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGCC	3888	GGCCCTCTGAGACTGCCCGCCAT
2625	CATGGCGGGCAGTCTCAGAGGGC	3889	GCCCTCTGAGACTGCCCGCCATG
2626	GCATGGCGGGCAGTCTCAGAGGG	3890	CCCTCTGAGACTGCCCGCCATGC
2627	GGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGG	3891	CCTCTGAGACTGCCCGCCATGCC
2628	TGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAG	3892	CTCTGAGACTGCCCGCCATGCCA
2629	ATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGA	3893	TCTGAGACTGCCCGCCATGCCAT
2630	AATGGCATGGCGGGCAGTCTCAG	3894	CTGAGACTGCCCGCCATGCCATT
2631	GAATGGCATGGCGGGCAGTCTCA	3895	TGAGACTGCCCGCCATGCCATTC
2632	GGAATGGCATGGCGGGCAGTCTC	3896	GAGACTGCCCGCCATGCCATTCC
2633	GGGAATGGCATGGCGGGCAGTCT	3897	AGACTGCCCGCCATGCCATTCCC
2634	AGGGAATGGCATGGCGGGCAGTC	3898	GACTGCCCGCCATGCCATTCCCT
2635	AAGGGAATGGCATGGCGGGCAGT	3899	ACTGCCCGCCATGCCATTCCCTT
2636	AAAGGGAATGGCATGGCGGGCAG	3900	CTGCCCGCCATGCCATTCCCTTT
2637	TAAAGGGAATGGCATGGCGGGCA	3901	TGCCCGCCATGCCATTCCCTTTA
2638	GTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	3902	GCCCGCCATGCCATTCCCTTTAC
2639	GGTAAAGGGAATGGCATGGCGGG	3903	CCCGCCATGCCATTCCCTTTACC
2640	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGG	3904	CCGCCATGCCATTCCCTTTACCT
2641	CAGGTAAAGGGAATGGCATGGCG	3905	CGCCATGCCATTCCCTTTACCTG
2642	CCAGGTAAAGGGAATGGCATGGC	3906	GCCATGCCATTCCCTTTACCTGG
2643	TCCAGGTAAAGGGAATGGCATGG	3907	CCATGCCATTCCCTTTACCTGGA
2644	TTCCAGGTAAAGGGAATGGCATG	3908	CATGCCATTCCCTTTACCTGGAA
2645	TTTCCAGGTAAAGGGAATGGCAT	3909	ATGCCATTCCCTTTACCTGGAAA
2646	TTTTCCAGGTAAAGGGAATGGCA	3910	TGCCATTCCCTTTACCTGGAAAA
2647	GTTTTCCAGGTAAAGGGAATGGC	3911	GCCATTCCCTTTACCTGGAAAAC
2648	AGTTTTCCAGGTAAAGGGAATGG	3912	CCATTCCCTTTACCTGGAAAACT
2649	GAGTTTTCCAGGTAAAGGGAATG	3913	CATTCCCTTTACCTGGAAAACTC
2650	GGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAAT	3914	ATTCCCTTTACCTGGAAAACTCC
2651	AGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGAA	3915	TTCCCTTTACCTGGAAAACTCCT
2652	GAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGGA	3916	TCCCTTTACCTGGAAAACTCCTC
2653	GGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGG	3917	CCCTTTACCTGGAAAACTCCTCC
2654	GGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGG	3918	CCTTTACCTGGAAAACTCCTCCC
2655	AGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAG	3919	CTTTACCTGGAAAACTCCTCCCT
2656	TAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAA	3920	TTTACCTGGAAAACTCCTCCCTA
2657	ATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTAA	3921	TTACCTGGAAAACTCCTCCCTAT
2658	GATAGGGAGGAGTTTTCCAGGTA	3922	TACCTGGAAAACTCCTCCCTATC
2659	GGATAGGGAGGAGTTTTCCAGGT	3923	ACCTGGAAAACTCCTCCCTATCC
2660	TGGATAGGGAGGAGTTTTCCAGG	3924	CCTGGAAAACTCCTCCCTATCCA

2661	ATGGATAGGGAGGAGTTTTCCAG	3925	CTGGAAAACTCCTCCCTATCCAT
2662	GATGGATAGGGAGGAGTTTTCCA	3926	TGGAAAACTCCTCCCTATCCATC
2663	TGATGGATAGGGAGGAGTTTTCC	3927	GGAAAACTCCTCCCTATCCATCA
2664	TTGATGGATAGGGAGGAGTTTTC	3928	GAAAACTCCTCCCTATCCATCAA
2665	TTTGATGGATAGGGAGGAGTTTT	3929	AAAACTCCTCCCTATCCATCAAA
2666	CTTTGATGGATAGGGAGGAGTTT	3930	AAACTCCTCCCTATCCATCAAAG
2667	ACTTTGATGGATAGGGAGGAGTT	3931	AACTCCTCCCTATCCATCAAAGT
2668	GACTTTGATGGATAGGGAGGAGT	3932	ACTCCTCCCTATCCATCAAAGTC
2669	GGACTTTGATGGATAGGGAGGAG	3933	CTCCTCCCTATCCATCAAAGTCC
2670	TGGACTTTGATGGATAGGGAGGA	3934	TCCTCCCTATCCATCAAAGTCCA
2671	CTGGACTTTGATGGATAGGGAGG	3935	CCTCCCTATCCATCAAAGTCCAG
2672	TCTGGACTTTGATGGATAGGGAG	3936	CTCCCTATCCATCAAAGTCCAGA
2673	ATCTGGACTTTGATGGATAGGGA	3937	TCCCTATCCATCAAAGTCCAGAT
2674	AATCTGGACTTTGATGGATAGGG	3938	CCCTATCCATCAAAGTCCAGATT
2675	GAATCTGGACTTTGATGGATAGG	3939	CCTATCCATCAAAGTCCAGATTC
2676	TGAATCTGGACTTTGATGGATAG	3940	CTATCCATCAAAGTCCAGATTCA
2677	CTGAATCTGGACTTTGATGGATA	3941	TATCCATCAAAGTCCAGATTCAG
2678	CCTGAATCTGGACTTTGATGGAT	3942	ATCCATCAAAGTCCAGATTCAGG
2679	CCCTGAATCTGGACTTTGATGGA	3943	TCCATCAAAGTCCAGATTCAGGG
2680	ACCCTGAATCTGGACTTTGATGG	3944	CCATCAAAGTCCAGATTCAGGGT
2681	GACCCTGAATCTGGACTTTGATG	3945	CATCAAAGTCCAGATTCAGGGTC
2682	TGACCCTGAATCTGGACTTTGAT	3946	ATCAAAGTCCAGATTCAGGGTCA
2683	GTGACCCTGAATCTGGACTTTGA	3947	TCAAAGTCCAGATTCAGGGTCAC
2684	GGTGACCCTGAATCTGGACTTTG	3948	CAAAGTCCAGATTCAGGGTCACC
2685	AGGTGACCCTGAATCTGGACTTT	3949	AAAGTCCAGATTCAGGGTCACCT
2686	GAGGTGACCCTGAATCTGGACTT	3950	AAGTCCAGATTCAGGGTCACCTC
2687	GGAGGTGACCCTGAATCTGGACT	3951	AGTCCAGATTCAGGGTCACCTCC
2688	AGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	3952	GTCCAGATTCAGGGTCACCTCCT
2689	GAGGAGGTGACCCTGAATCTGGA	3953	TCCAGATTCAGGGTCACCTCCTC
2690	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGG	3954	CCAGATTCAGGGTCACCTCCTCT
2691	CAGAGGAGGTGACCCTGAATCTG	3955	CAGATTCAGGGTCACCTCCTCTG
2692	CCAGAGGAGGTGACCCTGAATCT	3956	AGATTCAGGGTCACCTCCTCTGG
2693	CCCAGAGGAGGTGACCCTGAATC	3957	GATTCAGGGTCACCTCCTCTGGG
2694	TCCCAGAGGAGGTGACCCTGAAT	3958	ATTCAGGGTCACCTCCTCTGGGA
2695	TTCCCAGAGGAGGTGACCCTGAA	3959	TTCAGGGTCACCTCCTCTGGGAA
2696	CTTCCCAGAGGAGGTGACCCTGA	3960	TCAGGGTCACCTCCTCTGGGAAG
2697	GCTTCCCAGAGGAGGTGACCCTG	3961	CAGGGTCACCTCCTCTGGGAAGC
2698	GGCTTCCCAGAGGAGGTGACCCT	3962	AGGGTCACCTCCTCTGGGAAGCC
2699	GGGCTTCCCAGAGGAGGTGACCC	3963	GGGTCACCTCCTCTGGGAAGCCC
2700	TGGGCTTCCCAGAGGAGGTGACC	3964	GGTCACCTCCTCTGGGAAGCCCA
2701	GTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGAC	3965	GTCACCTCCTCTGGGAAGCCCAC
2702	GGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTGA	3966	TCACCTCCTCTGGGAAGCCCACC
2703	AGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGTG	3967	CACCTCCTCTGGGAAGCCCACCT

2704	AAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGGT	3968	ACCTCCTCTGGGAAGCCCACCTT
2705	CAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAGG	3969	CCTCCTCTGGGAAGCCCACCTTG
2706	CCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGAG	3970	CTCCTCTGGGAAGCCCACCTTGG
2707	GCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGGA	3971	TCCTCTGGGAAGCCCACCTTGGC
2708	GGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAGG	3972	CCTCTGGGAAGCCCACCTTGGCC
2709	AGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGAG	3973	CTCTGGGAAGCCCACCTTGGCCT
2710	GAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAGA	3974	TCTGGGAAGCCCACCTTGGCCTC
2711	GGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCAG	3975	CTGGGAAGCCCACCTTGGCCTCC
2712	TGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCCA	3976	TGGGAAGCCCACCTTGGCCTCCA
2713	CTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCCC	3977	GGGAAGCCCACCTTGGCCTCCAG
2714	CCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTCC	3978	GGAAGCCCACCTTGGCCTCCAGG
2715	ACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTTC	3979	GAAGCCCACCTTGGCCTCCAGGT
2716	AACCTGGAGGCCAAGGTGGGCTT	3980	AAGCCCACCTTGGCCTCCAGGTT
2717	CAACCTGGAGGCCAAGGTGGGCT	3981	AGCCCACCTTGGCCTCCAGGTTG
2718	TCAACCTGGAGGCCAAGGTGGGC	3982	GCCCACCTTGGCCTCCAGGTTGA
2719	GTCAACCTGGAGGCCAAGGTGGG	3983	CCCACCTTGGCCTCCAGGTTGAC
2720	AGTCAACCTGGAGGCCAAGGTGG	3984	CCACCTTGGCCTCCAGGTTGACT
2721	GAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTG	3985	CACCTTGGCCTCCAGGTTGACTC
2722	AGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGT	3986	ACCTTGGCCTCCAGGTTGACTCT
2723	GAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGG	3987	CCTTGGCCTCCAGGTTGACTCTC
2724	TGAGAGTCAACCTGGAGGCCAAG	3988	CTTGGCCTCCAGGTTGACTCTCA
2725	GTGAGAGTCAACCTGGAGGCCAA	3989	TTGGCCTCCAGGTTGACTCTCAC
2726	AGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCA	3990	TGGCCTCCAGGTTGACTCTCACT
2727	TAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCC	3991	GGCCTCCAGGTTGACTCTCACTA
2728	GTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGC	3992	GCCTCCAGGTTGACTCTCACTAC
2729	AGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGG	3993	CCTCCAGGTTGACTCTCACTACT
2730	GAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAG	3994	CTCCAGGTTGACTCTCACTACTC
2731	TGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGA	3995	TCCAGGTTGACTCTCACTACTCA
2732	ATGAGTAGTGAGAGTCAACCTGG	3996	CCAGGTTGACTCTCACTACTCAT
2733	GATGAGTAGTGAGAGTCAACCTG	3997	CAGGTTGACTCTCACTACTCATC
2734	TGATGAGTAGTGAGAGTCAACCT	3998	AGGTTGACTCTCACTACTCATCA
2735	ATGATGAGTAGTGAGAGTCAACC	3999	GGTTGACTCTCACTACTCATCAT
2736	GATGATGAGTAGTGAGAGTCAAC	4000	GTTGACTCTCACTACTCATCATC
2737	TGATGATGAGTAGTGAGAGTCAA	4001	TTGACTCTCACTACTCATCATCA
2738	CTGATGATGAGTAGTGAGAGTCA	4002	TGACTCTCACTACTCATCATCAG
2739	CCTGATGATGAGTAGTGAGAGTC	4003	GACTCTCACTACTCATCATCAGG
2740	ACCTGATGATGAGTAGTGAGAGT	4004	ACTCTCACTACTCATCATCAGGT
2741	AACCTGATGATGAGTAGTGAGAG	4005	CTCTCACTACTCATCATCAGGTT
2742	GAACCTGATGATGAGTAGTGAGA	4006	TCTCACTACTCATCATCAGGTTC
2743	AGAACCTGATGATGAGTAGTGAG	4007	CTCACTACTCATCATCAGGTTCT
2744	AAGAACCTGATGATGAGTAGTGA	4008	TCACTACTCATCATCAGGTTCTT
2745	GAAGAACCTGATGATGAGTAGTG	4009	CACTACTCATCATCAGGTTCTTC
2746	GGAAGAACCTGATGATGAGTAGT	4010	ACTACTCATCATCAGGTTCTTCC

2747	AGGAAGAACCTGATGATGAGTAG	4011	CTACTCATCATCAGGTTCTTCCT
2748	AAGGAAGAACCTGATGATGAGTA	4012	TACTCATCATCAGGTTCTTCCTT
2749	GAAGGAAGAACCTGATGATGAGT	4013	ACTCATCATCAGGTTCTTCCTTC
2750	AGAAGGAAGAACCTGATGATGAG	4014	CTCATCATCAGGTTCTTCCTTCT
2751	TAGAAGGAAGAACCTGATGATGA	4015	TCATCATCAGGTTCTTCCTTCTA
2752	ATAGAAGGAAGAACCTGATGATG	4016	CATCATCAGGTTCTTCCTTCTAT
2753	AATAGAAGGAAGAACCTGATGAT	4017	ATCATCAGGTTCTTCCTTCTATT
2754	GAATAGAAGGAAGAACCTGATGA	4018	TCATCAGGTTCTTCCTTCTATTC
2755	GGAATAGAAGGAAGAACCTGATG	4019	CATCAGGTTCTTCCTTCTATTCC
2756	TGGAATAGAAGGAAGAACCTGAT	4020	ATCAGGTTCTTCCTTCTATTCCA
2757	CTGGAATAGAAGGAAGAACCTGA	4021	TCAGGTTCTTCCTTCTATTCCAG
2758	GCTGGAATAGAAGGAAGAACCTG	4022	CAGGTTCTTCCTTCTATTCCAGC
2759	GGCTGGAATAGAAGGAAGAACCT	4023	AGGTTCTTCCTTCTATTCCAGCC
2760	GGGCTGGAATAGAAGGAAGAACC	4024	GGTTCTTCCTTCTATTCCAGCCC
2761	AGGGCTGGAATAGAAGGAAGAAC	4025	GTTCTTCCTTCTATTCCAGCCCT
2762	TAGGGCTGGAATAGAAGGAAGAA	4026	TTCTTCCTTCTATTCCAGCCCTA
2763	TTAGGGCTGGAATAGAAGGAAGA	4027	TCTTCCTTCTATTCCAGCCCTAA
2764	GTTAGGGCTGGAATAGAAGGAAG	4028	CTTCCTTCTATTCCAGCCCTAAC
2765	GGTTAGGGCTGGAATAGAAGGAA	4029	TTCCTTCTATTCCAGCCCTAACC
2766	TGGTTAGGGCTGGAATAGAAGGA	4030	TCCTTCTATTCCAGCCCTAACCA
2767	GTGGTTAGGGCTGGAATAGAAGG	4031	CCTTCTATTCCAGCCCTAACCAC
2768	AGTGGTTAGGGCTGGAATAGAAG	4032	CTTCTATTCCAGCCCTAACCACT
2769	GAGTGGTTAGGGCTGGAATAGAA	4033	TTCTATTCCAGCCCTAACCACTC
2770	TGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGA	4034	TCTATTCCAGCCCTAACCACTCA
2771	CTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAG	4035	CTATTCCAGCCCTAACCACTCAG
2772	CCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATA	4036	TATTCCAGCCCTAACCACTCAGG
2773	TCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAAT	4037	ATTCCAGCCCTAACCACTCAGGA
2774	ATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAA	4038	TTCCAGCCCTAACCACTCAGGAT
2775	AATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGA	4039	TCCAGCCCTAACCACTCAGGATT
2776	CAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGG	4040	CCAGCCCTAACCACTCAGGATTG
2777	CCAATCCTGAGTGGTTAGGGCTG	4041	CAGCCCTAACCACTCAGGATTGG
2778	CCCAATCCTGAGTGGTTAGGGCT	4042	AGCCCTAACCACTCAGGATTGGG
2779	GCCCAATCCTGAGTGGTTAGGGC	4043	GCCCTAACCACTCAGGATTGGGC
2780	GGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGG	4044	CCCTAACCACTCAGGATTGGGCC
2781	CGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGG	4045	CCTAACCACTCAGGATTGGGCCG
2782	ACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAG	4046	CTAACCACTCAGGATTGGGCCGT
2783	AACGGCCCAATCCTGAGTGGTTA	4047	TAACCACTCAGGATTGGGCCGTT
2784	AAACGGCCCAATCCTGAGTGGTT	4048	AACCACTCAGGATTGGGCCGTTT
2785	CAAACGGCCCAATCCTGAGTGGT	4049	ACCACTCAGGATTGGGCCGTTTG
2786	ACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	4050	CCACTCAGGATTGGGCCGTTTGT
2787	CACAAACGGCCCAATCCTGAGTG	4051	CACTCAGGATTGGGCCGTTTGTG
2788	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGT	4052	ACTCAGGATTGGGCCGTTTGTGT
2789	GACACAAACGGCCCAATCCTGAG	4053	CTCAGGATTGGGCCGTTTGTGTC

2790	AGACACAAACGGCCCAATCCTGA	4054	TCAGGATTGGGCCGTTTGTGTCT
2791	CAGACACAAACGGCCCAATCCTG	4055	CAGGATTGGGCCGTTTGTGTCTG
2792	CCAGACACAAACGGCCCAATCCT	4056	AGGATTGGGCCGTTTGTGTCTGG
2793	CCCAGACACAAACGGCCCAATCC	4057	GGATTGGGCCGTTTGTGTCTGGG
2794	ACCCAGACACAAACGGCCCAATC	4058	GATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGT
2795	TACCCAGACACAAACGGCCCAAT	4059	ATTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTA
2796	ATACCCAGACACAAACGGCCCAA	4060	TTGGGCCGTTTGTGTCTGGGTAT
2797	CATACCCAGACACAAACGGCCCA	4061	TGGGCCGTTTGTGTCTGGGTATG
2798	ACATACCCAGACACAAACGGCCC	4062	GGGCCGTTTGTGTCTGGGTATGT
2799	GACATACCCAGACACAAACGGCC	4063	GGCCGTTTGTGTCTGGGTATGTC
2800	AGACATACCCAGACACAAACGGC	4064	GCCGTTTGTGTCTGGGTATGTCT
2801	GAGACATACCCAGACACAAACGG	4065	CCGTTTGTGTCTGGGTATGTCTC
2802	AGAGACATACCCAGACACAAACG	4066	CGTTTGTGTCTGGGTATGTCTCT
2803	AAGAGACATACCCAGACACAAAC	4067	GTTTGTGTCTGGGTATGTCTCTT
2804	GAAGAGACATACCCAGACACAAA	4068	TTTGTGTCTGGGTATGTCTCTTC
2805	GGAAGAGACATACCCAGACACAA	4069	TTGTGTCTGGGTATGTCTCTTCC
2806	TGGAAGAGACATACCCAGACACA	4070	TGTGTCTGGGTATGTCTCTTCCA
2807	CTGGAAGAGACATACCCAGACAC	4071	GTGTCTGGGTATGTCTCTTCCAG
2808	GCTGGAAGAGACATACCCAGACA	4072	TGTCTGGGTATGTCTCTTCCAGC
2809	AGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	4073	GTCTGGGTATGTCTCTTCCAGCT
2810	CAGCTGGAAGAGACATACCCAGA	4074	TCTGGGTATGTCTCTTCCAGCTG
2811	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAG	4075	CTGGGTATGTCTCTTCCAGCTGC
2812	GGCAGCTGGAAGAGACATACCCA	4076	TGGGTATGTCTCTTCCAGCTGCC
2813	AGGCAGCTGGAAGAGACATACCC	4077	GGGTATGTCTCTTCCAGCTGCCT
2814	CAGGCAGCTGGAAGAGACATACC	4078	GGTATGTCTCTTCCAGCTGCCTG
2815	CCAGGCAGCTGGAAGAGACATAC	4079	GTATGTCTCTTCCAGCTGCCTGG
2816	CCCAGGCAGCTGGAAGAGACATA	4080	TATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGG
2817	ACCCAGGCAGCTGGAAGAGACAT	4081	ATGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGT
2818	AACCCAGGCAGCTGGAAGAGACA	4082	TGTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTT
2819	AAACCCAGGCAGCTGGAAGAGAC	4083	GTCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTT
2820	GAAACCCAGGCAGCTGGAAGAGA	4084	TCTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTC
2821	GGAAACCCAGGCAGCTGGAAGAG	4085	CTCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCC
2822	AGGAAACCCAGGCAGCTGGAAGA	4086	TCTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCT
2823	CAGGAAACCCAGGCAGCTGGAAG	4087	CTTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTG
2824	CCAGGAAACCCAGGCAGCTGGAA	4088	TTCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGG
2825	TCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGA	4089	TCCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGA
2826	TTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGG	4090	CCAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAA
2827	TTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG	4091	CAGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAA
2828	CTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCT	4092	AGCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAG
2829	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	4093	GCTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGA
2830	TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG	4094	CTGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAA
2831	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	4095	TGCCTGGGTTTCCTGGAAAGAAC
2832	AGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGC	4096	GCCTGGGTTTCCTGGAAAGAACT

2833	GAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGG	4097	CCTGGGTTTCCTGGAAAGAACTC
2834	AGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAG	4098	CTGGGTTTCCTGGAAAGAACTCT
2835	AAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCA	4099	TGGGTTTCCTGGAAAGAACTCTT
2836	TAAGAGTTCTTTCCAGGAAACCC	4100	GGGTTTCCTGGAAAGAACTCTTA
2837	ATAAGAGTTCTTTCCAGGAAACC	4101	GGTTTCCTGGAAAGAACTCTTAT
2838	GATAAGAGTTCTTTCCAGGAAAC	4102	GTTTCCTGGAAAGAACTCTTATC
2839	GGATAAGAGTTCTTTCCAGGAAA	4103	TTTCCTGGAAAGAACTCTTATCC
2840	GGGATAAGAGTTCTTTCCAGGAA	4104	TTCCTGGAAAGAACTCTTATCCC
2841	GGGGATAAGAGTTCTTTCCAGGA	4105	TCCTGGAAAGAACTCTTATCCCC
2842	TGGGGATAAGAGTTCTTTCCAGG	4106	CCTGGAAAGAACTCTTATCCCCA
2843	CTGGGGATAAGAGTTCTTTCCAG	4107	CTGGAAAGAACTCTTATCCCCAG
2844	CCTGGGGATAAGAGTTCTTTCCA	4108	TGGAAAGAACTCTTATCCCCAGG
2845	TCCTGGGGATAAGAGTTCTTTCC	4109	GGAAAGAACTCTTATCCCCAGGA
2846	TTCCTGGGGATAAGAGTTCTTTC	4110	GAAAGAACTCTTATCCCCAGGAA
2847	GTTCCTGGGGATAAGAGTTCTTT	4111	AAAGAACTCTTATCCCCAGGAAC
2848	AGTTCCTGGGGATAAGAGTTCTT	4112	AAGAACTCTTATCCCCAGGAACT
2849	TAGTTCCTGGGGATAAGAGTTCT	4113	AGAACTCTTATCCCCAGGAACTA
2850	CTAGTTCCTGGGGATAAGAGTTC	4114	GAACTCTTATCCCCAGGAACTAG
2851	ACTAGTTCCTGGGGATAAGAGTT	4115	AACTCTTATCCCCAGGAACTAGT
2852	AACTAGTTCCTGGGGATAAGAGT	4116	ACTCTTATCCCCAGGAACTAGTT
2853	AAACTAGTTCCTGGGGATAAGAG	4117	CTCTTATCCCCAGGAACTAGTTT
2854	CAAACTAGTTCCTGGGGATAAGA	4118	TCTTATCCCCAGGAACTAGTTTG
2855	ACAAACTAGTTCCTGGGGATAAG	4119	CTTATCCCCAGGAACTAGTTTGT
2856	AACAAACTAGTTCCTGGGGATAA	4120	TTATCCCCAGGAACTAGTTTGTT
2857	CAACAAACTAGTTCCTGGGGATA	4121	TATCCCCAGGAACTAGTTTGTTG
2858	TCAACAAACTAGTTCCTGGGGAT	4122	ATCCCCAGGAACTAGTTTGTTGA
2859	TTCAACAAACTAGTTCCTGGGGA	4123	TCCCCAGGAACTAGTTTGTTGAA
2860	ATTCAACAAACTAGTTCCTGGGG	4124	CCCCAGGAACTAGTTTGTTGAAT
2861	TATTCAACAAACTAGTTCCTGGG	4125	CCCAGGAACTAGTTTGTTGAATA
2862	TTATTCAACAAACTAGTTCCTGG	4126	CCAGGAACTAGTTTGTTGAATAA
2863	TTTATTCAACAAACTAGTTCCTG	4127	CAGGAACTAGTTTGTTGAATAAA
2864	ATTTATTCAACAAACTAGTTCCT	4128	AGGAACTAGTTTGTTGAATAAAT
2865	CATTTATTCAACAAACTAGTTCC	4129	GGAACTAGTTTGTTGAATAAATG
2866	GCATTTATTCAACAAACTAGTTC	4130	GAACTAGTTTGTTGAATAAATGC
2867	AGCATTTATTCAACAAACTAGTT	4131	AACTAGTTTGTTGAATAAATGCT
2868	CAGCATTTATTCAACAAACTAGT	4132	ACTAGTTTGTTGAATAAATGCTG
2869	CCAGCATTTATTCAACAAACTAG	4133	CTAGTTTGTTGAATAAATGCTGG
2870	ACCAGCATTTATTCAACAAACTA	4134	TAGTTTGTTGAATAAATGCTGGT
2871	CACCAGCATTTATTCAACAAACT	4135	AGTTTGTTGAATAAATGCTGGTG
2872	TCACCAGCATTTATTCAACAAAC	4136	GTTTGTTGAATAAATGCTGGTGA
2873	TTCACCAGCATTTATTCAACAAA	4137	TTTGTTGAATAAATGCTGGTGAA
2874	ATTCACCAGCATTTATTCAACAA	4138	TTGTTGAATAAATGCTGGTGAAT
2875	CATTCACCAGCATTTATTCAACA	4139	TGTTGAATAAATGCTGGTGAATG

2876	TCATTCACCAGCATTTATTCAAC	4140	GTTGAATAAATGCTGGTGAATGA
2877	TTCATTCACCAGCATTTATTCAA	4141	TTGAATAAATGCTGGTGAATGAA
2878	ATTCATTCACCAGCATTTATTCA	4142	TGAATAAATGCTGGTGAATGAAT
2879	CATTCATTCACCAGCATTTATTC	4143	GAATAAATGCTGGTGAATGAATG
2880	TCATTCATTCACCAGCATTTATT	4144	AATAAATGCTGGTGAATGAATGA
2881	TTCATTCATTCACCAGCATTTAT	4145	ATAAATGCTGGTGAATGAATGAA
2882	ATTCATTCATTCACCAGCATTTA	4146	TAAATGCTGGTGAATGAATGAAT
2883	CATTCATTCATTCACCAGCATTT	4147	AAATGCTGGTGAATGAATGAATG
2884	TCATTCATTCATTCACCAGCATT	4148	AATGCTGGTGAATGAATGAATGA
2885	ATCATTCATTCATTCACCAGCAT	4149	ATGCTGGTGAATGAATGAATGAT
2886	AATCATTCATTCATTCACCAGCA	4150	TGCTGGTGAATGAATGAATGATT
2887	CAATCATTCATTCATTCACCAGC	4151	GCTGGTGAATGAATGAATGATTG
2888	TCAATCATTCATTCATTCACCAG	4152	CTGGTGAATGAATGAATGATTGA
2889	TTCAATCATTCATTCATTCACCA	4153	TGGTGAATGAATGAATGATTGAA
2890	GTTCAATCATTCATTCATTCACC	4154	GGTGAATGAATGAATGATTGAAC
2891	TGTTCAATCATTCATTCATTCAC	4155	GTGAATGAATGAATGATTGAACA
2892	CTGTTCAATCATTCATTCATTCA	4156	TGAATGAATGAATGATTGAACAG
2893	TCTGTTCAATCATTCATTCATTC	4157	GAATGAATGAATGATTGAACAGA
2894	ATCTGTTCAATCATTCATTCATT	4158	AATGAATGAATGATTGAACAGAT
2895	CATCTGTTCAATCATTCATTCAT	4159	ATGAATGAATGATTGAACAGATG
2896	TCATCTGTTCAATCATTCATTCA	4160	TGAATGAATGATTGAACAGATGA
2897	TTCATCTGTTCAATCATTCATTC	4161	GAATGAATGATTGAACAGATGAA
2898	ATTCATCTGTTCAATCATTCATT	4162	AATGAATGATTGAACAGATGAAT
2899	CATTCATCTGTTCAATCATTCAT	4163	ATGAATGATTGAACAGATGAATG
2900	TCATTCATCTGTTCAATCATTCA	4164	TGAATGATTGAACAGATGAATGA
2901	CTCATTCATCTGTTCAATCATTC	4165	GAATGATTGAACAGATGAATGAG
2902	ACTCATTCATCTGTTCAATCATT	4166	AATGATTGAACAGATGAATGAGT
2903	CACTCATTCATCTGTTCAATCAT	4167	ATGATTGAACAGATGAATGAGTG
2904	TCACTCATTCATCTGTTCAATCA	4168	TGATTGAACAGATGAATGAGTGA
2905	ATCACTCATTCATCTGTTCAATC	4169	GATTGAACAGATGAATGAGTGAT
2906	CATCACTCATTCATCTGTTCAAT	4170	ATTGAACAGATGAATGAGTGATG
2907	TCATCACTCATTCATCTGTTCAA	4171	TTGAACAGATGAATGAGTGATGA
2908	CTCATCACTCATTCATCTGTTCA	4172	TGAACAGATGAATGAGTGATGAG
2909	ACTCATCACTCATTCATCTGTTC	4173	GAACAGATGAATGAGTGATGAGT
2910	TACTCATCACTCATTCATCTGTT	4174	AACAGATGAATGAGTGATGAGTA
2911	CTACTCATCACTCATTCATCTGT	4175	ACAGATGAATGAGTGATGAGTAG
2912	TCTACTCATCACTCATTCATCTG	4176	CAGATGAATGAGTGATGAGTAGA
2913	ATCTACTCATCACTCATTCATCT	4177	AGATGAATGAGTGATGAGTAGAT
2914	TATCTACTCATCACTCATTCATC	4178	GATGAATGAGTGATGAGTAGATA
2915	TTATCTACTCATCACTCATTCAT	4179	ATGAATGAGTGATGAGTAGATAA
2916	TTTATCTACTCATCACTCATTCA	4180	TGAATGAGTGATGAGTAGATAAA
2917	TTTTATCTACTCATCACTCATTC	4181	GAATGAGTGATGAGTAGATAAAA
2918	CTTTTATCTACTCATCACTCATT	4182	AATGAGTGATGAGTAGATAAAAG

2919	CCTTTTATCTACTCATCACTCAT	4183	ATGAGTGATGAGTAGATAAAAGG
2920	TCCTTTTATCTACTCATCACTCA	4184	TGAGTGATGAGTAGATAAAAGGA
2921	ATCCTTTTATCTACTCATCACTC	4185	GAGTGATGAGTAGATAAAAGGAT
2922	CATCCTTTTATCTACTCATCACT	4186	AGTGATGAGTAGATAAAAGGATG
2923	CCATCCTTTTATCTACTCATCAC	4187	GTGATGAGTAGATAAAAGGATGG
2924	TCCATCCTTTTATCTACTCATCA	4188	TGATGAGTAGATAAAAGGATGGA
2925	ATCCATCCTTTTATCTACTCATC	4189	GATGAGTAGATAAAAGGATGGAT
2926	CATCCATCCTTTTATCTACTCAT	4190	ATGAGTAGATAAAAGGATGGATG
2927	CCATCCATCCTTTTATCTACTCA	4191	TGAGTAGATAAAAGGATGGATGG
2928	TCCATCCATCCTTTTATCTACTC	4192	GAGTAGATAAAAGGATGGATGGA
2929	CTCCATCCATCCTTTTATCTACT	4193	AGTAGATAAAAGGATGGATGGAG
2930	TCTCCATCCATCCTTTTATCTAC	4194	GTAGATAAAAGGATGGATGGAGA
2931	CTCTCCATCCATCCTTTTATCTA	4195	TAGATAAAAGGATGGATGGAGAG
2932	TCTCTCCATCCATCCTTTTATCT	4196	AGATAAAAGGATGGATGGAGAGA
2933	ATCTCTCCATCCATCCTTTTATC	4197	GATAAAAGGATGGATGGAGAGAT
2934	CATCTCTCCATCCATCCTTTTAT	4198	ATAAAAGGATGGATGGAGAGATG
2935	CCATCTCTCCATCCATCCTTTTA	4199	TAAAAGGATGGATGGAGAGATGG
2936	CCCATCTCTCCATCCATCCTTTT	4200	AAAAGGATGGATGGAGAGATGGG
2937	ACCCATCTCTCCATCCATCCTTT	4201	AAAGGATGGATGGAGAGATGGGT
2938	CACCCATCTCTCCATCCATCCTT	4202	AAGGATGGATGGAGAGATGGGTG
2939	TCACCCATCTCTCCATCCATCCT	4203	AGGATGGATGGAGAGATGGGTGA
2940	CTCACCCATCTCTCCATCCATCC	4204	GGATGGATGGAGAGATGGGTGAG
2941	ACTCACCCATCTCTCCATCCATC	4205	GATGGATGGAGAGATGGGTGAGT
2942	TACTCACCCATCTCTCCATCCAT	4206	ATGGATGGAGAGATGGGTGAGTA
2943	GTACTCACCCATCTCTCCATCCA	4207	TGGATGGAGAGATGGGTGAGTAC
2944	TGTACTCACCCATCTCTCCATCC	4208	GGATGGAGAGATGGGTGAGTACA
2945	ATGTACTCACCCATCTCTCCATC	4209	GATGGAGAGATGGGTGAGTACAT
2946	CATGTACTCACCCATCTCTCCAT	4210	ATGGAGAGATGGGTGAGTACATG
2947	CCATGTACTCACCCATCTCTCCA	4211	TGGAGAGATGGGTGAGTACATGG
2948	TCCATGTACTCACCCATCTCTCC	4212	GGAGAGATGGGTGAGTACATGGA
2949	ATCCATGTACTCACCCATCTCTC	4213	GAGAGATGGGTGAGTACATGGAT
2950	CATCCATGTACTCACCCATCTCT	4214	AGAGATGGGTGAGTACATGGATG
2951	CCATCCATGTACTCACCCATCTC	4215	GAGATGGGTGAGTACATGGATGG
2952	TCCATCCATGTACTCACCCATCT	4216	AGATGGGTGAGTACATGGATGGA
2953	ATCCATCCATGTACTCACCCATC	4217	GATGGGTGAGTACATGGATGGAT
2954	TATCCATCCATGTACTCACCCAT	4218	ATGGGTGAGTACATGGATGGATA
2955	CTATCCATCCATGTACTCACCCA	4219	TGGGTGAGTACATGGATGGATAG
2956	TCTATCCATCCATGTACTCACCC	4220	GGGTGAGTACATGGATGGATAGA
2957	ATCTATCCATCCATGTACTCACC	4221	GGTGAGTACATGGATGGATAGAT
2958	CATCTATCCATCCATGTACTCAC	4222	GTGAGTACATGGATGGATAGATG
2959	CCATCTATCCATCCATGTACTCA	4223	TGAGTACATGGATGGATAGATGG
2960	TCCATCTATCCATCCATGTACTC	4224	GAGTACATGGATGGATAGATGGA
2961	ATCCATCTATCCATCCATGTACT	4225	AGTACATGGATGGATAGATGGAT

2962	CATCCATCTATCCATCCATGTAC	4226	GTACATGGATGGATAGATGGATG
2963	TCATCCATCTATCCATCCATGTA	4227	TACATGGATGGATAGATGGATGA
2964	CTCATCCATCTATCCATCCATGT	4228	ACATGGATGGATAGATGGATGAG
2965	ACTCATCCATCTATCCATCCATG	4229	CATGGATGGATAGATGGATGAGT
2966	AACTCATCCATCTATCCATCCAT	4230	ATGGATGGATAGATGGATGAGTT
2967	CAACTCATCCATCTATCCATCCA	4231	TGGATGGATAGATGGATGAGTTG
2968	CCAACTCATCCATCTATCCATCC	4232	GGATGGATAGATGGATGAGTTGG
2969	ACCAACTCATCCATCTATCCATC	4233	GATGGATAGATGGATGAGTTGGT
2970	CACCAACTCATCCATCTATCCAT	4234	ATGGATAGATGGATGAGTTGGTG
2971	CCACCAACTCATCCATCTATCCA	4235	TGGATAGATGGATGAGTTGGTGG
2972	CCCACCAACTCATCCATCTATCC	4236	GGATAGATGGATGAGTTGGTGGG
2973	ACCCACCAACTCATCCATCTATC	4237	GATAGATGGATGAGTTGGTGGGT
2974	TACCCACCAACTCATCCATCTAT	4238	ATAGATGGATGAGTTGGTGGGTA
2975	CTACCCACCAACTCATCCATCTA	4239	TAGATGGATGAGTTGGTGGGTAG
2976	TCTACCCACCAACTCATCCATCT	4240	AGATGGATGAGTTGGTGGGTAGA
2977	ATCTACCCACCAACTCATCCATC	4241	GATGGATGAGTTGGTGGGTAGAT
2978	AATCTACCCACCAACTCATCCAT	4242	ATGGATGAGTTGGTGGGTAGATT
2979	GAATCTACCCACCAACTCATCCA	4243	TGGATGAGTTGGTGGGTAGATTC
2980	CGAATCTACCCACCAACTCATCC	4244	GGATGAGTTGGTGGGTAGATTCG
2981	ACGAATCTACCCACCAACTCATC	4245	GATGAGTTGGTGGGTAGATTCGT
2982	CACGAATCTACCCACCAACTCAT	4246	ATGAGTTGGTGGGTAGATTCGTG
2983	CCACGAATCTACCCACCAACTCA	4247	TGAGTTGGTGGGTAGATTCGTGG
2984	GCCACGAATCTACCCACCAACTC	4248	GAGTTGGTGGGTAGATTCGTGGC
2985	AGCCACGAATCTACCCACCAACT	4249	AGTTGGTGGGTAGATTCGTGGCT
2986	TAGCCACGAATCTACCCACCAAC	4250	GTTGGTGGGTAGATTCGTGGCTA
2987	CTAGCCACGAATCTACCCACCAA	4251	TTGGTGGGTAGATTCGTGGCTAG
2988	TCTAGCCACGAATCTACCCACCA	4252	TGGTGGGTAGATTCGTGGCTAGA
2989	ATCTAGCCACGAATCTACCCACC	4253	GGTGGGTAGATTCGTGGCTAGAT
2990	CATCTAGCCACGAATCTACCCAC	4254	GTGGGTAGATTCGTGGCTAGATG
2991	CCATCTAGCCACGAATCTACCCA	4255	TGGGTAGATTCGTGGCTAGATGG
2992	TCCATCTAGCCACGAATCTACCC	4256	GGGTAGATTCGTGGCTAGATGGA
2993	ATCCATCTAGCCACGAATCTACC	4257	GGTAGATTCGTGGCTAGATGGAT
2994	CATCCATCTAGCCACGAATCTAC	4258	GTAGATTCGTGGCTAGATGGATG
2995	TCATCCATCTAGCCACGAATCTA	4259	TAGATTCGTGGCTAGATGGATGA
2996	ATCATCCATCTAGCCACGAATCT	4260	AGATTCGTGGCTAGATGGATGAT
2997	CATCATCCATCTAGCCACGAATC	4261	GATTCGTGGCTAGATGGATGATG
2998	CCATCATCCATCTAGCCACGAAT	4262	ATTCGTGGCTAGATGGATGATGG
2999	TCCATCATCCATCTAGCCACGAA	4263	TTCGTGGCTAGATGGATGATGGA
3000	ATCCATCATCCATCTAGCCACGA	4264	TCGTGGCTAGATGGATGATGGAT
3001	CATCCATCATCCATCTAGCCACG	4265	CGTGGCTAGATGGATGATGGATG
3002	CCATCCATCATCCATCTAGCCAC	4266	GTGGCTAGATGGATGATGGATGG
3003	TCCATCCATCATCCATCTAGCCA	4267	TGGCTAGATGGATGATGGATGGA
3004	ATCCATCCATCATCCATCTAGCC	4268	GGCTAGATGGATGATGGATGGAT

3005	CATCCATCCATCATCCATCTAGC	4269	GCTAGATGGATGATGGATGGATG
3006	CCATCCATCCATCATCCATCTAG	4270	CTAGATGGATGATGGATGGATGG
3007	TCCATCCATCCATCATCCATCTA	4271	TAGATGGATGATGGATGGATGGA
3008	GTCCATCCATCCATCATCCATCT	4272	AGATGGATGATGGATGGATGGAC
3009	TGTCCATCCATCCATCATCCATC	4273	GATGGATGATGGATGGATGGACA
3010	CTGTCCATCCATCCATCATCCAT	4274	ATGGATGATGGATGGATGGACAG
3011	TCTGTCCATCCATCCATCATCCA	4275	TGGATGATGGATGGATGGACAGA
3012	ATCTGTCCATCCATCCATCATCC	4276	GGATGATGGATGGATGGACAGAT
3013	CATCTGTCCATCCATCCATCATC	4277	GATGATGGATGGATGGACAGATG
3014	CCATCTGTCCATCCATCCATCAT	4278	ATGATGGATGGATGGACAGATGG
3015	TCCATCTGTCCATCCATCCATCA	4279	TGATGGATGGATGGACAGATGGA
3016	ATCCATCTGTCCATCCATCCATC	4280	GATGGATGGATGGACAGATGGAT
3017	CATCCATCTGTCCATCCATCCAT	4281	ATGGATGGATGGACAGATGGATG
3018	CCATCCATCTGTCCATCCATCCA	4282	TGGATGGATGGACAGATGGATGG
3019	TCCATCCATCTGTCCATCCATCC	4283	GGATGGATGGACAGATGGATGGA
3020	ATCCATCCATCTGTCCATCCATC	4284	GATGGATGGACAGATGGATGGAT
3021	TATCCATCCATCTGTCCATCCAT	4285	ATGGATGGACAGATGGATGGATA
3022	ATATCCATCCATCTGTCCATCCA	4286	TGGATGGACAGATGGATGGATAT
3023	TATATCCATCCATCTGTCCATCC	4287	GGATGGACAGATGGATGGATATA
3024	ATATATCCATCCATCTGTCCATC	4288	GATGGACAGATGGATGGATATAT
3025	CATATATCCATCCATCTGTCCAT	4289	ATGGACAGATGGATGGATATATG
3026	TCATATATCCATCCATCTGTCCA	4290	TGGACAGATGGATGGATATATGA
3027	ATCATATATCCATCCATCTGTCC	4291	GGACAGATGGATGGATATATGAT
3028	AATCATATATCCATCCATCTGTC	4292	GACAGATGGATGGATATATGATT
3029	CAATCATATATCCATCCATCTGT	4293	ACAGATGGATGGATATATGATTG
3030	TCAATCATATATCCATCCATCTG	4294	CAGATGGATGGATATATGATTGA
3031	TTCAATCATATATCCATCCATCT	4295	AGATGGATGGATATATGATTGAA
3032	GTTCAATCATATATCCATCCATC	4296	GATGGATGGATATATGATTGAAC
3033	AGTTCAATCATATATCCATCCAT	4297	ATGGATGGATATATGATTGAACT
3034	TAGTTCAATCATATATCCATCCA	4298	TGGATGGATATATGATTGAACTA
3035	ATAGTTCAATCATATATCCATCC	4299	GGATGGATATATGATTGAACTAT
3036	AATAGTTCAATCATATATCCATC	4300	GATGGATATATGATTGAACTATT
3037	CAATAGTTCAATCATATATCCAT	4301	ATGGATATATGATTGAACTATTG
3038	TCAATAGTTCAATCATATATCCA	4302	TGGATATATGATTGAACTATTGA
3039	TTCAATAGTTCAATCATATATCC	4303	GGATATATGATTGAACTATTGAA
3040	TTTCAATAGTTCAATCATATATC	4304	GATATATGATTGAACTATTGAAA
3041	CTTTCAATAGTTCAATCATATAT	4305	ATATATGATTGAACTATTGAAAG
3042	ACTTTCAATAGTTCAATCATATA	4306	TATATGATTGAACTATTGAAAGT
3043	TACTTTCAATAGTTCAATCATAT	4307	ATATGATTGAACTATTGAAAGTA
3044	ATACTTTCAATAGTTCAATCATA	4308	TATGATTGAACTATTGAAAGTAT
3045	TATACTTTCAATAGTTCAATCAT	4309	ATGATTGAACTATTGAAAGTATA
3046	CTATACTTTCAATAGTTCAATCA	4310	TGATTGAACTATTGAAAGTATAG
3047	TCTATACTTTCAATAGTTCAATC	4311	GATTGAACTATTGAAAGTATAGA

3048	ATCTATACTTTCAATAGTTCAAT	4312	ATTGAACTATTGAAAGTATAGAT
3049	CATCTATACTTTCAATAGTTCAA	4313	TTGAACTATTGAAAGTATAGATG
3050	ACATCTATACTTTCAATAGTTCA	4314	TGAACTATTGAAAGTATAGATGT
3051	TACATCTATACTTTCAATAGTTC	4315	GAACTATTGAAAGTATAGATGTA
3052	ATACATCTATACTTTCAATAGTT	4316	AACTATTGAAAGTATAGATGTAT
3053	CATACATCTATACTTTCAATAGT	4317	ACTATTGAAAGTATAGATGTATG
3054	CCATACATCTATACTTTCAATAG	4318	CTATTGAAAGTATAGATGTATGG
3055	TCCATACATCTATACTTTCAATA	4319	TATTGAAAGTATAGATGTATGGA
3056	ATCCATACATCTATACTTTCAAT	4320	ATTGAAAGTATAGATGTATGGAT
3057	CATCCATACATCTATACTTTCAA	4321	TTGAAAGTATAGATGTATGGATG
3058	CCATCCATACATCTATACTTTCA	4322	TGAAAGTATAGATGTATGGATGG
3059	CCCATCCATACATCTATACTTTC	4323	GAAAGTATAGATGTATGGATGGG
3060	ACCCATCCATACATCTATACTTT	4324	AAAGTATAGATGTATGGATGGGT
3061	CACCCATCCATACATCTATACTT	4325	AAGTATAGATGTATGGATGGGTG
3062	TCACCCATCCATACATCTATACT	4326	AGTATAGATGTATGGATGGGTGA
3063	TTCACCCATCCATACATCTATAC	4327	GTATAGATGTATGGATGGGTGAA
3064	ATTCACCCATCCATACATCTATA	4328	TATAGATGTATGGATGGGTGAAT
3065	AATTCACCCATCCATACATCTAT	4329	ATAGATGTATGGATGGGTGAATT
3066	AAATTCACCCATCCATACATCTA	4330	TAGATGTATGGATGGGTGAATTT
3067	CAAATTCACCCATCCATACATCT	4331	AGATGTATGGATGGGTGAATTTG
3068	CCAAATTCACCCATCCATACATC	4332	GATGTATGGATGGGTGAATTTGG
3069	CCCAAATTCACCCATCCATACAT	4333	ATGTATGGATGGGTGAATTTGGG
3070	CCCCAAATTCACCCATCCATACA	4334	TGTATGGATGGGTGAATTTGGGG
3071	CCCCCAAATTCACCCATCCATAC	4335	GTATGGATGGGTGAATTTGGGGG
3072	ACCCCCAAATTCACCCATCCATA	4336	TATGGATGGGTGAATTTGGGGGT
3073	TACCCCCAAATTCACCCATCCAT	4337	ATGGATGGGTGAATTTGGGGGTA
3074	TTACCCCCAAATTCACCCATCCA	4338	TGGATGGGTGAATTTGGGGGTAA
3075	ATTACCCCCAAATTCACCCATCC	4339	GGATGGGTGAATTTGGGGGTAAT
3076	AATTACCCCCAAATTCACCCATC	4340	GATGGGTGAATTTGGGGGTAATT
3077	CAATTACCCCCAAATTCACCCAT	4341	ATGGGTGAATTTGGGGGTAATTG
3078	ACAATTACCCCCAAATTCACCCA	4342	TGGGTGAATTTGGGGGTAATTGT
3079	AACAATTACCCCCAAATTCACCC	4343	GGGTGAATTTGGGGGTAATTGTT
3080	TAACAATTACCCCCAAATTCACC	4344	GGTGAATTTGGGGGTAATTGTTA
3081	CTAACAATTACCCCCAAATTCAC	4345	GTGAATTTGGGGGTAATTGTTAG
3082	TCTAACAATTACCCCCAAATTCA	4346	TGAATTTGGGGGTAATTGTTAGA
3083	ATCTAACAATTACCCCCAAATTC	4347	GAATTTGGGGGTAATTGTTAGAT
3084	CATCTAACAATTACCCCCAAATT	4348	AATTTGGGGGTAATTGTTAGATG
3085	TCATCTAACAATTACCCCCAAAT	4349	ATTTGGGGGTAATTGTTAGATGA
3086	ATCATCTAACAATTACCCCCAAA	4350	TTTGGGGGTAATTGTTAGATGAT
3087	CATCATCTAACAATTACCCCCAA	4351	TTGGGGGTAATTGTTAGATGATG
3088	CCATCATCTAACAATTACCCCCA	4352	TGGGGGTAATTGTTAGATGATGG
3089	TCCATCATCTAACAATTACCCCC	4353	GGGGGTAATTGTTAGATGATGGA
3090	ATCCATCATCTAACAATTACCCC	4354	GGGGTAATTGTTAGATGATGGAT

3091	CATCCATCATCTAACAATTACCC	4355	GGGTAATTGTTAGATGATGGATG
3092	TCATCCATCATCTAACAATTACC	4356	GGTAATTGTTAGATGATGGATGA
3093	CTCATCCATCATCTAACAATTAC	4357	GTAATTGTTAGATGATGGATGAG
3094	ACTCATCCATCATCTAACAATTA	4358	TAATTGTTAGATGATGGATGAGT
3095	TACTCATCCATCATCTAACAATT	4359	AATTGTTAGATGATGGATGAGTA
3096	ATACTCATCCATCATCTAACAAT	4360	ATTGTTAGATGATGGATGAGTAT
3097	TATACTCATCCATCATCTAACAA	4361	TTGTTAGATGATGGATGAGTATA
3098	CTATACTCATCCATCATCTAACA	4362	TGTTAGATGATGGATGAGTATAG
3099	TCTATACTCATCCATCATCTAAC	4363	GTTAGATGATGGATGAGTATAGA
3100	ATCTATACTCATCCATCATCTAA	4364	TTAGATGATGGATGAGTATAGAT
3101	CATCTATACTCATCCATCATCTA	4365	TAGATGATGGATGAGTATAGATG
3102	TCATCTATACTCATCCATCATCT	4366	AGATGATGGATGAGTATAGATGA
3103	TTCATCTATACTCATCCATCATC	4367	GATGATGGATGAGTATAGATGAA
3104	ATTCATCTATACTCATCCATCAT	4368	ATGATGGATGAGTATAGATGAAT
3105	CATTCATCTATACTCATCCATCA	4369	TGATGGATGAGTATAGATGAATG
3106	TCATTCATCTATACTCATCCATC	4370	GATGGATGAGTATAGATGAATGA
3107	ATCATTCATCTATACTCATCCAT	4371	ATGGATGAGTATAGATGAATGAT
3108	CATCATTCATCTATACTCATCCA	4372	TGGATGAGTATAGATGAATGATG
3109	CCATCATTCATCTATACTCATCC	4373	GGATGAGTATAGATGAATGATGG
3110	TCCATCATTCATCTATACTCATC	4374	GATGAGTATAGATGAATGATGGA
3111	ATCCATCATTCATCTATACTCAT	4375	ATGAGTATAGATGAATGATGGAT
3112	CATCCATCATTCATCTATACTCA	4376	TGAGTATAGATGAATGATGGATG
3113	CCATCCATCATTCATCTATACTC	4377	GAGTATAGATGAATGATGGATGG
3114	TCCATCCATCATTCATCTATACT	4378	AGTATAGATGAATGATGGATGGA
3115	ATCCATCCATCATTCATCTATAC	4379	GTATAGATGAATGATGGATGGAT
3116	TATCCATCCATCATTCATCTATA	4380	TATAGATGAATGATGGATGGATA
3117	TTATCCATCCATCATTCATCTAT	4381	ATAGATGAATGATGGATGGATAA
3118	GTTATCCATCCATCATTCATCTA	4382	TAGATGAATGATGGATGGATAAC
3119	AGTTATCCATCCATCATTCATCT	4383	AGATGAATGATGGATGGATAACT
3120	AAGTTATCCATCCATCATTCATC	4384	GATGAATGATGGATGGATAACTT
3121	CAAGTTATCCATCCATCATTCAT	4385	ATGAATGATGGATGGATAACTTG
3122	TCAAGTTATCCATCCATCATTCA	4386	TGAATGATGGATGGATAACTTGA
3123	ATCAAGTTATCCATCCATCATTC	4387	GAATGATGGATGGATAACTTGAT
3124	CATCAAGTTATCCATCCATCATT	4388	AATGATGGATGGATAACTTGATG
3125	TCATCAAGTTATCCATCCATCAT	4389	ATGATGGATGGATAACTTGATGA
3126	CTCATCAAGTTATCCATCCATCA	4390	TGATGGATGGATAACTTGATGAG
3127	ACTCATCAAGTTATCCATCCATC	4391	GATGGATGGATAACTTGATGAGT
3128	CACTCATCAAGTTATCCATCCAT	4392	ATGGATGGATAACTTGATGAGTG
3129	CCACTCATCAAGTTATCCATCCA	4393	TGGATGGATAACTTGATGAGTGG
3130	TCCACTCATCAAGTTATCCATCC	4394	GGATGGATAACTTGATGAGTGGA
3131	ATCCACTCATCAAGTTATCCATC	4395	GATGGATAACTTGATGAGTGGAT
3132	TATCCACTCATCAAGTTATCCAT	4396	ATGGATAACTTGATGAGTGGATA
3133	CTATCCACTCATCAAGTTATCCA	4397	TGGATAACTTGATGAGTGGATAG

3134	TCTATCCACTCATCAAGTTATCC	4398	GGATAACTTGATGAGTGGATAGA
3135	ATCTATCCACTCATCAAGTTATC	4399	GATAACTTGATGAGTGGATAGAT
3136	TATCTATCCACTCATCAAGTTAT	4400	ATAACTTGATGAGTGGATAGATA
3137	CTATCTATCCACTCATCAAGTTA	4401	TAACTTGATGAGTGGATAGATAG
3138	TCTATCTATCCACTCATCAAGTT	4402	AACTTGATGAGTGGATAGATAGA
3139	ATCTATCTATCCACTCATCAAGT	4403	ACTTGATGAGTGGATAGATAGAT
3140	AATCTATCTATCCACTCATCAAG	4404	CTTGATGAGTGGATAGATAGATT
3141	CAATCTATCTATCCACTCATCAA	4405	TTGATGAGTGGATAGATAGATTG
3142	GCAATCTATCTATCCACTCATCA	4406	TGATGAGTGGATAGATAGATTGC
3143	AGCAATCTATCTATCCACTCATC	4407	GATGAGTGGATAGATAGATTGCT
3144	CAGCAATCTATCTATCCACTCAT	4408	ATGAGTGGATAGATAGATTGCTG
3145	CCAGCAATCTATCTATCCACTCA	4409	TGAGTGGATAGATAGATTGCTGG
3146	TCCAGCAATCTATCTATCCACTC	4410	GAGTGGATAGATAGATTGCTGGA
3147	ATCCAGCAATCTATCTATCCACT	4411	AGTGGATAGATAGATTGCTGGAT
3148	TATCCAGCAATCTATCTATCCAC	4412	GTGGATAGATAGATTGCTGGATA
3149	CTATCCAGCAATCTATCTATCCA	4413	TGGATAGATAGATTGCTGGATAG
3150	TCTATCCAGCAATCTATCTATCC	4414	GGATAGATAGATTGCTGGATAGA
3151	ATCTATCCAGCAATCTATCTATC	4415	GATAGATAGATTGCTGGATAGAT
3152	CATCTATCCAGCAATCTATCTAT	4416	ATAGATAGATTGCTGGATAGATG
3153	TCATCTATCCAGCAATCTATCTA	4417	TAGATAGATTGCTGGATAGATGA
3154	ATCATCTATCCAGCAATCTATCT	4418	AGATAGATTGCTGGATAGATGAT
3155	AATCATCTATCCAGCAATCTATC	4419	GATAGATTGCTGGATAGATGATT
3156	CAATCATCTATCCAGCAATCTAT	4420	ATAGATTGCTGGATAGATGATTG
3157	TCAATCATCTATCCAGCAATCTA	4421	TAGATTGCTGGATAGATGATTGA
3158	GTCAATCATCTATCCAGCAATCT	4422	AGATTGCTGGATAGATGATTGAC
3159	AGTCAATCATCTATCCAGCAATC	4423	GATTGCTGGATAGATGATTGACT
3160	CAGTCAATCATCTATCCAGCAAT	4424	ATTGCTGGATAGATGATTGACTG
3161	CCAGTCAATCATCTATCCAGCAA	4425	TTGCTGGATAGATGATTGACTGG
3162	CCCAGTCAATCATCTATCCAGCA	4426	TGCTGGATAGATGATTGACTGGG
3163	ACCCAGTCAATCATCTATCCAGC	4427	GCTGGATAGATGATTGACTGGGT
3164	CACCCAGTCAATCATCTATCCAG	4428	CTGGATAGATGATTGACTGGGTG
3165	CCACCCAGTCAATCATCTATCCA	4429	TGGATAGATGATTGACTGGGTGG
3166	TCCACCCAGTCAATCATCTATCC	4430	GGATAGATGATTGACTGGGTGGA
3167	ATCCACCCAGTCAATCATCTATC	4431	GATAGATGATTGACTGGGTGGAT
3168	TATCCACCCAGTCAATCATCTAT	4432	ATAGATGATTGACTGGGTGGATA
3169	CTATCCACCCAGTCAATCATCTA	4433	TAGATGATTGACTGGGTGGATAG
3170	TCTATCCACCCAGTCAATCATCT	4434	AGATGATTGACTGGGTGGATAGA
3171	ATCTATCCACCCAGTCAATCATC	4435	GATGATTGACTGGGTGGATAGAT
3172	CATCTATCCACCCAGTCAATCAT	4436	ATGATTGACTGGGTGGATAGATG
3173	TCATCTATCCACCCAGTCAATCA	4437	TGATTGACTGGGTGGATAGATGA
3174	TTCATCTATCCACCCAGTCAATC	4438	GATTGACTGGGTGGATAGATGAA
3175	TTTCATCTATCCACCCAGTCAAT	4439	ATTGACTGGGTGGATAGATGAAA
3176	ATTTCATCTATCCACCCAGTCAA	4440	TTGACTGGGTGGATAGATGAAAT

3177	CATTTCATCTATCCACCCAGTCA	4441	TGACTGGGTGGATAGATGAAATG
3178	ACATTTCATCTATCCACCCAGTC	4442	GACTGGGTGGATAGATGAAATGT
3179	AACATTTCATCTATCCACCCAGT	4443	ACTGGGTGGATAGATGAAATGTT
3180	CAACATTTCATCTATCCACCCAG	4444	CTGGGTGGATAGATGAAATGTTG
3181	CCAACATTTCATCTATCCACCCA	4445	TGGGTGGATAGATGAAATGTTGG
3182	TCCAACATTTCATCTATCCACCC	4446	GGGTGGATAGATGAAATGTTGGA
3183	ATCCAACATTTCATCTATCCACC	4447	GGTGGATAGATGAAATGTTGGAT
3184	CATCCAACATTTCATCTATCCAC	4448	GTGGATAGATGAAATGTTGGATG
3185	TCATCCAACATTTCATCTATCCA	4449	TGGATAGATGAAATGTTGGATGA
3186	CTCATCCAACATTTCATCTATCC	4450	GGATAGATGAAATGTTGGATGAG
3187	GCTCATCCAACATTTCATCTATC	4451	GATAGATGAAATGTTGGATGAGC
3188	TGCTCATCCAACATTTCATCTAT	4452	ATAGATGAAATGTTGGATGAGCA
3189	CTGCTCATCCAACATTTCATCTA	4453	TAGATGAAATGTTGGATGAGCAG
3190	TCTGCTCATCCAACATTTCATCT	4454	AGATGAAATGTTGGATGAGCAGA
3191	ATCTGCTCATCCAACATTTCATC	4455	GATGAAATGTTGGATGAGCAGAT
3192	AATCTGCTCATCCAACATTTCAT	4456	ATGAAATGTTGGATGAGCAGATT
3193	TAATCTGCTCATCCAACATTTCA	4457	TGAAATGTTGGATGAGCAGATTA
3194	TTAATCTGCTCATCCAACATTTC	4458	GAAATGTTGGATGAGCAGATTAA
3195	CTTAATCTGCTCATCCAACATTT	4459	AAATGTTGGATGAGCAGATTAAG
3196	ACTTAATCTGCTCATCCAACATT	4460	AATGTTGGATGAGCAGATTAAGT
3197	AACTTAATCTGCTCATCCAACAT	4461	ATGTTGGATGAGCAGATTAAGTT
3198	CAACTTAATCTGCTCATCCAACA	4462	TGTTGGATGAGCAGATTAAGTTG
3199	ACAACTTAATCTGCTCATCCAAC	4463	GTTGGATGAGCAGATTAAGTTGT
3200	TACAACTTAATCTGCTCATCCAA	4464	TTGGATGAGCAGATTAAGTTGTA
3201	ATACAACTTAATCTGCTCATCCA	4465	TGGATGAGCAGATTAAGTTGTAT
3202	AATACAACTTAATCTGCTCATCC	4466	GGATGAGCAGATTAAGTTGTATT
3203	CAATACAACTTAATCTGCTCATC	4467	GATGAGCAGATTAAGTTGTATTG
3204	CCAATACAACTTAATCTGCTCAT	4468	ATGAGCAGATTAAGTTGTATTGG
3205	TCCAATACAACTTAATCTGCTCA	4469	TGAGCAGATTAAGTTGTATTGGA
3206	ATCCAATACAACTTAATCTGCTC	4470	GAGCAGATTAAGTTGTATTGGAT
3207	CATCCAATACAACTTAATCTGCT	4471	AGCAGATTAAGTTGTATTGGATG
3208	CCATCCAATACAACTTAATCTGC	4472	GCAGATTAAGTTGTATTGGATGG
3209	CCCATCCAATACAACTTAATCTG	4473	CAGATTAAGTTGTATTGGATGGG
3210	TCCCATCCAATACAACTTAATCT	4474	AGATTAAGTTGTATTGGATGGGA
3211	ATCCCATCCAATACAACTTAATC	4475	GATTAAGTTGTATTGGATGGGAT
3212	CATCCCATCCAATACAACTTAAT	4476	ATTAAGTTGTATTGGATGGGATG
3213	CCATCCCATCCAATACAACTTAA	4477	TTAAGTTGTATTGGATGGGATGG
3214	TCCATCCCATCCAATACAACTTA	4478	TAAGTTGTATTGGATGGGATGGA
3215	ATCCATCCCATCCAATACAACTT	4479	AAGTTGTATTGGATGGGATGGAT
3216	CATCCATCCCATCCAATACAACT	4480	AGTTGTATTGGATGGGATGGATG
3217	CCATCCATCCCATCCAATACAAC	4481	GTTGTATTGGATGGGATGGATGG
3218	TCCATCCATCCCATCCAATACAA	4482	TTGTATTGGATGGGATGGATGGA
3219	TTCCATCCATCCCATCCAATACA	4483	TGTATTGGATGGGATGGATGGAA

3220	CTTCCATCCATCCCATCCAATAC	4484	GTATTGGATGGGATGGATGGAAG
3221	ACTTCCATCCATCCCATCCAATA	4485	TATTGGATGGGATGGATGGAAGT
3222	CACTTCCATCCATCCCATCCAAT	4486	ATTGGATGGGATGGATGGAAGTG
3223	ACACTTCCATCCATCCCATCCAA	4487	TTGGATGGGATGGATGGAAGTGT
3224	CACACTTCCATCCATCCCATCCA	4488	TGGATGGGATGGATGGAAGTGTG
3225	CCACACTTCCATCCATCCCATCC	4489	GGATGGGATGGATGGAAGTGTGG
3226	ACCACACTTCCATCCATCCCATC	4490	GATGGGATGGATGGAAGTGTGGT
3227	AACCACACTTCCATCCATCCCAT	4491	ATGGGATGGATGGAAGTGTGGTT
3228	CAACCACACTTCCATCCATCCCA	4492	TGGGATGGATGGAAGTGTGGTTG
3229	TCAACCACACTTCCATCCATCCC	4493	GGGATGGATGGAAGTGTGGTTGA
3230	CTCAACCACACTTCCATCCATCC	4494	GGATGGATGGAAGTGTGGTTGAG
3231	ACTCAACCACACTTCCATCCATC	4495	GATGGATGGAAGTGTGGTTGAGT
3232	AACTCAACCACACTTCCATCCAT	4496	ATGGATGGAAGTGTGGTTGAGTT
3233	TAACTCAACCACACTTCCATCCA	4497	TGGATGGAAGTGTGGTTGAGTTA
3234	ATAACTCAACCACACTTCCATCC	4498	GGATGGAAGTGTGGTTGAGTTAT
3235	AATAACTCAACCACACTTCCATC	4499	GATGGAAGTGTGGTTGAGTTATT
3236	TAATAACTCAACCACACTTCCAT	4500	ATGGAAGTGTGGTTGAGTTATTA
3237	CTAATAACTCAACCACACTTCCA	4501	TGGAAGTGTGGTTGAGTTATTAG
3238	TCTAATAACTCAACCACACTTCC	4502	GGAAGTGTGGTTGAGTTATTAGA
3239	TTCTAATAACTCAACCACACTTC	4503	GAAGTGTGGTTGAGTTATTAGAA
3240	CTTCTAATAACTCAACCACACTT	4504	AAGTGTGGTTGAGTTATTAGAAG
3241	CCTTCTAATAACTCAACCACACT	4505	AGTGTGGTTGAGTTATTAGAAGG
3242	TCCTTCTAATAACTCAACCACAC	4506	GTGTGGTTGAGTTATTAGAAGGA
3243	TTCCTTCTAATAACTCAACCACA	4507	TGTGGTTGAGTTATTAGAAGGAA
3244	CTTCCTTCTAATAACTCAACCAC	4508	GTGGTTGAGTTATTAGAAGGAAG
3245	TCTTCCTTCTAATAACTCAACCA	4509	TGGTTGAGTTATTAGAAGGAAGA
3246	ATCTTCCTTCTAATAACTCAACC	4510	GGTTGAGTTATTAGAAGGAAGAT
3247	AATCTTCCTTCTAATAACTCAAC	4511	GTTGAGTTATTAGAAGGAAGATT
3248	CAATCTTCCTTCTAATAACTCAA	4512	TTGAGTTATTAGAAGGAAGATTG
3249	TCAATCTTCCTTCTAATAACTCA	4513	TGAGTTATTAGAAGGAAGATTGA
3250	CTCAATCTTCCTTCTAATAACTC	4514	GAGTTATTAGAAGGAAGATTGAG
3251	ACTCAATCTTCCTTCTAATAACT	4515	AGTTATTAGAAGGAAGATTGAGT
3252	TACTCAATCTTCCTTCTAATAAC	4516	GTTATTAGAAGGAAGATTGAGTA
3253	CTACTCAATCTTCCTTCTAATAA	4517	TTATTAGAAGGAAGATTGAGTAG
3254	TCTACTCAATCTTCCTTCTAATA	4518	TATTAGAAGGAAGATTGAGTAGA
3255	ATCTACTCAATCTTCCTTCTAAT	4519	ATTAGAAGGAAGATTGAGTAGAT
3256	TATCTACTCAATCTTCCTTCTAA	4520	TTAGAAGGAAGATTGAGTAGATA
3257	CTATCTACTCAATCTTCCTTCTA	4521	TAGAAGGAAGATTGAGTAGATAG
3258	CCTATCTACTCAATCTTCCTTCT	4522	AGAAGGAAGATTGAGTAGATAGG
3259	ACCTATCTACTCAATCTTCCTTC	4523	GAAGGAAGATTGAGTAGATAGGT
3260	CACCTATCTACTCAATCTTCCTT	4524	AAGGAAGATTGAGTAGATAGGTG
3261	TCACCTATCTACTCAATCTTCCT	4525	AGGAAGATTGAGTAGATAGGTGA
3262	TTCACCTATCTACTCAATCTTCC	4526	GGAAGATTGAGTAGATAGGTGAA

3263	ATTCACCTATCTACTCAATCTTC	4527	GAAGATTGAGTAGATAGGTGAAT
3264	AATTCACCTATCTACTCAATCTT	4528	AAGATTGAGTAGATAGGTGAATT
3265	AAATTCACCTATCTACTCAATCT	4529	AGATTGAGTAGATAGGTGAATTT
3266	CAAATTCACCTATCTACTCAATC	4530	GATTGAGTAGATAGGTGAATTTG
3267	ACAAATTCACCTATCTACTCAAT	4531	ATTGAGTAGATAGGTGAATTTGT
3268	AACAAATTCACCTATCTACTCAA	4532	TTGAGTAGATAGGTGAATTTGTT
3269	CAACAAATTCACCTATCTACTCA	4533	TGAGTAGATAGGTGAATTTGTTG
3270	TCAACAAATTCACCTATCTACTC	4534	GAGTAGATAGGTGAATTTGTTGA
3271	ATCAACAAATTCACCTATCTACT	4535	AGTAGATAGGTGAATTTGTTGAT
3272	TATCAACAAATTCACCTATCTAC	4536	GTAGATAGGTGAATTTGTTGATA
3273	CTATCAACAAATTCACCTATCTA	4537	TAGATAGGTGAATTTGTTGATAG
3274	ACTATCAACAAATTCACCTATCT	4538	AGATAGGTGAATTTGTTGATAGT
3275	GACTATCAACAAATTCACCTATC	4539	GATAGGTGAATTTGTTGATAGTC
3276	TGACTATCAACAAATTCACCTAT	4540	ATAGGTGAATTTGTTGATAGTCA
3277	CTGACTATCAACAAATTCACCTA	4541	TAGGTGAATTTGTTGATAGTCAG
3278	TCTGACTATCAACAAATTCACCT	4542	AGGTGAATTTGTTGATAGTCAGA
3279	ATCTGACTATCAACAAATTCACC	4543	GGTGAATTTGTTGATAGTCAGAT
3280	CATCTGACTATCAACAAATTCAC	4544	GTGAATTTGTTGATAGTCAGATG
3281	CCATCTGACTATCAACAAATTCA	4545	TGAATTTGTTGATAGTCAGATGG
3282	CCCATCTGACTATCAACAAATTC	4546	GAATTTGTTGATAGTCAGATGGG
3283	ACCCATCTGACTATCAACAAATT	4547	AATTTGTTGATAGTCAGATGGGT
3284	TACCCATCTGACTATCAACAAAT	4548	ATTTGTTGATAGTCAGATGGGTA
3285	CTACCCATCTGACTATCAACAAA	4549	TTTGTTGATAGTCAGATGGGTAG
3286	TCTACCCATCTGACTATCAACAA	4550	TTGTTGATAGTCAGATGGGTAGA
3287	ATCTACCCATCTGACTATCAACA	4551	TGTTGATAGTCAGATGGGTAGAT
3288	TATCTACCCATCTGACTATCAAC	4552	GTTGATAGTCAGATGGGTAGATA
3289	CTATCTACCCATCTGACTATCAA	4553	TTGATAGTCAGATGGGTAGATAG
3290	CCTATCTACCCATCTGACTATCA	4554	TGATAGTCAGATGGGTAGATAGG
3291	ACCTATCTACCCATCTGACTATC	4555	GATAGTCAGATGGGTAGATAGGT
3292	TACCTATCTACCCATCTGACTAT	4556	ATAGTCAGATGGGTAGATAGGTA
3293	CTACCTATCTACCCATCTGACTA	4557	TAGTCAGATGGGTAGATAGGTAG
3294	TCTACCTATCTACCCATCTGACT	4558	AGTCAGATGGGTAGATAGGTAGA
3295	ATCTACCTATCTACCCATCTGAC	4559	GTCAGATGGGTAGATAGGTAGAT
3296	CATCTACCTATCTACCCATCTGA	4560	TCAGATGGGTAGATAGGTAGATG
3297	CCATCTACCTATCTACCCATCTG	4561	CAGATGGGTAGATAGGTAGATGG
3298	TCCATCTACCTATCTACCCATCT	4562	AGATGGGTAGATAGGTAGATGGA
3299	ATCCATCTACCTATCTACCCATC	4563	GATGGGTAGATAGGTAGATGGAT
3300	CATCCATCTACCTATCTACCCAT	4564	ATGGGTAGATAGGTAGATGGATG
3301	CCATCCATCTACCTATCTACCCA	4565	TGGGTAGATAGGTAGATGGATGG
3302	TCCATCCATCTACCTATCTACCC	4566	GGGTAGATAGGTAGATGGATGGA
3303	ATCCATCCATCTACCTATCTACC	4567	GGTAGATAGGTAGATGGATGGAT
3304	CATCCATCCATCTACCTATCTAC	4568	GTAGATAGGTAGATGGATGGATG
3305	CCATCCATCCATCTACCTATCTA	4569	TAGATAGGTAGATGGATGGATGG

3306	TCCATCCATCCATCTACCTATCT	4570	AGATAGGTAGATGGATGGATGGA
3307	ATCCATCCATCCATCTACCTATC	4571	GATAGGTAGATGGATGGATGGAT
3308	CATCCATCCATCCATCTACCTAT	4572	ATAGGTAGATGGATGGATGGATG
3309	CCATCCATCCATCCATCTACCTA	4573	TAGGTAGATGGATGGATGGATGG
3310	TCCATCCATCCATCCATCTACCT	4574	AGGTAGATGGATGGATGGATGGA
3311	ATCCATCCATCCATCCATCTACC	4575	GGTAGATGGATGGATGGATGGAT
3312	CATCCATCCATCCATCCATCTAC	4576	GTAGATGGATGGATGGATGGATG
3313	CCATCCATCCATCCATCCATCTA	4577	TAGATGGATGGATGGATGGATGG
3314	TCCATCCATCCATCCATCCATCT	4578	AGATGGATGGATGGATGGATGGA
3315	ATCCATCCATCCATCCATCCATC	4579	GATGGATGGATGGATGGATGGAT
3316	CATCCATCCATCCATCCATCCAT	4580	ATGGATGGATGGATGGATGGATG
3317	ACATCCATCCATCCATCCATCCA	4581	TGGATGGATGGATGGATGGATGT
3318	TACATCCATCCATCCATCCATCC	4582	GGATGGATGGATGGATGGATGTA
3319	ATACATCCATCCATCCATCCATC	4583	GATGGATGGATGGATGGATGTAT
3320	TATACATCCATCCATCCATCCAT	4584	ATGGATGGATGGATGGATGTATA
3321	CTATACATCCATCCATCCATCCA	4585	TGGATGGATGGATGGATGTATAG
3322	CCTATACATCCATCCATCCATCC	4586	GGATGGATGGATGGATGTATAGG
3323	GCCTATACATCCATCCATCCATC	4587	GATGGATGGATGGATGTATAGGC
3324	TGCCTATACATCCATCCATCCAT	4588	ATGGATGGATGGATGTATAGGCA
3325	CTGCCTATACATCCATCCATCCA	4589	TGGATGGATGGATGTATAGGCAG
3326	TCTGCCTATACATCCATCCATCC	4590	GGATGGATGGATGTATAGGCAGA
3327	ATCTGCCTATACATCCATCCATC	4591	GATGGATGGATGTATAGGCAGAT
3328	CATCTGCCTATACATCCATCCAT	4592	ATGGATGGATGTATAGGCAGATG
3329	CCATCTGCCTATACATCCATCCA	4593	TGGATGGATGTATAGGCAGATGG
3330	TCCATCTGCCTATACATCCATCC	4594	GGATGGATGTATAGGCAGATGGA
3331	GTCCATCTGCCTATACATCCATC	4595	GATGGATGTATAGGCAGATGGAC
3332	TGTCCATCTGCCTATACATCCAT	4596	ATGGATGTATAGGCAGATGGACA
3333	TTGTCCATCTGCCTATACATCCA	4597	TGGATGTATAGGCAGATGGACAA
3334	TTTGTCCATCTGCCTATACATCC	4598	GGATGTATAGGCAGATGGACAAA
3335	ATTTGTCCATCTGCCTATACATC	4599	GATGTATAGGCAGATGGACAAAT
3336	CATTTGTCCATCTGCCTATACAT	4600	ATGTATAGGCAGATGGACAAATG
3337	CCATTTGTCCATCTGCCTATACA	4601	TGTATAGGCAGATGGACAAATGG
3338	TCCATTTGTCCATCTGCCTATAC	4602	GTATAGGCAGATGGACAAATGGA
3339	ATCCATTTGTCCATCTGCCTATA	4603	TATAGGCAGATGGACAAATGGAT
3340	CATCCATTTGTCCATCTGCCTAT	4604	ATAGGCAGATGGACAAATGGATG
3341	TCATCCATTTGTCCATCTGCCTA	4605	TAGGCAGATGGACAAATGGATGA
3342	TTCATCCATTTGTCCATCTGCCT	4606	AGGCAGATGGACAAATGGATGAA
3343	ATTCATCCATTTGTCCATCTGCC	4607	GGCAGATGGACAAATGGATGAAT
3344	CATTCATCCATTTGTCCATCTGC	4608	GCAGATGGACAAATGGATGAATG
3345	CCATTCATCCATTTGTCCATCTG	4609	CAGATGGACAAATGGATGAATGG
3346	CCCATTCATCCATTTGTCCATCT	4610	AGATGGACAAATGGATGAATGGG
3347	ACCCATTCATCCATTTGTCCATC	4611	GATGGACAAATGGATGAATGGGT
3348	CACCCATTCATCCATTTGTCCAT	4612	ATGGACAAATGGATGAATGGGTG

3349	CCACCCATTCATCCATTTGTCCA	4613	TGGACAAATGGATGAATGGGTGG
3350	CCCACCCATTCATCCATTTGTCC	4614	GGACAAATGGATGAATGGGTGGG
3351	ACCCACCCATTCATCCATTTGTC	4615	GACAAATGGATGAATGGGTGGGT
3352	CACCCACCCATTCATCCATTTGT	4616	ACAAATGGATGAATGGGTGGGTG
3353	CCACCCACCCATTCATCCATTTG	4617	CAAATGGATGAATGGGTGGGTGG
3354	TCCACCCACCCATTCATCCATTT	4618	AAATGGATGAATGGGTGGGTGGA
3355	ATCCACCCACCCATTCATCCATT	4619	AATGGATGAATGGGTGGGTGGAT
3356	CATCCACCCACCCATTCATCCAT	4620	ATGGATGAATGGGTGGGTGGATG
3357	TCATCCACCCACCCATTCATCCA	4621	TGGATGAATGGGTGGGTGGATGA
3358	TTCATCCACCCACCCATTCATCC	4622	GGATGAATGGGTGGGTGGATGAA
3359	ATTCATCCACCCACCCATTCATC	4623	GATGAATGGGTGGGTGGATGAAT
3360	CATTCATCCACCCACCCATTCAT	4624	ATGAATGGGTGGGTGGATGAATG
3361	CCATTCATCCACCCACCCATTCA	4625	TGAATGGGTGGGTGGATGAATGG
3362	TCCATTCATCCACCCACCCATTC	4626	GAATGGGTGGGTGGATGAATGGA
3363	TTCCATTCATCCACCCACCCATT	4627	AATGGGTGGGTGGATGAATGGAA
3364	CTTCCATTCATCCACCCACCCAT	4628	ATGGGTGGGTGGATGAATGGAAG
3365	CCTTCCATTCATCCACCCACCCA	4629	TGGGTGGGTGGATGAATGGAAGG
3366	TCCTTCCATTCATCCACCCACCC	4630	GGGTGGGTGGATGAATGGAAGGA
3367	ATCCTTCCATTCATCCACCCACC	4631	GGTGGGTGGATGAATGGAAGGAT
3368	CATCCTTCCATTCATCCACCCAC	4632	GTGGGTGGATGAATGGAAGGATG
3369	ACATCCTTCCATTCATCCACCCA	4633	TGGGTGGATGAATGGAAGGATGT
3370	CACATCCTTCCATTCATCCACCC	4634	GGGTGGATGAATGGAAGGATGTG
3371	ACACATCCTTCCATTCATCCACC	4635	GGTGGATGAATGGAAGGATGTGT
3372	CACACATCCTTCCATTCATCCAC	4636	GTGGATGAATGGAAGGATGTGTG
3373	CCACACATCCTTCCATTCATCCA	4637	TGGATGAATGGAAGGATGTGTGG
3374	ACCACACATCCTTCCATTCATCC	4638	GGATGAATGGAAGGATGTGTGGT
3375	AACCACACATCCTTCCATTCATC	4639	GATGAATGGAAGGATGTGTGGTT
3376	CAACCACACATCCTTCCATTCAT	4640	ATGAATGGAAGGATGTGTGGTTG
3377	TCAACCACACATCCTTCCATTCA	4641	TGAATGGAAGGATGTGTGGTTGA
3378	TTCAACCACACATCCTTCCATTC	4642	GAATGGAAGGATGTGTGGTTGAA
3379	GTTCAACCACACATCCTTCCATT	4643	AATGGAAGGATGTGTGGTTGAAC
3380	AGTTCAACCACACATCCTTCCAT	4644	ATGGAAGGATGTGTGGTTGAACT
3381	TAGTTCAACCACACATCCTTCCA	4645	TGGAAGGATGTGTGGTTGAACTA
3382	ATAGTTCAACCACACATCCTTCC	4646	GGAAGGATGTGTGGTTGAACTAT
3383	AATAGTTCAACCACACATCCTTC	4647	GAAGGATGTGTGGTTGAACTATT
3384	CAATAGTTCAACCACACATCCTT	4648	AAGGATGTGTGGTTGAACTATTG
3385	GCAATAGTTCAACCACACATCCT	4649	AGGATGTGTGGTTGAACTATTGC
3386	TGCAATAGTTCAACCACACATCC	4650	GGATGTGTGGTTGAACTATTGCA
3387	TTGCAATAGTTCAACCACACATC	4651	GATGTGTGGTTGAACTATTGCAA
3388	CTTGCAATAGTTCAACCACACAT	4652	ATGTGTGGTTGAACTATTGCAAG
3389	ACTTGCAATAGTTCAACCACACA	4653	TGTGTGGTTGAACTATTGCAAGT
3390	TACTTGCAATAGTTCAACCACAC	4654	GTGTGGTTGAACTATTGCAAGTA
3391	ATACTTGCAATAGTTCAACCACA	4655	TGTGGTTGAACTATTGCAAGTAT

3392	AATACTTGCAATAGTTCAACCAC	4656	GTGGTTGAACTATTGCAAGTATT
3393	CAATACTTGCAATAGTTCAACCA	4657	TGGTTGAACTATTGCAAGTATTG
3394	TCAATACTTGCAATAGTTCAACC	4658	GGTTGAACTATTGCAAGTATTGA
3395	ATCAATACTTGCAATAGTTCAAC	4659	GTTGAACTATTGCAAGTATTGAT
3396	TATCAATACTTGCAATAGTTCAA	4660	TTGAACTATTGCAAGTATTGATA
3397	TTATCAATACTTGCAATAGTTCA	4661	TGAACTATTGCAAGTATTGATAA
3398	ATTATCAATACTTGCAATAGTTC	4662	GAACTATTGCAAGTATTGATAAT
3399	AATTATCAATACTTGCAATAGTT	4663	AACTATTGCAAGTATTGATAATT
3400	CAATTATCAATACTTGCAATAGT	4664	ACTATTGCAAGTATTGATAATTG
3401	CCAATTATCAATACTTGCAATAG	4665	CTATTGCAAGTATTGATAATTGG
3402	CCCAATTATCAATACTTGCAATA	4666	TATTGCAAGTATTGATAATTGGG
3403	ACCCAATTATCAATACTTGCAAT	4667	ATTGCAAGTATTGATAATTGGGT
3404	AACCCAATTATCAATACTTGCAA	4668	TTGCAAGTATTGATAATTGGGTT
3405	GAACCCAATTATCAATACTTGCA	4669	TGCAAGTATTGATAATTGGGTTC
3406	TGAACCCAATTATCAATACTTGC	4670	GCAAGTATTGATAATTGGGTTCA
3407	ATGAACCCAATTATCAATACTTG	4671	CAAGTATTGATAATTGGGTTCAT
3408	TATGAACCCAATTATCAATACTT	4672	AAGTATTGATAATTGGGTTCATA
3409	TTATGAACCCAATTATCAATACT	4673	AGTATTGATAATTGGGTTCATAA
3410	ATTATGAACCCAATTATCAATAC	4674	GTATTGATAATTGGGTTCATAAT
3411	AATTATGAACCCAATTATCAATA	4675	TATTGATAATTGGGTTCATAATT
3412	AAATTATGAACCCAATTATCAAT	4676	ATTGATAATTGGGTTCATAATTT
3413	GAAATTATGAACCCAATTATCAA	4677	TTGATAATTGGGTTCATAATTTC
3414	AGAAATTATGAACCCAATTATCA	4678	TGATAATTGGGTTCATAATTTCT
3415	CAGAAATTATGAACCCAATTATC	4679	GATAATTGGGTTCATAATTTCTG
3416	TCAGAAATTATGAACCCAATTAT	4680	ATAATTGGGTTCATAATTTCTGA
3417	TTCAGAAATTATGAACCCAATTA	4681	TAATTGGGTTCATAATTTCTGAA
3418	ATTCAGAAATTATGAACCCAATT	4682	AATTGGGTTCATAATTTCTGAAT
3419	TATTCAGAAATTATGAACCCAAT	4683	ATTGGGTTCATAATTTCTGAATA
3420	ATATTCAGAAATTATGAACCCAA	4684	TTGGGTTCATAATTTCTGAATAT
3421	AATATTCAGAAATTATGAACCCA	4685	TGGGTTCATAATTTCTGAATATT
3422	AAATATTCAGAAATTATGAACCC	4686	GGGTTCATAATTTCTGAATATTT
3423	TAAATATTCAGAAATTATGAACC	4687	GGTTCATAATTTCTGAATATTTA
3424	CTAAATATTCAGAAATTATGAAC	4688	GTTCATAATTTCTGAATATTTAG
3425	TCTAAATATTCAGAAATTATGAA	4689	TTCATAATTTCTGAATATTTAGA
3426	ATCTAAATATTCAGAAATTATGA	4690	TCATAATTTCTGAATATTTAGAT
3427	CATCTAAATATTCAGAAATTATG	4691	CATAATTTCTGAATATTTAGATG
3428	CCATCTAAATATTCAGAAATTAT	4692	ATAATTTCTGAATATTTAGATGG
3429	TCCATCTAAATATTCAGAAATTA	4693	TAATTTCTGAATATTTAGATGGA
3430	ATCCATCTAAATATTCAGAAATT	4694	AATTTCTGAATATTTAGATGGAT
3431	CATCCATCTAAATATTCAGAAAT	4695	ATTTCTGAATATTTAGATGGATG
3432	CCATCCATCTAAATATTCAGAAA	4696	TTTCTGAATATTTAGATGGATGG
3433	ACCATCCATCTAAATATTCAGAA	4697	TTCTGAATATTTAGATGGATGGT
3434	AACCATCCATCTAAATATTCAGA	4698	TCTGAATATTTAGATGGATGGTT

3435	CAACCATCCATCTAAATATTCAG	4699	CTGAATATTTAGATGGATGGTTG
3436	ACAACCATCCATCTAAATATTCA	4700	TGAATATTTAGATGGATGGTTGT
3437	CACAACCATCCATCTAAATATTC	4701	GAATATTTAGATGGATGGTTGTG
3438	TCACAACCATCCATCTAAATATT	4702	AATATTTAGATGGATGGTTGTGA
3439	CTCACAACCATCCATCTAAATAT	4703	ATATTTAGATGGATGGTTGTGAG
3440	ACTCACAACCATCCATCTAAATA	4704	TATTTAGATGGATGGTTGTGAGT
3441	CACTCACAACCATCCATCTAAAT	4705	ATTTAGATGGATGGTTGTGAGTG
3442	CCACTCACAACCATCCATCTAAA	4706	TTTAGATGGATGGTTGTGAGTGG
3443	GCCACTCACAACCATCCATCTAA	4707	TTAGATGGATGGTTGTGAGTGGC
3444	AGCCACTCACAACCATCCATCTA	4708	TAGATGGATGGTTGTGAGTGGCT
3445	CAGCCACTCACAACCATCCATCT	4709	AGATGGATGGTTGTGAGTGGCTG
3446	CCAGCCACTCACAACCATCCATC	4710	GATGGATGGTTGTGAGTGGCTGG
3447	ACCAGCCACTCACAACCATCCAT	4711	ATGGATGGTTGTGAGTGGCTGGT
3448	CACCAGCCACTCACAACCATCCA	4712	TGGATGGTTGTGAGTGGCTGGTG
3449	CCACCAGCCACTCACAACCATCC	4713	GGATGGTTGTGAGTGGCTGGTGG
3450	TCCACCAGCCACTCACAACCATC	4714	GATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGA
3451	GTCCACCAGCCACTCACAACCAT	4715	ATGGTTGTGAGTGGCTGGTGGAC
3452	TGTCCACCAGCCACTCACAACCA	4716	TGGTTGTGAGTGGCTGGTGGACA
3453	CTGTCCACCAGCCACTCACAACC	4717	GGTTGTGAGTGGCTGGTGGACAG
3454	TCTGTCCACCAGCCACTCACAAC	4718	GTTGTGAGTGGCTGGTGGACAGA
3455	GTCTGTCCACCAGCCACTCACAA	4719	TTGTGAGTGGCTGGTGGACAGAC
3456	CGTCTGTCCACCAGCCACTCACA	4720	TGTGAGTGGCTGGTGGACAGACG
3457	TCGTCTGTCCACCAGCCACTCAC	4721	GTGAGTGGCTGGTGGACAGACGA
3458	TTCGTCTGTCCACCAGCCACTCA	4722	TGAGTGGCTGGTGGACAGACGAA
3459	TTTCGTCTGTCCACCAGCCACTC	4723	GAGTGGCTGGTGGACAGACGAAA
3460	TTTTCGTCTGTCCACCAGCCACT	4724	AGTGGCTGGTGGACAGACGAAAA
3461	TTTTTCGTCTGTCCACCAGCCAC	4725	GTGGCTGGTGGACAGACGAAAAA
3462	ATTTTTCGTCTGTCCACCAGCCA	4726	TGGCTGGTGGACAGACGAAAAAT
3463	CATTTTTCGTCTGTCCACCAGCC	4727	GGCTGGTGGACAGACGAAAAATG
3464	CCATTTTTCGTCTGTCCACCAGC	4728	GCTGGTGGACAGACGAAAAATGG
3465	TCCATTTTTCGTCTGTCCACCAG	4729	CTGGTGGACAGACGAAAAATGGA
3466	ATCCATTTTTCGTCTGTCCACCA	4730	TGGTGGACAGACGAAAAATGGAT
3467	CATCCATTTTTCGTCTGTCCACC	4731	GGTGGACAGACGAAAAATGGATG
3468	CCATCCATTTTTCGTCTGTCCAC	4732	GTGGACAGACGAAAAATGGATGG
3469	ACCATCCATTTTTCGTCTGTCCA	4733	TGGACAGACGAAAAATGGATGGT
3470	AACCATCCATTTTTCGTCTGTCC	4734	GGACAGACGAAAAATGGATGGTT
3471	CAACCATCCATTTTTCGTCTGTC	4735	GACAGACGAAAAATGGATGGTTG
3472	CCAACCATCCATTTTTCGTCTGT	4736	ACAGACGAAAAATGGATGGTTGG
3473	TCCAACCATCCATTTTTCGTCTG	4737	CAGACGAAAAATGGATGGTTGGA
3474	ATCCAACCATCCATTTTTCGTCT	4738	AGACGAAAAATGGATGGTTGGAT
3475	TATCCAACCATCCATTTTTCGTC	4739	GACGAAAAATGGATGGTTGGATA
3476	TTATCCAACCATCCATTTTTCGT	4740	ACGAAAAATGGATGGTTGGATAA
3477	TTTATCCAACCATCCATTTTTCG	4741	CGAAAAATGGATGGTTGGATAAA

3478	ATTTATCCAACCATCCATTTTTC	4742	GAAAAATGGATGGTTGGATAAAT
3479	AATTTATCCAACCATCCATTTTT	4743	AAAAATGGATGGTTGGATAAATT
3480	CAATTTATCCAACCATCCATTTT	4744	AAAATGGATGGTTGGATAAATTG
3481	TCAATTTATCCAACCATCCATTT	4745	AAATGGATGGTTGGATAAATTGA
3482	ATCAATTTATCCAACCATCCATT	4746	AATGGATGGTTGGATAAATTGAT
3483	CATCAATTTATCCAACCATCCAT	4747	ATGGATGGTTGGATAAATTGATG
3484	CCATCAATTTATCCAACCATCCA	4748	TGGATGGTTGGATAAATTGATGG
3485	CCCATCAATTTATCCAACCATCC	4749	GGATGGTTGGATAAATTGATGGG
3486	ACCCATCAATTTATCCAACCATC	4750	GATGGTTGGATAAATTGATGGGT
3487	CACCCATCAATTTATCCAACCAT	4751	ATGGTTGGATAAATTGATGGGTG
3488	CCACCCATCAATTTATCCAACCA	4752	TGGTTGGATAAATTGATGGGTGG
3489	TCCACCCATCAATTTATCCAACC	4753	GGTTGGATAAATTGATGGGTGGA
3490	ATCCACCCATCAATTTATCCAAC	4754	GTTGGATAAATTGATGGGTGGAT
3491	CATCCACCCATCAATTTATCCAA	4755	TTGGATAAATTGATGGGTGGATG
3492	CCATCCACCCATCAATTTATCCA	4756	TGGATAAATTGATGGGTGGATGG
3493	TCCATCCACCCATCAATTTATCC	4757	GGATAAATTGATGGGTGGATGGA
3494	ATCCATCCACCCATCAATTTATC	4758	GATAAATTGATGGGTGGATGGAT
3495	CATCCATCCACCCATCAATTTAT	4759	ATAAATTGATGGGTGGATGGATG
3496	CCATCCATCCACCCATCAATTTA	4760	TAAATTGATGGGTGGATGGATGG
3497	ACCATCCATCCACCCATCAATTT	4761	AAATTGATGGGTGGATGGATGGT
3498	AACCATCCATCCACCCATCAATT	4762	AATTGATGGGTGGATGGATGGTT
3499	CAACCATCCATCCACCCATCAAT	4763	ATTGATGGGTGGATGGATGGTTG
3500	CCAACCATCCATCCACCCATCAA	4764	TTGATGGGTGGATGGATGGTTGG
3501	ACCAACCATCCATCCACCCATCA	4765	TGATGGGTGGATGGATGGTTGGT
3502	AACCAACCATCCATCCACCCATC	4766	GATGGGTGGATGGATGGTTGGTT
3503	CAACCAACCATCCATCCACCCAT	4767	ATGGGTGGATGGATGGTTGGTTG
3504	ACAACCAACCATCCATCCACCCA	4768	TGGGTGGATGGATGGTTGGTTGT
3505	TACAACCAACCATCCATCCACCC	4769	GGGTGGATGGATGGTTGGTTGTA
3506	ATACAACCAACCATCCATCCACC	4770	GGTGGATGGATGGTTGGTTGTAT
3507	CATACAACCAACCATCCATCCAC	4771	GTGGATGGATGGTTGGTTGTATG
3508	TCATACAACCAACCATCCATCCA	4772	TGGATGGATGGTTGGTTGTATGA
3509	TTCATACAACCAACCATCCATCC	4773	GGATGGATGGTTGGTTGTATGAA
3510	TTTCATACAACCAACCATCCATC	4774	GATGGATGGTTGGTTGTATGAAA
3511	CTTTCATACAACCAACCATCCAT	4775	ATGGATGGTTGGTTGTATGAAAG
3512	TCTTTCATACAACCAACCATCCA	4776	TGGATGGTTGGTTGTATGAAAGA
3513	TTCTTTCATACAACCAACCATCC	4777	GGATGGTTGGTTGTATGAAAGAA
3514	ATTCTTTCATACAACCAACCATC	4778	GATGGTTGGTTGTATGAAAGAAT
3515	CATTCTTTCATACAACCAACCAT	4779	ATGGTTGGTTGTATGAAAGAATG
3516	TCATTCTTTCATACAACCAACCA	4780	TGGTTGGTTGTATGAAAGAATGA
3517	TTCATTCTTTCATACAACCAACC	4781	GGTTGGTTGTATGAAAGAATGAA
3518	ATTCATTCTTTCATACAACCAAC	4782	GTTGGTTGTATGAAAGAATGAAT
3519	CATTCATTCTTTCATACAACCAA	4783	TTGGTTGTATGAAAGAATGAATG
3520	TCATTCATTCTTTCATACAACCA	4784	TGGTTGTATGAAAGAATGAATGA

3521	ATCATTCATTCTTTCATACAACC	4785	GGTTGTATGAAAGAATGAATGAT
3522	AATCATTCATTCTTTCATACAAC	4786	GTTGTATGAAAGAATGAATGATT
3523	CAATCATTCATTCTTTCATACAA	4787	TTGTATGAAAGAATGAATGATTG
3524	CCAATCATTCATTCTTTCATACA	4788	TGTATGAAAGAATGAATGATTGG
3525	CCCAATCATTCATTCTTTCATAC	4789	GTATGAAAGAATGAATGATTGGG
3526	ACCCAATCATTCATTCTTTCATA	4790	TATGAAAGAATGAATGATTGGGT
3527	TACCCAATCATTCATTCTTTCAT	4791	ATGAAAGAATGAATGATTGGGTA
3528	CTACCCAATCATTCATTCTTTCA	4792	TGAAAGAATGAATGATTGGGTAG
3529	CCTACCCAATCATTCATTCTTTC	4793	GAAAGAATGAATGATTGGGTAGG
3530	ACCTACCCAATCATTCATTCTTT	4794	AAAGAATGAATGATTGGGTAGGT
3531	CACCTACCCAATCATTCATTCTT	4795	AAGAATGAATGATTGGGTAGGTG
3532	CCACCTACCCAATCATTCATTCT	4796	AGAATGAATGATTGGGTAGGTGG
3533	TCCACCTACCCAATCATTCATTC	4797	GAATGAATGATTGGGTAGGTGGA
3534	ATCCACCTACCCAATCATTCATT	4798	AATGAATGATTGGGTAGGTGGAT
3535	AATCCACCTACCCAATCATTCAT	4799	ATGAATGATTGGGTAGGTGGATT
3536	TAATCCACCTACCCAATCATTCA	4800	TGAATGATTGGGTAGGTGGATTA
3537	TTAATCCACCTACCCAATCATTC	4801	GAATGATTGGGTAGGTGGATTAA
3538	CTTAATCCACCTACCCAATCATT	4802	AATGATTGGGTAGGTGGATTAAG
3539	ACTTAATCCACCTACCCAATCAT	4803	ATGATTGGGTAGGTGGATTAAGT
3540	AACTTAATCCACCTACCCAATCA	4804	TGATTGGGTAGGTGGATTAAGTT
3541	CAACTTAATCCACCTACCCAATC	4805	GATTGGGTAGGTGGATTAAGTTG
3542	GCAACTTAATCCACCTACCCAAT	4806	ATTGGGTAGGTGGATTAAGTTGC
3543	CGCAACTTAATCCACCTACCCAA	4807	TTGGGTAGGTGGATTAAGTTGCG
3544	CCGCAACTTAATCCACCTACCCA	4808	TGGGTAGGTGGATTAAGTTGCGG
3545	TCCGCAACTTAATCCACCTACCC	4809	GGGTAGGTGGATTAAGTTGCGGA
3546	ATCCGCAACTTAATCCACCTACC	4810	GGTAGGTGGATTAAGTTGCGGAT
3547	GATCCGCAACTTAATCCACCTAC	4811	GTAGGTGGATTAAGTTGCGGATC
3548	TGATCCGCAACTTAATCCACCTA	4812	TAGGTGGATTAAGTTGCGGATCA
3549	TTGATCCGCAACTTAATCCACCT	4813	AGGTGGATTAAGTTGCGGATCAA
3550	ATTGATCCGCAACTTAATCCACC	4814	GGTGGATTAAGTTGCGGATCAAT
3551	CATTGATCCGCAACTTAATCCAC	4815	GTGGATTAAGTTGCGGATCAATG
3552	ACATTGATCCGCAACTTAATCCA	4816	TGGATTAAGTTGCGGATCAATGT
3553	TACATTGATCCGCAACTTAATCC	4817	GGATTAAGTTGCGGATCAATGTA
3554	ATACATTGATCCGCAACTTAATC	4818	GATTAAGTTGCGGATCAATGTAT
3555	CATACATTGATCCGCAACTTAAT	4819	ATTAAGTTGCGGATCAATGTATG
3556	CCATACATTGATCCGCAACTTAA	4820	TTAAGTTGCGGATCAATGTATGG
3557	CCCATACATTGATCCGCAACTTA	4821	TAAGTTGCGGATCAATGTATGGG
3558	TCCCATACATTGATCCGCAACTT	4822	AAGTTGCGGATCAATGTATGGGA
3559	ATCCCATACATTGATCCGCAACT	4823	AGTTGCGGATCAATGTATGGGAT
3560	CATCCCATACATTGATCCGCAAC	4824	GTTGCGGATCAATGTATGGGATG
3561	CCATCCCATACATTGATCCGCAA	4825	TTGCGGATCAATGTATGGGATGG
3562	TCCATCCCATACATTGATCCGCA	4826	TGCGGATCAATGTATGGGATGGA
3563	ATCCATCCCATACATTGATCCGC	4827	GCGGATCAATGTATGGGATGGAT

3564	CATCCATCCCATACATTGATCCG	4828	CGGATCAATGTATGGGATGGATG
3565	TCATCCATCCCATACATTGATCC	4829	GGATCAATGTATGGGATGGATGA
3566	TTCATCCATCCCATACATTGATC	4830	GATCAATGTATGGGATGGATGAA
3567	ATTCATCCATCCCATACATTGAT	4831	ATCAATGTATGGGATGGATGAAT
3568	CATTCATCCATCCCATACATTGA	4832	TCAATGTATGGGATGGATGAATG
3569	CCATTCATCCATCCCATACATTG	4833	CAATGTATGGGATGGATGAATGG
3570	TCCATTCATCCATCCCATACATT	4834	AATGTATGGGATGGATGAATGGA
3571	ATCCATTCATCCATCCCATACAT	4835	ATGTATGGGATGGATGAATGGAT
3572	CATCCATTCATCCATCCCATACA	4836	TGTATGGGATGGATGAATGGATG
3573	CCATCCATTCATCCATCCCATAC	4837	GTATGGGATGGATGAATGGATGG
3574	TCCATCCATTCATCCATCCCATA	4838	TATGGGATGGATGAATGGATGGA
3575	ATCCATCCATTCATCCATCCCAT	4839	ATGGGATGGATGAATGGATGGAT
3576	CATCCATCCATTCATCCATCCCA	4840	TGGGATGGATGAATGGATGGATG
3577	CCATCCATCCATTCATCCATCCC	4841	GGGATGGATGAATGGATGGATGG
3578	TCCATCCATCCATTCATCCATCC	4842	GGATGGATGAATGGATGGATGGA
3579	ATCCATCCATCCATTCATCCATC	4843	GATGGATGAATGGATGGATGGAT
3580	CATCCATCCATCCATTCATCCAT	4844	ATGGATGAATGGATGGATGGATG
3581	CCATCCATCCATCCATTCATCCA	4845	TGGATGAATGGATGGATGGATGG
3582	TCCATCCATCCATCCATTCATCC	4846	GGATGAATGGATGGATGGATGGA
3583	ATCCATCCATCCATCCATTCATC	4847	GATGAATGGATGGATGGATGGAT
3584	CATCCATCCATCCATCCATTCAT	4848	ATGAATGGATGGATGGATGGATG
3585	ACATCCATCCATCCATCCATTCA	4849	TGAATGGATGGATGGATGGATGT
3586	CACATCCATCCATCCATCCATTC	4850	GAATGGATGGATGGATGGATGTG
3587	ACACATCCATCCATCCATCCATT	4851	AATGGATGGATGGATGGATGTGT
3588	CACACATCCATCCATCCATCCAT	4852	ATGGATGGATGGATGGATGTGTG
3589	CCACACATCCATCCATCCATCCA	4853	TGGATGGATGGATGGATGTGTGG
3590	ACCACACATCCATCCATCCATCC	4854	GGATGGATGGATGGATGTGTGGT
3591	AACCACACATCCATCCATCCATC	4855	GATGGATGGATGGATGTGTGGTT
3592	CAACCACACATCCATCCATCCAT	4856	ATGGATGGATGGATGTGTGGTTG
3593	TCAACCACACATCCATCCATCCA	4857	TGGATGGATGGATGTGTGGTTGA
3594	TTCAACCACACATCCATCCATCC	4858	GGATGGATGGATGTGTGGTTGAA
3595	ATTCAACCACACATCCATCCATC	4859	GATGGATGGATGTGTGGTTGAAT
3596	AATTCAACCACACATCCATCCAT	4860	ATGGATGGATGTGTGGTTGAATT
3597	TAATTCAACCACACATCCATCCA	4861	TGGATGGATGTGTGGTTGAATTA
3598	GTAATTCAACCACACATCCATCC	4862	GGATGGATGTGTGGTTGAATTAC
3599	AGTAATTCAACCACACATCCATC	4863	GATGGATGTGTGGTTGAATTACT
3600	CAGTAATTCAACCACACATCCAT	4864	ATGGATGTGTGGTTGAATTACTG
3601	TCAGTAATTCAACCACACATCCA	4865	TGGATGTGTGGTTGAATTACTGA
3602	TTCAGTAATTCAACCACACATCC	4866	GGATGTGTGGTTGAATTACTGAA
3603	TTTCAGTAATTCAACCACACATC	4867	GATGTGTGGTTGAATTACTGAAA
3604	CTTTCAGTAATTCAACCACACAT	4868	ATGTGTGGTTGAATTACTGAAAG
3605	CCTTTCAGTAATTCAACCACACA	4869	TGTGTGGTTGAATTACTGAAAGG
3606	ACCTTTCAGTAATTCAACCACAC	4870	GTGTGGTTGAATTACTGAAAGGT

3607	AACCTTTCAGTAATTCAACCACA	4871	TGTGGTTGAATTACTGAAAGGTT
3608	CAACCTTTCAGTAATTCAACCAC	4872	GTGGTTGAATTACTGAAAGGTTG
3609	CCAACCTTTCAGTAATTCAACCA	4873	TGGTTGAATTACTGAAAGGTTGG
3610	TCCAACCTTTCAGTAATTCAACC	4874	GGTTGAATTACTGAAAGGTTGGA
3611	TTCCAACCTTTCAGTAATTCAAC	4875	GTTGAATTACTGAAAGGTTGGAA
3612	CTTCCAACCTTTCAGTAATTCAA	4876	TTGAATTACTGAAAGGTTGGAAG
3613	TCTTCCAACCTTTCAGTAATTCA	4877	TGAATTACTGAAAGGTTGGAAGA
3614	CTCTTCCAACCTTTCAGTAATTC	4878	GAATTACTGAAAGGTTGGAAGAG
3615	ACTCTTCCAACCTTTCAGTAATT	4879	AATTACTGAAAGGTTGGAAGAGT
3616	CACTCTTCCAACCTTTCAGTAAT	4880	ATTACTGAAAGGTTGGAAGAGTG
3617	CCACTCTTCCAACCTTTCAGTAA	4881	TTACTGAAAGGTTGGAAGAGTGG
3618	TCCACTCTTCCAACCTTTCAGTA	4882	TACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGA
3619	ATCCACTCTTCCAACCTTTCAGT	4883	ACTGAAAGGTTGGAAGAGTGGAT
3620	CATCCACTCTTCCAACCTTTCAG	4884	CTGAAAGGTTGGAAGAGTGGATG
3621	CCATCCACTCTTCCAACCTTTCA	4885	TGAAAGGTTGGAAGAGTGGATGG
3622	CCCATCCACTCTTCCAACCTTTC	4886	GAAAGGTTGGAAGAGTGGATGGG
3623	ACCCATCCACTCTTCCAACCTTT	4887	AAAGGTTGGAAGAGTGGATGGGT
3624	CACCCATCCACTCTTCCAACCTT	4888	AAGGTTGGAAGAGTGGATGGGTG
3625	TCACCCATCCACTCTTCCAACCT	4889	AGGTTGGAAGAGTGGATGGGTGA
3626	TTCACCCATCCACTCTTCCAACC	4890	GGTTGGAAGAGTGGATGGGTGAA
3627	TTTCACCCATCCACTCTTCCAAC	4891	GTTGGAAGAGTGGATGGGTGAAA
3628	ATTTCACCCATCCACTCTTCCAA	4892	TTGGAAGAGTGGATGGGTGAAAT
3629	AATTTCACCCATCCACTCTTCCA	4893	TGGAAGAGTGGATGGGTGAAATT
3630	AAATTTCACCCATCCACTCTTCC	4894	GGAAGAGTGGATGGGTGAAATTT
3631	CAAATTTCACCCATCCACTCTTC	4895	GAAGAGTGGATGGGTGAAATTTG
3632	CCAAATTTCACCCATCCACTCTT	4896	AAGAGTGGATGGGTGAAATTTGG
3633	CCCAAATTTCACCCATCCACTCT	4897	AGAGTGGATGGGTGAAATTTGGG
3634	CCCCAAATTTCACCCATCCACTC	4898	GAGTGGATGGGTGAAATTTGGGG
3635	ACCCCAAATTTCACCCATCCACT	4899	AGTGGATGGGTGAAATTTGGGGT
3636	TACCCCAAATTTCACCCATCCAC	4900	GTGGATGGGTGAAATTTGGGGTA
3637	CTACCCCAAATTTCACCCATCCA	4901	TGGATGGGTGAAATTTGGGGTAG
3638	ACTACCCCAAATTTCACCCATCC	4902	GGATGGGTGAAATTTGGGGTAGT
3639	AACTACCCCAAATTTCACCCATC	4903	GATGGGTGAAATTTGGGGTAGTT
3640	TAACTACCCCAAATTTCACCCAT	4904	ATGGGTGAAATTTGGGGTAGTTA
3641	CTAACTACCCCAAATTTCACCCA	4905	TGGGTGAAATTTGGGGTAGTTAG
3642	TCTAACTACCCCAAATTTCACCC	4906	GGGTGAAATTTGGGGTAGTTAGA
3643	ATCTAACTACCCCAAATTTCACC	4907	GGTGAAATTTGGGGTAGTTAGAT
3644	CATCTAACTACCCCAAATTTCAC	4908	GTGAAATTTGGGGTAGTTAGATG
3645	CCATCTAACTACCCCAAATTTCA	4909	TGAAATTTGGGGTAGTTAGATGG
3646	CCCATCTAACTACCCCAAATTTC	4910	GAAATTTGGGGTAGTTAGATGGG
3647	ACCCATCTAACTACCCCAAATTT	4911	AAATTTGGGGTAGTTAGATGGGT
3648	CACCCATCTAACTACCCCAAATT	4912	AATTTGGGGTAGTTAGATGGGTG
3649	CCACCCATCTAACTACCCCAAAT	4913	ATTTGGGGTAGTTAGATGGGTGG

3650	CCCACCCATCTAACTACCCCAAA	4914	TTTGGGGTAGTTAGATGGGTGGG
3651	ACCCACCCATCTAACTACCCCAA	4915	TTGGGGTAGTTAGATGGGTGGGT
3652	CACCCACCCATCTAACTACCCCA	4916	TGGGGTAGTTAGATGGGTGGGTG
3653	ACACCCACCCATCTAACTACCCC	4917	GGGGTAGTTAGATGGGTGGGTGT
3654	CACACCCACCCATCTAACTACCC	4918	GGGTAGTTAGATGGGTGGGTGTG
3655	ACACACCCACCCATCTAACTACC	4919	GGTAGTTAGATGGGTGGGTGTGT
3656	CACACACCCACCCATCTAACTAC	4920	GTAGTTAGATGGGTGGGTGTGTG
3657	CCACACACCCACCCATCTAACTA	4921	TAGTTAGATGGGTGGGTGTGTGG
3658	TCCACACACCCACCCATCTAACT	4922	AGTTAGATGGGTGGGTGTGTGGA
3659	ATCCACACACCCACCCATCTAAC	4923	GTTAGATGGGTGGGTGTGTGGAT
3660	CATCCACACACCCACCCATCTAA	4924	TTAGATGGGTGGGTGTGTGGATG
3661	CCATCCACACACCCACCCATCTA	4925	TAGATGGGTGGGTGTGTGGATGG
3662	TCCATCCACACACCCACCCATCT	4926	AGATGGGTGGGTGTGTGGATGGA
3663	ATCCATCCACACACCCACCCATC	4927	GATGGGTGGGTGTGTGGATGGAT
3664	TATCCATCCACACACCCACCCAT	4928	ATGGGTGGGTGTGTGGATGGATA
3665	TTATCCATCCACACACCCACCCA	4929	TGGGTGGGTGTGTGGATGGATAA
3666	TTTATCCATCCACACACCCACCC	4930	GGGTGGGTGTGTGGATGGATAAA
3667	TTTTATCCATCCACACACCCACC	4931	GGTGGGTGTGTGGATGGATAAAA
3668	CTTTTATCCATCCACACACCCAC	4932	GTGGGTGTGTGGATGGATAAAAG
3669	TCTTTTATCCATCCACACACCCA	4933	TGGGTGTGTGGATGGATAAAAGA
3670	CTCTTTTATCCATCCACACACCC	4934	GGGTGTGTGGATGGATAAAAGAG
3671	ACTCTTTTATCCATCCACACACC	4935	GGTGTGTGGATGGATAAAAGAGT
3672	TACTCTTTTATCCATCCACACAC	4936	GTGTGTGGATGGATAAAAGAGTA
3673	CTACTCTTTTATCCATCCACACA	4937	TGTGTGGATGGATAAAAGAGTAG
3674	TCTACTCTTTTATCCATCCACAC	4938	GTGTGGATGGATAAAAGAGTAGA
3675	ATCTACTCTTTTATCCATCCACA	4939	TGTGGATGGATAAAAGAGTAGAT
3676	CATCTACTCTTTTATCCATCCAC	4940	GTGGATGGATAAAAGAGTAGATG
3677	TCATCTACTCTTTTATCCATCCA	4941	TGGATGGATAAAAGAGTAGATGA
3678	TTCATCTACTCTTTTATCCATCC	4942	GGATGGATAAAAGAGTAGATGAA
3679	ATTCATCTACTCTTTTATCCATC	4943	GATGGATAAAAGAGTAGATGAAT
3680	CATTCATCTACTCTTTTATCCAT	4944	ATGGATAAAAGAGTAGATGAATG
3681	TCATTCATCTACTCTTTTATCCA	4945	TGGATAAAAGAGTAGATGAATGA
3682	TTCATTCATCTACTCTTTTATCC	4946	GGATAAAAGAGTAGATGAATGAA
3683	ATTCATTCATCTACTCTTTTATC	4947	GATAAAAGAGTAGATGAATGAAT
3684	AATTCATTCATCTACTCTTTTAT	4948	ATAAAAGAGTAGATGAATGAATT
3685	TAATTCATTCATCTACTCTTTTA	4949	TAAAAGAGTAGATGAATGAATTA
3686	TTAATTCATTCATCTACTCTTTT	4950	AAAAGAGTAGATGAATGAATTAA
3687	ATTAATTCATTCATCTACTCTTT	4951	AAAGAGTAGATGAATGAATTAAT
3688	CATTAATTCATTCATCTACTCTT	4952	AAGAGTAGATGAATGAATTAATG
3689	TCATTAATTCATTCATCTACTCT	4953	AGAGTAGATGAATGAATTAATGA
3690	TTCATTAATTCATTCATCTACTC	4954	GAGTAGATGAATGAATTAATGAA
3691	ATTCATTAATTCATTCATCTACT	4955	AGTAGATGAATGAATTAATGAAT
3692	TATTCATTAATTCATTCATCTAC	4956	GTAGATGAATGAATTAATGAATA

3693	TTATTCATTAATTCATTCATCTA	4957	TAGATGAATGAATTAATGAATAA
3694	TTTATTCATTAATTCATTCATCT	4958	AGATGAATGAATTAATGAATAAA
3695	GTTTATTCATTAATTCATTCATC	4959	GATGAATGAATTAATGAATAAAC
3696	TGTTTATTCATTAATTCATTCAT	4960	ATGAATGAATTAATGAATAAACA
3697	CTGTTTATTCATTAATTCATTCA	4961	TGAATGAATTAATGAATAAACAG
3698	CCTGTTTATTCATTAATTCATTC	4962	GAATGAATTAATGAATAAACAGG
3699	GCCTGTTTATTCATTAATTCATT	4963	AATGAATTAATGAATAAACAGGC
3700	TGCCTGTTTATTCATTAATTCAT	4964	ATGAATTAATGAATAAACAGGCA
3701	CTGCCTGTTTATTCATTAATTCA	4965	TGAATTAATGAATAAACAGGCAG
3702	TCTGCCTGTTTATTCATTAATTC	4966	GAATTAATGAATAAACAGGCAGA
3703	ATCTGCCTGTTTATTCATTAATT	4967	AATTAATGAATAAACAGGCAGAT
3704	CATCTGCCTGTTTATTCATTAAT	4968	ATTAATGAATAAACAGGCAGATG
3705	CCATCTGCCTGTTTATTCATTAA	4969	TTAATGAATAAACAGGCAGATGG
3706	TCCATCTGCCTGTTTATTCATTA	4970	TAATGAATAAACAGGCAGATGGA
3707	ATCCATCTGCCTGTTTATTCATT	4971	AATGAATAAACAGGCAGATGGAT
3708	CATCCATCTGCCTGTTTATTCAT	4972	ATGAATAAACAGGCAGATGGATG
3709	TCATCCATCTGCCTGTTTATTCA	4973	TGAATAAACAGGCAGATGGATGA
3710	ATCATCCATCTGCCTGTTTATTC	4974	GAATAAACAGGCAGATGGATGAT
3711	CATCATCCATCTGCCTGTTTATT	4975	AATAAACAGGCAGATGGATGATG
3712	ACATCATCCATCTGCCTGTTTAT	4976	ATAAACAGGCAGATGGATGATGT
3713	TACATCATCCATCTGCCTGTTTA	4977	TAAACAGGCAGATGGATGATGTA
3714	TTACATCATCCATCTGCCTGTTT	4978	AAACAGGCAGATGGATGATGTAA
3715	CTTACATCATCCATCTGCCTGTT	4979	AACAGGCAGATGGATGATGTAAG
3716	GCTTACATCATCCATCTGCCTGT	4980	ACAGGCAGATGGATGATGTAAGC
3717	AGCTTACATCATCCATCTGCCTG	4981	CAGGCAGATGGATGATGTAAGCT
3718	CAGCTTACATCATCCATCTGCCT	4982	AGGCAGATGGATGATGTAAGCTG
3719	GCAGCTTACATCATCCATCTGCC	4983	GGCAGATGGATGATGTAAGCTGC
3720	GGCAGCTTACATCATCCATCTGC	4984	GCAGATGGATGATGTAAGCTGCC
3721	GGGCAGCTTACATCATCCATCTG	4985	CAGATGGATGATGTAAGCTGCCC
3722	GGGGCAGCTTACATCATCCATCT	4986	AGATGGATGATGTAAGCTGCCCC
3723	TGGGGCAGCTTACATCATCCATC	4987	GATGGATGATGTAAGCTGCCCCA
3724	CTGGGGCAGCTTACATCATCCAT	4988	ATGGATGATGTAAGCTGCCCCAG
3725	TCTGGGGCAGCTTACATCATCCA	4989	TGGATGATGTAAGCTGCCCCAGA
3726	GTCTGGGGCAGCTTACATCATCC	4990	GGATGATGTAAGCTGCCCCAGAC
3727	GGTCTGGGGCAGCTTACATCATC	4991	GATGATGTAAGCTGCCCCAGACC
3728	GGGTCTGGGGCAGCTTACATCAT	4992	ATGATGTAAGCTGCCCCAGACCC
3729	AGGGTCTGGGGCAGCTTACATCA	4993	TGATGTAAGCTGCCCCAGACCCT
3730	CAGGGTCTGGGGCAGCTTACATC	4994	GATGTAAGCTGCCCCAGACCCTG
3731	CCAGGGTCTGGGGCAGCTTACAT	4995	ATGTAAGCTGCCCCAGACCCTGG
3732	CCCAGGGTCTGGGGCAGCTTACA	4996	TGTAAGCTGCCCCAGACCCTGGG
3733	TCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTAC	4997	GTAAGCTGCCCCAGACCCTGGGA
3734	GTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTTA	4998	TAAGCTGCCCCAGACCCTGGGAC
3735	GGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCTT	4999	AAGCTGCCCCAGACCCTGGGACC

3736	AGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGCT	5000	AGCTGCCCCAGACCCTGGGACCT
3737	GAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAGC	5001	GCTGCCCCAGACCCTGGGACCTC
3738	AGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCAG	5002	CTGCCCCAGACCCTGGGACCTCT
3739	CAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGCA	5003	TGCCCCAGACCCTGGGACCTCTG
3740	TCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGGC	5004	GCCCCAGACCCTGGGACCTCTGA
3741	GTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGGG	5005	CCCCAGACCCTGGGACCTCTGAC
3742	GGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGGG	5006	CCCAGACCCTGGGACCTCTGACC
3743	GGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTGG	5007	CCAGACCCTGGGACCTCTGACCC
3744	GGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCTG	5008	CAGACCCTGGGACCTCTGACCCC
3745	GGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTCT	5009	AGACCCTGGGACCTCTGACCCCC
3746	CGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGTC	5010	GACCCTGGGACCTCTGACCCCCG
3747	CCGGGGGTCAGAGGTCCCAGGGT	5011	ACCCTGGGACCTCTGACCCCCGG
3748	GCCGGGGGTCAGAGGTCCCAGGG	5012	CCCTGGGACCTCTGACCCCCGGC
3749	CGCCGGGGGTCAGAGGTCCCAGG	5013	CCTGGGACCTCTGACCCCCGGCG
3750	TCGCCGGGGGTCAGAGGTCCCAG	5014	CTGGGACCTCTGACCCCCGGCGA
3751	GTCGCCGGGGGTCAGAGGTCCCA	5015	TGGGACCTCTGACCCCCGGCGAC
3752	GGTCGCCGGGGGTCAGAGGTCCC	5016	GGGACCTCTGACCCCCGGCGACC
3753	GGGTCGCCGGGGGTCAGAGGTCC	5017	GGACCTCTGACCCCCGGCGACCC
3754	GGGGTCGCCGGGGGTCAGAGGTC	5018	GACCTCTGACCCCCGGCGACCCC
3755	AGGGGTCGCCGGGGGTCAGAGGT	5019	ACCTCTGACCCCCGGCGACCCCT
3756	AAGGGGTCGCCGGGGGTCAGAGG	5020	CCTCTGACCCCCGGCGACCCCTT
3757	CAAGGGGTCGCCGGGGGTCAGAG	5021	CTCTGACCCCCGGCGACCCCTTG
3758	GCAAGGGGTCGCCGGGGGTCAGA	5022	TCTGACCCCCGGCGACCCCTTGC
3759	TGCAAGGGGTCGCCGGGGGTCAG	5023	CTGACCCCCGGCGACCCCTTGCA
3760	GTGCAAGGGGTCGCCGGGGGTCA	5024	TGACCCCCGGCGACCCCTTGCAC
3761	AGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGTC	5025	GACCCCCGGCGACCCCTTGCACT
3762	GAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGGT	5026	ACCCCCGGCGACCCCTTGCACTC
3763	AGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGGG	5027	CCCCCGGCGACCCCTTGCACTCT
3764	GAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGGG	5028	CCCCGGCGACCCCTTGCACTCTC
3765	GGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGGG	5029	CCCGGCGACCCCTTGCACTCTCC
3766	TGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCGG	5030	CCGGCGACCCCTTGCACTCTCCA
3767	ATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCCG	5031	CGGCGACCCCTTGCACTCTCCAT
3768	CATGGAGAGTGCAAGGGGTCGCC	5032	GGCGACCCCTTGCACTCTCCATG
3769	TCATGGAGAGTGCAAGGGGTCGC	5033	GCGACCCCTTGCACTCTCCATGA
3770	GTCATGGAGAGTGCAAGGGGTCG	5034	CGACCCCTTGCACTCTCCATGAC
3771	TGTCATGGAGAGTGCAAGGGGTC	5035	GACCCCTTGCACTCTCCATGACA
3772	GTGTCATGGAGAGTGCAAGGGGT	5036	ACCCCTTGCACTCTCCATGACAC
3773	AGTGTCATGGAGAGTGCAAGGGG	5037	CCCCTTGCACTCTCCATGACACT
3774	AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	5038	CCCTTGCACTCTCCATGACACTT
3775	AAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGG	5039	CCTTGCACTCTCCATGACACTTT
3776	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAG	5040	CTTGCACTCTCCATGACACTTTC
3777	AGAAAGTGTCATGGAGAGTGCAA	5041	TTGCACTCTCCATGACACTTTCT
3778	GAGAAAGTGTCATGGAGAGTGCA	5042	TGCACTCTCCATGACACTTTCTC

3779	AGAGAAAGTGTCATGGAGAGTGC	5043	GCACTCTCCATGACACTTTCTCT
3780	GAGAGAAAGTGTCATGGAGAGTG	5044	CACTCTCCATGACACTTTCTCTC
3781	GGAGAGAAAGTGTCATGGAGAGT	5045	ACTCTCCATGACACTTTCTCTCC
3782	GGGAGAGAAAGTGTCATGGAGAG	5046	CTCTCCATGACACTTTCTCTCCC
3783	TGGGAGAGAAAGTGTCATGGAGA	5047	TCTCCATGACACTTTCTCTCCCA
3784	ATGGGAGAGAAAGTGTCATGGAG	5048	CTCCATGACACTTTCTCTCCCAT
3785	CATGGGAGAGAAAGTGTCATGGA	5049	TCCATGACACTTTCTCTCCCATG
3786	CCATGGGAGAGAAAGTGTCATGG	5050	CCATGACACTTTCTCTCCCATGG
3787	ACCATGGGAGAGAAAGTGTCATG	5051	CATGACACTTTCTCTCCCATGGT
3788	CACCATGGGAGAGAAAGTGTCAT	5052	ATGACACTTTCTCTCCCATGGTG
3789	CCACCATGGGAGAGAAAGTGTCA	5053	TGACACTTTCTCTCCCATGGTGG
3790	GCCACCATGGGAGAGAAAGTGTC	5054	GACACTTTCTCTCCCATGGTGGC
3791	TGCCACCATGGGAGAGAAAGTGT	5055	ACACTTTCTCTCCCATGGTGGCA
3792	CTGCCACCATGGGAGAGAAAGTG	5056	CACTTTCTCTCCCATGGTGGCAG

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

表2B.示例UNC13A寡核苷酸变体序列

SEQ ID NO:	AON 序列* (5' → 3')	SEQ ID NO:	靶序列 (5' → 3')
5209	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	5222	TGCCTGGGTTTCCTGGAAAGA
5210	CTTTCCAGGAAACCCAGGCA	5223	TGCCTGGGTTTCCTGGAAAG
5211	TCTTTCCAGGAAACCCAGGC	5224	GCCTGGGTTTCCTGGAAAGA
5212	TTTCCAGGAAACCCAGGCA	5225	TGCCTGGGTTTCCTGGAAA
5213	TCTTTCCAGGAAACCCAGG	5226	CCTGGGTTTCCTGGAAAGA
5214	TTCCAGGAAACCCAGGCA	5227	TGCCTGGGTTTCCTGGAA
5215	TCTTTCCAGGAAACCCAG	5228	CTGGGTTTCCTGGAAAGA
5216	TCCAGGAAACCCAGGCA	5229	TGCCTGGGTTTCCTGGA
5217	TCTTTCCAGGAAACCCA	5230	TGGGTTTCCTGGAAAGA
5218	CCAGGAAACCCAGGCA	5231	TGCCTGGGTTTCCTGG
5219	TCTTTCCAGGAAACCC	5232	GGGTTTCCTGGAAAGA
5220	CAGGAAACCCAGGCA	5233	TGCCTGGGTTTCCTG
5221	TCTTTCCAGGAAACC	5234	GGTTTCCTGGAAAGA

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0192] 在多种实施方案中,表2B中所示的反义寡核苷酸的每个核苷是具有2'-O-(2-甲氧基乙基)(2'MOE)糖部分的修饰的核苷,并且每个"C"被5-甲基胞嘧啶(5-MeC)替代。另外,核

苷之间的每个核苷间键均为硫代磷酸酯核苷间键。

具有一个或多个锁核酸(LNA)的反义寡核苷酸

[0193] 在各种实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含一个或多个锁核酸(LNA)。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括一个LNA。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括两个LNA。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括三个LNA。通常,LNA是指具有连接核苷糖单元的4'和2'位置之间的两个碳原子的桥(例如,亚甲基、亚乙基、氨氧基或羟基亚氨基桥),从而形成双环糖的核酸单体。

[0194] 在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第4个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第7个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第9个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第12个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第15个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第17个位置处的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第20个位置处的LNA。

[0195] 在各种实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含两个位于反义寡核苷酸的两个不同位置的LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第4个位置处的第一LNA和反义寡核苷酸的第20个位置处的第二LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第7个位置处的第一LNA和反义寡核苷酸的第15个位置处的第二LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第7个位置处的第一LNA和反义寡核苷酸的第17个位置处的第二LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第9个位置处的第一LNA和反义寡核苷酸的第17个位置处的第二LNA。

[0196] 在各种实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含位于反义寡核苷酸的三个不同位置的三个LNA。在一些实施方案中,如果从5'至3'计数,本文公开的反义寡核苷酸包括反义寡核苷酸的第4个位置处的第一LNA、反义寡核苷酸的第12个位置处的第二LNA和反义寡核苷酸的第20个位置处的第三LNA。

具有一个或多个间隔区的反义寡核苷酸

[0197] 在各种实施方案中,反义寡核苷酸包含一个或多个间隔区。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括一个间隔区。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括两个间隔区。在具体的实施方案中,反义寡核苷酸包括三个间隔区。通常,间隔区指缺少核苷酸碱基的核苷替代基团,其中核苷糖部分被非糖取代基替代。非糖取代基团不能与核碱基连接,但能够通过核苷间连接基团与邻近间隔区的核苷的3'和5'位置连接。

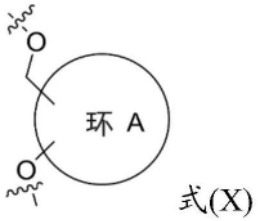
[0198] 在某些实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸,例如本文公开的寡核苷酸,可以是长度为5至100个寡核苷酸单元的寡核苷酸,例如,长度为10至60个寡核苷酸单元,例如,长度为12至50个寡核苷酸单元,长度为14至40个寡核苷酸单元,长度为10至30个寡核苷酸单元,例如,长度为14至30个寡核苷酸单元,例如,长度为14至25或15至22个寡核

苷酸单元,或长度为18、19、20、21、22、23、24或25个寡核苷酸单元。如本文所用,“寡核苷酸单元”是指寡核苷酸的核苷(例如,包括糖和/或核碱基的核苷)或核苷替代基团(例如,间隔区)。

[0199] 在具体的实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为25个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为23个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为21个寡核苷酸单元。在具体的实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为19个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23、至少24或至少25个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少18个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少19个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少20个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少21个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少22个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少23个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少24个寡核苷酸单元。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的寡核苷酸长度为至少25个寡核苷酸单元。

[0200] 在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少80%同一性的序列。在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少85%同一性的序列。在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少90%同一性的序列。在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有至少95%同一性的序列。在各种实施方案中,UNC13A AON包含与SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一项的等长部分具有100%同一性的序列。

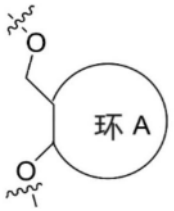
[0201] 在一些实施方案中,间隔区具有式(X):



式(X)

其中环A如本文所定义。

[0202] 在一些实施方案中,间隔区具有式(Xa):



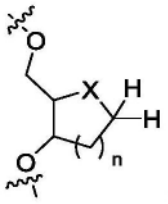
式(Xa)

其中环A如本文所定义且-CH_2-O-基团位于与-O-基团相邻的环A原子上。

[0203] 如本文一般定义的,式(X)和(Xa)的环A是任选取代的4-8元单环环烷基团(例如环A是环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基)或4-8元单环杂环基团、其中杂环基团含有1或2个选自O、S和N的杂原子(例如环A是氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、1,4-二氧杂环己烷基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、氮杂环庚烷基)。在一些实施方案中,环A为四氢呋喃基。在一些实施方案中,环A为四氢吡喃基。在一些实施方案中,环A为吡咯烷基。在一些实施方案中,环A为环戊基。在一些实施方案中,单环环烷基或单环杂环基未被进一步取代。在一些实施方案中,环烷基或杂环基进一步被0、1、2或3个选自卤素(例如-F、-Cl)、-OMe、-OEt、-OEt-O(CH_2)OMe、-O(CH_2)$_2$OMe和CN的取代基取代。

[0204] 在一些实施方案中,四氢呋喃基被1或2个选自卤素(例如-F、-Cl)、-OMe、-OEt、-OEt-O(CH_2)OMe、-O(CH_2)$_2$OMe和CN的取代基取代。在一些实施方案中,四氢呋喃基被2个选自卤素(例如-F、-Cl)、-OMe、-OEt、-OEt-O(CH_2)OMe、-O(CH_2)$_2$OMe和CN的取代基取代。在一些实施方案中,四氢呋喃基被1个选自卤素(例如-F、-Cl)、-OMe、-OEt、-OEt-O(CH_2)OMe、-O(CH_2)$_2$OMe和CN的取代基取代。在一些实施方案中,四氢呋喃基被-O(CH_2)$_2$OMe取代。

[0205] 在一些实施方案中,间隔区由式(I)表示,其中:

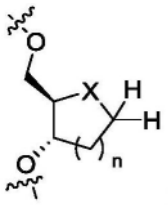


式(I)

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

[0206] 在一些实施方案中,所述间隔区由式(I')表示,其中:

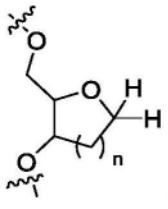


式(I')

X选自-CH_2-和-O-;以及

n为0、1、2或3。

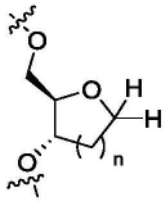
[0207] 在一些实施方案中,间隔区由式(Ia)表示,其中:



式(Ia)

并且n为0、1、2或3。

[0208] 在一些实施方案中,间隔区由式(Ia')表示,其中:



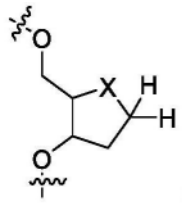
式(Ia')

并且n为0、1、2或3。

[0209] 如本文一般定义的,X选自-CH_2-和-O-。在一些实施方案中,X为-CH_2-。在其他实施方案中,X为-O-。

[0210] 如本文一般定义的,n为0、1、2或3。在一些实施方案中,n为0。在一些实施方案中,n为1或2。在一些实施方案中,n为1。在其他实施方案中,n为2。在某些实施方案中,n为3。

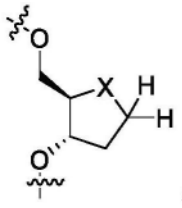
[0211] 在一些实施方案中,间隔区由式(II)表示,其中:



式(II)

X选自-CH_2-和-O-。

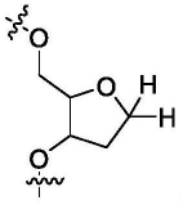
[0212] 在一些实施方案中,间隔区由式(II')表示,其中:



式(II')

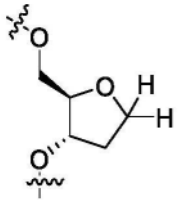
X选自-CH_2-和-O。

[0213] 在一些实施方案中,间隔区由式(Iia)表示,其中:



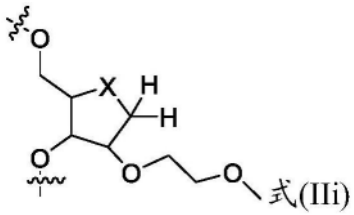
式(Iia)。

[0214] 在一些实施方案中,间隔区由式(Iia')表示,其中:



式(Iia')。

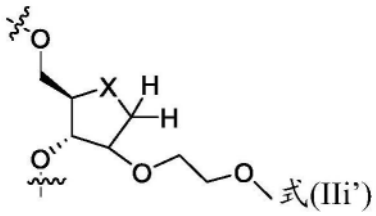
[0215] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi)表示,其中:



式(IIi)

X选自-CH_2-和-O-。

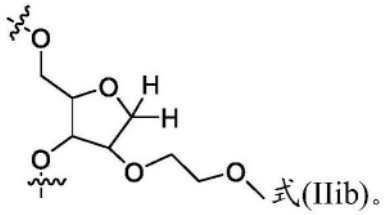
[0216] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIi')表示,其中:



式(IIi')

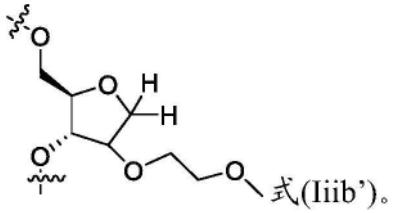
X选自-CH_2-和-O。

[0217] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIib)表示,其中:



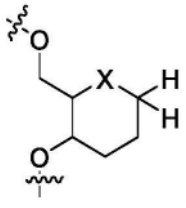
式(IIib)。

[0218] 在一些实施方案中,间隔区由式(Iiib')表示,其中:



式(Iiib')。

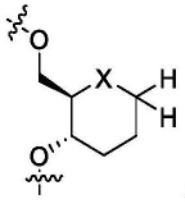
[0219] 在一些实施方案中,间隔区由式(III)表示,其中:



式(III)

X选自-CH_2-和-O-。

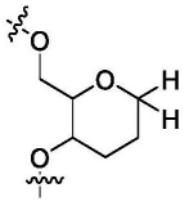
[0220] 在一些实施方案中,间隔区由式(III')表示,其中:



式(III')

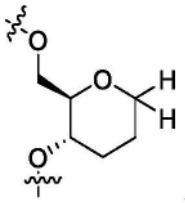
X选自-CH_2-和-O。

[0221] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIIa)表示,其中:



式(IIIa)。

[0222] 在一些实施方案中,间隔区由式(IIIa')表示,其中:



式(IIIa')。

[0223] 在一些实施方案中,式(I)、(I')、(Ia)、(Ia')、(II)、(II')、(Iia)、(Iia')、(III)、(III')、(IIIa)和(IIIa')的开放位置(即未具体描述为仅带有氢原子的位置,包括X的-CH_2-基团)进一步被0-3个独立地选自卤素(例如-F、-Cl)、-OMe、-OEt、-OEt-O(CH_2)OMe、-O$(CH_2)_2$OMe和CN的取代基取代。在一些实施方案中,式(I)、(I')、(Ia)、(Ia')、(II)、(II')、(Iia)、(Iia')、(III)、(III')、(IIIa)和(IIIa')未被进一步取代。

[0224] 如下文进一步描述的,参考相应的UNC13A亲本寡核苷酸或相应的UNC13A变体寡核苷酸描述了具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸。在各种实施方案中,具有间隔区的UNC13A寡核苷酸与UNC13A亲本寡核苷酸或UNC13A变体寡核苷酸的不同之处在于间隔区替代了UNC13A亲本寡核苷酸或UNC13A变体寡核苷酸中的核苷。如下文所用,UNC13A寡核苷酸的"位置"是指从UNC13A寡核苷酸的5'末端计数的具体定位。在各种实施方案中,间隔区在UNC13A亲本寡核苷酸或UNC13A变体寡核苷酸的位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一处替代核苷。在具体的实施方案中,间隔区在UNC13A亲本寡核苷酸或UNC13A变体寡核苷酸的位置7、8、11、14、16、19或22中的其中之一处替代核苷。

[0225] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包括一个替代UNC13A寡核苷酸中的核苷的间隔区(例如,一个间隔区替代UNC13A寡核苷酸的一个核苷)。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置9和15之间的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置9和12之间的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置10的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置11的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置12的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置12和16之间的核苷。在具体的实施方案中,间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置15的核苷。

[0226] 在各种实施方案中,包括一个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有2个区段,其中2个区段中的至少一个具有至多11个连接核苷。例如,UNC13A寡核苷酸的长度可以是23个寡核苷酸单元,间隔区可以位于位置12。因此,UNC13A寡核苷酸具有2个被间隔区分开的区段,其中2个区段的长度都是11个核碱基。在各种实施方案中,包括一个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有2个区段,其中2个区段中的至少一个具有至多10个连接核苷。例如,UNC13A寡核苷酸的长度可以是21个寡核苷酸单元,间隔区可以位于位置11。因此,UNC13A寡核苷酸具有2个被间隔区分开的区段,其中2个区段的长度都是10个核碱基。作为另一个示例,UNC13A寡核苷酸的长度可以是25个寡核苷酸单元,间隔区可以位于位置15。因此,UNC13A寡核苷酸具有2个被间隔区分开的区段,其中2个区段中的一个长度为14个核碱基,2个区段中的第二个长度为10个核碱基。

[0227] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包括两个间隔区,每个间隔区替代UNC13A寡核苷酸中的核苷(例如,两个间隔区替代UNC13A寡核苷酸的两个单独的核苷)。在各种实施方案中,第一间隔区和第二间隔区被寡核苷酸中至少5个核碱基、至少6个核碱基、至少7个核碱基、至少8个核碱基、至少9个核碱基或至少10个核碱基隔开。在具体的实施方案中,第一间隔区和第二间隔区被至少5个核碱基、至少6个核碱基或至少7个核碱基隔开。在具体的实施方案中,第一间隔区和第二间隔区在寡核苷酸中彼此不相邻。

[0228] 在具体的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置7和11之间的核苷。在各种实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置8和11、位置9和11、位置10和11、位置7和10、位置7和9、位置7和8、位置8和10、位置8和9或位置9和10之间的核苷。在具体的实施方案中,第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置14和22之间的核苷。在各种实施方案中,第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置15和22、位置16和22、位置17和22、位置18和22、位置19和22、位置20和22、位置21和22、位置15和21、位置16和21、位置17和21、位置18和21、位置19和21、位置20和21、位置15和20、位置16和20、位置17和20、位置18和20、位置19和20、位置15和19、位置16和19、位置17和19、位置18和19、位置15和18、位置16和18、位置17和18、位置15和17、位置16和17或位置15和16之间的核苷。

[0229] 在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置7的核苷,并且第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置14的核苷。在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置7的核苷,并且第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置19的核苷。在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A亲本寡核苷酸的位置8的核苷,并且第二间隔区替代UNC13A亲本寡核苷酸的位置16的核苷。在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置8的核苷,并且第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置15的核苷。在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置11的核苷,第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置22的核苷。在优选的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置9的核苷,并且第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置19的核苷。

[0230] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包括三个间隔区,每个间隔区替代UNC13A寡核苷酸中的核苷(例如,三个间隔区替换UNC13A寡核苷酸的三个单独的核苷)。在具体的实施方案中,第一间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置7和11之间的核苷。在具体的实施方案中,第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置14和22之间的核苷。在具体的实施方案中,第三间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置21和24之间的核苷。在一些实施方案中,第一间隔区替

代UNC13A寡核苷酸的位置2和5之间的核苷。在具体的实施方案中,第二间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置8和12之间的核苷。在具体的实施方案中,第三间隔区替代UNC13A寡核苷酸的位置18和22之间的核苷。

[0231] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸中的三个间隔区的位置使得UNC13A寡核苷酸的四个区段中的每一个长度为至多7个连接核苷。例如,UNC13A寡核苷酸可具有与第一间隔区连接的具有7个连接核苷的第一区段、然后具有在一个末端与第一间隔区连接且在另一个末端与第二间隔区连接的7个连接核苷的第二区段、然后具有在一个末端与第二间隔区连接且在另一个末端与第三间隔区连接的6个连接核苷的第三区段、然后具有与第三间隔区连接的6个连接核苷的第四区段。

[0232] 在各种实施方案中,一个或多个间隔区位于寡核苷酸中以替代一个或多个腺苷或胸腺嘧啶核苷(与鸟嘌呤或胞嘧啶核苷相对)。例如,一个或多个间隔区可以替代寡核苷酸中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或九个腺苷或胸腺嘧啶核苷。在各种实施方案中,一个或多个间隔区位于寡核苷酸中以替代一个或多个鸟嘌呤或胞嘧啶核苷(与腺苷或胸腺嘧啶核苷相对)。例如,一个或多个间隔区可以替代寡核苷酸中的一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或九个鸟嘌呤或胞嘧啶核苷。在各种实施方案中,间隔区位于寡核苷酸中以替代等量的腺苷/胸腺嘧啶核苷和鸟嘌呤/胞嘧啶核苷。例如,寡核苷酸中的第一个间隔区可以替代腺苷/胸腺嘧啶核苷,并且寡核苷酸中的第二个间隔区可以替代鸟嘌呤/胞嘧啶核苷。

[0233] 在各种实施方案中,一个或多个间隔区位于寡核苷酸中以控制寡核苷酸中的序列含量。例如,一个或多个间隔区的位置使得至少一个间隔区与鸟嘌呤基团相邻定位。在各种实施方案中,具有间隔区的寡核苷酸可以包括与鸟嘌呤基团相邻的一个间隔区、与鸟嘌呤基团相邻的两个间隔区、与鸟嘌呤基团相邻的三个间隔区、与鸟嘌呤基团相邻的四个间隔区、或与鸟嘌呤基团相邻的五个间隔区。在一个实施方案中,如果从寡核苷酸的5'末端开始计数,则间隔区紧邻序列中的鸟嘌呤基团之前。因此,在各种实施方案中,具有间隔区的寡核苷酸可以包括紧邻鸟嘌呤基团之前的一个间隔区、紧邻鸟嘌呤基团之前的两个间隔区、紧邻鸟嘌呤基团之前的三个间隔区、紧邻鸟嘌呤基团之前的四个间隔区、或紧邻鸟嘌呤基团之前的五个间隔区。在一个实施方案中,如果从寡核苷酸的5'末端计数,鸟嘌呤基团之后紧邻间隔区。因此,在各种实施方案中,具有间隔区的寡核苷酸可以包括一个紧接鸟嘌呤基团的间隔区、两个紧接鸟嘌呤基团的间隔区、三个紧接鸟嘌呤基团的间隔区、四个紧接鸟嘌呤基团的间隔区、或五个紧接鸟嘌呤基团的间隔区。在各种实施方案中,寡核苷酸中的间隔区可以被定位以最大化邻近鸟嘌呤基团的间隔区的数目。

[0234] 在各种实施方案中,一个或多个间隔区位于寡核苷酸中以替代一个或多个腺苷或胸腺嘧啶核苷,使得一个或多个间隔区位于鸟嘌呤基团附近。例如,两个间隔区可以替代寡核苷酸中的腺苷或胸腺嘧啶核苷,两个间隔区中的每一个与鸟嘌呤基团相邻。

[0235] 在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有特定的GC含量。如本文所用,GC含量(或鸟嘌呤-胞嘧啶含量)是寡核苷酸中鸟嘌呤(G)或胞嘧啶(C)的含氮碱基的百分比。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有至少10%的GC含量、至少20%的GC含量、至少25%的GC含量、至少30%的GC含量、至少35%的GC含量、至少40%的GC含量、至少45%的GC含量、至少50%的GC含量、至少55%的GC含量、至少

60％的GC含量、至少65％的GC含量、至少75％的GC含量、至少80％的GC含量、至少85％的GC含量、至少90％的GC含量、或至少95％的GC含量。在具体的实施方案中，具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有至少30％的GC含量。在具体的实施方案中，具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸具有至少40％的GC含量。在各种实施方案中，一个或多个间隔区位于UNC13A寡核苷酸中以最大化GC含量。例如，不是选择鸟嘌呤或胞嘧啶用于UNC13A寡核苷酸中的间隔区替代，而是可以选择胸腺嘧啶或腺嘌呤用于间隔区替代。

[0236] 在各种实施方案中，设计具有间隔区的UNC13A寡核苷酸，使得1)UNC13A寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷，以及2)至少两个、三个或四个间隔区与鸟嘌呤基团相邻。在一些实施方案中，设计具有间隔区的UNC13A寡核苷酸，使得1)UNC13A寡核苷酸的每个区段具有至多7个连接核苷，以及2)两个间隔区中的每一个位于鸟嘌呤基团之前。

[0237] 在各种实施方案中，与相应的UNC13A亲本寡核苷酸的作用相比，在UNC13A寡核苷酸中包含一个或多个间隔区并不会降低具有间隔区的UNC13A寡核苷酸在恢复全长UNC13A蛋白或全长UNC13A mRNA中的效力。在各种实施方案中，与相应的UNC13A亲本寡核苷酸的作用相比，在UNC13A寡核苷酸中包含一个或多个间隔区增加了具有间隔区的UNC13A寡核苷酸在恢复全长UNC13A蛋白或全长UNC13A mRNA中的效力。在各种实施方案中，与相应的UNC13A亲本寡核苷酸的作用相比，在UNC13A寡核苷酸中包含一个或多个间隔区并不会降低具有间隔区的UNC13A寡核苷酸在减少UNC13A转录本数量方面的效力。在各种实施方案中，与相应的UNC13A亲本寡核苷酸的作用相比，在UNC13A寡核苷酸中包含一个或多个间隔区增加了具有间隔区的UNC13A寡核苷酸在减少UNC13A转录本数量方面的效力。

[0238] 表3A、3B、4和5记录了具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸的示例及其与相应的UNC13A亲本寡核苷酸的关系。每个UNC13A寡核苷酸都被分配一个序列名称。如下文所用，序列名称的命名法表示为“X_spA”(对于具有一个间隔区的UNC13A AON)、“X_spA_spB”(对于具有两个间隔区的UNC13A AON)或“X_spA_spB_spC”(对于具有三个间隔区的UNC13A AON)。这里，“X”是指UNC13A AON的长度，“A”是指UNC13A AON中第一间隔区所处的位置，“B”是指UNC13A AON中第二间隔区所处的位置，“C”(如果存在)是指UNC13A AON中第三间隔区所处的位置。

[0239] 在各种实施方案中，UNC13A寡核苷酸包括一个间隔区。在各种实施方案中，UNC13A寡核苷酸是寡核苷酸变体，如23mer、21mer或19mer中的任一种。在各种实施方案中，包含间隔区将UNC13A寡核苷酸分成两个分开的区段，其中至少一个区段的长度至多为11个连接核苷。在各种实施方案中，包含间隔区将UNC13A寡核苷酸分成两个分开的区段，其中至少一个区段的长度至多为10个连接核苷。

[0240] 在各种实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置10和15之间。在各种实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置10和12之间。在具体的实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置10。在具体的实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置11。在具体的实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置12。在具体的实施方案中，间隔区位于寡核苷酸的位置15。下表3A列出了具有一个间隔区的示例UNC13A AON。

表3A:具有一个间隔区的UNC13A AON的鉴定。这里，每个UNC13A AON具有2个区段，其中至少一个区段具有至多11个连接核苷。

序列名称	与 UNC13A 寡核苷酸变体的关系	序列 ID 号 (SEQ ID NO)	序列*（其中 X表示 UNC13A 亲本寡核苷酸的核苷并且 S_y表示间隔区的存在，其中 y 表示位置）（5’→3’）
UNC13A 亲本寡核苷酸	N/A	5066	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (25mer)
位置 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（25mer）(UNC13A AON 25_sp15)	25mer 的位置 15 处的核苷被间隔区取代	5067	XXXXXXXXXXXXXX$\mathbf{S_{15}}$XXXXXXXXXX
UNC13A 寡核苷酸变体（23mer）	N/A	5068	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (23mer)
位置 12 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（23mer）(UNC13A AON 23_sp12)	23mer 的位置 12 处的核苷被间隔区取代	5069	XXXXXXXXXXX$\mathbf{S_{12}}$XXXXXXXXXXX
UNC13A 寡核苷酸变体（21mer）	N/A	5070	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (21mer)
位置 11 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（21mer）(UNC13A AON 21_sp11)	21mer 的位置 11 处的核苷被间隔区取代	5071	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXXXXXXXXX
UNC13A 寡核苷酸变体（19mer）	N/A	5072	XXXXXXXXXXXXXXXXXXX (19mer)
位置 10 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（19mer）(UNC13A AON 19_sp10)	19mer 的位置 10 处的核苷被间隔区取代	5073	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXXXXXXX

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3’氨基核糖或5’氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0241] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包括两个间隔区。在各种实施方案中,包含间隔区将UNC13A寡核苷酸分成三个分开的区段,其中至少一个区段的长度至多为7个连接核苷。下表3B列出了具有两个间隔区的示例UNC13A AON。

表3B:具有两个间隔区的UNC13A AON的鉴定。这里,每个UNC13A AON具有3个区段,其中至少一个区段具有至多7个连接核苷。

序列名称	与 UNC13A 亲本寡核苷酸的关系	序列 ID 号 (SEQ ID NO)	序列*（其中 X表示 UNC13A 亲本寡核苷酸的核苷并且 S_y表示间隔区的存在，其中 y表示位置）（5’→3’）
UNC13A 亲本寡核苷酸	N/A	5074	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
位置 11 和 22 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸 (UNC13A AON 25_sp11sp22)	位置 11 和 22 处的核苷各自被间隔区取代	5075	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{22}}$XXX
位置 7 和 14 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp7sp14）	位置 7 和 14 处的核苷各自被间隔区取代	5076	XXXXXX$\mathbf{S_7}$XXXXXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXXXXX
位置 8 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp19）	位置 8 和 19 处的核苷被间隔区取代	5077	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{19}}$XXXXXX
位置 8 和 14 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp14）	位置 8 和 14 处的核苷被间隔区取代	5078	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXXXXX
位置 9 和 14 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp14）	位置 9 和 14 处的核苷被间隔区取代	5079	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXXXXX
位置 10 和 14 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp14）	位置 10 和 14 处的核苷被间隔区取代	5080	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXXXXX
位置 11 和 14 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp14）	位置 11 和 14 处的核苷被间隔区取代	5081	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXXXXX

位置 8 和 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp15）	位置 8 和 15 处的核苷被间隔区取代	5082	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXX$\mathbf{S_{15}}$XXXXXXXXX
位置 9 和 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp15）	位置 9 和 15 处的核苷被间隔区取代	5083	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXXX$\mathbf{S_{15}}$XXXXXXXXX
位置 10 和 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp15）	位置 10 和 15 处的核苷被间隔区取代	5084	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXX$\mathbf{S_{15}}$XXXXXXXXX
位置 11 和 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp15）	位置 11 和 15 处的核苷被间隔区取代	5085	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXX$\mathbf{S_{15}}$XXXXXXXXX
位置 8 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp16）	位置 8 和 16 处的核苷被间隔区取代	5086	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXXXXXX
位置 9 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp16）	位置 9 和 16 处的核苷被间隔区取代	5087	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXXXXXX
位置 10 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp16）	位置 10 和 16 处的核苷被间隔区取代	5088	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXXXXXX
位置 11 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp16）	位置 11 和 16 处的核苷被间隔区取代	5089	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXXXXXX
位置 8 和 17 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp17）	位置 8 和 17 处的核苷被间隔区取代	5090	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXXX$\mathbf{S_{17}}$XXXXXXXX

位置 9 和 17 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp17）	位置 9 和 17 处的核苷被间隔区取代	5091	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXXXXX$\mathbf{S_{17}}$XXXXXXXX
位置 10 和 17 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp17）	位置 10 和 17 处的核苷被间隔区取代	5092	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXXXX$\mathbf{S_{17}}$XXXXXXXX
位置 11 和 17 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp17）	位置 11 和 17 处的核苷被间隔区取代	5093	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXXXX$\mathbf{S_{17}}$XXXXXXXX
位置 8 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A ATON 25_sp8sp18）	位置 8 和 18 处的核苷被间隔区取代	5094	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXXXX$\mathbf{S_{18}}$XXXXXXX
位置 9 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp18）	位置 9 和 18 处的核苷被间隔区取代	5095	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXXXXXX$\mathbf{S_{18}}$XXXXXXX
位置 10 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp18）	位置 10 和 18 处的核苷被间隔区取代	5096	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXXXXX$\mathbf{S_{18}}$XXXXXXX
位置 11 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp18）	位置 11 和 18 处的核苷被间隔区取代	5097	XXXXXXXXXX$\mathbf{S_{11}}$XXXXXX$\mathbf{S_{18}}$XXXXXXX
位置 9 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp19）	位置 9 和 19 处的核苷被间隔区取代	5098	XXXXXXXX$\mathbf{S_9}$XXXXXXXXX$\mathbf{S_{19}}$XXXXXX
位置 10 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp19）	位置 10 和 19 处的核苷被间隔区取代	5099	XXXXXXXXX$\mathbf{S_{10}}$XXXXXXXX$\mathbf{S_{19}}$XXXXXX

位置 11 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp19）	位置 11 和 19 处的核苷被间隔区取代	5100	XXXXXXXXXX**S$_{11}$**XXXXXXX**S$_{19}$**XXXXXX
位置 9 和 20 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp20）	位置 9 和 20 处的核苷被间隔区取代	5101	XXXXXXXX**S$_{9}$**XXXXXXXXXX**S$_{20}$**XXXXX
位置 10 和 20 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp20）	位置 10 和 20 处的核苷被间隔区取代	5102	XXXXXXXXX**S$_{10}$**XXXXXXXXX**S$_{20}$**XXXXX
位置 11 和 20 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp20）	位置 11 和 20 处的核苷被间隔区取代	5103	XXXXXXXXXX**S$_{11}$**XXXXXXXX**S$_{20}$**XXXXX
位置 10 和 21 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp10sp21）	位置 10 和 21 处的核苷被间隔区取代	5104	XXXXXXXXX**S$_{10}$**XXXXXXXXXX**S$_{21}$**XXXX
位置 11 和 21 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp11sp21）	位置 11 和 21 处的核苷被间隔区取代	5105	XXXXXXXXXX**S$_{11}$**XXXXXXXXX**S$_{21}$**XXXX
位置 4 和 15 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp4sp15）	位置 4 和 15 处的核苷被间隔区取代	5106	XXXS$_4$XXXXXXXXXXS$_{15}$XXXXXXXXXX
位置 7 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp7sp19）	位置 7 和 19 处的核苷被间隔区取代	5107	XXXXXX**S$_{7}$**XXXXXXXXXXX**S$_{19}$**XXXXXX
位置 7 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp7sp18）	位置 7 和 18 处的核苷被间隔区取代	5108	XXXXXX**S$_{7}$**XXXXXXXXXX**S$_{18}$**XXXXXXX
位置 9 和 21 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp9sp21）	位置 9 和 21 处的核苷被间隔区取代	5109	XXXXXXXX**S$_{9}$**XXXXXXXXXXX**S$_{21}$**XXXX

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0242] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸包括三个间隔区。包含三个间隔区将UNC13A寡核苷酸分成四个分开的区段。在各种实施方案中,三个间隔区位于UNC13A寡核苷酸的不同位置,使得UNC13A寡核苷酸的每个区段长度为至多7个连接核苷。下表4列出了具有三个间隔区的示例UNC13A AON。

表4:具有三个间隔区的UNC13A AON或AON变体的鉴定。这里,每个UNC13A AON具有4个区段,其中每个区段具有至多7个连接核苷。

序列名称	与 UNC13A 亲本寡核苷酸的关系	序列 ID 号 (SEQ ID NO)	序列*(其中 X表示 UNC13A 亲本寡核苷酸的核苷并且 S_y表示间隔区的存在,其中 y表示位置)(5'→3')
位置 8、16 和 24 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸(UNC13A AON 25_sp8sp16sp24)	位置 8、16 和 24 处的核苷被间隔区取代	5110	XXXXXXXS_8XXXXXXXS_{16}XXXXXXXS_{24}X
位置 8、16 和 23 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸(UNC13A AON 25_sp8sp16sp23)	位置 8、16 和 23 处的核苷被间隔区取代	5111	XXXXXXXS_8XXXXXXXS_{16}XXXXXXS_{23}XX
位置 2、10 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸(UNC13A AON 25_sp8sp16sp23)	位置 2、10 和 18 处的核苷被间隔区取代	5112	XS_2XXXXXXXS_{10}XXXXXXXS_{18}XXXXXXX
位置 3、10 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸(UNC13A	位置 3、10 和 18 处的核苷被间隔区取代	5113	XXS_3XXXXXXS_{10}XXXXXXXS_{18}XXXXXXX

AON 25_sp8sp16sp23）			
位置 4、12 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp4sp12sp19）	位置 4、12 和 19 处的核苷被间隔区取代	5114	XXX**S**$_4$XXXXXXX**S**$_{12}$XXXXXX**S**$_{19}$XXXXXX
位置 8、13 和 18 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp13sp18）	位置 8、13 和 18 处的核苷被间隔区取代	5115	XXXXXXX**S**$_8$XXXX**S**$_{13}$XXXX**S**$_{18}$XXXXXXX
位置 5、13 和 21 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp5sp13sp21）	位置 5、13 和 21 处的核苷被间隔区取代	5116	XXXX**S**$_5$XXXXXXX**S**$_{13}$XXXXXXX**S**$_{21}$XXXX
位置 7、13 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp7sp13sp19）	位置 7、13 和 19 处的核苷被间隔区取代	5117	XXXXXX**S**$_7$XXXXX**S**$_{13}$XXXXX**S**$_{19}$XXXXXX
位置 6、13 和 20 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp6sp13sp20）	位置 6、13 和 20 处的核苷被间隔区取代	5118	XXXXX**S**$_6$XXXXXX**S**$_{13}$XXXXXX**S**$_{20}$XXXXX
位置 8、11 和 19 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 25_sp8sp11sp19）	位置 8、11 和 19 处的核苷被间隔区取代	5119	XXXXXXX**S**$_8$XX**S**$_{11}$XXXXXXX**S**$_{19}$XXXXXX
位置 8、11 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 23_sp8sp11sp16）	位置 8、11 和 16 处的核苷被间隔区取代	5120	XXXXXXX**S**$_8$XX**S**$_{11}$XXXX**S**$_{16}$XXXXXXX
位置 7、14 和 22 处具有间隔区的 UNC13A 寡核苷酸（UNC13A AON 23_sp7sp14sp22）	位置 7、14 和 22 处的核苷被间隔区取代	5121	XXXXXX**S**$_7$XXXXXX**S**$_{14}$XXXXXXX**S**$_{22}$XXX

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、

磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0243] 在各种实施方案中,与上述表3B和4中的UNC13A AON相比,具有一个或多个间隔区的UNC13A AON的长度减少。例如,这种UNC13A AON可以是具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸变体。在各种实施方案中,具有一个或多个间隔区的UNC13A寡核苷酸变体是23mer、21mer或19mer。在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸变体包括两个间隔区,使得UNC13A寡核苷酸变体包括被两个间隔区分开的三个区段。在各种实施方案中,三个区段中的至少一个具有至多7个连接核苷。在各种实施方案中,三个区段中的每一个具有至多7个连接核苷。下表5中示出了具有一个或多个间隔区的示例UNC13A寡核苷酸变体。

表5:示例UNC13A具有两个间隔区的AON变体。这里,每个UNC13A AON变体具有3个区段,其中至少一个区段具有至多7个连接核苷。

序列名称	与 UNC13A 寡核苷酸变体的关系	序列 ID 号 (SEQ ID NO)	序列*(其中 X 表示 UNC13A 寡核苷酸变体的核苷并且 S_y 表示间隔区的存在,其中 y 表示位置)(5'→3')
UNC13A 寡核苷酸变体(23mer)	N/A	5122	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (23mer)
位置 8 和 16 处具有间隔区的 UNC13A 变体寡核苷酸(23mer)(UNC13A AON 变体 23_sp8sp16)	位置 8 和 16 处的核苷被间隔区取代	5123	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXXXX
UNC13A 寡核苷酸变体(21mer)	N/A	5124	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (21mer)
位置 5 和 12 处具有间隔区的 UNC13A 变体	位置 5 和 12 处的核苷被间隔区取代	5125	XXXX$\mathbf{S_5}$XXXXXX$\mathbf{S_{12}}$XXXXXXXXX

寡核苷酸（21mer）（UNC13A AON variant 21_sp5sp12）			
位置8和16处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（21mer）（UNC13A AON variant 21_sp8sp16）	位置8和16处的核苷被间隔区取代	5126	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXXXX$\mathbf{S_{16}}$XXXXX
位置6和14处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（21mer）（UNC13A AON variant 21_sp6sp14）	位置6和14处的核苷被间隔区取代	5127	XXXXX$\mathbf{S_6}$XXXXXXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXX
位置8和14处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（21mer）（UNC13A AON variant 21_sp8sp14）	位置8和14处的核苷被间隔区取代	5128	XXXXXXX$\mathbf{S_8}$XXXXX$\mathbf{S_{14}}$XXXXXXX
位置6和20处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（21mer）（UNC13A AON variant 21_sp6sp20）	位置6和20处的核苷被间隔区取代	5129	XXXXX$\mathbf{S_6}$XXXXXXXXXXXXX$\mathbf{S_{20}}$X
UNC13A寡核苷酸变体（19mer）	N/A	5130	XXXXXXXXXXXXXXXXXXX (19mer)
位置5和12处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（19mer）	位置5和12处的核苷被间隔区取代	5131	XXXX$\mathbf{S_5}$XXXXXX$\mathbf{S_{12}}$XXXXXXX

（UNC13A AON variant 19_sp5sp12）			
位置8和15处具有间隔区的UNC13A变体寡核苷酸（19mer）（UNC13A AON variant 19_sp8sp15）	位置8和15处的核苷被间隔区取代	5132	XXXXXXX$\mathbf{S}_8$XXXXXX$\mathbf{S}_{15}$XXXX

*核碱基的至少一个核苷键选自硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、磷酰二胺酯、(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。

[0244] 在一些实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含一个或多个间隔区以及一个或多个锁核酸(LNA)。在一些实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含两个间隔区和两个LNA。在一些实施方案中,本文公开的反义寡核苷酸(例如,UNC13A亲本寡核苷酸和/或UNC13A寡核苷酸变体)包含两个间隔区和三个LNA。

[0245] 在各种实施方案中,间隔区和LNA在反义寡核苷酸中彼此相邻。例如,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第7位,间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位。作为另一个示例,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第9位,间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位。作为另一个示例,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第15位,间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。作为另一个示例,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第17位,间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。

[0246] 在具体的实施方案中,在反义寡核苷酸中,第一间隔区与第一LNA相邻,第二间隔区与第二LNA相邻。例如,如果从5'到3'计数,第一LNA可以位于反义寡核苷酸的第7位,第一间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位,第二LNA可以位于反义寡核苷酸的第15位,第二间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。作为另一个示例,如果从5'到3'计数,第一LNA可以位于反义寡核苷酸的第7位,第一间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位,第二LNA可以位于反义寡核苷酸的第17位,第二间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。作为另一个示例,如果从5'到3'计数,第一LNA可以位于反义寡核苷酸的第9位,第一间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位,第二LNA可以位于反义寡核苷酸的第17位,第二间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。

[0247] 在各种实施方案中,一个或多个间隔区和一个或多个LNA在反义寡核苷酸中彼此不相邻。例如,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第4位,且间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位。例如,如果从5'到3'计数,LNA可以位于反义寡核苷酸的第20位,且间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。在具体的实施方案中,如果从5'到3'计数,第一LNA可以位于反义寡核苷酸的第4位,第一间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位,第二LNA

可以位于反义寡核苷酸的第20位,且第二间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位。在具体的实施方案中,如果从5'到3'计数,第一LNA可以位于反义寡核苷酸的第4位,第一间隔区可以位于反义寡核苷酸的第8位,第二LNA可以位于反义寡核苷酸的第12位,第二间隔区可以位于反义寡核苷酸的第16位,且第三LNA可以位于反义寡核苷酸的第20位。

UNC13A寡核苷酸的性能

[0248] 通常,UNC13A寡核苷酸和/或UNC13A亲本寡核苷酸(例如,具有SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列的UNC13A寡核苷酸)靶向UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA),该转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列,以增加、恢复、挽救或稳定能够翻译产生功能性UNC13A蛋白(例如全长UNC13A)的UNC13A mRNA的表达水平。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出全长UNC13A mRNA的至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的增加。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出全长UNC13A mRNA的至少100%、200%、300%或400%的增加。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出错误剪接的UNC13AmRNA的至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的减少。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出全长UNC13A蛋白的至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的增加。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出全长UNC13A蛋白的至少100%、200%、300%或400%的增加。在一些实施方案中,全长UNC13A蛋白的百分比增加是与使用TDP43反义寡核苷酸实现的全长UNC13A蛋白的降低水平相比有所增加。例如,TDP43反义寡核苷酸可用于消耗全长UNC13A蛋白,随后使用UNC13A AON增加全长UNC13A蛋白。

[0249] 在一些实施方案中,UNC13A AON可表现出全长UNC13A蛋白的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的挽救。在一些实施方案中,全长UNC13A的挽救百分比是指与阴性对照(例如,未经历耗竭或治疗的细胞或用媒介物溶液治疗的细胞)相比,在使用TDP43反义寡核苷酸耗竭和使用UNC13A AON治疗后全长UNC13A的%。

[0250] 在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的至少30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的减少。在各种实施方案中,UNC13A AON可表现出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的至少100%的减少。在各种实施方案中,与使用TDP43反义寡核苷酸检测的具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的水平相比,测量出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的减少。在各种实施方案中,UNC13A AON可以表现出具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的减少。

修饰

[0251] 核苷是碱基-糖组合。核苷的核碱基(也称为碱基)部分通常是杂环碱基部分。核苷酸是还包含与核苷的糖部分共价连接的磷酸基团的核苷。对于包括戊呋喃糖基的那些核苷,磷酸基团可连接至糖的2'羟基部分、3'羟基部分或5'羟基部分。寡核苷酸通过相邻核苷彼此共价连接而形成,以形成线性聚合寡核苷酸。在寡核苷酸结构中,磷酸基团通常被称为形成寡核苷酸的核苷间键。

[0252] 反义化合物的修饰包括核苷间键、糖部分或核碱基的取代或改变。修饰的反义化合物通常优于天然形式,因为其具有期望的性质,例如增强的细胞摄取、增强的对核酸靶的

亲和力、在核酸酶存在下增加的稳定性或增加的活性。

[0253] 化学修饰的核苷也可用于增加缩短或截短的反义寡核苷酸对其靶核酸的结合亲和力。因此,用具有这种化学修饰核苷的较短反义化合物通常可获得相当的结果。

修饰的核苷间键

[0254] 天然存在的RNA和DNA的核苷间键是3'至5'磷酸二酯键。由于所需的性质,例如增强的细胞摄取、增强的对靶核酸的亲和力和在核酸酶存在下增加的稳定性,具有一个或多个修饰的(即非天然存在的)核苷间键的反义化合物通常优于具有天然存在的核苷间键的反义化合物。

[0255] 具有修饰的核苷间键的寡核苷酸包括保留磷原子的核苷间键以及不具有磷原子的核苷间键。代表性的含磷核苷间键包括但不限于磷酸二酯、磷酸三酯、甲基膦酸酯、磷酰胺和硫代磷酸酯。制备含磷和不含磷的键的方法是公知的。

[0256] 在某些实施方案中,靶向UNC13A核酸的反义化合物包含一个或多个修饰的核苷间键。在某些实施方案中,修饰的核苷间键散布在整个反义化合物中。在某些实施方案中,修饰的核苷间键是硫代磷酸酯键。在某些实施方案中,反义化合物的每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。在某些实施方案中,靶向UNC13A核酸的反义化合物包含至少一个磷酸二酯键和至少一个硫代磷酸酯键。

修饰的糖部分

[0257] 反义化合物可任选地含有一个或多个其中糖基已被修饰的核苷。这种糖修饰的核苷可赋予反义化合物增强的核酸酶稳定性、增加的结合亲和力或一些其他有益的生物学性质。在某些实施方案中,核苷包含化学修饰的呋喃核糖环部分。化学修饰的呋喃核糖环的示例包括但不限于添加取代基团(包括5'和2'取代基、桥接非偕环原子(non-geminal ring atoms)以形成双环核酸(BNA)、用S、N(R)或C(R_1)(R_2)(R、R_1和R_2各自独立地为H、C_1-C_{12}烷基或保护基)替代核糖基环氧原子及其组合。化学修饰的糖的示例包括2'-F-5'-甲基取代的核苷(对于其他公开的5',2'-双取代的核苷,参见PCT国际申请WO 2008/101157,公布于2008年8月21日)或用S替代核糖基环氧原子,在2'-位进一步取代(参见公开的美国专利申请US2005-0130923,公布于2005年6月16日)或备选地用BNA进行5'-取代(参见PCT国际申请WO 2007/134181,公布于2007年11月22日,其中LNA被例如5'-甲基或5'-乙烯基取代)。

[0258] 具有修饰的糖部分的核苷的示例包括但不限于包含5'-乙烯基、5'-甲基(R或5)、4'-S、2'-F、2'-OCH_3、2'-OCH_2CH_3、2'-O CH_2CH_2F和2'-O$(CH_2)_2OCH_3$取代基的核苷。2'位的取代基还可以选自烯丙基、氨基、叠氮基、硫代基、O-烯丙基、O—C_1-C_{10}烷基、OCF_3、OCH_2F、O$(CH_2)_2$S CH_3、O$(CH_2)_2$—O—N(R_m)(R_n)、O—CH_2—C(=O)—N(R_m)(R_n)和O—CH_2—C(=O)—N(R_1)—$(CH_2)_2$—N(R_m)(R_n)-,其中R_1、R_m和R_n各自独立地为H或取代或未取代的C_1-C_{10}烷基。

[0259] 修饰的糖部分的其他示例包括2'-OMe修饰的糖部分、双环糖部分、2'-O-(2-甲氧基乙基)(2'-MOE)、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯核苷、锁核酸(LNA)、限制性乙基2'-4'-桥接核酸(cEt)、S-cEt、tcDNA、己糖醇核酸(HNA)和三环类似物(例如tcDNA)。

[0260] 如本文所用,"双环核苷"是指包含双环糖部分的修饰的核苷。双环核苷的示例包括但不限于在4'和2'核糖基环原子之间包含桥的核苷。在某些实施方案中,本文提供的反义化合物包括一个或多个包含4'至2'桥的双环核苷。此类4'至2'桥连双环核苷的示例包括但不限于下式之一:4'-(CH_2)—O-2'(LNA);4'-(CH_2)—S-2';4'-$(CH_2)_2$—O-2'(ENA);4'-CH

(CH_3)—O-2'和4'-CH(CH_2OCH_3)—O-2'(及其类似物,参见美国专利第7,399,845号,发布于2008年7月15日);4'-C(CH_3)(CH_3)—O-2'(及其类似物,参见公开的国际申请WO/2009/006478,公布于2009年1月8日);4'-CH_2—N(OCH_3)-2'(及其类似物,参见公开的国际申请WO/2008/150729,公布于2008年12月11日);4'-CH_2—O—N(CH_3)-2'(参见公开的美国专利申请US2004-0171570,公布于2004年9月2日);4'-CH_2—N(R)—O-2',其中R是H、C_1-C_{12}烷基或保护基(参见美国专利第7,427,672号,发布于2008年9月23日);4'-CH_2—C(H)(CH_3)-2'(参见Chattopadhyaya等人,J.Org.Chem.,2009,74,118-134);和4'-CH_2—C—(=CH_2)-2'(及其类似物,参见公开的国际申请WO 2008/154401,公布于2008年12月8日)。

[0261] 与双环核苷有关的其他报道也可以在公开的文献中找到(参见,例如:Singh等人,Chem.Commun.,1998,4,455-456;Koshkin等人,Tetrahedron,1998,54,3607-3630;Wahlestedt等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,2000,97,5633-5638;Kumar等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1998,8,2219-2222;Singh等人,J.Org.Chem.,1998,63,10035-10039;Srivastava等人,J.Am.Chem.Soc.,2007,129(26)8362-8379;Elayadi等人,Curr.Opinion Invest.Drugs,2001,2,558-561;Braasch等人,Chem.Biol.,2001,8,1-7;以及Orum等人,Curr.Opinion Mol.Ther.,2001,3,239-243;美国专利第6,268,490;6,525,191;6,670,461;6,770,748;6,794,499;7,034,133;7,053,207;7,399,845;7,547,684;和7,696,345号;美国专利公开号US2008-0039618;US2009-0012281;美国专利系列号60/989,574;61/026,995;61/026,998;61/056,564;61/086,231;61/097,787;和61/099,844;公开的PCT国际申请WO 1994/014226;WO 2004/106356;WO 2005/021570;WO 2007/134181;WO 2008/150729;WO 2008/154401;和WO 2009/006478。上述双环核苷中的每一个都可以制备成具有一个或多个立体化学糖构型,包括例如α-L-呋喃核糖和β-D-呋喃核糖(参见PCT国际申请PCT/DK98/00393,于1999年3月25日作为WO 99/14226公开)。

[0262] 在某些实施方案中,BNA核苷的双环糖部分包括但不限于在呋喃戊糖基糖部分的4'和2'位置之间具有至少一个桥的化合物,其中此类桥独立地包含1个或2至4个连接基团,该连接基团独立地选自—[C(R_a)(R_b)]$_n$—、—C(R_a)=C(R_b)—、—C(R_a)=N—、—C(=O)—、—C(=NR_a)—、—C(=S)—、—O—、—Si(R_a)$_2$—、—S(=O)$_x$—和—N(R_a)—;

其中:

x为0、1或2;

n为1、2、3或4;

R_a和R_b各自独立地是H、保护基、羟基、C_1-C_{12}烷基、取代的C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、取代的C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、取代的C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、取代的C_5-C_{20}芳基、杂环基、取代的杂环基、杂芳基、取代的杂芳基、C_5-C_7脂环族基团、取代的C_5-C_7脂环族基团、卤素、OJ_1、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、COOJ_1、酰基(C(=O)—H)、取代的酰基、CN、磺酰基(S(=O)$_2$-J_1)或硫氧基(S(=O)-J_1);以及

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

[0263] 在某些实施方案中,双环糖部分的桥是—[C(R_a)(R_b)]$_n$—、—[—[C(R_a)(R_b)]$_n$—O—、—C(R_aR_b)—N(R)—O—或—C(R_aR_b)—O—N(R)—。在某些实施方案中,桥为4'-CH_2-2'、

4'-$(CH_2)_2$-2'、4'-$(CH_2)_3$-2'、4'-CH_2—O-2'、4'-$(CH_2)_2$—O-2'、4'-CH_2—O—N(R)-2'和4'-CH_2—N(R)—O-2'-,其中每个R独立地为H、保护基或C_1-C_{12}烷基,R_a和R_b各自独立地为H、保护基、羟基、C_1-C_{12}烷基、取代的C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、取代的C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、取代的C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、取代的C_5-C_{20}芳基、杂环基、取代的杂环基、杂芳基、取代的杂芳基、C_5-C_7脂环族基团、取代的C_5-C_7脂环族基团、卤素、OJ_1、NJ_1J_2、SJ_1、N_3、$COOJ_1$、酰基(C(=O)—H)、取代的酰基、CN、磺酰基(S(=O)$_2$-J_1)或亚砜基(S(=O)-J_1);J_1和J_2各自独立地为H、C_1-C_{12}烷基、取代的C_1-C_{12}烷基、C_2-C_{12}烯基、取代的C_2-C_{12}烯基、C_2-C_{12}炔基、取代的C_2-C_{12}炔基、C_5-C_{20}芳基、取代的C_5-C_{20}芳基、酰基(C(=O)-H)、取代的酰基、杂环基、取代的杂环基、C_1-C_{12}氨基烷基、取代的C_1-C_{12}氨基烷基或保护基;R为H、C_1-C_{12}烷基或保护基(参见美国专利第7,427,672号,发布于2008年9月23日)。

[0264] 在某些实施方案中,双环核苷进一步由同分异构构型定义。例如,包含4'-2'亚甲基-氧基桥的核苷可以是α-L构型或β-D构型。先前,已将α-L-亚甲基氧(4'-CH_2—O-2')BNA掺入表现出反义活性的反义寡核苷酸中(Frieden等人,Nucleic Acids Research,2003,21,6365-6372)。

[0265] 在某些实施方案中,双环核苷包括但不限于α-L-亚甲氧基(4'-CH_2—O-2')BNA、β-D-亚甲氧基(4'-CH_2—O-2')BNA、亚乙氧基(4'-$(CH_2)_2$—O-2)BNA、氨氧基(4'-CH_2—O—N(R)-2')BNA、氧氨基(4'-CH_2—N(R)—O-2')BNA、甲基(亚甲氧基)(4'-$CH(CH_3)$—O-2')BNA、亚甲硫基(4'-CH_2—S-2')BNA、亚甲氨基(4'-CH_2—N(R)-2')BNA、甲基碳环(4'-CH_2—$CH(CH_3)$-2')BNA和丙烯碳环(4'-$(CH_2)_3$-2')BNA;其中R为H、C_1-C_{12}烷基或保护基(参见美国专利第7,427,672号,发布于2008年9月23日)。

[0266] 在一些实施方案中,本公开提供用于治疗、改善或预防神经系统疾病和/或神经病变的方法,其还包括向患者施用药学上可接受的组合物(例如包括一种或多种UNC13A寡核苷酸的药学上可接受的制剂)的方法。UNC13A寡核苷酸可以增加、恢复或稳定UNC13A活性,例如UNC13A活性和/或UNC13A表达水平,例如UNC13A mRNA和/或蛋白质表达。

[0267] 本公开还提供了药物组合物,其包含与一种或多种药学上或化妆品上可接受的赋形剂一起配制的UNC13A寡核苷酸。这些制剂包括适于口服、舌下、气管内、鼻内、透皮、肺部、鞘内、丘脑内、脑池内、脑室内、肠胃外(例如皮下、肌内、皮内、十二指肠内或静脉内)施用、经粘膜(例如颊内、阴道和直肠)或局部使用的制剂,例如作为适于局部施用于皮肤和/或粘膜的组合物的一部分,例如凝胶、糊剂、蜡、乳膏、喷雾剂、液体、泡沫、洗剂、软膏、局部溶液、透皮贴剂、粉末、蒸汽或酊剂形式的组合物。尽管在任何给定情况下最适合的施用形式将取决于所治疗病症的程度和严重性以及所使用的特定UNC13A寡核苷酸的性质。

[0268] 本公开还提供了一种药物组合物,其包含UNC13A寡核苷酸或其药学上可接受的盐(例如,包括SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列的UNC13AAON)。

[0269] 本公开还提供了包括使用包含UNC13A AON与一种或多种药学上可接受的赋形剂一起配制的药物组合物的方法。本文提供的示例性组合物包括包含UNC13A AON和一种或多种药学上可接受的赋形剂的组合物。。制剂包括适于口服、舌下、气管内、鼻内、透皮、肺部、鞘内、丘脑内、脑池内、脑室内、肠胃外(例如皮下、肌内、皮内、十二指肠内或静脉内)施用、经粘膜(例如颊内、阴道和直肠)或局部使用的制剂。在任何给定情况下最合适的给药形式

将取决于受试者试图预防的状态、障碍、疾病或病况的临床症状、并发症或生化指标;受试者试图预防的状态、障碍、疾病或病况;和/或所使用的特定化合物和/或组合物的性质。

额外的化学修饰的UNC13A寡核苷酸

[0270] 本文所述的UNC13A AON可以包括化学修饰的核苷,包括修饰的核糖核苷和修饰的脱氧核糖核苷。化学修饰的核苷包括但不限于uracine、尿嘧啶核苷、2'-O-(2-甲氧基乙基)修饰,例如2'-O-(2-甲氧基乙基)鸟苷、2'-O-(2-甲氧基乙基)腺苷、2'-O-(2-甲氧基乙基)胞嘧啶和2'-O-(2-甲氧基乙基)胸苷。在某些实施方案中,混合形式为例如UNC13A肽核酸(PNA)和UNC13A锁核酸(LNA)的组合。化学修饰的核苷还包括但不限于锁核酸(LNA)、2'-O-甲基,2'-氟和2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷酸(FANA)和氟代环己烯基核酸(F-CeNA)修饰。可包括在本文所述UNC13A AON中的化学修饰核苷描述于Johannes和Lucchino,(2018)"Current Challenges in Delivery and Cytosolic Translocation of Therapeutic RNAs" Nucleic Acid Ther.28(3):178-93;Rettig和Behlke,(2012)"Progress toward in vivo use of siRNAs-II"Mol Ther20:483-512;以及Khvorova和Watts,(2017)"The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility"Nat Biotechnol.,35(3):238-48,其各自的内容通过引用并入本文。

[0271] 本文所述的UNC13A AON可包括促进寡核苷酸的末端5′-磷酸和磷酸酶抗性5'-磷酸类似物的稳定的化学修饰。促进寡核苷酸末端5'-磷酸盐稳定化或为磷酸酶抗性5'-磷酸盐类似物的化学修饰包括但不限于5'-甲基膦酸酯、5'-亚甲基膦酸酯、5'-亚甲基膦酸酯类似物、5'-E-乙烯基膦酸酯(5'-E-VP)、5'-硫代磷酸酯和5'-C-甲基类似物。促进AON末端5'-磷酸稳定化和磷酸酶抗性5'-磷酸类似物的化学修饰描述于Khvorova和Watts,(2017)"The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility"Nat Biotechnol.,35(3):238-48,,其内容通过引用并入本文。

[0272] 在本文描述的一些实施方案中,本文描述的UNC13A AON可以包括化学修饰的核苷,例如,2'O-甲基核糖核苷,例如,2'O-甲基胞苷、2'O-甲基鸟苷、2'O-甲基尿苷和/或2'O-甲基腺苷。本文所述的UNC13A AON可包括一个或多个化学修饰的碱基,包括5-甲基嘧啶,例如5-甲基胞嘧啶和/或5-甲基嘌呤,例如5-甲基鸟嘌呤。化学修饰的核苷还可包括假尿苷或5'-甲氧基尿苷。本文所述的UNC13A AON可包括任何以下化学修饰的核苷:5-甲基-2'-O-甲基胞苷、5-甲基-2'-O-甲基胸苷、5-甲基胞苷、5-甲基尿苷和/或5-甲基2'-脱氧胞苷。

[0273] 本文所述的UNC13A AON可包括磷酸酯主链,其中一个或多个寡核苷键(oligonucleoside linkage)为磷酸酯键。本文所述的UNC13A AON可包括修饰的寡核苷酸主链,其中序列的一个或多个核苷键选自硫代磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯(例如包括磷酰二胺吗啉代(PMO)、3'氨基核糖或5'氨基核糖)键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键。在本文所述的UNC13A AON的一些实施方案中,寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷间键是硫代磷酸酯键。例如,在本文所述的UNC13A AON的一些实施方案中,寡核苷酸的一个、两个、三个或多个核苷间键是硫代磷酸酯键。在本文所述的UNC13A AON的优选实施方案中,寡核苷酸的所有核苷间键是硫代磷酸酯键。因此,在一些实施方案中,SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:

2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项的UNC13A AON的所有核苷酸键均为硫代磷酸酯键。在一些实施方案中,SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项的UNC13A AON的一个或多个核苷酸键均为硫代磷酸酯键。

[0274] 在各种实施方案中,本文描述的UNC13A AON(如SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项)的核苷酸键包括磷酸二酯键和硫代磷酸酯键的混合物。

[0275] 在一些实施方案中,连接本文所述的UNC13A AON的位置3碱基的核苷键是磷酸二酯键。例如,位置3处的碱基可通过磷酸二酯键连接至每个相邻碱基(例如,在前的碱基和在后的碱基)。具有连接位置3处的碱基的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXoDoXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0276] 在一些实施方案中,连接本文所述的UNC13A AON的位置3处的碱基的核苷间键其中之一是磷酸二酯键。例如,位置3处的碱基可通过磷酸二酯键与在前的碱基或在后的碱基连接。具有将位置3处的碱基与在前的碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXoDXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0277] 具有将位置3处的碱基与在后的碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXDoXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0278] 在各种实施方案中,除了本文所述的连接UNC13A AON的位置3处的碱基的核苷间键其中之一是磷酸二酯键外,UNC13A AON还包括两个间隔区。两个间隔区可以位于UNC13AAON中,使得UNC13A AON包括具有至多7个连接核苷的区段。具有两个间隔区并且具有将位置3处的碱基与在前碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

$XxoDS_1XXXXXXXXXS_2XXXXXXXXXXX$

其中“S_1”代表第一间隔区,“S_2”代表第二间隔区,“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0279] 具有两个间隔区并且具有将位置3处的碱基与在后碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

$XXDoXXXXXXXS_1XXXXXXXXXS_2XXXX$

其中“S_1”代表第一间隔区,“S_2”代表第二间隔区,“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0280] 在一些实施方案中,连接本文所述的UNC13A AON的位置4处的碱基的核苷间键是

磷酸二酯键。例如,位置4处的碱基可通过磷酸二酯键连接至每个相邻碱基(例如,在前的碱基和在后的碱基)。具有连接位置4处的碱基的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXXoDoXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置4处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0281] 在一些实施方案中,连接本文所述的UNC13A AON的位置4处的碱基的核苷间键其中之一是磷酸二酯键。例如,位置4处的碱基可通过磷酸二酯键与在前的碱基或在后的碱基连接。具有将位置4处的碱基与在前的碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXXoDXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置4处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0282] 具有将位置4处的碱基与在后的碱基连接的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXXDoXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置4处的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0283] 在一些实施方案中,连接本文所述UNC13A AON的位置3和位置4处的碱基的核苷间键是磷酸二酯键。例如,位置3处的碱基可通过磷酸二酯键连接至每个相邻碱基(例如,在前的碱基和在后的碱基),并且位置4处的碱基可通过磷酸二酯键连接至每个相邻碱基(例如,在前的碱基和在后的碱基)。具有连接位置3和位置4处的碱基的磷酸二酯键的示例25mer UNC13A AON可表示为:

XXoDoEoXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

其中“o”代表磷酸二酯键,“D”代表位置3处的碱基,“E”代表位置4处的碱基。在各种实施方案中,UNC13A AON的所有其他碱基通过硫代磷酸酯键连接。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0284] 在各种实施方案中,本文所述的UNC13A AON包括一个或多个间隔区,并且磷酸二酯键相对于一个或多个间隔区定位。在一些实施方案中,紧邻间隔区之前的Y个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,Y为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个碱基。在具体的实施方案中,Y为2个碱基。例如,如果间隔区位于位置15,则UNC13A AON的位置13和14的碱基各自通过磷酸二酯键与它们各自的相邻碱基连接。如本文所述,间隔区可位于UNC13A AON中的不同位置,因此,紧邻间隔区之前的2个碱基可根据间隔区所处的位置而在UNC13A AON内变化。

[0285] 在各种实施方案中,UNC13A AON可包括多于一个间隔区。在一些实施方案中,仅其中一个间隔区具有紧邻间隔区之前的Y个碱基,这些碱基通过磷酸二酯键连接。在这样的实施方案中,其他间隔区通过硫代磷酸酯键连接到各自前面的碱基。在各种实施方案中,其中间两个隔区具有Y个碱基,其紧邻间隔区之前,通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,UNC13A AON中的每个间隔区具有Y个碱基,其紧邻间隔区之前,通过磷酸二酯键连接。在各

种实施方案中,UNC13A AON的所有其他碱基通过硫代磷酸酯键连接。

[0286] 在一些实施方案中,紧邻间隔区之前的Y个碱基和紧邻间隔区之后的Z个碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中,Y为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个碱基。在各种实施方案中,Z为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个碱基。Y和Z可以彼此独立。在具体的实施方案中,Y是一个碱基并且Z是一个碱基。例如,如果间隔区位于位置15,则UNC13A AON的位置14和16的碱基各自通过磷酸二酯键与它们各自的相邻碱基连接。为了提供示例,这样的UNC13A AON(例如,25mer)可以表示为:

XXXXXXXXXXXXXoDoSoEoXXXXXXXXX

其中"S"表示间隔区,"o"表示磷酸二酯键,"D"表示紧邻间隔区之前的碱基,并且"E"表示紧邻间隔区之后的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0287] 如本文所述,间隔区可位于UNC13A AON中的不同位置,因此,紧邻间隔区之前或之后的碱基可根据间隔区所处的位置而在UNC13A AON内变化。

[0288] 在各种实施方案中,UNC13A AON可包括多于一个间隔区。在一些实施方案中,仅其中一个间隔区具有紧邻间隔区之前的Y个碱基和紧邻间隔区之后的Z个碱基,这些碱基通过磷酸二酯键连接。在这样的实施方案中,UNC13A AON的其他间隔区通过硫代磷酸酯键连接到各自前面和后面的碱基。为了提供示例,这样的UNC13A AON(例如,25mer)可以表示为:

$XXXXoDoS_1oEoXXXXXXXXXXXS_2XXXXXX$

其中"S_1"表示第一间隔区,"S_2"表示第二间隔区,"o"表示磷酸二酯键,"D"表示紧邻间隔区之前的碱基,并且"E"表示紧邻间隔区之后的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0289] 作为另一个示例,这样的UNC13A AON(例如,25mer)可以表示为:

$XXXXXS_1XXXXXXXXXXXoDoS_2oDoXXXXX$

其中"S_1"表示第一间隔区,"S_2"表示第二间隔区,"o"表示磷酸二酯键,"D"表示紧邻间隔区之前的碱基,并且"E"表示紧邻间隔区之后的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0290] 在一些实施方案中,其中一个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基。例如,UNC13A AON包括通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基的第一间隔区,其可以表示为:

$XXXXXXoS_1XXXXXXXXXXXS_2XXXXXX$

其中"S_1"表示第一间隔区,"S_2"表示第二间隔区,"o"表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0291] 作为另一个示例,UNC13A AON包括通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基的第二间隔区,其可以表示为:

$XXXXXXS_1XXXXXXXXXXXoS_2XXXXXX$

其中"S_1"表示第一间隔区,"S_2"表示第二间隔区,"o"表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0292] 在各种实施方案中,UNC13A AON可以是AON变体(例如,23mer、21mer或19mer),其中一个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基。例如,UNC13A AON可以是具有通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基的第一间隔区的21mer,其可以表示为:

$XXXXXXXoS_1XXXXXS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0293] 例如,UNC13A AON可以是具有通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基的第二间隔区的21mer,其可以表示为:

$XXXXXXXS_1XXXXXoS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0294] 在一些实施方案中,UNC13A AON可以是AON变体(例如,23mer、21mer或19mer),其中一个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基,并且紧邻的前一个碱基又通过磷酸二酯键连接至前一个碱基。示例21mer UNC13A AON可以表示为:

$XXXEoDoS_1XXXXXXS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键,“D”表示紧邻S_1之前的碱基,并且“E”表示紧邻“D”之前的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0295] 作为另一个示例,21mer UNC13A AON可以表示为:

$XXXXXS_1XXXXEoDoS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键,“D”表示紧邻S_2之前的碱基,并且“E”表示紧邻“D”之前的碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0296] 在一些实施方案中,UNC13A AON可以是AON变体(例如,23mer、21mer或19mer),其中紧邻第一间隔区之前的碱基通过磷酸二酯键连接至另一个碱基。紧邻第一间隔区之前的碱基可以通过非磷酸二酯键(如硫代磷酸酯键)连接至第一间隔区。另外,第二个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基。21mer UNC13A AON的示例可以表示为:

$XXXEoDS_1XXXXXXoS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键,“D”表示紧邻S_1之前的碱基,并且“E”表示紧邻“D”之前的碱基。这里,碱基“D”通过非磷酸二酯键(例如硫代磷酸酯键)连接至第一间隔区S_1。另外,碱基“D”通过磷酸二酯键连接至碱基“E”。第二间隔区S_2通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0297] 这种21mer UNC13A AON的另一个示例可以表示为:

$XXXXXoS_1XXXXEoDS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,“o”表示磷酸二酯键,“D”表示紧邻S_2之前的碱基,并且“E”表示紧邻“D”之前的碱基。这里,碱基“D”通过非磷酸二酯键(例如硫代磷酸酯键)连接至第二间隔区S_2。另外,碱基“D”通过磷酸二酯键连接至碱基“E”。第一间隔区S_1通过磷酸二酯键连接至紧邻的前一个碱基。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0298] 在一些实施方案中,其中一个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基。例如,UNC13A AON包括通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基的第一间隔区,其可以表

示为：

$XXXXXXS_1oXXXXXXXXXXXXS_2XXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区，“S_2”表示第二间隔区，“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0299] 作为另一个示例，UNC13A AON包括通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基的第二间隔区，其可以表示为：

$XXXXXXS_1XXXXXXXXXXXS_2oXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区，“S_2”表示第二间隔区，“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0300] 在各种实施方案中，UNC13A AON可以是AON变体(例如，23mer、21mer或19mer)，其中一个间隔区通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基。例如，UNC13A AON可以是具有通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基的第一间隔区的21mer，其可以表示为：

$XXXXXXXS_1oXXXXXS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区，“S_2”表示第二间隔区，“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0301] 例如，UNC13A AON可以是具有通过磷酸二酯键连接至紧邻的后一个碱基的第二间隔区的21mer，其可以表示为：

$XXXXXXXS_1XXXXXS_2oXXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区，“S_2”表示第二间隔区，“o”表示磷酸二酯键。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0302] 在各种实施方案中，其中两个间隔区具有紧邻间隔区之前的Y个碱基和紧邻间隔区之后的Z个碱基，这些碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中，UNC13A AON中的每个间隔区在紧邻间隔区之前具有Y个碱基和紧邻间隔区之后具有Z个碱基，这些碱基通过磷酸二酯键连接。这样的UNC13A AON(例如，25mer)的示例可以表示为：

$XXXXoDoS_1oEoXXXXXXXXXXoFoS_2oHoXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区，“S_2”表示第二间隔区，“o”表示磷酸二酯键，“D”表示紧邻第一间隔区之前的碱基，“E”表示紧邻第一间隔区之后的碱基，“F”表示紧邻第二间隔区之前的碱基，并且“H”表示紧邻第二间隔区之后的碱基。在各种实施方案中，UNC13A AON的所有其他碱基通过硫代磷酸酯键连接。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0303] 在各种实施方案中，UNC13A AON包括两个或多个间隔区，以及位于两个间隔区之间的一系列碱基通过磷酸二酯键连接。在各种实施方案中，该系列碱基包括通过磷酸二酯键连接的2、3、4、5、6或7个碱基。在具体的实施方案中，该系列碱基包括通过磷酸二酯键连接的两个碱基。在具体的实施方案中，该系列碱基包括通过磷酸二酯键连接的四个碱基。在各种实施方案中，UNC13A AON的所有其他碱基通过硫代磷酸酯键连接。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0304] 在各种实施方案中，通过磷酸二酯键连接的该系列碱基位于第一间隔区之后的Y个碱基和第二间隔区之前的Z个碱基。在各种实施方案中，Y为1、2、3、4、5、6或7个碱基。在各种实施方案中、Z为1、2、3、4、5、6或7个碱基。Y和Z可以彼此独立。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0305] 在具体的实施方案中,Y为5个碱基且Z为4个碱基。为了提供示例,这样的UNC13AAON(例如,25mer)可以表示为:

$XXXXXXXXS_1XXXXoDoEoFoHoXXXS_2XXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,以及“o”表示磷酸二酯键。碱基“D”、“E”、“F”和“H”表示通过磷酸二酯键连接的系列碱基。在该示例中,该系列碱基位于第一间隔区之后五个碱基(例如,D位于第一间隔区之后五个碱基)且该系列碱基位于第二间隔区之前四个碱基(例如,H位于第二间隔区之前四个碱基)。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0306] 在具体的实施方案中,Y是4个碱基且Z是3个碱基。为了提供示例,这样的UNC13AAON(例如,23mer)可以表示为:

$XXXXXXXS_1XXXoDoEoXXS_2XXXXXXX$

其中“S_1”表示第一间隔区,“S_2”表示第二间隔区,以及“o”表示磷酸二酯键。碱基“D”和“E”代表通过磷酸二酯键连接的系列碱基。在该示例中,该系列碱基位于第一间隔区之后四个碱基(例如,D位于第一间隔区之后四个碱基)且该系列碱基位于第二间隔区之前三个碱基(例如,E位于第二间隔区之前三个碱基)。在各种实施方案中,两个间隔区的位置不同于上文所示,因此,通过磷酸二酯键连接的系列碱基定位不同。在各种实施方案中,UNC13AAON的所有其他碱基通过硫代磷酸酯键连接。AON中的任何核碱基可以是核碱基类似物。

[0307] 在一些实施方案中,公开的UNC13A AON可以具有至少一个修饰的核碱基,例如5-甲基胞嘧啶和/或至少一个甲基膦酸酯核苷酸,例如,其仅位于5’或3’末端之一或位于5’和3’末端两者或沿着寡核苷酸序列放置。

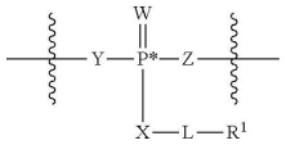
[0308] UNC13A AON可包括至少一种修饰的糖。例如,构成寡核苷酸的至少一个核苷酸的糖部分是核糖,其中2′-OH基团可以被选自OR、R、R′OR、SH、SR、NH_2、NR_2、N_3、CN、F、Cl、Br和I(其中R是烷基或芳基,R′是亚烷基)的任何一个取代。修饰的糖部分的示例包括包括2’-Ome修饰的糖部分、双环糖部分、2’-O-(2-甲氧基乙基)(2’MOE或MOE)、2’-O-(N-甲基乙酰胺)、2’-脱氧-2’-氟核苷、2’-氟-β-D-阿拉伯核苷、锁核酸(LNA)、限制性乙基2’-4’-桥接核酸(cEt)、S-cEt、tcDNA、己糖醇核酸(HNA)和三环类似物(例如tcDNA)。

[0309] 在一些实施方案中,UNC13A AON包含2’OMe(例如,包含一个或多个2’OMe修饰的糖的UNC13A AON)、2’MOE或MOE(例如,包含一个或多个2’MOE修饰的糖的UNC13AAON)、PNA(例如,包含通过酰胺键或羰基亚甲基键连接的一个或多个N-(2-氨基乙基)-甘氨酸单元作为替代糖-磷酸主链的重复单元的UNC13A AON)、LNA(例如,包含一个或多个锁核糖的UNC13A AON,并且可以是2’-脱氧核苷酸或2’OMe核苷酸的混合物)、c-ET(例如,包含一个或多个cET糖的UNC13A AON)、cMOE(例如,包含一个或多个cMOE糖的UNC13A AON)、吗啉代寡聚物(例如,包含含有一个或多个PMO的主链的UNC13AAON)、脱氧-2’-氟核苷(例如,包含一个或多个2’-氟-β-D-阿拉伯核苷的UNC13A AON)、tcDNA(例如,包含一个或多个tcDNA修饰的糖的UNC13A AON)、ENA(例如,包含一个或多个ENA修饰的糖的UNC13A AON)或HNA(例如,包含一个或多个HNA修饰的糖的UNC13A AON)。在一些实施方案中,UNC13A AON包含一个或多个硫代磷酸酯键、磷酸二酯键、磷酸三酯键、甲基膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、吗啉代键、PNA键、或硫代磷酸酯键、磷酸二酯键、磷酸三酯键、甲基膦酸酯

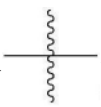
键、磷酰胺酯、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、吗啉代键和PNA键的任意组合。在一些实施方案中,UNC13A AON包含一个或多个硫代磷酸酯键、磷酸二酯键或硫代磷酸酯和磷酸二酯键的组合。

[0310] 在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列的UNC13A AON是手性控制的寡核苷酸,例如美国专利第9,982,257号、美国专利第10,590,413号、US10,724,035、US10,450,568和PCT公开第WO2019200185号中任一项描述的手性控制的寡核苷酸,其各自通过引用整体并入本文。

[0311] 例如,具有SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任一序列的UNC13A AON是包含多个至少一种类型的寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸,其中每种类型由以下定义:1)碱基序列;2)主链键的模式;3)主链手性中心的模式;和4)主链X-部分(—X-L-R^1)的模式;其中:至少一种类型的寡核苷酸包含一个或多个硫代磷酸三酯核苷酸间键和一个或多个磷酸二酯键;至少一种类型的寡核苷酸包含至少两个连续的修饰的核苷酸间键;并且至少一种寡核苷酸类型的寡核苷酸包含一个或多个独立地具有以下结构的修饰的核苷酸间键:



其中:P*是不对称磷原子并且是Rp或Sp;

W为O、S或Se;X、Y和Z各自独立地为—O—、—S—、—N(-L-R^1)—或L;L为共价键或任选取代的直链或支链C_1-C_{50}亚烷基,其中L的一个或多个亚甲基单元任选且独立地被任选取代的C_1-C_6亚烷基、C_1-C_6亚烯基、—C≡C—、—C(R′)$_2$—、-Cy-、—O—、—S—、—S—S—、—N(R′)—、—C(O)—、—C(S)—、—C(NR′)—、—C(O)N(R′)—、—N(R′)C(O)N(R′)—、—N(R′)C(O)—、—N(R′)C(O)O—、—OC(O)N(R′)—、—S(O)—、—S(O)$_2$—、—S(O)$_2$N(R′)—、—N(R′)S(O)$_2$—、—SC(O)—、—C(O)S—、—OC(O)—或—C(O)O—替代;R^1为卤素,R或任选取代的C_1-C_{10}脂肪族基团,其中一个或多个亚甲基单元任选且独立地被任选取代的C_1-C_6亚烷基,C_1-C_6亚烯基,—C≡C—、—C(R′)$_2$—、-Cy-、—O—、—S—、—S—S—、—N(R′)—、—C(O)—、—C(S)—、—C(NR′)—、—C(O)N(R′)—、—N(R′)C(O)N(R′)—、—N(R′)C(O)—、—N(R′)C(O)O—、—OC(O)N(R′)—、—S(O)—、—S(O)$_2$—、—S(O)$_2$N(R′)—、—N(R′)S(O)$_2$—、—SC(O)—、—C(O)S—、—OC(O)—或—C(O)O—替代;R′各自独立地为—R、—C(O)R、—CO_2R或—SO_2R,或者:同一氮上的两个R′与其间的原子一起形成任选取代的杂环或杂芳环,或者同一碳上的两个R′与其间的原子一起形成任选取代的芳基、碳环、杂环或杂芳环;-Cy-为选自苯基、碳环基、芳基、杂芳基或杂环基的任选取代的二价环;R各自独立地为氢或选自C_1-C_6脂肪族、苯基、碳环基、芳基、杂芳基或杂环基的任选取代的基团;并且  各自独立地代表与核苷的连接。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中任

一序列的AUNC13A AON是手性控制的寡核苷酸,其包含某些化学修饰(例如2'F(2'氟,其在2'核糖位置含有氟分子(而不是RNA单体中的2'-羟基))、2'-OMe、硫代磷酸酯键、脂质结合等),如美国专利第10,450,568中所描述的。

运动神经元疾病

[0312] 运动神经元疾病是一组以运动神经元功能丧失为特征的疾病,这些运动神经元通过大脑协调肌肉的自发运动。运动神经元疾病可影响上和/或下运动神经元,并且可具有散发性或家族性起源。运动神经元疾病包括肌萎缩性侧索硬化(ALS或卢格里格氏病)、进行性延髓麻痹、假性延髓麻痹、进行性肌萎缩、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩、脊髓灰质炎后综合征和伴有额颞叶痴呆的ALS。

[0313] 运动神经元疾病的症状包括肌肉衰退或无力、肌肉疼痛、痉挛、言语不清、吞咽困难、肌肉失去控制、关节疼痛、四肢僵硬、呼吸困难、流口水和完全失去肌肉控制,包括呼吸、吞咽、进食、说话和肢体运动等基本功能。这些症状有时还伴有抑郁、记忆丧失、计划困难、语言障碍、行为改变、难以评估空间关系和/或性格改变。

[0314] 运动神经元疾病可以由熟练的临床医生(例如神经科医生)使用各种工具和测试来评估和诊断。例如,可以使用血液和尿液测试(例如,检测肌酸激酶存在的测试)、磁共振成像(MRI)、肌电图(EMG)、神经传导研究(NCS)、脊椎穿刺、腰椎穿刺和/或肌肉活检来评估或诊断运动神经元疾病的存在或发展风险。运动神经元疾病可以借助体检和/或神经系统检查来诊断,以评估运动和感觉技能、神经功能、听力和言语、视力、协调和平衡、精神状态以及情绪或行为的变化。

肌萎缩性侧索硬化

[0315] ALS是一种进行性运动神经元疾病,其破坏所有随意肌的信号。ALS导致上下运动神经元萎缩。ALS的症状包括延髓肌肉无力和萎缩、全身和双侧肌力丧失、痉挛状态、肌肉痉挛、肌肉痛性痉挛、肌束震颤、言语不清、呼吸困难或呼吸能力丧失。一些患有ALS的个体也患有认知衰退。在分子水平上,ALS的特征是运动神经元细胞质中的蛋白质和RNA聚集体,包括RNA结合蛋白TDP43的聚集体。

[0316] ALS最常见于40岁以上的男性,但也可能发生在女性和儿童中。吸烟、接触铅等化学物质或曾在军队服役的人患ALS的风险也会增加。大多数ALS的病例是散发性的,而只有约10%的病例是家族性的。ALS的原因包括散发性或遗传性基因突变、高水平的谷氨酸、蛋白质错误处理。与ALS相关的基因突变包括基因SOD1、C9orf72、TARDBP、FUS、ANG、ATXN2、CHCHD10、CHMP2B、DCTN1、ErbB4、FIG4、HNRPA1、MATR3、NEFH、OPTN、PFN1、PRPH、SETX、SIGMAR1、SMN1、SPG11、SQSTM1、TBK1、TRPM7、TUBA4A、UBQLN2、VAPB和VCP中的突变。

额颞叶痴呆

[0317] 额颞叶痴呆(FTD)是一种影响大脑额叶和颞叶的痴呆形式。FTD包括额颞叶变性(FTLD)。其平均发病年龄早于阿尔茨海默病-40岁。FTD的症状包括行为和性格的极端变化、言语和语言问题以及与运动相关的症状,如震颤、僵硬、肌肉痉挛、虚弱和吞咽困难。FTD的亚型包括行为变异型额颞叶痴呆(bvFTD),其特征是性格和行为的变化,以及原发性进行性失语症(PPA),影响语言技能、说话、书写和理解。FTD与tau蛋白积累(Pick体)和TDP43功能的改变有关。约30%的FTD病例是家族性的,并且除了家族病史外,没有其他已知风险因素。与FTD相关的基因突变包括基因C9orf72、颗粒蛋白前体(GRN)、微管相关蛋白tau(MAPT)、

UBQLN2、VPC、CHMP2B、TARDBP、FUS、ITM2B、CHCHD10、SQSTM1、PSEN1、PSEN2、CTSF、CYP27A1、TBK1和TBP中的突变。

伴有额颞叶痴呆的肌萎缩性侧索硬化

[0318] 伴有额颞叶痴呆的肌萎缩性侧索硬化(伴有FTD的ALS)是一种临床综合征,其中FTD和ALS发生于同一个体中。有趣的是,C9orf72中的突变是ALS和FTD家族形式的最常见原因。另外,TBK1、VCP、SQSTM1、UBQLN2和CHMP2B中的突变也与ALS伴有FTD相关。ALS伴有FTD的症状包括性格的显著变化,以及肌肉无力、肌肉萎缩、肌束震颤、肌肉痉挛、构音障碍、吞咽困难和脊髓、运动神经元以及大脑额叶和颞叶的退化。在分子水平上,ALS伴有FTD的特征是TDP-43和/或FUS蛋白的积累。TBK1突变与ALS、FTD和伴有FTD的ALS相关。

边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE)

[0319] 边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE)的特征是大脑中、特别是边缘系统中积累了错误折叠的TDP-43蛋白。LATE是一种神经系统障碍,通常表现在老年患者(例如,80岁以上)身上。LATE可以诊断为痴呆症,并且LATE经常模仿阿尔茨海默病的症状,包括记忆力减退、思维混乱和情绪变化。

治疗方法

[0320] 本公开部分考虑在有需要的患者中治疗神经系统疾病、包括肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞痴呆(FTD)、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE)、癫痫、大脑年龄相关性TDP-43伴硬化(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症中的任一种,包括施用UNC13A AON。在一些实施方案中,本文提供治疗有需要的患者的神经系统疾病的方法,其包括施用所公开的UNC13A AON。在本公开的一些实施方案中,可将有效量的公开的UNC13A寡核苷酸施用于有需要的患者以治疗神经系统疾病,和/或增加、恢复或稳定能够翻译产生功能性UNC13A蛋白的UNC13A mRNA的表达,从而增加、恢复或稳定UNC13A活性和/或功能。

[0321] 在一些实施方案中,治疗神经系统疾病包括至少改善或减轻与神经系统疾病相关的一种症状(例如,减轻ALS患者的肌无力)。提供了治疗患有神经系统疾病(例如ALS、FTD或伴有FTD的ALS)的患者的方法,其包括施用公开的UNC13A AON。在一些实施方案中,提供了减缓神经系统疾病例如运动神经元疾病进展的方法。

[0322] 本文提供了对有需要的受试者进行治疗、降低神经系统疾病发展风险或延缓神经系统疾病发作的方法,包括施用公开的UNC13A AON。该方法包括例如治疗处于发展神经系统疾病风险的受试者;例如,向受试者施用有效量的公开的UNC13A AON。可以以这种方式治疗的神经系统疾病包括运动神经元疾病、ALS、FTD、伴有FTD的ALS、进行性延髓麻痹、假性延髓麻痹、进行性肌萎缩、原发性侧索硬化、脊髓性肌萎缩和脊髓灰质炎后综合征。

[0323] 预防或治疗神经系统疾病(例如、PD、ALS、FTD和伴有FTD的ALS)的方法形成本公开的一部分。此类方法可包括向有需要的患者或有风险的患者施用包含本文公开的UNC13A AON的药物制剂。例如,提供了一种预防或治疗神经系统疾病的方法,其包括向有需要的患者施用本文公开的UNC13A AON。

[0324] 使用上述方法治疗的患者在施用UNC13A寡核苷酸后(例如在1天、2天、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月或6个月或更长时间后),

UNC13A mRNA表达可增加、恢复或稳定至少约5％、10％、20％、30％、40％或甚至50％，这种表达能够翻译产生功能性UNC13A蛋白，从而增加、恢复或稳定靶细胞(例如，运动神经元)中的UNC13A活性和/或功能。在一些实施方案中，施用这样的UNC13A寡核苷酸可以是例如至少每天一次。UNC13A寡核苷酸可以口服施用。在一些实施方案中，鞘内、丘脑内或脑池内施用UNC13A寡核苷酸。例如，在本文所述的实施方案中，约每3个月鞘内、丘脑内或脑池内施用UNC13A寡核苷酸。与未施用UNC13A寡核苷酸(例如本文公开的寡核苷酸)的患者相比，施用本文公开的UNC13A寡核苷酸可延迟或改善患者神经系统疾病的临床表现，例如至少6个月、1年、18个月或甚至2年或更长时间。

[0325] UNC13A寡核苷酸可单独使用或彼此组合使用，其中至少两种UNC13A寡核苷酸在单一组合物中一起使用或作为治疗方案的一部分。UNC13A寡核苷酸还可以与其他药物或AON组合用于治疗神经系统疾病或病症。

[0326] 在各种实施方案中，公开了一种用于治疗有需要的受试者的肌萎缩性侧索硬化(ALS)的方法，该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐，并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85％的同一性；其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键，和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代，任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0327] 在各种实施方案中，公开了一种用于治疗有需要的受试者的额颞叶痴呆(FTD)的方法，该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐，并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85％的同一性；其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键，和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代，任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

[0328] 在各种实施方案中，公开了一种用于治疗有需要的受试者的伴有额颞叶痴呆(FTD)的肌萎缩性侧索硬化(ALS)的方法，该方法包括向受试者施用包含具有至多7个连接

核苷的区段的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,并且其中该寡核苷酸与SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项具有至少85%的同一性;其中寡核苷酸的至少一个(即一个或多个)核苷键独立地选自磷酸二酯键、硫代磷酸酯键、烷基磷酸酯键、二硫代磷酸酯键、磷酸三酯键、烷基膦酸酯键、3-甲氧基丙基膦酸酯键、甲基膦酸酯键、氨基烷基磷酸三酯键、亚烷基膦酸酯键、亚膦酸酯键、磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代磷酰二胺酯键、磷酰二胺酯键、氨基烷基磷酰胺酯键、硫代磷酰胺酯键、硫代烷基膦酸酯键、硫代烷基磷酸三酯键、硫代磷酸酯键、硒磷酸酯键和硼磷酸酯键,和/或其中至少一个(即一个或多个)核苷被选自2'-O-(2-甲氧基乙基)核苷、2'-O-甲基核苷、2'-O-(N-甲基乙酰胺)核苷、2'-脱氧-2'-氟核苷、2'-氟-β-D-阿拉伯糖核苷、锁核酸(LNA)、三环核酸、限制性甲氧基乙基(cMOE)、限制性乙基(cET)和肽核酸(PNA)的组分取代,任选地其中该寡核苷酸还包含间隔区。

治疗与评估

[0329] 如本文所述,患者是指任何处于患神经系统疾病的风险、患有神经系统疾病或被诊断患有神经系统疾病的动物,包括但不限于哺乳动物、灵长类动物和人。在某些实施方案中,患者可以是非人哺乳动物,例如猫、狗或马。患者可能是被诊断为患有神经系统疾病的高风险个体、已被诊断患有神经系统疾病的人、先前患有神经系统疾病的人,或被评估有神经系统疾病症状或指征的个体,例如,与神经系统疾病相关的任何体征或症状,例如:肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、神经损伤(例如臂丛神经损伤)、神经病变(例如化疗诱发的神经病变)、TDP43蛋白病(例如慢性创伤性脑病、Perry综合征、与阿尔茨海默病相关的路易体痴呆、伴有或不伴有痴呆的帕金森病、以及边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、癫痫、伴有硬化症的大脑年龄相关性TDP-43(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症。

[0330] 如本文所用,"有需要的患者"是指患有神经系统疾病的任何症状或表现的患者、可能患有神经系统疾病的任何症状或表现的患者、或可能受益于本公开的用于治疗神经系统疾病的方法的任何患者。有需要的患者可以包括被诊断为具有发展神经系统疾病的风险的患者、过去曾患有神经系统疾病的患者、或先前曾接受过神经系统疾病治疗的患者。

[0331] 如本文所用,"有效量"是指当施用于患者时足以至少部分治疗病症的药剂的量。治疗有效量将根据病症的严重程度、组分的施用途径和所治疗患者的年龄、体重等而变化。因此,公开的UNC13A寡核苷酸的有效量是治疗患者神经系统疾病所需的UNC13A寡核苷酸的量,使得施用该药剂可防止受试者发生神经系统疾病、防止神经系统疾病进展(例如,防止神经系统症状(例如肌肉无力、痉挛或肌束震颤)的发生或严重程度增加)、或缓解或完全改善神经系统疾病的所有相关症状,即导致疾病消退。

[0332] 可以通过评估与神经系统疾病相关的大体症状、组织的组织学分析、生化测定、成像方法(例如磁共振成像)或其他已知方法来评估治疗功效。例如,可以通过分析疾病的总体症状(例如,向患有神经系统疾病的患者施用公开的UNC13A寡核苷酸后肌肉强度和控制的变化或与神经系统疾病相关的总体病理的其他方面的变化)来评估治疗效果。

[0333] 还可以在组织或细胞水平上评估治疗功效,例如通过获取组织活检(例如,脑、脊髓、肌肉、运动神经元组织活检或嗅觉神经球细胞活检)并评估总体组织或细胞形态或染色特性。检测蛋白质或RNA表达的生物化学测定也可用于评估治疗功效。例如,可以通过免疫细胞化学、免疫组织化学,Western印迹或Northern印迹法、或用于评估RNA水平的方法(如定量或半定量聚合酶链反应(例如,数字PCR(DigitalPCR、dPCR、dePCR)、qPCR等)来评估指示解离细胞或非解离组织中神经系统疾病的蛋白质或基因产物的水平。还可以评估脊髓液、脑脊液、细胞外囊泡(例如,外泌体样脑脊液细胞外囊泡("CSF外泌体")(例如,Welton等人,(2017)"Cerebrospinal fluid extracellular vesicle enrichment for protein biomarker discovery in neurological disease;multiple sclerosis"J Extracell Vesicles.,6(1):1-10;和Street等人,(2012)"Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid"J Transl.Med.,10:5中描述的那些)、尿液、粪便、淋巴液、血液、血浆或血清中发现的有用生物标志物(例如,神经丝轻链(NEFL)、神经丝重链(NEFH)、TDP-43或p75胞外结构域(p75^{ECD}))的存在或表达水平,以评估疾病状态和治疗功效。还可以评估血浆、神经元细胞外囊泡/外泌体中发现的有用生物标志物的存在或表达水平。功效的其他测量方法可能包括强度持续时间常数(SDTC)、短间隔皮质抑制(SICI)、测力计、肢体等长强度精确测试(ATLIS)、复合肌肉动作电位(CMAP)和ALSFRS-R。在某些实施方案中,尿神经营养因子受体p75胞外结构域(p75^{ECD})是肌萎缩侧索性硬化(ALS)中的疾病进展和预后生物标志物。脑脊液(CSF)中的磷酸化神经丝重链(pNFH)可预测C9ORF72相关肌萎缩侧索硬化症(c9ALS)患者的疾病状态和生存率。CSF pNFH作为临床试验的预后生物标志物,其将增加成功开发c9ALS治疗的可能性。

[0334] 在评估治疗功效时,可选择合适的对照以确保有效的评估。例如,可以将患有神经系统疾病的患者在施用公开的UNC13A寡核苷酸后评估的症状与同一患者在治疗前或治疗过程中的早期阶段或未被诊断出患有神经系统疾病的另一患者的症状进行比较。或者,可以将施用公开的UNC13A寡核苷酸后组织的生化或组织学分析结果与同一患者或未被诊断出患有神经系统疾病的个体或同一患者在施用UNC13A寡核苷酸之前的组织生化或组织学分析结果进行比较。另外,可以将施用UNC13A寡核苷酸后的血液、血浆、血清、细胞、尿液、淋巴液、脊髓液、脑脊液或粪便样本与未被诊断出患有神经系统疾病的个体或在施用UNC13A寡核苷酸之前的同一患者的可比样本进行比较。在一些实施方案中,可以将施用UNC13A寡核苷酸后的细胞外囊泡(例如CSF外泌体)与未诊断出患有神经系统疾病的个体的细胞外囊泡或施用UNC13A寡核苷酸之前的同一患者的细胞外囊泡进行比较。

[0335] UNC13A寡核苷酸的验证可以通过直接或间接评估UNC13A表达水平或活性来确定。例如,测量UNC13A蛋白质或RNA表达的生化测定可用于评估对UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)的总体影响,该UNC13A转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列。例如,可以通过Western印迹测定细胞或组织中的UNC13A蛋白水平以评估总UNC13A水平。还可以通过Northern印迹或定量聚合酶链式反应测量UNC13A mRNA水平以确定对UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)的总体影响,该UNC13A转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中的任一项具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列。还可以通过免

疫细胞化学或免疫组织化学方法评估分离细胞、未分离组织、细胞外囊泡(例如,CSF外泌体)、血液、血清或粪便中的UNC13A蛋白水平或指示UNC13A信号活性的其他蛋白质水平。

[0336] 还可以通过测量例如自噬、内吞作用、蛋白质聚集等参数以及在血浆、脊髓液、脑脊液、细胞外囊泡(例如,CSF外泌体)、血液、尿液、淋巴液、粪便物或组织中发现的有用生物标志物(例如,神经丝轻链(NEFL)、神经丝重链(NEFH)、TDP-43或$p75^{ECD}$)的存在或表达水平)来间接评估对包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)表达水平的调节,以评估对UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)表达的调节,该UNC13A转录本包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列。还可以通过测量例如自噬、内吞作用、蛋白质聚集等参数以及生理生物标志物(诸如复合肌肉动作电位(CMAP))的存在或表达水平)来间接评估包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中的任一项具有至少90%(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本(例如UNC13A前体mRNA)的表达水平的调节。另外的测量方法可能包括强度持续时间常数(SDTC)、短间隔皮质抑制(SICI)、测力计、肢体等长强度精确测试(ATLIS)、复合肌肉动作电位和ALSFRS-R。在某些实施方案中,尿神经营养因子受体p75胞外结构域($p75^{ECD}$)是肌萎缩侧索性硬化(ALS)中的疾病进展和预后生物标志物。脑脊液(CSF)中的磷酸化神经丝重链(pNFH)可预测c9ALS患者的疾病状态和生存率。CSF pNFH作为临床试验的预后生物标志物,其将增加成功开发c9ALS治疗的可能性。

[0337] 本公开还提供了恢复患有神经系统疾病的患者的细胞中全长UNC13A转录本的表达的方法。全长UNC13A转录本可在其中发生UNC13A表达或活性的任何细胞中恢复,包括神经系统的细胞(包括中枢神经系统(例如脊髓或大脑)、周围神经系统、运动神经元、神经胶质细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞、大脑、脑干、额叶、颞叶、脊髓)、肌肉骨骼系统、脊髓液和脑脊液。肌肉骨骼系统的细胞包括骨骼肌细胞(例如,肌细胞)。运动神经元包括上运动神经元和下运动神经元。

药物组合物和施用途径

[0338] 本公开还提供了通过施用包含所公开的UNC13A寡核苷酸的药物组合物来治疗神经系统疾病的方法。在另一方面,本公开提供了用于治疗神经系统疾病的药物组合物。药物组合物可包含公开的UNC13A寡核苷酸和药学上可接受的载体。如本文所用,术语“药物组合物”是指例如含有特定量的治疗性化合物(例如治疗有效量的治疗性化合物)在药学上可接受的载体的混合物,其被施用于哺乳动物(例如人)以治疗神经系统疾病。在一些实施方案中,本文描述了包含公开的UNC13A寡核苷酸和药学上可接受的载体的药物组合物。在另一方面,本公开提供了公开的UNC13A寡核苷酸在制备用于治疗神经系统疾病的药物中的用途。如本文所用,“药物(medicament)”具有与术语“药物组合物”基本相同的含义。

[0339] 如本文所用,“药学上可接受的载体”意指适于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,并具有合理的益处/风险比的缓冲剂、载体和赋形剂。载体应该是“可接受的”,即与配方中的其他成分兼容,并且对接受者无害。药学上可接受的载体包括与药物施用相容的缓冲剂、溶剂、分散介质、包衣、等渗剂和吸收延迟剂等。

此类介质和试剂用于药物活性物质的用途是本领域已知的。在一个实施方案中,药物组合物是口服施用的,并且包括适于调节包封物质在消化系统或肠内的吸收部位的肠溶包衣。例如,肠溶包衣可包括丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸共聚物。

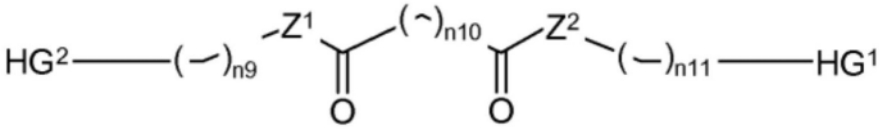
[0340] 在一个实施方案中,公开的UNC13A寡核苷酸及其任何药物组合物可以通过一种或多种途径施用,包括局部、鞘内、丘脑内、脑池内、脑室内、肠胃外、口服、直肠、颊内、舌下、阴道、肺部、气管内、鼻内、透皮或十二指肠内。本文所用的术语肠胃外包括皮下注射、胰腺内施用、静脉内、脑池内、脑室内、鞘内、丘脑内、肌内、腹膜内、胸骨内注射或输注技术。例如,公开的UNC13A寡核苷酸可以皮下施用于受试者。在另一个示例中,公开的UNC13A寡核苷酸可以口服施用于受试者。在另一个示例中,所公开的UNC13A寡核苷酸可通过肠胃外施用直接施用于神经系统,或神经系统的特定区域或细胞(例如,大脑、脑干、下运动神经元、脊髓、上运动神经元),例如,所公开的UNC13A寡核苷酸可鞘内施用、丘脑内施用、脑池内施用或脑室内施用。

[0341] 在各种实施方案中,UNC13A寡核苷酸(例如UNC13A AON)可以在施用前暴露于含钙缓冲液。这种含钙缓冲液可以减轻UNC13A寡核苷酸的毒性副作用。示例性反义寡核苷酸暴露于含钙缓冲液的进一步细节描述于Moazami等人,Quantifying and Mitigating Motor Phenotypes Induced by Antisense Oligonucleotides in the Central Nervous System,bioRxiv2021.02.14.431096,其通过引用整体并入本文。

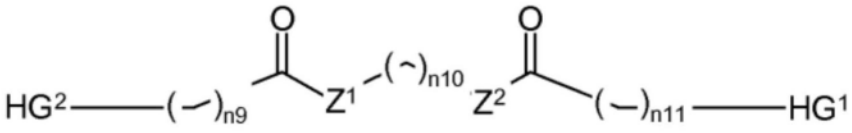
[0342] 在一些实施方案中,UNC13A寡核苷酸(例如UNC13A AON)可以包封在纳米颗粒包衣中。据信纳米颗粒包封可防止AON降解并增强细胞摄取。例如,在一些实施方案中,UNC13A寡核苷酸被包封在阳离子聚合物,例如合成聚合物(例如聚-L-赖氨酸、聚酰胺型胺,聚(β-氨基酯)和聚乙烯亚胺)或天然存在的聚合物(例如壳聚糖和鱼精蛋白)的包衣中。在一些实施方案中,UNC13A寡核苷酸被包封在脂质或脂质样材料中,例如阳离子脂质、阳离子脂质样材料或仅在酸性pH下带正电的可电离脂质。脂质纳米颗粒核苷酸疗法的示例包括Exicure的XCUR-FXN,一种基于脂质纳米颗粒球形核酸(SNA)的治疗候选物。例如,在一些实施方案中,UNC13A寡核苷酸被包封在脂质纳米颗粒中,该脂质纳米颗粒包括疏水性部分,例如胆固醇和/或聚乙二醇(PEG)脂质。

[0343] 在各种实施方案中,包含公开的UNC13A寡核苷酸的药物组合物还可包含双头基两亲性化合物(bolaamphiphilic compound)。示例双头基两亲性化合物描述于WO2014039493A1、WO2014039500A1、WO2014039502A1、WO2014039503A1和WO2014039504A1中,其各自通过引用整体并入本文。在具体的实施方案中,双头基两亲性化合物是根据式I的化合物:$HG^2L^1HG^1$,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、前药、立体异构体、互变异构体、同位素变体或N-氧化物,或其组合;其中:HG^1和HG^2各自独立地是亲水性头部基团;且L^1为亚烷基、烯基、杂亚烷基或杂烯基接头;未被取代或被C1-C20烷基、羟基或氧代基取代。

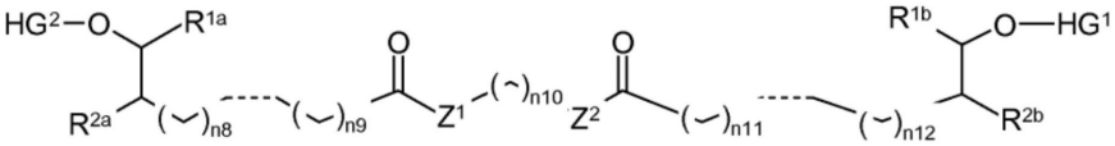
[0344] 在一个实施方案中,相对于式I的双头基两亲性化合物,双头基两亲性化合物是根据式II、III、IV、V或VI的化合物:



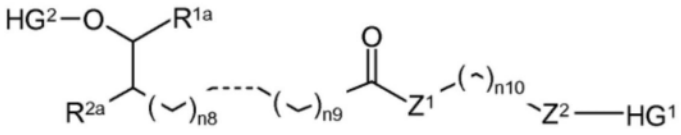
II



III

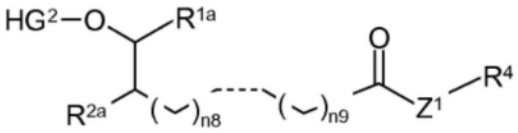


IV



V

；或



VI

[0345] 或其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、前药、立体异构体、互变异构体、同位素变体或N-氧化物或其组合；

其中：

HG^1和HG^2各自独立地是亲水性头部基团；

Z^1和Z^2各自独立地是-C(R^3)$_2$-、-N(R^3)-或-O-；

R^{1a}、R^{1b}、R^3和R^4各自独立地为H或Ci-C_8烷基；

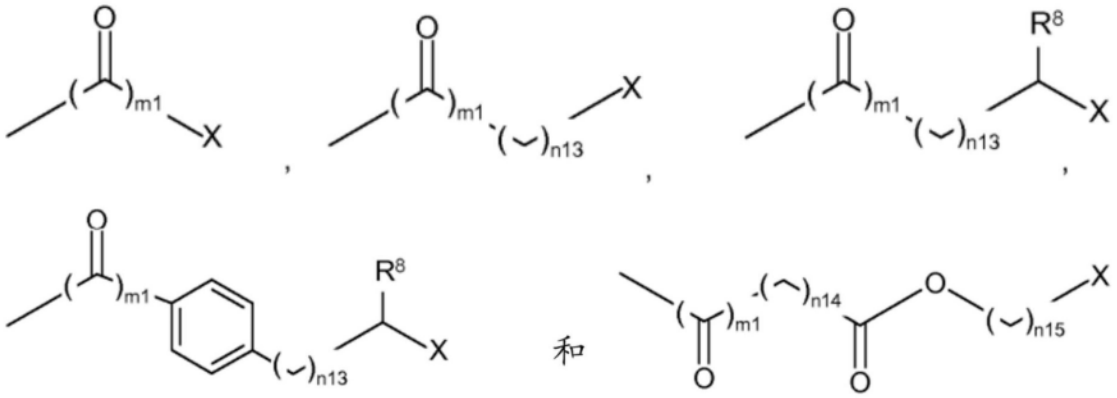
R^{2a}和R^{2b}各自独立地为H、Ci-C_8烷基、OH、烷氧基、或O-HG^1或O-HG^2；n8、n9、n11和n12各自独立地为1-20的整数；

n10为2-20的整数；以及

每个虚线键独立地为单键或双键。

[0346] 在一个实施方案中，相对于式I、II、III、IV、V或VI的双头基两亲性化合物，HG^1和

HG^2各自独立地选自：



[0347] 其中：X为$-NR^{5a}R^{5b}$或$-N^+R^{5a}R^{5b}R^{5c}$；R^{5a}和R^{5b}各自独立地为H或取代或未取代的C_1-C_{20}烷基，或R^{5a}和R^{5b}可以连接在一起以形成含N的取代或未取代的杂芳基、或取代或未取代的杂环基；R^{5c}各自独立地为取代或未取代的C_1-C_{20}烷基；R^8各自独立地为H、取代或未取代的C_1-C_{20}烷基、烷氧基或羧基；m1为0或1；n13、n14和n15各自独立地为1-20的整数。

[0348] 在各种实施方案中，本文公开的药物组合物包含双头基两亲性(bolaamphiphiles)和药理学或生物学活性化合物(例如，本文公开的UNC13A寡核苷酸)之间的复合物。在各种实施方案中，本文公开的药物组合物包含含有一种或多种双头基两亲性化合物的双头基两亲性囊泡复合物，并且生物活性化合物是寡核苷酸(例如，本文公开的UNC13A寡核苷酸)。

[0349] 含有公开的UNC13A寡核苷酸的药物组合物(如公开的那些药物组合物)可以以剂量单元形式存在并且可以通过任何合适的方法制备。药物组合物应配制成与其预期的施用途径相容。有用的制剂可通过药学领域熟知的方法制备。例如，参见Remington'sPharmaceutical Sciences，第18版(Mack出版公司，1990)。

[0350] 在一些实施方案中，药物制剂是无菌的。例如，可以通过无菌过滤膜过滤来实现无菌。在冻干组合物的情况下，可以在冻干和重构之前或之后进行过滤灭菌。

肠胃外施用

[0351] 本公开的药物组合物可以配制用于肠胃外施用，例如配制用于经由静脉内、脑池内、脑室内、肌内、皮下、鞘内、丘脑内、病灶内或腹膜内途径注射。根据本发明的公开内容，本领域技术人员将了解水性组合物(例如含有公开的UNC13A寡核苷酸的水性药物组合物)的制备。通常，这样的组合物可以制备为可注射的，可以是液体溶液或悬浮液；也可制备适于在注射前添加液体来制备溶液或悬浮液的固体形式；也可以将制剂乳化。

[0352] 适于注射使用的药物形式包括无菌水溶液或分散体；包括生理盐水、人工脑脊液、芝麻油、花生油或丙二醇水溶液的制剂；以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。在所有情况下，形式必须是无菌的，并且必须是达到容易注射的程度的流体。它在制造和储存条件下必须是稳定的，并且必须防止微生物如细菌和真菌的污染作用。

[0353] 可以在水中与表面活性剂(例如羟丙基纤维素)适当混合，制备活性化合物作为游离碱或药理学上可接受的盐的溶液。也可以在甘油、液体聚乙二醇及其混合物和油中制备分散体。此外，无菌不挥发性油可用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用任何温和的不挥发性油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。此外，脂肪酸如油酸可用于制备注射剂。无菌

可注射制剂还可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液、悬浮液或乳液,例如1,3-丁二醇溶液。可使用的可接受的媒介物和溶剂包括水、林格氏溶液,U.S.P.和等渗氯化钠溶液。在一个实施方案中,公开的UNC13A反义寡核苷酸可以悬浮在包含1%(w/v)羧甲基纤维素钠和0.1%(v/v)TWEEN™80的载液中。在普通的储存和使用条件下,这些制剂含有防腐剂以防止微生物的生长。

[0354] 可注射制剂,例如无菌可注射水性或油性混悬剂可根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂和助悬剂配制。通常,通过将各种灭菌的活性成分掺入到无菌载体中来制备分散体,该无菌载体含有基本分散介质和来自以上列举的那些的所需其他成分。本公开的无菌注射溶液可以通过将公开的UNC13A反义寡核苷酸与所需量的适当溶剂以及上述列举的各种其他成分(根据需要)混合,然后进行过滤灭菌来制备。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,其从其先前无菌过滤的溶液产生活性成分加上任何其他所需成分的粉末。例如,可注射制剂可通过经细菌截留过滤器过滤来灭菌。

[0355] 还考虑制备用于肌内注射的更高浓度或高度浓缩的溶液。在这方面,优选使用DMSO作为溶剂,因为这将导致极快的渗透,从而将高浓度的公开寡核苷酸输送到小区域。

[0356] 适用于此类溶液的防腐剂包括苯扎氯铵、苄索氯铵、氯丁醇,硫柳汞等。合适的缓冲剂包括硼酸、碳酸氢钠和碳酸钾、硼酸钠和硼钾、碳酸钠和碳酸钾、乙酸钠、磷酸氢钠等,其量足以将pH值保持在约pH 6和pH 8之间,例如,约pH 7和pH 7.5之间。合适的张力剂是葡聚糖40、葡聚糖70、右旋糖、甘油、氯化钾、丙二醇、氯化钠等,使得溶液的氯化钠当量在0.9±0.2%的范围内。合适的抗氧化剂和稳定剂包括亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代亚硫酸钠、硫脲等。合适的润湿剂和澄清剂包括聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20、泊洛沙姆282和泰洛沙泊。合适的增粘剂包括葡聚糖40、葡聚糖70、明胶、甘油、羟乙基纤维素、羟甲基丙基纤维素、羊毛脂、甲基纤维素、凡士林、聚乙二醇、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素等。

口服施用

[0357] 在一些实施方案中,本文预期了适合于口服递送公开的UNC13A寡核苷酸的组合物,例如包含肠溶包衣(例如肠溶衣)的片剂,使得组合物可以将UNC13A寡核苷酸递送至例如患者的胃肠道。

[0358] 例如,提供了一种用于口服施用的片剂,其包含颗粒(例如,至少部分地由颗粒形成)以及药学上可接受的赋形剂,该颗粒包含公开的UNC13A寡核苷酸,例如由SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项表示的UNC13A寡核苷酸,该UNC13A寡核苷酸靶向包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本。这种片剂可以用肠溶包衣覆盖。预期的片剂可以包括药学上可接受的赋形剂,例如填充剂、粘合剂、崩解剂和/或润滑剂,以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂如冬青、橙子、木糖醇、山梨醇、果糖和麦芽糊精,以及芳香剂、防腐剂和/或抗氧化剂。

[0359] 在一些实施方案中,预期的药物制剂包括颗粒内相以及药学上可接受的盐,该颗粒内相包括公开的UNC13A寡核苷酸,例如由SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292

中的任一项表示的UNC13A寡核苷酸,该UNC13A寡核苷酸靶向包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本。在一些实施方案中,预期的药物制剂包括颗粒内相(intra-granular phase)以及药学上可接受的填充剂,该颗粒内相包括公开的UNC13A寡核苷酸,例如由SEQ ID NO:1-1264、SEQ ID NO:2529-3792、SEQ ID NO:5066-5166、SEQ ID NO:5168-5202、SEQ ID NO:5209-5221或SEQ ID NO:5235-5292中的任一项表示的UNC13A寡核苷酸,该UNC13A寡核苷酸靶向包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中任一项具有至少90%(90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本。例如,公开的UNC13A寡核苷酸和填充剂可以任选地与其他赋形剂一起共混,并形成颗粒。在一些实施方案中,可以使用湿法制粒形成颗粒内相,例如将液体(例如水)加入到混合的UNC13A寡核苷酸和填充剂中,然后将组合物干燥、研磨和/或筛分以产生颗粒。本领域技术人员将理解,可以使用其他方法来获得颗粒内相。

[0360] 在一些实施方案中,预期的制剂包括颗粒外相,其可包括一种或多种药学上可接受的赋形剂,并且其可以与颗粒内相混合以形成公开的制剂。

[0361] 公开的制剂可包括含有填充剂的颗粒内相。示例性填充剂包括但不限于纤维素、明胶、磷酸钙、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、微晶纤维素、果胶、聚丙烯酸酯、右旋糖、乙酸纤维素、羟丙基甲基纤维素、部分预胶化淀粉、碳酸钙和包括其组合的其他填充剂。

[0362] 在一些实施方案中、所公开的制剂可包括颗粒内相和/或包含粘合剂的颗粒外相(extragranular phase),该粘合剂通常可起到将药物制剂的成分保持在一起的作用。本公开的示例性粘合剂可包括但不限于以下:淀粉、糖、纤维素或改性纤维素如羟丙基纤维素、乳糖、预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、低取代的羟丙基纤维素、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、乙基纤维素、糖醇及包括其组合的其他粘合剂。

[0363] 预期的制剂,例如包括颗粒内相和/或颗粒外相的制剂,可包括崩解剂,例如但不限于淀粉、纤维素、交联的聚乙烯吡咯烷酮、淀粉羟乙酸钠、羧甲基纤维素钠、藻酸盐、玉米淀粉、交联羧甲基纤维素钠、交联羧甲基纤维素、低取代的羟丙基纤维素、阿拉伯胶以及包括其组合的其他制剂。例如,颗粒内相和/或颗粒外相可包括崩解剂。

[0364] 在一些实施方案中,预期的制剂包括含有公开的UNC13A寡核苷酸和赋形剂的颗粒内相,该赋形剂选自:甘露醇、微晶纤维素、羟丙基甲基纤维素和淀粉羟乙酸钠或其组合,以及包含以下中的一种或多种的颗粒外相:微晶纤维素、淀粉羟乙酸钠和硬脂酸镁或其混合物。

[0365] 在一些实施方案中,预期的制剂可以包括润滑剂,例如颗粒外相可含有润滑剂。润滑剂包括但不限于滑石、二氧化硅、脂肪、硬脂精、硬脂酸镁、磷酸钙、二氧化硅、硅酸钙、磷酸钙、胶体二氧化硅、金属硬脂酸盐、氢化植物油、玉米淀粉、苯甲酸钠、聚乙二醇、乙酸钠、硬脂酸钙、十二烷基硫酸钠、氯化钠、十二烷基硫酸镁、滑石和硬脂酸。

[0366] 在一些实施方案中,药物制剂包含肠溶包衣。通常,肠溶包衣形成口服药物的屏障,其控制药物沿消化道吸收的位置。肠溶包衣可包括根据pH以不同速率崩解的聚合物。肠溶包衣可包括例如邻苯二甲酸醋酸纤维素、丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、琥珀酸醋酸纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、甲基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸共聚物、丙烯酸乙酯-甲

基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物C型、聚乙酸乙烯酯-邻苯二甲酸酯、邻苯二甲酸醋酸纤维素。

[0367] 示例性肠溶包衣包括Opadry® AMB、Acryl-EZE®、Eudragit®等级。在一些实施方案中,肠溶包衣可占预期片剂重量的约5%至约10%、约5%至约20%、8%至约15%、约8%至约20%、约10%至约20%、或约12%至约20%、或约18%。例如,肠溶包衣可包括丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸共聚物。

[0368] 例如,在预期的实施方案中,提供了一种片剂,其包含约0.5%至约70%,例如约0.5%至约10%,或约1%至约20%重量的公开的UNC13A寡核苷酸或其药学上可接受的盐,或基本上由其组成。这样的片剂可包含例如约0.5%至约60%重量的甘露醇,例如约30%至约50%重量的甘露醇,例如约40%重量的甘露醇;和/或约20%至约40%重量的微晶纤维素,或约10%至约30%重量的微晶纤维素。例如,公开的片剂可包含颗粒内相,该颗粒内相包含按重量计约30%至约60%,例如约45%至约65%,或可选地约5%至约10%重量的公开的UNC13A寡核苷酸;约30%至约50%或可选地约5%至约15%重量的甘露醇;约5%至约15%的微晶纤维素;约0%至约4%,或约1%至约7%的羟丙基甲基纤维素;和约0%至约4%,例如约2%至约4%,重量的羟乙酸淀粉钠。

[0369] 在另一个预期的实施方案中,用于口服施用公开的UNC13A寡核苷酸的药物片剂制剂包含颗粒内相,其中该颗粒内相包含所公开的UNC13A AON或其药学上可接受的盐(诸如钠盐)和药学上可接受的填充剂,并且其还可包含颗粒外相,该颗粒外相可包含药学上可接受的赋形剂诸如崩解剂。颗粒外相可包括选自微晶纤维素、硬脂酸镁及其混合物的组分。药物组合物还可包括约12%至20%片剂重量的肠溶包衣。例如,用于口服使用的药学上可接受的片剂可包含约0.5%至10%重量的公开的UNC13A AON(例如公开的UNC13A AON或其药学上可接受的盐)、约30%至50%重量的甘露醇、约10%至30%的重量微晶纤维素、以及包含丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸共聚物的肠溶包衣。

[0370] 在另一个示例中,用于口服使用的药学上可接受的片剂可包含颗粒内相,其包含约5至约10%重量的公开的UNC13A AON(例如公开的UNC13A AON或其药学上可接受的盐)、约40%重量的甘露醇、约8%重量的微晶纤维素、约5%重量的羟丙基甲基纤维素和约2%重量的淀粉羟乙酸钠;颗粒外相,其包含约17%重量的微晶纤维素、约2%重量的淀粉羟乙酸钠、约0.4%重量的硬脂酸镁;以及包含丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸共聚物的片剂上的肠溶包衣。

[0371] 在一些实施方案中,药物组合物可含有肠溶包衣,其包含约13%或约15%、16%、17%或18%重量的例如酸AcyrlEZE® (参见,例如PCT公开号WO 2010/054826,其通过引用整体并入本文)。

[0372] 包衣溶解和活性成分释放的速率是其溶解速率。在一个实施方案中,预期的片剂可具有这样的溶出曲线,例如,当在pH7.2的磷酸盐缓冲液中、在USP/EP 2型装置(桨式)中以100rpm于37℃下测试时,在约120分钟至约240分钟后(例如在180分钟)后释放约50%至约100%的UNC13A寡核苷酸。在另一个实施方案中,预期的片剂可具有这样的溶出曲线,例如,当在pH 1.0的稀HCl中、在USP/EP 2型装置(桨式)中以100rpm于37℃下测试时,其中120分钟后基本上没有UNC13A寡核苷酸释放。在另一个实施方案中,预期的片剂可具有这样的溶出曲线,例如,当在pH6.6的磷酸盐缓冲液中、在USP/EP 2型装置(桨式)中以100rpm和于

37℃下测试时,在30分钟后释放约10％至约30％或不超过约50％的UNC13A寡核苷酸。

[0373] 在一些实施方案中,本文提供的方法还可包括施用至少一种旨在治疗本文公开的疾病和障碍的其他药剂。在一个实施方案中,预期的其他药剂可以(例如,顺序地或同时地)共同施用。

施用剂量和频率

[0374] 下面描述的剂量或数量是指寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

[0375] 在一些实施方案中,本文所述的方法包括施用至少1μg、至少5μg、至少10μg、至少20μg、至少30μg、至少40μg、至少50μg、至少60μg、至少70μg、至少80μg、至少90μg或至少100μg的UNC13A反义寡核苷酸,例如UNC13A寡核苷酸。在一些实施方案中,方法包括施用10mg至500mg、1mg至10mg、10mg至20mg、20mg至30mg、30mg至40mg、40mg至50mg、50mg至60mg、60mg至70mg、70mg至80mg、80mg至90mg、90mg至100mg、100mg至150mg、150mg至200mg、200mg至250mg、250mg至300mg、300mg至350mg、350mg至400mg、400mg至450mg、450mg至500mg、500mg至600mg、600mg至700mg、700mg至800mg、800mg至900mg、900mg至1g、1mg至50mg、20mg至40mg或1mg至500mg的UNC13A反义寡核苷酸。

[0376] 在一些实施方案中,本文所述的方法包括施用制剂,所述制剂包含约10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg、600mg、700mg、800mg、900mg、1g、1.5g、2.0g、2.5g、3.0g、3.5g、4.0g、4.5g或5.0g的公开的UNC13A寡核苷酸。在一些实施方案中,制剂可包含约40mg、80mg或160mg的公开的UNC13A寡核苷酸。在一些实施方案中,制剂可包含至少100μg的公开的UNC13A寡核苷酸。例如,制剂可包含约0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg或30mg公开的UNC13A寡核苷酸。施用的量将取决于变量,例如待治疗的疾病或适应症的类型和程度、患者的总体健康状况和大小、UNC13A寡核苷酸的体内效力、药物制剂和施用途径。可以将初始剂量增加到高于上限水平,以便快速达到所需的血液水平或组织水平。或者,初始剂量可以小于最佳剂量,并且可以在治疗过程中逐渐增加剂量。可以例如在常规的I期剂量递增研究中优化人体剂量。给药频率可以根据诸如施用途径、剂量和所治疗疾病等因素而变化。示例性的给药频率是每天一次、每周一次和每两周一次。在一些实施方案中,给药为每天一次,持续7天。在一些实施方案中,给药为每4周一次、每5周一次、每6周一次、每7周一次、每8周一次、每9周一次、每10周一次、每11周一次或每12周一次。在一些实施方案中,给药为每月一次至每三个月一次。在一些实施方案中,给药为每两周一次,共三剂,然后每月一次、每两个月一次或每三或四个月一次。

组合疗法

[0377] 在各种实施方案中,本文公开的UNC13A AON可以与一种或多种另外的疗法组合施用。在一些实施方案中,所公开的寡核苷酸和一种或多种另外的疗法的组合疗法可协同治疗肌萎缩性侧索硬化(ALS)、额颞叶痴呆(FTD)、伴有FTD的ALS、阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病、进行性核上性麻痹(PSP)、脑外伤、脊髓损伤、皮质基底节变性(CBD)、神经损伤(例如臂丛神经损伤)、神经病变(例如化疗诱发的神经病变)、TDP43蛋白病(例如慢性创伤性脑病、Perry综合征、与阿尔茨海默病相关的路易体痴呆、有或不伴有痴呆的帕金森病伴、以及边缘系统为主的年龄相关性TDP-43脑病(LATE))、癫痫、伴有硬化症的大脑年

龄相关性TDP-43(CARTS)、面部发病的感觉运动神经元病、关岛帕金森痴呆综合征、多系统蛋白病、CTE和突触疾病如孤独症。

[0378] 帕金森病(PD)疗法的非限制性示例包括:深部脑刺激、左旋多巴和卡比多巴(duopa、rytary、Sinemet、inbrija)、伊曲茶碱(nourianz)、沙芬酰胺(xadago)、普拉克索(Mirapex)、罗替戈汀(neupro)、罗匹尼罗(requip)、金刚烷胺(gocovri、Symmetrel、osmolex)、苯扎托品(Cogentin)、苯海索(artane)、司来吉兰(eldepryl、zelapar)、雷沙吉兰、恩他卡朋(comtan)、阿匹卡朋(ongentys)、托卡朋(tasmar)、阿扑吗啡(apokyn、kynmobi)、艾塞那肽、灵芝、BIIB054、BIIB094、咖啡因、沙立佐坦、Nuplazid和胚胎多巴胺细胞植入。

[0379] 阿尔茨海默病(AD)疗法的非限制性示例包括阿杜那单抗(Aduhlem)、美金刚(Namenda)、多奈哌齐(Aricept)、卡巴拉汀(Exelon)、加兰他敏(razadyne)、Namzeric、苏沃雷生(Suvorexant(belsomra))和仑卡奈单抗(lecanemab)。

[0380] 治疗肌萎缩性侧索硬化(ALS)的非限制性示例是普利多匹定(pridopidine)。

[0381] 额颞叶痴呆(FTD)疗法的非限制性示例包括奥氮平(Zyprexa)、喹硫平(Seroquel)、SSRI(西酞普兰(Cipramil))、达泊西汀(Priligy)、依他普仑(Cipralex)、氟西汀(Prozac或Oxactin)、氟伏沙明(Faverin)、帕罗西汀(Seroxat)、舍曲林(Lustral)、沃替西汀(Brintellix))、双丙戊酸钠(Depakote)、卡马西平(Tegretol)和甲羟孕酮。

[0382] 癫痫疗法的非限制性示例包括布瓦西坦(briviact)、大麻二酚(epidiolex)、卡马西平(carbatrol、Tegretol)、cenobamate(xcopri)、地西泮(valium)、劳拉西泮(Ativan)、氯硝西泮(klonopin)、艾司利卡西平(aptiom)、乙琥胺(zarontin)、非尔氨酯(felbatol)、芬氟拉明(fintepla)、拉考沙胺(VIMPAT)、拉莫三嗪(Lamictal)、左乙拉西坦(Keppra)、奥卡西平(oxtellar xr,Trileptal)、巴仑帕奈(fycompa)、苯巴比妥、苯妥英(dilantin)、普瑞巴林(lyrica)、噻加宾(gabitril)、托吡酯(topamax)、丙戊酸钠(depakene、depakote)和唑尼沙胺(zonegran)。

[0383] 示例的其他疗法包括利鲁唑(Rilutek)、PrimeC、依达拉奉(Radicava)、卡巴拉汀、多奈哌齐、加兰他敏、选择性血清素再摄取抑制剂、抗精神病药、胆碱酯酶抑制剂、美金刚、苯并二氮卓类抗焦虑药物、AMX0035(ELYBRIO)、ZILUCOPLAN(RA101495)、普利多匹定、双重AON鞘内施用(例如、BIIB067、BIIB078和BIIB105)、BIIB100、左旋多巴/卡比多巴、多巴胺能药(例如、罗匹尼罗、普拉克索、罗替戈汀)、甲羟孕酮、KCNQ2/KCNQ3开放剂(例如瑞替加滨、XEN1101或QRL-101)、生物活性支架、抗惊厥药物和精神兴奋剂。另外的疗法还可以包括呼吸护理、物理疗法、职业疗法,语言疗法和营养支持。其他疗法的其他非限制性示例包括以下中的任一种:深部脑刺激、左旋多巴和卡比多巴(duopa、rytary、Sinemet、inbrija)、伊曲茶碱(nourianz)、沙芬酰胺(xadago)、普拉克索(Mirapex)、罗替戈汀(neupro)、罗匹尼罗(requip)、金刚烷胺(gocovri、Symmetrel、osmolex)、苯扎托品(Cogentin)、苯海索(artane)、司来吉兰(eldepryl、zelapar)、雷沙吉兰、恩他卡朋(comtan)、奥匹卡朋(ongentys)、托卡朋(tasmar)、阿扑吗啡(apokyn、kynmobi)、艾塞那肽、灵芝、BIIB054、BIIB094、咖啡因、沙立佐坦、胚胎多巴胺细胞植入、阿杜卡单抗(Aduhlem)、美金刚(Namenda)、多奈哌齐(Aricept)、卡巴拉汀(Exelon)、加兰他敏(razadyne)、Namzeric、苏沃雷生(Suvorexant(belsomra))、仑卡奈单抗(lecanemab)、奥氮平(Zyprexa)、喹硫平

(Seroquel)、SSRI(西酞普兰(Cipramil))、达泊西汀(Priligy)、依他普仑(Cipralex)、氟西汀(Prozac或Oxactin)、氟伏沙明(Faverin)、帕罗西汀(Seroxat)、舍曲林(Lustral)、沃替西汀(Brintellix)、丙戊酸钠(Depakote)、卡马西平(Tegretol)、甲羟孕酮、布立西坦(briviact)、大麻二酚(epidiolex)、卡马西平(carbatrol、Tegretol)、cenobamate(xcopri)、地西泮(安定)、劳拉西泮(Ativan)、氯硝西泮(klonopin)、艾司利卡西平(aptiom)、乙琥胺(zarontin)、非氨酯(felbatol)、芬氟拉明(fintepla)、拉科沙胺(VIMPAT)、拉莫三嗪(Lamictal)、左乙拉西坦(Keppra)、奥卡西平(oxtellar xr、Trileptal)、吡仑帕奈(fycompa)、苯巴比妥、苯妥英(dilantin)、普瑞巴林(lyrica)、噻加宾(gabitril)、托吡酯(topamax)、丙戊酸钠(depakene、depakote)和唑尼沙胺(zonegran)。在各种实施方案中,另外的疗法可以是第二反义寡核苷酸。作为示例,第二反义寡核苷酸可以靶向UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA、成熟UNC13A mRNA)以调节全长UNC13A蛋白的表达水平。

[0384] 脊髓损伤疗法的非限制性示例包括生物活性支架如具有增强的超分子运动的生物活性支架。作为脊髓损伤疗法的生物活性支架示例的进一步细节描述于Alvarez等人,“Bioactive scaffolds with enhanced supramolecular motion promote recovery from spinal cord injury.”Science,374,848-856(2021),其通过引用以其整体并入本文。

[0385] 在各种实施方案中,公开的寡核苷酸和一种或多种另外的疗法可以彼此缀合并且以缀合形式提供。关于涉及所公开的寡核苷酸的缀合物的进一步描述如下所述。在各种实施方案中,所公开的寡核苷酸和一种或多种另外的疗法并行提供。在各种实施方案中,所公开的寡核苷酸和一种或多种另外的疗法同时提供。在各种实施方案中,所公开的寡核苷酸和一种或多种另外的疗法依次提供。

缀合物

[0386] 在某些实施方案中,本文提供了寡聚化合物,其包含寡核苷酸(例如,UNC13A寡核苷酸)和任选的一个或多个缀合物基团和/或末端基团。缀合物基团包括一个或多个缀合物部分和将缀合物部分连接至寡核苷酸的缀合物接头。缀合物基团可以连接到寡核苷酸的一端或两端和/或任何内部位置。在某些实施方案中,缀合物基团连接于修饰的寡核苷酸的核苷的2'-位。在某些实施方案中,连接于寡核苷酸的一端或两端的缀合物是端基。在某些这样的实施方案中,缀合物基团或末端基团连接在寡核苷酸的3'和/或5'-末端。在某些这样的实施方案中,缀合物基团(或末端基团)连接在寡核苷酸的3'-末端。在某些实施方案中,缀合物基团连接在寡核苷酸的3'-末端附近。在某些实施方案中,缀合物基团(或末端基团)连接在寡核苷酸的5'-末端。在某些实施方案中,缀合物基团连接在寡核苷酸的5'-末端附近。

[0387] 末端基团的示例包括但不限于缀合物基团、封端基团、磷酸酯部分、保护基、修饰的或未修饰的核苷以及两个或多个独立地修饰或未修饰的核苷。

缀合物基团

[0388] 在某些实施方案中,UNC13A AON与一个或多个缀合物基团共价连接。在某些实施方案中,缀合物基团修饰连接的寡核苷酸的一种或多种性质,包括但不限于药效学、药代动力学、稳定性、结合、吸收、组织分布、细胞分布、细胞摄取、电荷和清除。在具体的实施方案

中,缀合物基团修饰血流中寡核苷酸的循环时间(例如,增加),使得增加浓度的寡核苷酸被递送至大脑。在具体的实施方案中,缀合物基团修饰寡核苷酸在靶器官(例如,大脑)中的停留时间(例如,增加停留时间),使得寡核苷酸的增加的停留时间改善它们的性能(例如,功效)。在具体的实施方案中,缀合物基团增加寡核苷酸通过血脑屏障和/或脑实质(例如,通过受体介导的转胞吞作用)递送至大脑。在具体的实施方案中,缀合物基团使得寡核苷酸能够靶向特定器官(例如大脑)。在某些实施方案中,缀合基团赋予连接的寡核苷酸新的性质,例如能够检测寡核苷酸的荧光团或报道基团。先前已经描述了某些缀合物基团和缀合物部分,例如:胆固醇部分(Letsinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86,6553-6556);胆汁酸(Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1994,4,1053-1060);硫醚,例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,Ann.NY.Acad.Sci.,1992,660,306-309;Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1993,3,2765-2770);硫代胆固醇(Oberhauser等人,Nucl.Acids Res.,1992,20,533-538);脂肪链,例如十二烷硫醇(do-decan-diol)或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等人,EMBO J,1991,10,1111-1118;Kabanov等人,FEBS Lett.,1990,259,327-330;Svinarchuk等人,Biochimie,1993,75,49-54);磷脂,例如双十六烷基-rac-甘油(di-hexadecyl-rac-glycerol)或三乙基铵1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-H-膦酸酯(triethyl-ammonium 1,2-di-O-hexadecyl-rac-glycero-3-H-phosphonate)(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36,3651-3654;Shea等人,Nucl.Acids Res.,1990,18,3777-3783);多胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,Nucleosides&Nucleotides,1995,14,969-973);或金刚烷乙酸,棕榈基部分(Mishra等人,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264,229-237);十八烷基胺或己基氨基-羰基-氧基胆固醇部分(Crooke等人,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277,923-937);生育酚基团(Nishina等人,Molecular Therapy Nucleic Acids,2015,4,e220;和Nishina等人,Molecular Therapy,2008,16,734-740);或GalNAc簇(例如WO2014/179620)。

缀合物部分

[0389] 缀合物部分包括但不限于嵌入剂、报道分子、多胺、聚酰胺、肽、碳水化合物、维生素部分、聚乙二醇、硫醚、聚醚、胆固醇、硫代胆固醇、胆酸部分、叶酸、脂质、磷脂、生物素、吩嗪、菲啶、蒽醌、金刚烷、吖啶、荧光素、罗丹明、香豆素、荧光团、染料、胆汁酸和苯基丁酸。在具体的实施方案中,缀合物部分选自肽、脂质、N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)、胆固醇、维生素E、硫辛酸、泛酸、聚乙二醇、抗体(例如、用于穿过血脑屏障的抗体、如抗转铁蛋白受体抗体)或细胞穿透肽(例如、转录的反式激活蛋白(TAT)和穿透素(penetratine))。

[0390] 在某些实施方案中,缀合部分包含活性药物物质、例如阿司匹林、华法林、保泰松、布洛芬、舒洛芬、芬布芬、酮洛芬、(S)-(+)-普拉洛芬、卡洛芬、丹磺酰肌氨酸、2,3,5-三碘苯甲酸、芬戈莫德、氟芬那酸、亚叶酸、苯并噻二嗪、氯噻嗪、二氮杂卓、吲哚美辛、巴比妥酸盐、头孢菌素、磺胺类药物、抗糖尿病剂、抗菌剂或抗生素。

缀合物接头

[0391] 缀合部分通过缀合接头与UNC13A AON连接。在某些寡聚化合物中,缀合物接头是单个化学键(即,缀合物部分通过单键直接连接至寡核苷酸)。在某些实施方案中,缀合物接头包含链结构,例如烃链,或重复单元的低聚物,例如乙二醇、核苷或氨基酸单元。

[0392] 在某些实施方案中,缀合物接头包含一个或多个选自烷基、氨基、氧代、酰胺、二硫

化物、聚乙二醇、醚、硫醚和羟氨基的基团。在某些这样的实施方案中,缀合物接头包含选自烷基、氨基、氧代、酰胺和醚基团的基团。在某些实施方案中,缀合物接头包含选自烷基和酰胺基团的基团。在某些实施方案中,缀合物接头包含选自烷基和醚基团的基团。在某些实施方案中,缀合物接头包含至少一个磷部分。在某些实施方案中,缀合物接头包含至少一个磷酸基团。在某些实施方案中,缀合物接头包含至少一个中性连接基团。

[0393] 在某些实施方案中,缀合物接头(包括上述缀合物接头)是双官能连接部分,例如本领域已知可用于将缀合物基团连接至亲本化合物(例如本文提供的寡核苷酸)的那些。通常,双官能连接部分包含至少两个官能团。选择其中一个官能团与亲本化合物上的特定位点结合,并选择另一个官能团与缀合物基团结合。用于双官能连接部分的官能团的示例包括但不限于用于与亲核基团反应的亲电体(electrophile)和用于与亲电基团反应的亲核体(nucleophile)。在某些实施方案中,双官能连接部分包含一个或多个选自氨基、羟基、羧酸、硫醇、烷基、烯基和炔基的基团。

[0394] 缀合接头的示例包括但不限于吡咯烷、8-氨基-3,6-二氧杂辛酸(ADO)、琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)和6-氨基己酸(AHEX或AHA)。其他缀合接头包括但不限于取代或未取代的C_1-C_{10}烷基,取代或未取代的C_2-C_{10}烯基或取代或未取代的C_2-C_{10}炔基,其中优选取代基的非限制性列表包括羟基、氨基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、卤素、烷基、芳基、烯基和炔基。

[0395] 在某些实施方案中,缀合物接头包含1-10个接头-核苷。在某些实施方案中,缀合物接头包含2-5个接头-核苷。在某些实施方案中,缀合物接头包含3个接头-核苷。

[0396] 在某些实施方案中,这类接头-核苷是修饰的核苷。在某些实施方案中,接头-核苷包含修饰的糖部分。在某些实施方案中,接头-核苷是未修饰的。在某些实施方案中,接头-核苷包含选自嘌呤、取代的嘌呤、嘧啶或取代的嘧啶的任选保护的杂环碱基。在某些实施方案中,可裂解部分是选自尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基-5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤、6-N-苯甲酰腺嘌呤、鸟嘌呤和2-N-异丁酰基鸟嘌呤的核苷。通常希望连接基-核苷在到达靶组织后从寡聚化合物上裂解下来。因此,接头-核苷通常通过可裂解的键彼此连接并与寡聚化合物的其余部分连接。在某些实施方案中,这样的可裂解键是磷酸二酯键。

[0397] 在本文中,接头-核苷不被视为是寡核苷酸的一部分。因此,在实施方案中,其中寡聚化合物包括由指定数目或范围的连接核苷和/或与参考核酸具有指定百分比互补性的寡核苷酸,并且寡聚化合物还包括包含缀合接头的缀合基团,所述缀合接头包含接头核苷,那些接头核苷不计入寡核苷酸的长度,并且不用于确定寡核苷酸对于参考核酸的百分比互补性。

[0398] 在某些实施方案中,期望缀合物基团从UNC13A AON裂解。例如,在某些情况下,包含特定缀合物部分的寡聚化合物更好地被特定细胞类型吸收,但是一旦寡聚化合物被吸收,期望缀合物基团被裂解以释放未缀合的或亲本寡核苷酸。因此,某些缀合接头可包含一个或多个可裂解部分。在某些实施方案中,可裂解部分是可裂解键。在某些实施方案中,可裂解部分是包含至少一个可裂解键的原子团。在某些实施方案中,可裂解部分包含具有一个、两个、三个、四个或多于四个可裂解键的原子的基团。在某些实施方案中,可裂解部分在细胞或亚细胞区室如溶酶体内选择性裂解。在某些实施方案中,可裂解部分被内源酶如核

酸酶选择性裂解。

[0399] 在某些实施方案中,可裂解键选自:酰胺、酯、醚、磷酸二酯的一个或两个酯、磷酸酯、氨基甲酸酯或二硫化物。在某些实施方案中,可裂解键是磷酸二酯的一个或两个酯。在某些实施方案中,可裂解部分包含磷酸酯或磷酸二酯。在某些实施方案中,可裂解部分是寡核苷酸和缀合物部分或缀合物基团之间的磷酸键。

[0400] 在某些实施方案中,可裂解部分包含一个或多个接头-核苷或由一个或多个接头-核苷组成。在某些这样的实施方案中,一个或多个接头-核苷通过可裂解的键彼此连接和/或与寡聚化合物的其余部分连接。在某些实施方案中,这样的可裂解键是未修饰的磷酸二酯键。在某些实施方案中,可裂解部分是2'-脱氧核苷,其通过磷酸核苷间键与寡核苷酸的3'或5'-末端核苷键连接,并通过磷酸或硫代磷酸酯键与缀合物接头或缀合物部分的其余部分共价连接。在某些这样的实施方案中,可裂解部分是2'-脱氧腺苷。

末端基团

[0401] 在某些实施方案中,寡聚化合物包含一个或多个端基。在某些这样的实施方案中,寡聚化合物包含稳定的5'-磷酸酯。稳定的5'-磷酸酯包括但不限于5'-膦酸酯,包括但不限于5'-乙烯基膦酸酯。在某些实施方案中,末端基团包含一个或多个脱碱基核苷和/或倒置核苷。在某些实施方案中,端基包含一个或多个2'-连接核苷。在某些这样的实施方案中,2'-连接核苷是脱碱基核苷。在各种实施方案中,端基包含一个或多个间隔区。

诊断方法

[0402] 本公开还提供了诊断患有神经系统疾病的患者的方法,其依赖于检测患者的一个或多个生物样品中UNC13A表达信号的水平。如本文所用,术语"UNC13A表达信号"可指UNC13A基因表达或基因或基因产物活性的任何指示。UNC13A基因产物包括RNA(例如mRNA)、肽和蛋白质。可评估的UNC13A基因表达指数包括但不限于UNC13A基因或染色质状态、UNC13A基因与调节基因表达的细胞组分的相互作用、UNC13A基因产物表达水平(例如,包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208中的任一项具有至少90%(例如,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)的表达水平)、或UNC13A RNA或蛋白质与转录、翻译或翻译后加工机制的相互作用。

[0403] UNC13A表达信号的检测可以通过体内、体外或离体方法完成。在优选的实施方案中,本公开的方法可以在体外进行。检测方法可包括检测患者的血液、血清、粪便物、组织、脑脊液、脊髓液、尿液、细胞外囊泡(例如CSF外泌体)或细胞。可以通过测量整个组织、组织外植体、细胞培养物、解离细胞、细胞提取物、细胞外囊泡(例如,CSF外泌体)或体液(包括血液、脊髓液、脑脊液、尿液、淋巴液、血浆或血清)中包含与SEQ ID NO:5057-5065或SEQ ID NO:5206-5208具有至少90%(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的序列的UNC13A转录本(例如,UNC13A前体mRNA)的表达信号来实现检测。检测方法包括测量UNC13A基因产物表达水平的测定法,例如Western印迹、FACS、ELISA、其他定量结合测定法、细胞或组织生长测定法、Northern印迹、定量或半定量聚合酶链反应、医学成像方法(例如MRI)或免疫染色方法(例如免疫组织化学或免疫细胞化学)。

一般修饰

[0404] 虽然已经根据某些实施方案特异性地描述了本文所述的某些化合物、组合物和方

法,但以下实施例仅用于说明本文所述的化合物,而不旨在限制本发明。本申请中列举的每篇参考文献、GenBank登录号等均通过引用整体并入本文。

[0405] 尽管本申请随附的序列表根据需要将每一序列鉴定为“RNA”或“DNA”,但实际上,可用化学修饰的任何组合来修饰那些序列。本领域技术人员将容易地理解,在某些情况下,使用“RNA”或“DNA”来描述修饰寡核苷酸是任意的。例如,包含含有2'-OH糖部分和胸腺嘧啶碱基的核苷的寡核苷酸可描述为具有修饰的糖的DNA(2'-OH代替DNA的一个2'-H)或具有修饰的碱基的RNA(胸腺嘧啶(甲基化尿嘧啶)代替RNA的尿嘧啶)。因此,本文提供的核酸序列(包括但不限于序列表中的那些)旨在涵盖含有天然或修饰的RNA和/或DNA的任何组合的核酸,包括但不限于具有修饰的核碱基的此类核酸。作为进一步的示例而非限制,具有核碱基序列“ATCGATCG”的寡聚化合物涵盖具有这种核碱基序列的任何寡聚化合物,不论是修饰的还是未修饰的,包括但不限于,包含RNA碱基的化合物,例如具有序列“AUCGAUCG”的那些,以及具有一些DNA碱基和一些RNA碱基的那些,例如“AUCGATCG”,以及具有其他修饰的核碱基的寡聚化合物,例如“AT^{m}CGAUCG”,其中^{m}C表示在5-位包含甲基的胞嘧啶碱基。

[0406] 本文所述的某些化合物(例如,修饰的寡核苷酸)具有一个或多个不对称中心,并且因此产生对映异构体、非对映异构体和其他立体异构构型,其可以根据绝对立体化学定义为(R)或(S)、α或β(如对于糖端基异构体)或(D)或(L)(如对于氨基酸)等。本文提供的绘制或描述为具有某些立体异构构型的化合物仅包括所指示的化合物。除非另有说明,否则本文提供的含有用未定义立体化学绘制或描述的立构中心的化合物包括所有此类可能的异构体,包括其立体无规和光学纯形式。同样,除非另有说明,还包括本文化合物的所有互变异构形式。除非另有说明,本文所述的化合物旨在包括相应的盐形式。

[0407] 本文所述的化合物包括其中一个或多个原子被指定元素的非放射性同位素或放射性同位素替代的变型。例如,本文的包含氢原子的化合物涵盖每个^{1}H氢原子的所有可能的氘取代。本文化合物涵盖的同位素取代包括但不限于:^{2}H或^{3}H代替^{1}H,^{13}C或^{14}C代替^{12}C,^{15}N代替^{14}N,^{17}O或^{18}O代替^{16}O,以及^{33}S、^{34}S、^{35}S或^{36}S代替^{32}S。在某些实施方案中,非放射性同位素取代可以赋予寡聚化合物新的特性,其有益于用作治疗或研究工具。

实施例

[0408] 通过以下实施例进一步说明本公开。提供这些实施例仅用于说明的目的,并且不应解释为以任何方式限制本公开的范围或内容。

实施例1:UNC13A寡核苷酸的设计和选择

[0409] 设计并测试靶向UNC13A转录本的UNC13A AON寡核苷酸以鉴定能够减少UNC13A转录本(例如,错误剪接的UNC13A转录本)的量的UNC13A AON。这类UNC13A AON包括由SEQ ID NO:1-1264中的任一项表示的UNC13A亲本寡核苷酸或由SEQ ID NO:2529-3792表示的UNC13A寡核苷酸变体。UNC13A亲本寡核苷酸长度为25个核苷。UNC13A亲本寡核苷酸的每个核苷是具有2'MOE糖部分的修饰核苷,并且每个“C”被5-MeC取代。另外,UNC13A寡核苷酸的核苷之间的每个核苷间键是硫代磷酸酯核苷间键。

[0410] 通常,UNC13A反义寡核苷酸的长度为25个寡核苷酸单元。然而,UNC13A反义寡核苷酸的变体也被设计成具有不同的长度(例如,23mer、21mer或19mer)。设计这些变体UNC13A反义寡核苷酸的示例以包括SEQ ID NO:2529-3792序列的子集。

[0411] 表6A:示例UNC13A AON((包括具有两个间隔区的UNC13A寡核苷酸)

SEQ ID No:	寡核苷酸序列 (其中 S 表示存在间隔区)* (5' → 3')	长度
5133	GGGCAGSCAGGAATGGTGSGTGGAA	25
5134	AGGGAGSAGTTTTCCAGGSAAAGGG	25
5135	GCAGCTSGAAGAGACATASCCAGAC	25
5136	TCCACCSGCCACTCACAASCATCCA	25
5137	GAAAGTSTCATGGAGAGTSCAAGGG	25
5138	GGGCAGGCSGGAATGGTGSGTGGAA	25
5139	AGGGAGGASTTTTCCAGGSAAAGGG	25
5140	GCAGCTGGSAGAGACATASCCAGAC	25
5141	TCCACCAGSCACTCACAASCATCCA	25
5142	GAAAGTGTSATGGAGAGTSCAAGGG	25
5143	GCAGGCASGAATGGTSAGTGGAA	23
5144	GGGCAGGSAGGAATGSTGAGTGG	23
5145	GGCAGGCSGGAATGGSGAGTGGA	23
5146	GTAAAGGSAATGGCASGGCGGGC	23
5147	AGGTAAASGGAATGGSATGGCGG	23
5148	GGTAAAGSGAATGGCSTGGCGGG	23
5149	AGGAGGTSACCCTGASTCTGGAC	23
5150	AGAGGAGSTGACCCTSAATCTGG	23
5151	GAGGAGGSGACCCTGSATCTGGA	23
5152	ACAAACGSCCCAATCSTGAGTGG	23
5153	ACACAAASGGCCCAASCCTGAGT	23
5154	CACAAACSGCCCAATSCTGAGTG	23
5155	TCTTTCCSGGAAACCSAGGCAGC	23
5156	GTTCTTTSCAGGAAASCCAGGCA	23
5157	TTCTTTCSAGGAAACSCAGGCAG	23
5158	TCCGCAASTTAATCCSCCTACCC	23
5159	GATCCGCSACTTAATSCACCTAC	23
5160	ATCCGCASCTTAATCSACCTACC	23
5161	CCCACCCSTCTAACTSCCCCAAA	23
5162	CACCCACSCATCTAASTACCCCA	23
5163	ACCCACCSATCTAACSACCCCAA	23
5164	AAGTGTCSTGGAGAGSGCAAGGG	23
5165	GAAAGTGSCATGGAGSGTGCAAG	23
5166	AAAGTGTSATGGAGASTGCAAGG	23

*除非另有说明,所示反义寡核苷酸的每个核苷是具有2'-O-(2-甲氧基乙基)(2'-MOE)糖部分的修饰核苷,每个"C"被5-甲基胞嘧啶(5-MeC)代替,并且所有核苷间键是硫代磷酸酯键。由S表示的间隔区不是核苷。S表示如本文所公开的式(IIa')的间隔区。

[0412] 表6B:示例UNC13A AON(包括具有两个间隔区的UNC13A寡核苷酸)

SEQ ID No:	寡核苷酸序列(其中 S 表示存在间隔区)* (5’ → 3’)	长度
5168	AGTTCASCCACACATCCTSCCATTC	25
5169	AGTTCAACSACACATCCTSCCATTC	25
5170	GTTCAACSACACATCSTTCCATT	23
5171	AGTTCAASCACACATSCTTCCAT	23
5172	TTCAACCSCACATCCSTCCATTC	23
5173	CTTGCASTAGTTCAACCASACATCC	25
5174	CTTGCAATSGTTCAACCASACATCC	25
5175	TTGCAATSGTTCAACSACACATC	23
5176	CTTGCAASAGTTCAASCACACAT	23
5177	TGCAATASTTCAACCSCACATCC	23
5178	ACACATSCATCCATCCATSCATTCA	25
5179	ACACATCCSTCCATCCATSCATTCA	25
5180	CACATCCSTCCATCCSTCCATTC	23
5181	ACACATCSATCCATCSATCCATT	23
5182	ACATCCASCCATCCASCCATTCA	23
5183	CAGTAASTCAACCACACASCCATCC	25
5184	CAGTAATTSAACCACACASCCATCC	25
5185	AGTAATTSAACCACASATCCATC	23
5186	CAGTAATSCAACCACSCATCCAT	23
5187	GTAATTCSACCACACSTCCATCC	23
5188	ACCTTTSAGTAATTCAACSACACAT	25
5189	ACCTTTCASTAATTCAACSACACAT	25
5190	CCTTTCASTAATTCASCCACACA	23
5191	ACCTTTCSGTAATTCSACCACAC	23
5192	CTTTCAGSAATTCAASCACACAT	23
5193	CTCTTTSATCCATCCACASACCCAC	25
5194	CTCTTTTASCCATCCACASACCCAC	25
5195	TCTTTTASCCATCCASACACCCA	23
5196	CTCTTTTSTCCATCCSCACACCC	23
5197	CTTTTATSCATCCACSCACCCAC	23
5198	ATCTACSCTTTTATCCATSCACACA	25
5199	ATCTACTCSTTTATCCATSCACACA	25
5200	TCTACTCSTTTATCCSTCCACAC	23
5201	ATCTACTSTTTTATCSATCCACA	23
5202	CTACTCTSTTATCCASCCACACA	23

*除非另有说明,所示反义寡核苷酸的每个核苷是具有2’-O-(2-甲氧基乙基)(2’-MOE)糖部分的修饰核苷,每个“C”被5-甲基胞嘧啶(5-MeC)代替,并且所有核苷间键是硫代磷酸酯键。由S表示的间隔区不是核苷。S表示如本文所公开的式(Iia’)的间隔区。

实施例2:评价UNC13A反义寡核苷酸的方法

[0413] 在iPSC衍生的人运动神经元(hMN)中评价UNC13A反义寡核苷酸。将细胞以50,000个细胞/孔的密度接种在96孔板中。用Endoporter(Gene Tools,美国俄勒冈州菲洛马斯)转染TDP43的反义寡核苷酸(AON)以降低全长UNC13a转录本的表达。媒介物对照由单独用Endoporter治疗运动神经元组成。阳性对照包括仅用TDP43AON治疗的细胞(“AON TDP43”或“TDP43AON”)。

[0414] TDP43AON是gapmer寡核苷酸并且具有以下序列和化学结构:5’A*A*G*G*C*T*T*C*

A*T*A*T*T*G*T*A*C*T*T*T 3'(SEQ ID NO:5167)其中*＝硫代磷酸酯,下划线＝DNA,其他＝2'MOE RNA;每个"C"是5-MeC。

[0415] 为了评价UNC13A AON恢复全长UNC13A(UNC13A FL)mRNA(也称为正确剪接的UNC13A(UNC13A CS)mRNA)的能力,将UNC13A的反义寡核苷酸与TDP43AON在培养基中的Endoporter中共同孵育,然后加入到细胞中。72小时后,将反义寡核苷酸和Endoporter洗出并用单独的新鲜培养基替换。另外72小时后,从96孔板收集RNA用于RT-qPCR。分离RNA,生成cDNA,并使用Taqman探针对UNC13A全长转录本进行多重RT-qPCR检测,并参考GAPDH定量。

[0416] 使用Taqman通过RT-qPCR检测转录本水平(例如,UNC13A全长转录本或TDP43转录本)。具体地,使用Thermofisher®TaqMan Gene Expression Assay Hs03929097_g1进行RT-qPCR以检测GAPDH。使用Thermofisher®TaqMan Gene Expression Assay Hs00392638_m1进行RT-qPCR以检测UNC13A-FL转录本。

[0417] 在Applied Biosystems ®7500Real-time PCR系统上进行RT-qPCR。在50℃的温度下持续5分钟,进行一个循环的逆转录。在95℃的温度下持续20秒,进行一个循环的RT失活/起始变性。在95℃的温度下持续1秒,然后在60℃温度下持续20秒,进行45个循环的扩增。

[0418] 将UNC13A-FL(Ct)标准化为GAPDH(ΔCt)。为了可视化定量变化(例如,UNC13A-FL的降低%),将标准化的UNC13A-FL信号进一步标准化为媒介物(仅用Endoporter治疗,ΔΔCt)。使用等式$RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$计算转录本水平的相对量(RQ),并用于描述治疗条件与正常、健康水平的比较(1.0)。使用下式标准化UNC13A FL的RQ值:

(((RQAON-RQTDP43)/(RQendo-RQTDP43))*100

[0419] 表7显示了具有间隔区的UNC13A AON的RT-qPCR结果和不含间隔区的UNC13AAON在人运动神经元中的性能。测试UNC13A AON(例如,不含间隔区或具有一个或两个间隔区的UNC13A寡核苷酸)增加或恢复全长UNC13A mRNA(即,翻译全长UNC13A蛋白的mRNA)水平的能力。在一些情况下,具有间隔区的UNC13A AON增加了全长UNC13AmRNA("UNC13A FL"),本文也称为正确剪接的UNC13A(UNC13A CS)。在一些情况下,不含间隔区的UNC13A AON增加了全c长UNC13A mRNA或正确剪接的UNC13A mRNA(UNC13ACS)。具体的AON序列根据其相应的SEQ ID NO进行标记。

[0420] 如表7所示,500nM剂量的SEQ ID NO:5153(具有两个间隔区的ACACAAASGGCCCAASCCTGAGT)将全长UNC13A mRNA挽救至55.69%。相对地,500nM剂量的SEQ ID NO:2788(ACACAAACGGCCCAATCCTGAGT,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至41.87%。这表明,与不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:2788)相比,添加SEQ ID NO:5153的间隔区可提高性能。

[0421] 另外如表7所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5159(GATCCGCSACTTAATSCACCTAC,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至55.69%。500nM剂量的SEQ ID NO:5159(GATCCGCSACTTAATSCACCTAC,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至66.62%。相对地,200nM剂量的SEQ ID NO:3547(GATCCGCAACTTAATCCACCTAC,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至43.88%。500nM剂量的SEQ ID NO:3547(GATCCGCAACTTAATCCACCTAC,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至66.98%。这表明在200nM和500nM剂量下,具有SEQ ID NO:5159(具有间隔区)的AON的性能类似于不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:3547)的性能。

[0422] 另外如表7所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5162(CACCCACSCATCTAASTACCCCA,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至47.94%。500nM剂量的SEQ ID NO:5162(CACCCACSCATCTAASTACCCCA,两间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至83.19%。相对地,200nM剂量的SEQ ID NO:3652(CACCCACCCATCTAACTACCCCA,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至47.68%。500nM剂量的SEQ ID NO:3652(CACCCACCCATCTAACTACCCCA,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至41.16%。这表明在200nM剂量下,SEQ ID NO:5162(具有间隔区)的性能类似于不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:3652)的性能。然而,在500nM剂量下,添加SEQ ID NO:5162的间隔区与不含间隔区的UNC13AAON对应物(SEQ ID NO:3652)相比提高了性能。

[0423] 另外如表7所示,500nM剂量的SEQ ID NO:5161(CCCACCCSTCTAACTSCCCCAAA,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至43.10%。相对地,500nM剂量的SEQ ID NO:3650(CCCACCCATCTAACTACCCCAAA,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至23.37%。这表明,在500nM剂量下,与不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:3650)相比,添加间隔区可提高具有SEQ ID NO:5161的AON的性能。

[0424] 另外如表7所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5164(AAGTGTCSTGGAGAGSGCAAGGG,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至35.39%。500nM剂量的SEQ ID NO:5164(AAGTGTCSTGGAGAGSGCAAGGG,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至6.60%。相对地,200nM剂量的SEQ ID NO:3774(AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至19.04%。500nM剂量的SEQ ID NO:3774(AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至-34.58%。这表明,在200nM和500nM剂量下,与不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:3774)相比,添加间隔区可提高具有SEQ ID NO:5164的AON的性能。

[0425] 另外如表7所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5142(GAAAGTGTSATGGAGAGTSCAAGGG,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至67.77%。500nM剂量的SEQ ID NO:5142(GAAAGTGTSATGGAGAGTSCAAGGG,具有两个间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至84.79%。相对地,200nM剂量的SEQ ID NO:1248(GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至22.48%。500nM剂量的SEQ ID NO:1248(GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将全长UNC13A mRNA挽救至24.84%。这表明,在200nM和500nM剂量下,与不含间隔区的UNC13A AON对应物(例如,SEQ ID NO:1248)相比,添加间隔区可提高具有SEQ ID NO:5142的AON的性能。

[0426] 总之,这些结果证明包含两个间隔区的不同UNC13A AON能够将UNC13A-FL mRNA的水平增加到与其非间隔区对应物相当或增加到超过其非间隔区对应物的水平。

表7：UNC13A AON 在UNC13A全长测定中的性能（没有间隔区或具有一个或两个间隔区的UNC13A寡核苷酸）。

SEQ ID NO:	寡核苷酸序列*（其中 S 表示存在间隔区）(5'→3')	QPCR 效价		QPCR 效价	
		200 nM		500 nM	
		标准化的 CS	标准化的 CS SD	标准化的 CS	标准化的 CS SD
42	GAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGT	3.79367	0.480565	-63.053	0.19433
66	TGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGG	60.6986	0.724229	-23.435	0.36397
77	GGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGG	154.828	1.127288	434.631	2.32539
101	ATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGG	37.1601	0.448286	12.6634	0.41631
108	AAAGGGAATGGCATGGCGGGCAGTC	-26.139	0.13718	22.9464	0.49028
112	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	-5.3242	0.383369	-37.199	0.17903
2639	GGTAAAGGGAATGGCATGGCGGG	-29.228	0.227001	-33.566	0.20089
5148	GGTAAAGSGAATGGCSTGGCGGG	-16.331	0.304608	-29.739	0.22392
2640	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGG	-13.385	0.322337	-40.436	0.15956
5147	AGGTAAASGGAATGGSATGGCGG	-13.664	0.320657	-24.027	0.2583
2638	GTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	-29.989	0.222419	-26.677	0.24235
5146	GTAAAGGSAATGGCASGGCGGGC	25.771	0.557959	-18.428	0.29199
115	TCCAGGTAAAGGGAATGGCATGGCG	-7.8349	0.268854	40.2877	0.61503
127	AGGGAGGAGTTTTCCAGGTAAAGGG	-32.255	0.392785	-25.109	0.4256
5134	AGGGAGSAGTTTTCCAGGSAAAGGG	6.97605	0.572906	-3.6889	0.52394
5139	AGGGAGGASTTTTCCAGGSAAAGGG	-70.51	0.217148	-78.696	0.17957
162	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	129.033	0.93262	110.34	1.0505
2689	GAGGAGGTGACCCTGAATCTGGA	169.855	1.024819	164.814	1.30762

5151	GAGGAGGSGACCCTGSATCTGGA	-72.457	0.658323	138.629	1.28191
2690	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGG	171.498	1.135638	3.26987	0.54512
5150	AGAGGAGSTGACCCTSAATCTGG	7.49253	0.565048	-57.946	0.25617
2688	AGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	44.7095	0.740715	125.001	1.1197
5149	AGGAGGTSACCCTGASTCTGGAC	-44.26	0.320771	12.8179	0.59018
195	GAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTG	32.5688	0.559505	57.0338	0.7355
200	GTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCA	70.681	0.905428	67.6819	0.88671
203	TGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGG	91.2119	1.033573	59.7857	0.83742
244	CCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGA	46.7792	0.756244	-24.332	0.3124
248	CAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAA	-8.5	0.411217	73.8646	0.9253
254	ACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGG	66.8521	0.88153	45.3726	0.74746
260	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	-11.42	0.462541	75.8487	0.8839
2787	CACAAACGGCCCAATCCTGAGTG	-11.128	0.463949	-41.939	0.31518
5154	CACAAACSGCCCAATSCTGAGTG	50.7872	0.762897	-14.314	0.44857
2788	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGT	-27.43	0.385239	41.8694	0.71984
5153	ACACAAASGGCCCAASCCTGAGT	-14.732	0.44655	55.6902	0.78657
2786	ACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	-49.751	0.277462	-20.306	0.41964
5152	ACAAACGSCCCAATCSTGAGTGG	105.349	1.026341	47.8744	0.74883
263	CAGACACAAACGGCCCAATCCTGAG	-40.7843	0.3272	-5.4793	0.5486
269	CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT	-21.2475	0.3317	14.4015	0.5542
273	GAGACATACCCAGACACAAACGGCC	47.2141	0.7590	116.3656	1.1906
283	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	4.7146	0.5625	-66.6389	0.2349
5135	GCAGCTSGAAGAGACATASCCAGAC	33.7840	0.6960	-6.4957	0.5111

5140	GCAGCTGG**S**AGAGACATA**S**CCAGAC	3.7461	0.5581	35.3538	0.7032
301	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG	17.5514	0.5395	30.5680	0.5952
303	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	41.1141	0.5932	-27.3254	0.2666
2830	TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG	-31.8396	0.2450	-7.7732	0.3599
5157	TTCTTTC**S**AGGAAAC**S**CAGGCAG	-72.0800	0.0530	-37.1813	0.2196
2831	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	-14.5643	0.3275	44.7209	0.6104
5156	GTTCTTT**S**CAGGAAA**S**CCAGGCA	-38.7597	0.2120	-22.4863	0.2897
2829	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	2.0002	0.4065	-15.1244	0.3248
5155	TCTTTCC**S**GGAAACC**S**AGGCAGC	-59.9899	0.1107	-64.5153	0.0891
454	CACGAATCTACCCACCAACTCATCC	-39.5824	0.2948	-56.2924	0.2233
460	TCTAGCCACGAATCTACCCACCAAC	75.4170	0.7873	-12.0685	0.4126
927	GTCTGTCCACCAGCCACTCACAACC	121.2337	0.9834	-62.7895	0.1955
930	TTCGTCTGTCCACCAGCCACTCACA	-18.2285	0.3863	-45.7096	0.2686
937	TCCATTTTTCGTCTGTCCACCAGCC	-63.8195	0.2479	-54.2647	0.2917
1019	GATCCGCAACTTAATCCACCTACCC	88.0305	0.9091	44.9905	0.5436
3546	ATCCGCAACTTAATCCACCTACC	30.7027	0.4223	45.1113	0.5446
5160	ATCCGCA**S**CTTAATC**S**ACCTACC	38.8278	0.4913	50.8796	0.5936
3547	GATCCGCAACTTAATCCACCTAC	43.8789	0.5342	66.9823	0.7303
5159	GATCCGC**S**ACTTAAT**S**CACCTAC	**55.8768**	**0.6360**	**66.6162**	**0.7272**
3545	TCCGCAACTTAATCCACCTACCC	64.3790	0.7082	67.3066	0.7331
5158	TCCGCAA**S**TTAATCC**S**CCTACCC	53.4236	0.6152	51.3988	0.5980
1124	CACCCACCCATCTAACTACCCCAAA	64.1844	0.6729	44.6783	0.4941
3651	ACCCACCCATCTAACTACCCCAA	41.2908	0.4631	64.1844	0.6729

5163	ACCCACC**S**ATCTAAC**S**ACCCCAA	46.9810	0.4070	58.8250	0.6238
3652	CACCCACCCATCTAACTACCCCA	47.6810	0.5217	41.0564	0.4609
5162	CACCCAC**S**CATCTAA**S**TACCCCA	47.9432	0.5241	83.1895	0.8471
3650	CCCACCCATCTAACTACCCCAAA	72.0651	0.5775	23.3677	0.2988
5161	CCCACCC**S**TCTAACT**S**CCCCAAA	41.8445	0.4682	43.0965	0.4796
1248	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	22.4754	0.5041	24.8358	0.5167
3775	AAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGG	82.5919	0.8245	7.0300	0.4218
5166	AAAGTGT**S**ATGGAGA**S**TGCAAGG	61.0070	0.7095	-4.8799	0.3583
3776	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAG	55.7844	0.6816	-19.7864	0.2789
5165	GAAAGTG**S**CATGGAG**S**GTGCAAG	40.0402	0.5977	3.6974	0.4040
3774	AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	19.0435	0.4858	-34.5807	0.2001
5164	AAGTGTC**S**TGGAGAG**S**GCAAGGG	35.3880	0.5729	6.6020	0.4195
5137	GAAAGT**S**TCATGGAGAGT**S**CAAGGG	-10.6183	0.3278	50.6900	0.6545
5142	GAAAGTGT**S**ATGGAGAGT**S**CAAGGG	67.7691	0.7455	84.7852	0.8362
1260	CACCATGGGAGAGAAAGTGTCATGG	17.7544	0.4529	64.3335	0.7880

*除非另有说明，所示反义寡核苷酸的每个核苷是具有2'-O-2-（甲氧基乙基）（2'-MOE）糖部分的修饰核苷，每个"C"被5-甲基胞嘧啶（5-MeC）代替，并且所有核苷间键是硫代磷酸酯键。由**S**表示的间隔区不是核苷。S表示如本文所公开的式(Iia')的间隔区。

实施例3:评价UNC13A反义寡核苷酸的方法

[0427] 在iPSC衍生的人运动神经元(hMN)中评价UNC13A反义寡核苷酸。将细胞以40,000

个细胞/孔的密度接种在96孔板中。用Endoporter(Gene Tools,美国俄勒冈州菲洛马斯)转染TDP43的反义寡核苷酸(AON)以降低全长UNC13a转录本的表达并增加UNC13A隐蔽外显子的表达。媒介物对照由单独用Endoporter治疗运动神经元组成。阳性对照包括仅用TDP43AON治疗的细胞(“AON TDP43”或“TDP43AON”)。

[0428] TDP43AON是gapmer寡核苷酸并且具有以下序列和化学结构:5’A*A*G*G*C*T*T*C*A*T*A*T*T*G*T*A*C*T*T*T 3’(SEQ ID NO:5167)其中*=硫代磷酸酯,下划线=DNA,其他=2’MOE RNA;每个“C”是5-MeC。

[0429] 为了评价UNC13A AON降低UNC13A隐蔽外显子水平的能力,将UNC13A的反义寡核苷酸与TDP43AON在培养基中的Endoporter中孵育,然后加入到细胞中。72小时后,将反义寡核苷酸和Endoporter洗出并用单独的新鲜培养基替换。6天后,从96孔板收集RNA用于RT-qPCR。分离RNA,生成cDNA,并使用Taqman探针对UNC13A隐蔽外显子进行多重RT-qPCR检测,并参考GAPDH定量。

[0430] 使用Taqman通过RT-qPCR检测转录本水平(例如,UNC13A隐蔽外显子和TDP43转录本)。具体地,使用Thermofisher®TaqMan Gene Expression Assay Hs03929097_g1进行RT-qPCR以检测GAPDH。使用定制序列检测UNC13a隐蔽外显子。UNC13a隐蔽外显子:

正向引物:ATTGTTCTGCACGTCGGT(SEQ ID NO:5203)

反向引物:GTCTGGGTATGTCTCTTCCAG(SEQ ID NO:5204)

探针序列:AGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA(SEQ ID NO:5203)

[0431] 在Applied Biosystems ®7500Real-time PCR系统上进行RT-qPCR。在50℃的温度下持续5分钟,进行一个循环的逆转录。在95℃的温度下持续20秒,进行一个循环的RT灭活/初始变性。在95℃的温度下持续1秒,然后在60℃温度下持续20秒,进行45个循环的扩增。

[0432] 将UNC13A-隐蔽(UNC13A-cryptic)(Ct)标准化为GAPDH(ΔCt)。为了可视化定量变化(例如,UNC13A-隐蔽减少%),将标准化的UNC13A-隐蔽信号进一步标准化为媒介物(仅用Endoporter治疗,ΔΔCt)。使用等式RQ=2-ΔΔCt计算转录本水平的相对量(RQ),并用于描述治疗条件与正常、健康水平的比较(1.0)。使用下式标准化UNC13A隐蔽(UNC13A cryptic)的RQ值:

((RQAON-RQendo)/(RQTDP43-RQendo))*100

[0433] 表8显示了具有间隔区的UNC13A AON的RT-qPCR结果和不含间隔区的UNC13A AON在人运动神经元中的性能。

[0434] 如表8所示,测试了UNC13A AON(例如,不含间隔区或具有一个或两个间隔区的UNC13A寡核苷酸)降低具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的能力。在一些情况下,具有间隔区的UNC13A AON降低了UNC13A隐蔽外显子水平。在一些情况下,不含间隔区的UNC13A AON降低了UNC13A隐蔽外显子水平。具体的AON序列根据其相应的SEQ ID NO进行标记。

[0435] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:273(GAGACATACCCAGACACAAACGGCC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至4.4%。50nM剂量的SEQ ID NO:273(GAGACATACCCAGACACAAACGGCC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至20.3%。

[0436] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:2831(GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至5.1%。50nM剂量的SEQ ID NO:2831(GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至26.0%。

[0437] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5156(GTTCTTTSCAGGAAASCCAGGCA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至6.6%。50nM剂量的SEQ ID NO:5156(GTTCTTTSCAGGAAASCCAGGCA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至41.2%。

[0438] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5140(GCAGCTGGSAGAGACATASCCAGAC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至8.3%。50nM剂量的SEQ ID NO:5140(GCAGCTGGSAGAGACATASCCAGAC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至31.0%。

[0439] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:303(GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至8.8%。50nM剂量的SEQ ID NO:303(GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至35.4%。

[0440] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5135(GCAGCTSGAAGAGACATASCCAGAC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至11.8%。50nM剂量的SEQ ID NO:5135(GCAGCTSGAAGAGACATASCCAGAC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至30.6%。

[0441] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:283(GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至13.8%。50nM剂量的SEQ ID NO:283(GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至66.0%。

[0442] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:2830(TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至15.2%。50nM剂量的SEQ ID NO:2830(TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至34.4%。

[0443] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:3585(ACATCCATCCATCCATCCATTCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至15.8%。50nM剂量的SEQ ID NO:3585(ACATCCATCCATCCATCCATTCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至45.4%。

[0444] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5155(TCTTTCCSGGAAACCSAGGCAGC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至18.2%。50nM剂量的SEQ ID NO:5155(TCTTTCCSGGAAACCSAGGCAGC,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至41.9%。

[0445] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5157(TTCTTTCSAGGAAACSCAGGCAG,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至20.1%。50nM剂量的SEQ ID NO:5157(TTCTTTCSAGGAAACSCAGGCAG,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至42.8%。

[0446] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:1059(ACACATCCATCCATCCATCCATTCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至23.1%。50nM剂量的SEQ ID NO:1059(ACACATCCATCCATCCATCCATTCA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至50.2%。

[0447] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:2829(TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至25%。50nM剂量的SEQ ID NO:2829(TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至40.6%。

[0448] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:269(CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至27.2%。50nM剂量的SEQ ID NO:269(CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至43.4%。

[0449] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:1142(CTCTTTTATCCATCCACACACCCAC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至34.4%。50nM剂量的SEQ ID NO:1142(CTCTTTTATCCATCCACACACCCAC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至64.3%。

[0450] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:3670(CTCTTTTATCCATCCACACACCC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至40.5%。50nM剂量的SEQ ID NO:3670(CTCTTTTATCCATCCACACACCC,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至82.2%。

[0451] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:301(TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至41.6%。50nM剂量的SEQ ID NO:301(TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至54.2%。

[0452] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5165(GAAAGTGSCATGGAGSGTGCAAG,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至42.0%。50nM剂量的SEQ ID NO:5165(GAAAGTGSCATGGAGSGTGCAAG,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至54.0%。

[0453] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5198(ATCTACSCTTTTATCCATSCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至44.5%。50nM剂量的SEQ ID NO:5198(ATCTACSCTTTTATCCATSCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至45.5%。

[0454] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:1147(ATCTACTCTTTTATCCATCCACACA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至46.4%。50nM剂量的SEQ ID NO:1147(ATCTACTCTTTTATCCATCCACACA,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至69.7%。

[0455] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:3587(ACACATCCATCCATCCATCCATT,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至47.8%。

[0456] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5202(CTACTCTSTTATCCASCCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至48.1%。50nM剂量的SEQ ID NO:5202(CTACTCTSTTATCCASCCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至76.5%。

[0457] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5199(ATCTACTCSTTTATCCATSCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至48.2%。50nM剂量的SEQ ID NO:5199(ATCTACTCSTTTATCCATSCACACA,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至62.8%。

[0458] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:5192(CTTTCAGSAATTCAASCACACAT,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至49.6%。50nM剂量的SEQ ID NO:5192(CTTTCAGSAATTCAASCACACAT,两个间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至70.9%。

[0459] 如表8所示,200nM剂量的SEQ ID NO:3774(AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至49.8%。50nM剂量的SEQ ID NO:3774(AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG,不含间隔区)将UNC13A隐蔽外显子水平降低至67.0%。

表8 在人来源的iPSC运动神经元中评价示例性UNC13A AON的性能

SEQ ID NO:	寡核苷酸序列* (其中 S 表示存在在间隔区) (5' → 3')	QPCR 效价		QPCR 效价	
		200 nM	200 nM	50 nM	50 nM
		标准化的 UNC13A 隐蔽外显子	SD 标准化的 UNC13A 隐蔽外显子	标准化的 UNC13A 隐蔽外显子	SD 标准化的 UNC13A 隐蔽外显子
273	GAGACATACCCAGACACAAACGGCC	4.38	4.41	20.3	14.4
2831	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	5.11	4.14	26	15.2
5156	GTTCTTTSCAGGAAASCCAGGCA	6.62	6.06	41.2	15.2
5140	GCAGCTGGSAGAGACATASCCAGAC	8.3	7.86	31	26.4
303	GTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	8.84	7.85	35.4	22.4
5135	GCAGCTSGAAGAGACATASCCAGAC	11.8	10.7	30.6	13
283	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	13.8	7.11	66	45.9
2830	TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG	15.2	7.39	34.4	25.1
3585	ACATCCATCCATCCATCCATTCA	15.8	8.84	45.4	14
5155	TCTTTCCSGGAAACCSAGGCAGC	18.2	9.18	41.9	24.2
5157	TTCTTTCSAGGAAACSCAGGCAG	20.1	9.33	42.8	27.7
1059	ACACATCCATCCATCCATCCATTCA	23.1	15.7	50.2	21.5
2829	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGC	25	11.7	40.6	22.9
269	CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT	27.2	20.6	43.4	28
1142	CTCTTTATCCATCCACACACCCAC	34.4	20.1	64.3	34.7
3670	CTCTTTATCCATCCACACACCC	40.5	15.2	82.2	45.5
301	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG	41.6	30.5	54.2	20.8

5165	GAAAGTGSCATGGAGSGTGCAAG	42	38.1	54	32.5
5198	ATCTACSCTTTTATCCATSCACACA	44.5	22.4	45.5	34.4
1147	ATCTACTCTTTTATCCATCCACACA	46.4	29.9	69.7	47.6
3587	ACACATCCATCCATCCATCCATT	47.8	24.9	122	41.9
5202	CTACTCTSTTATCCASCCACACA	48.1	35.4	76.5	37.9
5199	ATCTACTCSTTTATCCATSCACACA	48.2	21.5	62.8	44.3
5192	CTTTCAGSAATTCAASCACACAT	49.6	39.2	70.9	46.3
3774	AAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	49.8	39.3	67	59.7
3586	CACATCCATCCATCCATCCATTC	51.6	14.2	80.3	41.4
248	CAATCCTGAGTGGTTAGGGCTGGAA	54.2	18.8	59.6	16.2
263	CAGACACAAACGGCCCAATCCTGAG	54.4	19.2	73.2	43.7
3668	CTTTTATCCATCCACACACCCAC	55.4	30.5	59	34.2
3669	TCTTTTATCCATCCACACACCCA	55.7	29.2	61.1	45.6
5196	CTCTTTTSTCCATCCSCACACCC	55.9	29.8	83.8	50.9
2562	GGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGG	56.6	41	73.6	47.2
5141	TCCACCCAGSCACTCACACAASCATCCA	58	17.7	86.1	36.5
1124	CACCCACCCATCTCTAACTACCCCCAAA	58.2	42.7	91	34.4
2561	GGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGA	59.1	43.9	57.9	41.1
5195	TCTTTTASCCATCCASACACCCA	63.1	23.5	54.3	40.7
3652	CACCCACCCATCTAACTACCCCA	63.1	44.6	74.3	51.2
5166	AAAGTGTSATGGAGASTGCAAGG	63.7	39.2	55.5	53
5177	TGCAATASTTCAACCSCACATCC	64.1	25.7	75.7	42.9

5138	GGGCAGGCSGGAATGGTGSGTGGAA	64.2	32	73	39
34	GGGCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAA	64.6	42.2	91.2	48.4
5145	GGCAGGCSGGAATGGSGAGTGGA	64.6	49.5	92.8	65
5193	CTCTTTSATCCATCCACASACCCAC	65.1	34.1	53	32.2
3775	AAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGG	65.3	45.4	71.2	64.2
5186	CAGTAATSCAACCACSCATCCAT	65.5	23.7	92.7	24.1
5194	CTCTTTTASCCATCCACASACCCAC	65.6	37.8	67.8	29.5
3673	CTACTCTTTTATCCATCCACACA	67.1	32	50.5	34
1078	ACCTTTCAGTAATTCAACCACACAT	67.5	52.3	87.4	58
3776	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAG	68.3	52.7	52.7	38.7
5197	CTTTTATSCATCCACSCACCCAC	68.7	58.9	59.2	33.2
5189	ACCTTTCASTAATTCAACSACACAT	69.2	35.5	115	79.8
5153	ACACAAASGGCCCAASCCTGAGT	69.3	54.9	114	67.4
5162	CACCCACSCATCTAASTACCCCA	71.4	65.7	111	77.3
5185	AGTAATTSAACCACACASATCCATC	72	16	58	21.7
5164	AAGTGTCSTGGAGAGSGCAAGGG	72.1	51.9	70.7	59.6
2788	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGT	72.4	18.3	99.8	34.6
3386	TGCAATAGTTCAACCACACATCC	74	35.8	124	53.6
3604	CTTTCAGTAATTCAACCACACAT	74.1	39.5	65.7	57.3
260	ACACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	74.3	16.6	109	53.2
244	CCTGAGTGGTTAGGGCTGGAATAGA	75.2	42.7	92.4	35.7
3605	CCTTTCAGTAATTCAACCACACA	76.2	42.9	145	138

2787	CACAAACGGCCCAATCCTGAGTG	76.8	37.3	91.2	46.8
3651	ACCCACCCATCTAACTACCCCAA	77.1	52.6	87.2	59.1
5200	TCTACTCSTTTATCCSTCCACAC	78.2	43.6	88.6	71.7
5154	CACAAACSGCCCAATSCTGAGTG	78.2	45.6	86.8	45.4
5152	ACAAACGSCCCAATCSTGAGTGG	78.3	38.8	66.1	35
5136	TCCACCSGCCACTCACAASCATCCA	78.7	73.6	120	50.9
3650	CCCACCCATCTAACTACCCCAAA	78.9	50.3	71.8	60.4
5144	GGGCAGGSAGGAATGSTGAGTGG	82.7	67.3	142	100
5173	CTTGCASTAGTTCAACCASACATCC	86	34.4	140	132
5201	ATCTACTSTTTTATCSATCCACA	86.3	55.6	117	68.8
254	ACGGCCCAATCCTGAGTGGTTAGGG	86.9	44.1	108	78
3547	GATCCGCAACTTAATCCACCTAC	88.3	76.5	115	86.5
5137	GAAAGTSTCATGGAGAGTSCAAGGG	89.6	50.5	107	42.8
3675	ATCTACTCTTTTATCCATCCACA	91.1	60.9	89.8	70.4
2786	ACAAACGGCCCAATCCTGAGTGG	92.9	43.5	78.5	47.3
2560	GCAGGCAGGAATGGTGAGTGGAA	94	74.1	118	82.7
5191	ACCTTTCSGTAATTCSACCACAC	95.2	44.9	60.6	52.1
112	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	96	49.3	115	57
3545	TCCGCAACTTAATCCACCTACCC	96	82.6	111	77.3
1248	GAAAGTGTCATGGAGAGTGCAAGGG	96.3	58.9	118	77.8
5176	CTTGCAASAGTTCAASCACACAT	98.9	42.4	90.8	40.8
3388	CTTGCAATAGTTCAACCACACAT	99.5	39	95.7	46.1

5161	CCCACCCSTCTAACTSCCCCAAA	99.7	71.7	112	82.8
5184	CAGTAATTSAACCACACACASCCATCC	101	95.2	128	130
3387	TTGCAATAGTTCAACCACACATC	102	54.4	138	55.5
3606	ACCTTTCAGTAATTCAACCACAC	105	105	120	108
5187	GTAATTCSACCACACACSTCCATCC	106	60.1	116	48.6
200	GTAGTGAGAGTCAACCTGGAGGCCA	107	21.8	92.6	27.2
3674	TCTACTCTTTTATCCATCCACAC	107	71.4	83.2	56.9
1260	CACCATGGGAGAGAAAGTGTCATGG	108	103	67.4	60.1
127	AGGGAGGAGTTTTTCCAGGTAAAGGG	109	50.5	95.7	21.4
5143	GCAGGCASGAATGGTSAGTGGAA	109	74.8	150	98.2
5163	ACCCACCSATCTAACSACCCCAA	112	74.4	81.6	45.8
5178	ACACATSCATCCATCCATSCATTCA	114	36.7	135	39.5
5175	TTGCAATSGTTCAACSACACATC	115	54.7	98.6	51.2
5134	AGGGAGSAGTTTTTCCAGGSAAAGGG	116	30	110	29.8
5182	ACATCCASCCATCCASCCATTCA	116	50.6	111	38
5188	ACCTTTSAGTAATTCAACSACACAT	116	81.4	101	74.7
5142	GAAAGTGTSATGGAGAGTSCAAGGG	117	40.6	115	66.2
5139	AGGGAGGASTTTTTCCAGGSAAAGGG	118	30.4	111	22.7
195	GAGAGTCAACCTGGAGGCCAAGGTG	118	43.8	96.1	17.9
3379	GTTCAACCACACATCCTTCCATT	119	70.8	186	142
860	CTTGCAATAGTTCAACCACACATCC	120	57.3	140	70.5
927	GTCTGTCCACCAGCCACTCACAACC	120	104	154	122

3380	AGTTCAACCACACATCCTTCCAT	121	55	161	77.7
5169	AGTTCAACSACACATCCTSCCATTC	122	71.7	129	96.7
5181	ACACATCSATCCATCSATCCATT	123	40.6	108	40.9
3378	TTCAACCACACATCCTTCCATTC	124	9.97	143	48.5
5151	GAGGAGGSGACCCTGSATCTGGA	124	33.6	117	67.2
2639	GGTAAAGGGAATGGCATGGCGGG	125	50.2	110	68.5
5171	AGTTCAASCACACATSCTTCCAT	125	81.5	142	155
5180	CACATCCSTCCATCCSTCCATTC	128	67	89.1	32
5147	AGGTAAASGGAATGGSATGGCGG	128	77.5	149	85.4
5133	GGGCAGSCAGGAATGGTGSGTGGAA	129	72.2	105	58.4
5159	GATCCGCSACTTAATSCACCTAC	136	111	152	102
3598	GTAATTCAACCACACATCCATCC	137	54	107	52.1
5150	AGAGGAGSTGACCCTSAATCTGG	139	55.6	118	48.1
5170	GTTCAACSACACATCSTTCCATT	145	80.5	138	84.8
3600	CAGTAATTCAACCACACATCCAT	146	47.3	119	22.7
5160	ATCCGCASCTTAATCSACCTACC	147	63.2	132	76.5
2640	AGGTAAAGGGAATGGCATGGCGG	147	82.1	148	92.8
5158	TCCGCAASTTAATCCSCCTACCC	148	97	180	93.3
5149	AGGAGGTSACCCTGASTCTGGAC	149	47.3	101	58.2
5168	AGTTCASCCACACATCCTSCCATTC	149	79	132	60.8
5183	CAGTAASTCAACCACACACASCCATCC	149	84.3	116	53.3
852	AGTTCAACCACACATCCTTCCATTC	151	106	137	114

5148	GGTAAAGSGAATGGCSTGGCGGG	151	111	106	63.6
1072	CAGTAATTCAACCACACATCCATCC	155	85.5	133	58.7
5172	TTCAACCSCACATCCSTCCATTC	156	159	139	80.1
5174	CTTGCAATSGTTCAACCASACATCC	157	99.7	123	77
42	GAAGAGCTGGGCAGGCAGGAATGGT	158	99.8	160	79.5
1019	GATCCGCAACTTAATCCACCTACCC	161	73	154	72
5179	ACACATCCSTCCATCCATSCATTCA	163	45.7	163	44.5
203	TGAGTAGTGAGAGTCAACCTGGAGG	164	54.7	108	59.6
101	ATGGCATGGCGGGCAGTCTCAGAGG	168	99.2	166	76.5
3599	AGTAATTCAACCACACATCCATC	173	58.2	107	51.4
922	TCCACCAGCCACTCACAACCATCCA	173	134	84.3	45.9
2688	AGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	176	46.2	85.1	44.1
454	CACGAATCTACCCACCAACTCATCC	178	116	140	49.4
2689	GAGGAGGTGACCCTGAATCTGGA	182	60.1	108	36.8
5190	CCTTTCASTAATTCASCCACACA	182	192	114	61.7
66	TGTGGATGGTGTGGCCAGAAAGAGG	185	70.1	156	70.7
3546	ATCCGCAACTTAATCCACCTACC	186	58.2	149	63.5
5146	GTAAAGGSAATGGCASGGCGGGC	193	116	161	79.1
930	TTCGTCTGTCCACCAGCCACTCACA	193	125	119	81.2
937	TCCATTTTTCGTCTGTCCACCAGCC	196	122	113	51.4
2690	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGG	197	67.6	108	41.2
162	AGAGGAGGTGACCCTGAATCTGGAC	197	92.2	119	37.6

77	GGCCAGGAGAGTGTGGATGGTGTGG	200	74.8	162	83.3
2638	GTAAAGGGAATGGCATGGCGGGC	205	79.8	80	52
115	TCCAGGTAAAGGGAATGGCATGGCG	215	102	149	127
108	AAAGGGAATGGCATGGCGGGCAGTC	226	99.9	178	113
277	GGAAGAGACATACCCAGACACAAAC	0.02	0.00	11.43	6.56
282	CAGCTGGAAGAGACATACCCAGACA	0.03	0.02	16.20	7.83
276	GAAGAGACATACCCAGACACAAACG	0.94	1.59	0.61	1.01
306	AGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGC	1.47	2.28	19.61	9.44
307	AAGAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGG	3.01	2.16	21.95	5.43
305	GAGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	3.49	2.07	29.80	2.76
304	AGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAG	3.62	3.79	38.61	18.71
285	AGGCAGCTGGAAGAGACATACCCAG	4.63	5.37	32.99	2.70
274	AGAGACATACCCAGACACAAACGGC	5.98	6.18	12.51	6.77
279	CTGGAAGAGACATACCCAGACACAA	6.26	10.82	58.24	12.87
275	AAGAGACATACCCAGACACAAACGG	9.32	5.24	16.02	3.73
272	AGACATACCCAGACACAAACGGCCC	12.07	2.14	29.94	15.81
284	GGCAGCTGGAAGAGACATACCCAGA	12.92	4.64	50.87	17.93
286	CAGGCAGCTGGAAGAGACATACCCA	14.04	2.17	32.22	17.05
280	GCTGGAAGAGACATACCCAGACACA	15.74	19.34	36.35	14.55
281	AGCTGGAAGAGACATACCCAGACAC	18.82	10.27	20.31	17.71
283	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	18.87	22.30	55.59	34.27
271	GACATACCCAGACACAAACGGCCCA	19.96	11.08	28.25	4.42

273	GAGACATACCCAGACACAAACGGCC	21.01	9.29	26.91	8.72
1057	ACATCCATCCATCCATCCATTCATC	21.36	5.97	63.61	8.59
1058	CACATCCATCCATCCATCCATTCAT	23.52	1.80	108.40	54.14
287	CCAGGCAGCTGGAAGAGACATACCC	25.02	3.34	60.96	5.29
1055	ATCCATCCATCCATCCATTCATCCA	25.59	10.98	86.98	36.11
1059	ACACATCCATCCATCCATCCATTCA	27.76	4.11	72.26	37.32
302	TTCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCT	30.66	1.40	86.91	11.41
301	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTG	31.13	5.45	52.43	7.09
1056	CATCCATCCATCCATCCATTCATCC	35.45	4.51	75.99	10.37
1060	CACACATCCATCCATCCATCCATTC	38.25	19.28	96.63	22.67
270	ACATACCCAGACACAAACGGCCCAA	38.57	4.68	44.89	1.89
1062	ACCACACATCCATCCATCCATCCAT	39.40	7.68	71.32	18.18
1061	CCACACATCCATCCATCCATCCATT	39.80	8.88	77.72	2.82
1063	AACCACACATCCATCCATCCATCCA	41.07	10.10	97.41	24.31
300	CTTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGG	42.16	22.26	77.70	9.85
299	TTTCCAGGAAACCCAGGCAGCTGGA	51.84	9.47	72.21	10.14
269	CATACCCAGACACAAACGGCCCAAT	60.89	6.26	84.01	23.09

*除非另有说明，所示反义寡核苷酸的每个核苷是具有 2'-O-（2-甲氧基乙基）（2'-MOE）糖部分的修饰核苷，每个"C"被 5-甲基胞嘧啶（5-MeC）代替，并且所有核苷间键是硫代磷酸酯键。由 S 表示的间隔区不是核苷。S 表示如本文所公开的式(Iia')的间隔区。

实施例4:评价UNC13A反义寡核苷酸的方法

[0460] 在iPSC衍生的人运动神经元(hMN)中评价UNC13A反义寡核苷酸。将细胞以40,000

个细胞/孔的密度接种在96孔板中。用Endoporter(Gene Tools,美国俄勒冈州菲洛马斯)转染TDP43的反义寡核苷酸(AON)以降低全长UNC13a转录本的表达并增加UNC13A隐蔽外显子的表达。媒介物对照由单独用Endoporter治疗运动神经元组成。阳性对照包括仅用TDP43AON治疗的细胞(“AON TDP43”或“TDP43AON”)。

[0461] TDP43AON是gapmer寡核苷酸并且具有以下序列和化学结构:5’A*A*G*G*C*T*T*C*A*T*A*T*T*G*T*A*C*T*T*T 3’(SEQ ID NO:5167)其中*＝硫代磷酸酯,下划线＝DNA,其他＝2’MOE RNA;每个“C”是5-MeC。

[0462] 为了评价UNC13A AON降低UNC13A隐蔽外显子水平的能力,将UNC13A的反义寡核苷酸与TDP43AON在培养基中的Endoporter中孵育,然后加入到细胞中。72小时后,将反义寡核苷酸和Endoporter洗出并用单独的新鲜培养基替换。6天后,从96孔板收集RNA用于RT-qPCR。分离RNA,生成cDNA,并使用Taqman探针对UNC13A隐蔽外显子进行多重RT-qPCR检测,并参考GAPDH定量。

[0463] 使用Taqman通过RT-qPCR检测转录本水平(例如,UNC13A隐蔽外显子和TDP43转录本)。具体地,使用Thermofisher®TaqMan Gene Expression Assay Hs03929097_g1进行RT-qPCR以检测GAPDH。使用定制序列检测UNC13a隐蔽外显子。UNC13a隐蔽外显子:

正向引物:ATTGTTCTGCACGTCGGT(SEQ ID NO:5203)

反向引物:GTCTGGGTATGTCTCTTCCAG(SEQ ID NO:5204)

探针序列:AGTTCTTTCCAGGAAACCCAGGCA(SEQ ID NO:5203)

[0464] 为了评价UNC13A AON降低UNC13A正确剪接(CS)外显子连接点20/21水平的能力,将UNC13A的反义寡核苷酸与TDP43AON在培养基中的Endoporter中孵育,然后加入到细胞中。72小时后,将反义寡核苷酸和Endoporter洗出并用单独的新鲜培养基替换。6天后,从96孔板收集RNA用于RT-qPCR。分离RNA,生成cDNA,并使用Taqman探针对UNC13A CS外显子20/21连接点进行多重RT-qPCR检测,并参考GAPDH定量。

[0465] 使用Taqman通过RT-qPCR检测转录本水平(例如,UNC13A外显子连接点20/21和TDP43转录本)。具体地,使用Thermofisher®TaqMan Gene Expression Assay Hs03929097_g1进行RT-qPCR以检测GAPDH。使用TaqMan Gene Expression Assay Hs01000584_m1检测UNC13a外显子20/21连接点。

[0466] 在Applied Biosystems ®7500Real-time PCR系统上进行RT-qPCR。在50℃的温度下持续5分钟,进行一个循环的逆转录。在95℃的温度下持续20秒,进行一个循环的RT灭活/初始变性。在95℃的温度下持续1秒,然后在60℃温度下持续20秒,进行45个循环的扩增。

[0467] 将UNC13A-隐蔽(Ct)标准化为GAPDH(ΔCt)。为了可视化定量变化(例如,UNC13A-隐蔽减少%),将归一化的UNC13A-隐蔽信号进一步标准化至媒介物(单独用Endoporter治疗,ΔΔCt)。

[0468] 使用等式RQ＝2-ΔΔCt计算转录本水平的相对量(RQ),并用于描述治疗条件与正常、健康水平的比较(1.0)。使用下式标准化UNC13A隐蔽化合物的RQ值:

((RQAON-RQendo)/(RQTDP43-RQendo))*100

[0469] 表9显示了具有间隔区的UNC13A AON的RT-qPCR结果和不含间隔区的UNC13A AON在人运动神经元中的性能。

[0470] 如表9所示,测试了UNC13A AON(例如,不含间隔区或具有一个或两个间隔区的

UNC13A寡核苷酸)降低具有隐蔽外显子的UNC13A转录本的能力。在一些情况下,具有间隔区的UNC13A AON降低了UNC13A隐蔽外显子水平。在一些情况下,不含间隔区的UNC13A AON降低了UNC13A隐蔽外显子水平。具体的AON序列根据其相应的SEQ ID NO进行标记。

[0471] 正确剪接的UNC13A(Ct)也标准化为GAPDH(ΔCt)。为了可视化定量变化(例如,正确剪接的UNC13A的增加%),将标准化的正确剪接的UNC13A信号进一步标准化为媒介物(单独用Endoporter治疗,ΔΔCt)。

[0472] 使用等式RQ=2^(-ΔΔCt)计算转录本水平的相对量(RQ),并用于描述治疗条件与正常、健康水平的比较(1.0)。使用下式标准化UNC13A正确剪接的RQ值:

((RQAON-RQTDP43)/(RQendo-RQTDP43))*

表9 在人来源的iPSC 运动神经元中评价示例性UNC13A AON的性能

		UNC13A 正确剪接标准化的 RQ				UNC13A 隐蔽剪接标准化的 RQ			
		200nM		50nM		200nM		50nM	
SEQ ID NO:	寡核苷酸序列* (5'-3')	平均值	STD	平均值	STD	平均值	STD	平均值	STD
276	GAAGAGACATACCCAGACACAAACG	41.82	18.84	-27.56	73.08	3.16	1.03	18.87	12.38
2804	GAAGAGACATACCCAGACACAAA	8.93	7.32	-7.13	7.81	15.78	7.41	42.31	31.11
2803	AAGAGACATACCCAGACACAAAC	-28.45	72.83	-12.62	12.84	12.06	9.62	57.27	34.91
2802	AGAGACATACCCAGACACAAACG	13.03	15.19	9.48	11.41	14.78	6.73	61.44	25.31
2801	GAGACATACCCAGACACAAACGG	28.03	29.67	7.69	35.17	18.53	10.52	33.25	20.41
2800	AGACATACCCAGACACAAACGGC	24.21	33.06	23.24	30.63	29.74	33.32	50.76	39.49
2799	GACATACCCAGACACAAACGGCC	2.47	35.11	2.89	26.90	26.29	25.67	46.66	32.30
285	AGGCAGCTGGAAGAGACATACCCAG	47.19	57.85	15.52	30.16	2.07	3.30	13.45	13.12
2813	AGGCAGCTGGAAGAGACATACCC	37.80	13.72	1.51	9.33	2.32	3.41	22.31	14.52
2812	GGCAGCTGGAAGAGACATACCCA	39.83	25.50	19.20	21.74	7.01	5.73	25.13	28.23
2811	GCAGCTGGAAGAGACATACCCAG	43.08	23.32	4.48	7.87	5.11	6.91	32.17	23.76
2810	CAGCTGGAAGAGACATACCCAGA	-21.34	16.48	-144.30	28.86	7.59	6.87	21.20	16.74
2809	AGCTGGAAGAGACATACCCAGAC	-173.70	29.80	-75.73	8.72	4.20	7.60	165.20	96.22
5253	GCAGCTGSAAGAGACSTACCCAG	64.46	20.00	-11.79	20.17	2.34	1.77	17.01	6.37
5251	CAGCTGGSAGAGACASACCCAGA	87.01	8.70	28.35	13.19	5.72	3.41	22.86	10.45
5266	GTTCTTSCCAGGAAACCCSGGCAGC	-8.32	3.39	-10.50	8.45	29.49	14.34	51.95	12.36
5265	GTTCTTTCSAGGAAACCCSGGCAGC	6.29	22.23	6.58	3.64	8.10	5.42	28.87	7.85
5269	AGAGTTCSTTCCAGGSAACCCAG	61.99	21.81	-24.46	58.00	12.82	3.63	55.05	18.66
5267	GAGTTCTSTCCAGGASACCCAGG	38.47	29.10	-14.70	48.97	17.11	11.96	80.63	36.03
5268	AGTTCTTSCCAGGAASCCCAGGC	9.90	25.86	-7.31	26.47	26.33	9.18	92.35	32.38
5271	AGAGTTSTTTCCAGGAAASCCAGGC	44.52	32.61	57.40	14.54	9.44	4.83	22.79	6.99
5270	AGAGTTCTSTCCAGGAAASCCAGGC	44.46	8.40	48.23	22.36	3.31	2.76	14.18	10.22
5243	GAGACATSCCCAGACSCAAACGG	84.50	29.82	47.59	10.35	31.74	13.09	79.61	17.53
5241	AGACATASCCAGACASAAACGGC	90.95	10.72	22.20	40.15	30.38	13.73	82.12	14.48
5242	GACATACSCAGACACSAACGGCC	73.81	41.97	36.23	29.75	22.06	9.58	70.87	9.37

5245	GAGACASACCCAGACACASACGGCC	80.40	19.16	23.13	19.81	31.05	15.73	88.26	28.47
5244	GAGACATASCCAGACACASACGGCC	126.50	25.60	88.00	43.30	17.80	10.45	77.70	25.98
5257	AGGCAGSTGGAAGAGACASACCCAG	96.50	22.07	44.00	25.12	10.88	6.15	35.95	13.92
5256	AGGCAGCTSGAAGAGACASACCCAG	103.10	12.62	66.18	15.49	4.04	2.80	27.84	10.66
5255	AGGCAGCSGGAAGAGSCATACCC	92.83	15.27	58.96	6.90	12.26	4.78	31.13	9.49
5254	GGCAGCTSGAAGAGASATACCCA	82.43	18.79	58.45	12.96	8.83	8.20	37.74	10.12
5252	AGCTGGASGAGACATSCCCAGAC	87.57	8.14	9.59	32.49	7.43	3.22	28.79	15.38
5250	GAAGAGSCATACCCAGACSCAAACG	102.70	14.83	54.28	31.30	29.53	14.04	75.86	28.78
5249	GAAGAGACSTACCCAGACSCAAACG	99.18	24.63	46.29	25.42	22.36	7.32	75.43	35.92
5248	GAAGAGASATACCCCASACACAAA	49.24	20.69	21.53	23.44	89.72	39.56	135.70	43.02
5246	AAGAGACSTACCCAGSCACAAAC	28.09	21.14	22.72	15.94	52.17	11.17	112.70	38.44
5247	AGAGACASACCCAGASACAAACG	78.70	27.23	29.31	21.53	29.70	17.53	85.44	19.01
5292	GTT[LNA-C]TTTSCAGGAAASCCA[LNA-G]GCA	25.91	16.04	21.89	19.68	4.99	12.69	17.06	44.28
5291	GTT[LNA-C]TTTSCAG[LNA-G]AAASCCA[LNA-G]GCA	19.94	10.97	10.81	5.00	20.25	27.06	28.08	34.90
5290	GTTCTT[LNA-T]SCAGGAA[LNA-A]SCCAGGCA	8.93	9.25	6.86	7.65	-1.28	1.43	7.60	13.16
5289	GTTCTT[LNA-T]SCAGGAAAS[LNA-C]CAGGCA	0.18	4.96	12.23	11.77	-1.20	1.39	29.03	35.58
5288	GTTCTTTS[LNA-C]AGGAAAS[LNA-C]CAGGCA	14.39	10.91	10.40	7.95	6.29	12.97	21.83	31.86
5287	GCA[LNA-G]CTGGSAGAGACATASCC[LNA-A]GAC	-10.22	30.13	29.91	20.97	11.14	21.19	6.45	7.80
5286	GCA[LNA-G]CTGGSAGA[LNA-G]ACATASCC[LNA-A]GAC	10.40	16.54	5.17	18.78	12.36	10.45	32.23	21.90
5285	GCAGCTG[LNA-G]SAGAGACAT[LNA-A]SCCAGAC	0.57	12.49	-14.07	16.60	7.76	8.69	16.24	14.15
5284	GCAGCTG[LNA-G]SAGAGACATAS[LNA-C]CAGAC	-6.16	17.10	7.57	18.74	14.62	9.19	46.32	24.49
5283	GCAGCTGGS[LNA-A]GAGACATAS[LNA-C]CAGAC	18.14	16.98	9.28	26.20	8.90	6.17	40.24	12.47
5292	GTT[LNA-C]TTTSCAGGAAASCCA[LNA-G]GCA	4.16	16.50	4.89	11.13	15.39	21.60	19.66	21.58
5291	GTT[LNA-C]TTTSCAG[LNA-G]AAASCCA[LNA-G]GCA	-0.74	10.05	1.42	8.15	11.70	16.06	52.88	33.79
5290	GTTCTT[LNA-T]SCAGGAA[LNA-A]SCCAGGCA	-3.14	10.20	0.93	12.63	11.03	12.72	21.48	26.72
5289	GTTCTT[LNA-T]SCAGGAAAS[LNA-C]CAGGCA	0.43	5.96	0.99	9.62	6.88	15.65	39.99	36.29
5288	GTTCTTTS[LNA-C]AGGAAAS[LNA-C]CAGGCA	-6.06	6.61	-11.46	10.35	6.58	11.97	20.12	30.75
5241	AGACATASCCAGACASAAACGGC	37.10	22.45	53.64	15.42	43.13	22.30	79.66	21.62
5242	GACATACSCAGACACSAACGGCC	50.01	21.60	21.58	15.74	67.02	35.41	83.55	61.27
5243	GAGACATSCCCAGACSCAAACGG	49.95	11.51	29.51	6.61	40.47	25.79	143.30	44.64

5237	AGACATA(S1)CCAGACA(S1)AAACGGC	41.00	21.58	27.91	8.85	51.69	49.87	103.79	37.66
5236	GACATAC(S1)CAGACAC(S1)AACGGCC	46.48	5.54	20.34	11.08	9.03	14.52	72.91	57.87
5235	GAGACAT(S1)CCCAGAC(S1)CAAACGG	45.33	8.89	33.99	13.59	23.89	18.73	133.34	42.50
5157	TTCTTTCSAGGAAACSCAGGCAG	11.16	8.04	9.91	7.60	5.90	10.52	94.03	74.88
5156	GTTCTTTSCAGGAAASCCAGGCA	5.10	4.93	-8.11	6.11	12.92	15.28	25.15	25.51
5155	TCTTTCCSGGAAACCSAGGCAGC	10.06	10.19	3.12	11.72	6.96	9.36	26.97	9.87
5261	TTCTTTC(S1)AGGAAAC(S1)CAGGCAG	11.38	11.69	7.69	15.12	11.99	14.32	54.16	41.27
5260	GTTCTTT(S1)CAGGAAA(S1)CCAGGCA	1.44	7.33	-4.17	4.75	9.79	9.57	27.69	15.98
5259	TCTTTCC(S1)GGAAACC(S1)AGGCAGC	7.18	11.81	-11.24	5.27	18.13	13.56	55.71	28.06
5182	ACATCCASCCATCCASCCATTCA	-37.97	26.85	-4.07	52.32	129.74	41.79	122.30	48.42
5181	ACACATCSATCCATCSATCCATT	5.77	35.61	-11.91	27.75	96.81	38.14	111.73	35.15
5180	CACATCCSTCCATCCSTCCATTC	-14.00	37.66	1.96	30.50	159.36	43.66	164.55	47.07
5274	ACATCCA(S1)CCATCCA(S1)CCATTCA	-16.66	14.80	-5.26	26.53	165.82	42.96	151.38	29.35
5273	ACACATC(S1)ATCCATC(S1)ATCCATT	-7.44	24.85	-21.89	16.44	162.48	39.49	116.38	15.71
5272	CACATCC(S1)TCCATCC(S1)TCCATTC	-9.65	36.42	-0.61	27.96	145.25	19.25	132.10	35.74
5209	TCTTTCCAGGAAACCCAGGCA	18.29	17.99	9.91	14.01	16.42	18.29	16.34	9.91
5220	CAGGAAACCCAGGCA	2.74	3.88	2.44	1.85	16.24	2.74	14.66	2.44
5221	TCTTTCCAGGAAACC	12.94	2.00	7.34	7.10	12.75	12.94	12.29	7.34
5218	CCAGGAAACCCAGGCA	0.00	0.00	0.74	1.05	13.49	0.00	16.04	0.74
5219	TCTTTCCAGGAAACCC	17.89	25.30	17.60	2.62	18.82	17.89	15.79	17.60
5216	TCCAGGAAACCCAGGCA	0.00	0.00	1.54	2.17	14.54	0.00	15.41	1.54
5217	TCTTTCCAGGAAACCCA	6.80	9.61	2.79	1.25	12.77	6.80	15.04	2.79
5214	TTCCAGGAAACCCAGGCA	0.70	0.98	0.00	0.00	16.31	0.70	11.42	0.00
5215	TCTTTCCAGGAAACCCAG	19.21	8.43	49.84	70.94	16.89	19.21	19.14	49.84
5212	TTTCCAGGAAACCCAGGCA	0.55	0.78	3.96	5.60	13.97	0.55	12.15	3.96
5213	TCTTTCCAGGAAACCCAGG	11.47	8.56	2.24	3.17	16.52	11.47	15.47	2.24
5210	CTTTCCAGGAAACCCAGGCA	6.60	0.75	1.59	2.25	18.60	6.60	12.55	1.59
5211	TCTTTCCAGGAAACCCAGGC	15.08	15.12	11.29	4.48	15.92	15.08	12.81	11.29

*除非另有说明，所示反义寡核苷酸的每个核苷是具有 2'-O-（2-甲氧基乙基）（2'-MOE）糖部分的修饰核苷，每个“C”被 5-甲基胞嘧啶（5-MeC）代替，并且所有核苷间键是硫代磷酸酯键。由 S、S1 或 S#中的任一项表示的间隔区不是核苷。S 表示如本文所公开的式(IIa')的间隔区。S1 表示式(IIIa')的间隔区；S#表示式(IIb')的间隔区。[LNA-X]是指具有相应碱基 X 的锁核酸（例如，LNA-A 是指具有腺嘌呤核碱基的锁核酸，LNA-G 是指具有鸟嘌呤核碱基的锁核酸，LNA-T 是指具有胸腺嘧啶核碱基的锁核酸，LNA-C 是指具有胞嘧啶核碱基的锁核酸）。

通过引用并入

[0473] 本文引用的每篇专利文献和科学文章的全部公开内容出于所有目的通过引用并

入本文。

等同物

[0474] 本公开可以在不脱离其基本特征的情况下以其他具体形式来实施。因此,前述实施方案应被认为是说明性的而不是对本文所述公开内容的限制。本公开的范围由所附权利要求而不是由前面的描述来指示,并且落入权利要求的等同物的含义和范围内的所有都旨在包含在其中。

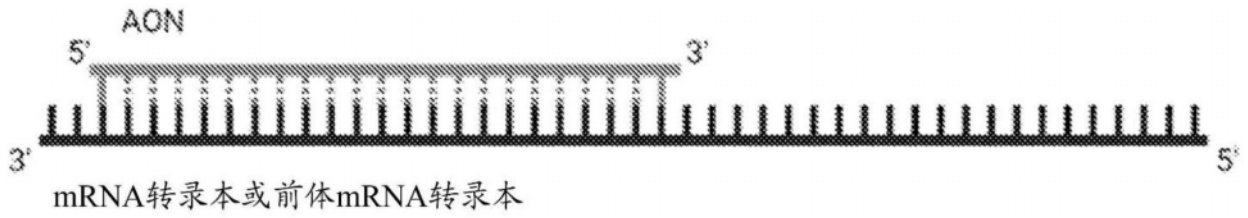


图1