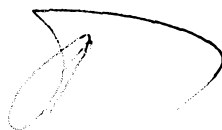


Diagnosztikumok és terápiás hatóanyagok idült
obstruktív légúti megbetegedés kezelésére

K I V O N A T

A találmány tárgya eljárás idült obstruktív légúti megbetegedésre való hajlam vagy idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulása gyorsaságának vagy végkifejletének meghatározására. A találmány tárgyát képezik a találmány szerinti eljárás végrehajtására alkalmas reagenskészletek is.

A találmány szerinti reagenskészletek és vizsgálati eljárások segítségével nyert információ elősegíti a vizsgált személy megbetegedési esélyének előrejelzését.



László K.

Pozsony
Képviselő:

Danubia

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

B u d a p e s t

**Diagnosztikumok és terápiás hatóanyagok idült
obstruktív légúti megbetegedés kezelésére**

A találmány tárgya eljárás idült obstruktív légúti megbetegedésre való hajlam vagy idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulása gyorsaságának vagy végkifejletének meghatározására. A találmány tárgyát képezik a találmány szerinti eljárás végrehajására alkalmas reagenskészletek is.

A találmány szerinti reagenskészletek és vizsgálati eljárások segítségével nyert információ elősegíti a vizsgált személy megbetegedési esélyének előrejelzését.

Az asztma idült tüdőmegbetegedés, amelyet a légutak gyulladása és túlérzékenysége következtében kialakuló reverzibilis légúteltelzáródásból eredő köhögés, mellkasi szorítás, fuldoklás és ziháló légzés jellemez. Szenzitizálódott személyekben allergének belélegzése a légutak hámjának

gyulladását és az asztmás tünetek fellángolását okozhatja. Asztma egyéb gyulladásos eredetű elváltozások, pl. fertőző légzőszervi megbetegedések következtében is kialakulhat. A bizonyos táplálékokkal szemben túlérzékeny személyekben azok elfogyasztása után súlyos, akár életveszélyes allergiás reakció alakulhat ki. Az asztmát korábban "egyszerű" túlérzékenységi reakcióként fogták fel, ma már azonban ismert, hogy számos feltételezett okkal és hajlamosító tényezővel jellemezhető összetett kóroktanú megbetegedés, amelynél az elváltozások középpontjában a légutak gyulladása áll. A légzőszerveket kutatók az arteriosclerosishoz hasonlítják, abban a tekintetben, hogy mindkét kórkép sokféle tényező egymásra hatása következtében alakul ki. A kialakításáért felelős tényezők nagy részével - így az asztmás folyamat során végbemenő kémiai reakciókkal, a sejtek közötti kommunikációval (az egyik sejttípusról a másikkra történő információátadással) és a légzőhám reaktív vagy egyéb szerepével - kapcsolatban intenzív kutatás folyik. Az allergiás reakciók az asztmás tünetek megjelenésének gyakoriságát és azok súlyosságát egyaránt befolyásolják. Az allergia (más néven azonnali típusú túlérzékenységi reakció) megnevezés egy általában ártalmatlan, normális körülmények között jól tolerálható anyaggal szembeni rendellenes érzékenységet jelöl. Az allergiás reakció kialakulása - az egy adott anyaggal szembeni idioszinkráziás reakcióval ellentétben - nem dóziszfüggő. Bár minden immunválasz idegen anyaggal történő találkozás eredményeként alakul ki, az allergiás reakciók különböznek az immunizálás vagy természe-



tes fertőzés következtében létrejövő, védelmet vagy fokozott ellenállóképességet nyújtó "immunitástól". A légutak felnőttekre jellemző nagyságának elérése után az asztmás gyermekek mindössze egynegyede "növi ki" a megbetegedést, a többiek egész életükben elkíséri a kórkép. Az Amerikai Tüdőgyógyász Szövetség közleménye szerint a megbetegedés a nők 85, a férfiak 72%-ában perzisztál [Journal of Allergy and Clinical Immunology 96, 11 (1996)].

1993-ban csupán az Amerikai Egyesült Államokban 4964 ember halálát okozta az asztma. Az asztma miatti gyermekhalálozás előfordulási gyakorisága 1980 és 1993 között megduplázódott. A 15 és 24 év közötti korcsoportban az ilyen oktanú elhalálozások száma egymillió lakosra vonatkoztatva 1980 és 1993 között 2,5-ről 5,2-re emelkedett. A 25 év alatti korosztályból 1993-ban 342-en haltak meg, és körülbelül 198000-en kerültek kórházba asztma miatt.

Az asztma miatt elhaltak 21%-a afrikai-amerikai. Az afrikai-amerikai gyermekek asztma miatti elhalálozásának esélye négyszerese a kaukázusi gyermekekének. Az elhalálozás szempontjából leginkább a 15 és 24 éves kor közötti afrikai-amerikai fiatalok a veszélyeztetettek.

Az asztmával kapcsolatos egyik legfontosabb rizikófaktor a betegség családon belüli korábbi előfordulása tűnik. A betegség előfordulásának igazolása ugyanakkor nem mindig egyszerű. Az asztma más kórképekkel, például fejlődési rendellenességekkel, fertőző megbetegedésekkel és cystas fibrosissal együtt is fennállhat. Nem tipikus kórtörténet, vagy a megfelelő gyógykezelés hatástalansága ese-

tén egyéb indikációkat is figyelembe vesznek. A megbetegedés kezelésében kevésbé járatos orvosok ezeket a tüneteket asztma helyett tévesen fertőző betegség jeleinek vélik, és aszerint is kezelik.

A gyermekkori asztma megállapítása nagymértékben azon múlik, mennyire képesek a szülők megfigyelni a klinikai tüneteket. A helyes kórjelzéshez asztma- és allergológus specialistára van szükség, aki tisztában van a gyermekkori asztma sajátosságaival. Az asztma egyes finom jelei (pl. a mellkasi szorítás) gyakran elkerülik a figyelmet, különösen a kisgyermekekét. Gyermekeknél előfordulhat, hogy az asztma egyetlen észrevehető jele a visszatérő vagy folyamatos köhögés. A bronchustágító terápia kedvező hatása ugyanakkor segít az asztma diagnózisának felállításában.

Az asztmára való általános hajlam korai megállapítására rendkívül jelentős igény mutatkozik. Mivel az idült obstruktív légúti megbetegedés gyógykezelés nélkül progresszív jellegű, az érintett személyek korai azonosításával a megfelelő gyógykezelés a lehető legkorábban megkezdhető lenne, ami növelné a kedvező kórlefordulás esélyét.

A találmány tárgyát egyrészt olyan vizsgálati eljárások képezik, amelyek alkalmasak egy páciens idült obstruktív légúti megbetegedésre való hajlamának, vagy a páciensben az idült obstruktív légúti megbetegedés lefolyása gyorsaságának, illetve végső kimenetelének meghatározására. A találmány egyik megvalósítási módjában alkalmazott eljárás egyik lépéseként egy páciensből nyert nukleinsav-minta

genotipizálásával a gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének meghatározására kerül sor.

A gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus egy allélje, például, a következő módokon határozható meg: a páciensben egy IL-1-haplotípus egyik alléljével hibridizálódni képes próbával vagy próbákkal és a nukleinsav-mintával hibridizálási reakciót hajtunk végre; egy IL-1-haplotípus legalább egy alléljének legalább egy részét szekvenáljuk; meghatározzuk egy IL-1-haplotípus egy alléljének vagy annak egy részének elektroforetikus mobilitását. A találmány egy másik előnyös megvalósítási módjában egy IL-1-haplotípus egy részét a detekciós lépés előtt amplifikációnak vetjük alá. Amplifikációs lépésként előnyösen a polimeráz-láncreakciót (PCR), a ligáz-láncreakciót (LCR), a „szálleszorításos” amplifikációt ("Strand Displacement Amplification", SDA), a klónozást vagy ezek változatait (pl. az RT-PCR-t és az allélspecifikus amplifikációt) alkalmazhatjuk. A találmány egy különösen előnyös megvalósítási módjában a mintát olyan láncindítókkal hibridizáltatjuk, amelyek egy IL-1-haplotípus egyik alléljének szensz vagy antiszensz szekvenciájával 5'- vagy 3'-irányban hibridizálnak, majd PCR-amplifikációt végzünk.

A találmány tárgyát képezik továbbá a találmány szerinti vizsgálati eljárások végrehajtására alkalmas reagenskészletek is. A találmány szerinti reagenskészlet DNS-minta gyűjtésére és a páciens egy IL-1-haplotípusa legalább egy alléljének meghatározására szolgáló eszközöket tartalmaz-

hat. A reagenskészlet kontroll mintákat vagy standardokat is tartalmazhat.

A találmány szerinti reagenskészletek és vizsgálati eljárások segítségével nyert információ (az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulását elősegítő egyéb genetikai defektusokkal és környezeti hajlamosító tényezőkkel kapcsolatos ismeretek mellett) elősegíti a páciens megbetegedési esélyének előrejelzését. Az így nyert információ önmagában vagy a páciens más, idült légzőszervi megbetegedésre hajlamosító genetikai defektusával kapcsolatos adatokkal (az idült obstruktív légúti megbetegedés genetikai profiljának ismerete) együtt az egyén genetikai profiljához igazított gyógykezelést tesz lehetővé. Ez az információ lehetővé teszi például az orvos számára 1) az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulásához vezető lépések sorozatának molekuláris alapjai elleni hatóanyag jobb kiválasztását, és 2) az adott betegben egy bizonyos hatóanyag megfelelő dózisének pontosabb meghatározását. A legkifejezettebb klinikai javulás reményével kezelhető betegcsoport kiválasztásával lehetővé válik 1) a kedvezőtlen piaci helyzetű hatóanyagok pozíciójának javítása, 2) a betegcsoport-specifikus hatékonysági vagy biztonsági korlátok miatt félbehagyott fejlesztésű potenciális hatóanyagok további vizsgálata, 3) a gyorsabb és olcsóbb hatóanyagfejlesztés, valamint a potenciális hatóanyagok felhasználási lehetőségeinek optimálisabb meghatározása.

A találmány további előnyei és jellemzői az alábbi részletes leírás és a szabadalmi igénypontok alapján lesznek érthetők.

Az alábbiakban az ábrák rövid leírását közöljük.

Az 1. ábra a humán IL-1A-gén DNS-szekvenciáját mutatja be (GenBank deponálási szám X03833).

A 2. ábra a humán IL-1B-gén DNS-szekvenciáját mutatja be (GenBank deponálási szám X04500).

A 3. ábra a humán IL1-RN-gén DNS-szekvenciáját mutatja be (GenBank deponálási szám X64532).

A következőkben a találmány részletes leírását ismertetjük.

A találmány szerinti megoldás jobb érthetősége érdekében megadjuk a leírásban, a példákban és a szabadalmi igénypontokban alkalmazott egyes meghatározások és kifejezések jelentését.

Az "allél" kifejezés alatt egy gén adott markernél jellemző alternatív formáit értjük. A két azonos alléllal bíró beteget homozigótának, a két különböző alléllal bíró beteget heterozigótának nevezzük.

Az "idült obstruktív tüdőmegbetegedés" vagy az "idült obstruktív légúti megbetegedés" (COAD) kifejezések alatt olyan kórképeket értünk, amelyek közös jellemzője a tüdőbeli légáramlás korlátozódása vagy megszűnése. Az idült obstruktív légúti megbetegedés fogalomkörébe tartozik az asztma, az emphysema, az idült bronchitis és az idült bronchiolitis. A kórképekben a légutak elzáródásának helyszíne a felső légutaktól a végső bronchiolusokig terjedhet. A

legtöbb légúti megbetegedés pontos oka nem tisztázott. Ebben a kérdésben a légúti megbetegedések definíciói sem segítik a tisztánlátást. Az idült bronchitis megállapítása a klinikai tünetek, az idült köhögés és köpetképződés alapján történik. Az emphysema meghatározása ezzel szemben anatómiai, az alveolusok falának átszakadása és üregük megnagyobbodása alapján történik. Az idült obstruktív légúti megbetegedések közös jellemzője a légutak átmérőjének szűkülete és a kóros folyamatot kísérő gyulladás.

A "genotipizálás" alatt egy egyed genomi DNS-ének (vagy az annak megfelelő nukleinsavnak) megbetegedést okozó vagy arra hajlamosító mutáció vagy polimorfizmusai kimutatására irányuló vizsgálatát jelenti, amely történhet közvetlenül, vagy a megbetegedést okozó vagy arra hajlamosító génnel kapcsoltsági egyensúlyhiányban lévő mutáció vagy polimorfizmus (marker) detektálása útján.

A "haplotípus" kifejezés olyan alléleket jelöl, amelyek egy csoportként öröklődnek (kapcsoltsági egyensúlyhiányban vannak). Jelen leírásban haplotípus alatt a statisztikailag szignifikáns ($p_{\text{corr}} \leq 0,05$) szinten jelentkező haplotípusokat értjük. A leírásban az "egy IL-1-haplotípus" kifejezés az IL-1 lokuszban található, az IL-1A-, IL-1B- és IL-1RN-gének alléljeit és az azokkal egyensúlyhiányban lévő markereket tartalmazó haplotípusra utal. A "gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus" kifejezés a gyulladást elősegítő anyagok fokozott kibocsátásával vagy aktivitásával (pl. a funkcionális IL-1 α és/vagy IL-1 β serkentésével és/vagy a

funkcionális IL-1-receptor-antagonista gátlásával) jellemzett haplotípust jelöli.

A "kapcsoltsági egyensúlyhiány" kifejezés két allél olyan gyakoriságú együttes öröklődésére utal, amely magasabb annál, mint ami a két allél egy adott kontroll populációban külön-külön számított előfordulási gyakoriságából várható lenne. Az egymástól függetlenül öröklődő allélok várható előfordulási gyakorisága az első és a második allél gyakoriságának szorzata. Az együttesen a várt gyakorisággal előforduló allélok "kapcsoltsági egyensúlyban" vannak.

Kapcsoltsági egyensúlyhiányban lévő polimorf markerek pl. a következők: az IL-1B 2. (-511) allél, az IL-1A 4. (222/223) allél, az IL-1A 1. (gz5/gz6) allél, az IL-1A 1. (-889) allél, az IL-1B 2. (+6912) allél, az IL-1B 1. (+3954) allél, az IL-1B/IL-1RN (gaat.pp33330) és (Y31) génnek közötti régió, az IL-1RN 2. (+2018) allél, az IL-1RN 2. (VNTR) allél és az IL-1RN 2. (VNTR) alléllal kapcsoltsági egyensúlyhiányban lévő három polimorfizmus [Clay és mtsai.: Hum. Genet. 97, 723 (1996)].

A "polimorfizmus" kifejezés egy gén vagy egy része (pl. allélvariáns) egynél több formájának együttes meglétére utal. Egy gén azon szakaszát, amelynek legalább két különböző formája (két különböző nukleinsav-szekvenciája) létezik, a gén polimorf régiójának nevezzük. A polimorf régió a különböző allélekben eltérő egyetlen nukleotid is lehet, de több nukleotid hosszúságra is kiterjedhet.

Prediktív gyógyászat

Prognosztikus vizsgálati eljárások és reagenskészletek

A következő példákban részletesen ismertetett eredmények alapján az IL-1B 2. (+3954) allél és az IL-1B 2. (-511) allél szignifikáns kapcsolatot mutat az asztma jelenlétével. A találmány szerinti megoldás értelmében feltárt eljárások és reagenskészletek segítségével meghatározható, hogy egy páciens idült obstruktív légúti megbetegedés által érintett-e, vagy abban valószínűleg megbetegszik-e, és/vagy előrejelezhető egy páciens ilyen kórképének kiterjedése vagy kórfejlődése.

A találmány egyik megvalósítási módja szerinti eljárásban egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének kimutatása érdekében a páciensből nyert nukleinsav-mintát genotipizáljuk. Egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus egy allélja kimutatható például egy IL-1-gén vagy protein transzkripció rátájának vagy az mRNS és/vagy a protein mennyiségének "northern-blot"-eljárással, reverz transzkripció polimeráz-láncreakcióval (RT-PCR), *in situ* hibridizációval, immunprecipitációval, "western-blot"-hibridizációval vagy immunhisztokémiai eljárással történő meghatározásával. Az egyik eljárás szerint meghatározzuk egy páciensből nyert sejtekben termelődött IL-1-protein vagy mRNS mennyiségét, és összehasonlítjuk azt egy egészséges személy sejtjeire jellemző értékkel.

A találmány egy másik megvalósítási módja szerinti eljárásban egy IL-1-protein legalább egyféle aktivitásának meghatározására kerül sor. Meghatározható, például, a páci-

ens egy IL-1 α vagy - β -proteinjének receptoraffinitási állandója. Az így nyert eredmények azután összehasonlíthatók egy ismerten idült obstruktív légúti megbetegedésben szenvedő betegen végzett hasonló vizsgálatban kapott adatokkal.

A találmány előnyös megvalósítási módjai értelmében a találmány szerinti eljárás a páciensből nyert nukleinsav-minta egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének kimutatása érdekében végzett genotipizálását foglalja magában. A találmány egy jellemző megvalósítási módjában egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének szensz vagy antiszensz szekvenciájához hibridizálni képes nukleinsavszekvencia-régiót magában foglaló nukleinsav-próbát tartalmazó nukleinsav-készítményt alkalmazunk. A nukleinsavat például hibridizáció céljára hozzáférhetővé tesszük, a próbát a mintabeli nukleinsavval reagáltatjuk, és detektáljuk a próbának a mintában lévő nukleinsavval bekövetkezett hibridizációját. Ez az eljárás eltérések vagy allélvariánsok genomi vagy mRNS-szinten történő kimutatására és az mRNS-transzkriptumok mennyiségének meghatározására is alkalmas.

Kimutatási eljárásként előnyösen egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének egy régióját átfedő - a mutáció vagy polimorf régió körül kb. 5, 10, 20, 25 vagy 30 nukleotidot tartalmazó - próbákkal végzett allélspecifikus hibridizációt alkalmazunk. A találmány egyik előnyös megvalósítási módjában idült obstruktív légúti megbetegedésben szerepet játszó más allélvariánsokkal specifikusan hibridizálni képes próbákat szilárd fázisú hordozó-

hoz, pl. (kb. 250 000 oligonukleotidot is rögzíteni képes) lapocskához ("chip") kötünk. Az oligonukleotidok különböző eljárásokkal, pl. litográfiával köthetők a szilárd hordozóhoz. Az ilyen oligonukleotid-tartalmú chipek alkalmazásával végzett mutációdetektáló vizsgálati eljárás (másnéven "DNS-próba-rendszer") leírását az idevonatkozó szakirodalom ismerteti [pl. Cronin és mtsai.: Human Mutation 7, 244 (1996)]. A találmány egyik megvalósítási módjában a chip egy gén legalább egy polimorf régiójának összes allélvariánsát tartalmazza. A szilárd fázisú hordozóanyagot ezután a vizsgálni kívánt nukleinsavval reagáltatjuk, és detektáljuk a specifikus próbákkal történt hibridizációt. Ennek megfelelően, egy egyszerű hibridizációs kísérletben egy vagy több gén számos allélvariánsa azonosítható.

A találmány szerinti eljárások a kimutatás előtt egy nukleinsav-amplifikációs lépést is magukban foglalhatnak. Ezek a szakember számára ismert amplifikációs eljárások többek között, de nem kizárólag, a következők lehetnek: klónozás, polimeráz-láncreakció (PCR), specifikus allélek polimeráz-láncreakciója (ASA), ligáz-láncreakció (LCR), "nested" polimeráz-láncreakció, önnfentartó szekvenciareplikáció ("self sustained sequence replication") [Guatelli, J. C. és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1874 (1990)], transzkripciós amplifikációs rendszer [Kwoh, D. Y. és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 1173 (1989)], és a "Q-Beta Replicase" [Lizardi, P. M. és mtsai.: Bio/Technology 6, 1197 (1988)].

A PCR-ben különösen előnyösen alkalmazható láncindítók többek között a következők: (beilleszteni, 7. o.)

Az amplifikációs termékek számos eljárással vizsgálhatók, többek között méret szerinti analízissel, restriktációs emésztést követő méret szerinti analízissel, specifikusan jelzett láncindító oligonukleotidok reakciótermékekből történő kimutatásával, allélspecifikus oligonukleotid (ASO) hibridizációval, allélspecifikus 5'-exonukleáz detektálással, szekvenálással és hibridizációval.

A PCR-ra alapozott detektálási módok között szerepelhet több marker egyidejű, multiplex amplifikációja is. Szakember számára jól ismert például a PCR-láncindítók oly módon történő kiválasztása, hogy a nyert PCR-termékek mérete ne fedje át egymást, és így egyidejűleg vizsgálhatók legyenek. Más módon, a különböző markerek eltérően jelölt, - így külön detektálható - láncindítókkal is amplifikálhatók. A hibridizáción alapuló kimutatási eljárások természetesen lehetővé teszik több PCR-termék egy mintából történő elkülönített kimutatását. Szakember számára ismeretesek egyéb olyan eljárások is, amelyek több marker multiplex vizsgálatát teszik lehetővé.

A találmány szerinti vizsgálati eljárás egy jellemző megvalósítási módja értelmében a következő lépéseket végezzük: i) egy páciensből sejtmintát gyűjtünk, ii) a minta sejtjeiből (genomi, mRNS vagy mindkét típusú) nukleinsavat nyerünk ki, iii) a nukleinsav-mintát az egy gyulladás elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljével 5'- és 3'-irányban specifikusan hibridizáló, egy vagy több láncindí-

tóval az allél hibridizációját és amplifikációját lehetővé tevő körülmények között reagáltatjuk, és iv) kimutatjuk az amplifikációs terméket. Az ilyen kimutatási sémák különösen a nagyon kis mennyiségben jelenlévő nukleinsav-molekulák kimutatásakor hasznosak.

A találmány szerinti vizsgálati eljárás egy előnyös megvalósítási módjában a gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus alléljének azonosítását restrikciós hasítási mintázatok közötti eltérések alapján végezzük. Például minta és kontroll DNS-t izolálunk, (igény szerint) amplifikálunk, egy vagy több restrikciós endonukleázzal emésztünk, majd a fragmensek hosszát gélelektroforézissel határozzuk meg.

A találmány egy további megvalósítási módjában az allél közvetlen szekvenálására a szakember számára ismert szekvenáló reakciók bármelyike alkalmazható. Jellemző reakciók többek között a Maxim és Gilbert [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 560 (1977)] vagy a Sanger [Sanger és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5463 (1977)] által kidolgozott eljárásokon alapuló szekvenáló reakciók. A találmány tárgyát képező vizsgálóeljárások végzése során a különféle automatizált szekvenáló eljárások bármelyike igénybevehető [Biotechniques 19, 448 (1995)], ideértve a tömegspektrometria szekvenálást [lásd pl. a következő publikációkat: WO94/16101 számú nemzetközi közzétételi irat; Cohen és mtsai.: Adv. Chromatogr. 36, 127 (1996); valamint Griffin és mtsai.: Appl. Biochem. Biotechnol. 38, 147 (1993)]. Szakember számára nyilvánvalóvá fog válni, hogy bizonyos megvalósítási módokban a szekvenálási reakcióban csak egy,

kettő vagy három nukleinsav-bázis előfordulásának megállapítására van szükség. Csak egy nukleinsav kimutatása esetén igénybevehető például az "A-track" vagy a hasonló eljárások egyike.

Egy további megvalósítási módban a hasító anyagoktól (pl. nukleáz, hidroxilamin- vagy ozmium-tertoxid és piperidin) való védettség használható fel az RNS/RNS- vagy RNS/DNS- vagy DNS/DNS-heteroduplexeken belüli hibás bázispárosodások kimutatására [Myers és mtsai.: Science 230, 1242 (1985)]. Általánosságban, a hibás bázispárosodást hasító ("mismatch cleavage") eljárás során először a vad típusú allélt tartalmazó hibridizáló (jelölt) RNS-nek vagy DNS-nek a mintával kialakított heteroduplexeire van szükség. A kettős szálú duplexeket az egyszálú, például a kontroll- és a mintaszál közötti hibás bázispárosodás következtében létrejövő szakaszaik hasítására alkalmas reagenssel kezeljük. Így pl. az RNS/DNS-duplexek esetében a hibás bázispárosodású szakaszok enzimatis emésztésére RNase, a DNS/DNS hibrideknél S1-nukleáz alkalmazható. Más megvalósítási módokban a hibás bázispárosodású szakaszok emésztése érdekében a DNS/DNS- vagy RNS/DNS-duplexek hidroxilaminnal vagy ozmium-tetroxiddal és piperidinnel kezelhetők. A hibás bázispárosodású régiók emésztését követően kapott anyagot a mutáció helyének megállapítása érdekében denaturáló poli-(akril-amid)-gélen méret szerint szeparáljuk [Cotton és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 4397 (1988); Saleeba és mtsai.: Methods Enzymol. 217, 286 (1992)]. A találmány

egy előnyös megvalósítási módjában a kontroll DNS vagy RNS a kimutatásukat lehetővé tevő módon jelölhető.

A találmány egy másik megvalósítási módjában a "mismatch cleavage" reakcióban a kettősszálú DNS-beli hibás bázispárosodásokat felismerő egy vagy több proteint (ún. hibás DNS bázispárosodást javító enzimeket) alkalmazunk. Például az *E. coli* mutY enzimje a hibás G/A bázispárosodásoknál az A-t, a HeLa sejtekből származó timidin-DNS-glikoziláz pedig a hibás G/T bázispárosodásoknál a T-t hasítja ki [Hsu és mtsai.: Carcinogenesis 15, 1657 (1994)]. Egy jellemző megvalósítási módban egy gyulladást elősegítő haplotípus alléljén alapuló próbát a vizsgált sejt(ek)ből származó cDNS-sel vagy más DNS-termékkel hibridizáltatunk. A kapott duplexet hibás DNS bázispárosodást javító enzimmel kezeljük, majd a hasítási termékeket (ha vannak) elektroforézises vagy hasonló eljárással mutatjuk ki (lásd pl. az 5459039 számú Amerikai Egyesült államokbeli szabadalmi iratot).

A találmány más megvalósítási módjaiban az elektroforetikus mobilitásbeli eltéréseket használjuk fel az IL-1 β 2. (-511) allél azonosítására. A mutáns és vad típusú nukleinsavak elektroforetikus mobilitása közötti különbségek kimutatására például az egyszálú konformációs polimorfizmus ("single strand conformation polymorphism", SSCP) alkalmazható [Orita és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 2766 (1989); Cotton: Mutat. Res. 285, 125 (1993); és Hayashi: Genet. Anal. Tech. Appl. 9, 73 (1992)]. A minta és kontroll IL-1 β (-511) allél egyszálú DNS-fragmenseit denaturáljuk

majd hagyjuk visszarendeződni. Az egyszálú nukleinsavak másodlagos szerkezete szekvenciafüggő, az elektroforetikus mobilitás következményes eltérése alapján akár egy bázisnyi változás is kimutatható. A DNS-fragmensek jelölhetők, vagy jelölt próbákkal mutathatók ki. A vizsgálóeljárás érzékenysége növelhető azáltal, ha DNS helyett RNS-t alkalmazunk, amelynek másodlagos szerkezete érzékenyebb a szekvenciabeli változások iránt. A találmány egy előnyös megvalósítási módjában a találmány szerinti eljárás duplaszálú heteroduplex molekulák különválasztására elektroforetikus mobilitásbeli eltérésre alapozott heteroduplex-vizsgálatot alkalmaz [Keen és mtsai.: Trends Genet. 7, 5 (1991)].

Egy további megvalósítási módban az allélek denaturálószer-grádiens tartalmazó poli(akril-amid)-gélekben, denaturáló grádiens-gélelektroforézis ("denaturing gradient gel electrophoresis", DGGE) során történő mozgását vizsgáljuk [Myers és mtsai.: Nature 313, 495 (1985)]. Vizsgálóeljárásként DGGE-t alkalmazva a teljes denaturálódás elkerülése érdekében módosítani kell a DNS-t. Ez pl. magas olvadáspontú, GC-ben gazdag DNS-ből álló, megközelítőleg 40 bp-os GC-kapocs PCR-rel történő hozzáadásával érhető el. Egy további megvalósítási módban a kontroll és a mintabeli DNS mobilitása közötti eltérések kimutatására denaturálószer-grádiens helyett hőmérsékleti grádiens alkalmazunk [Rosenbaum és Reissner: Biophys. Chem. 265, 12753 (1987)].

Allélek detektálására alkalmazható további eljárások például, de nem kizárólag, a szelektív oligonukleotid-hibridizáció, a szelektív amplifikáció, vagy a szelektív lánc-



indító-hosszabbítás. Például láncindító oligonukleotidok készíthetők, amelyekben az ismert mutáció vagy nukleotid-eltérés (pl. az allélvariánsokban) középpont helyeződik el, majd azokat a cél DNS-sel hibridizáltatjuk, olyan körülmények között, amelyek csak tökéletes egyezés esetén teszik lehetővé a hibridizációt [Saiki és mtsai.: Nature 324, 163 (1986); Saiki és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 6230 (1989)]. Az ilyen allélspecifikus oligonukleotid-hibridizációs eljárásokkal egy reakcióban egy mutáció vagy polimorf régió jelenléte vizsgálható, ha az oligonukleotidokat a PCR-amplifikált cél-DNS-sel hibridizáltatjuk, vagy más módon, ha hibridizációs membránhoz kötött oligonukleotidokat jelzett cél-DNS-sel hibridizáltatunk, több mutáció, illetve több polimorf régió jelenléte mutatható ki.

A találmány szerinti megoldás értelmében szelektív PCR-amplifikációtól függő allélspecifikus amplifikációs eljárás is alkalmazható. A specifikus amplifikációban láncindítóként használt oligonukleotidok a kérdéses mutációt vagy polimorf régiót tartalmazhatják a molekula közepén (aminek következtében az amplifikáció differenciáló hibridizációtól függ) [Gibbs és mtsai.: Nucleic Acids Res. 17, 2437 (1989)], vagy az egyik láncindító legtávolabbi 3'-végén, ahol megfelelő körülmények esetén a hibás bázispárosodás meggátolja vagy csökkenti a polimeráz-lánchosszabbítást [Prossner: Tibtech 11, 238 (1993)]. A hasításon alapuló ki-mutatás lehetővé tétele érdekében előnyös lehet egy új restrikciós hely kialakítása a mutáció régiójában [Gasparini és mtsai.: Mol. Cell Probes 6, 1 (1992)]. Az



amplifikáció a találmány bizonyos megvalósítási módjaiban várhatóan Taq-ligáz alkalmazásával is végrehajtható [Barany: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 189 (1991)]. Ezekben az esetekben kötődés csak akkor alakul ki, ha az 5' szekvencia 3'-végén tökéletes az egyezés, így az amplifikáció jelenléte vagy hiánya alapján lehetővé válik egy ismert mutáció egy adott helyen való meglétének kimutatása.

A találmány egy másik megvalósítási módjában az allélvariáns azonosítását oligonukleotid ligálási vizsgálati eljárás ("oligonucleotide ligation assay", OLA) segítségével hajtjuk végre [lásd pl. 4998617 számú Amerikai Egyesült Államokbeli szabadalmi leírás, valamint Landegren, U. és mtsai.: Science 241, 1077 (1988)]. Az OLA-eljárásban két olyan oligonukleotidot alkalmazunk, amelyek egy célmolekula egyik szálának szomszédos szekvenciáihoz képesek hibridizálni. Az egyik oligonukleotidot elválasztást elősegítő markerhez kötjük (pl. biotiniláljuk), a másikat pedig kimutatást lehetővé tevő módon jelöljük. Ha a célmolekulában megtalálható a pontosan komplementer szekvencia, az oligonukleotidok végeikkel összekapcsolódva hibridizálódnak és ligációs szubsztrátot alkotnak. A ligáció ezután lehetővé teszi a jelzett oligonukleotid avidinnel vagy másik biotinligandummal történő kimutatását. Nickerson, D. A. és mtsai. a PCR és az OLA jellemzőit kombináló nukleinsav-kimutatási eljárást írtak le [Nickerson, D. A. és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 8923 (1990)]. Ebben az eljárásban a cél-DNS exponenciális amplifikációjára PCR-t, majd kimutatására OLA-t alkalmaznak.



Számos OLA-n alapuló eljárást fejlesztettek ki, amelyek egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus alléljeinek kimutatására alkalmazhatók. Így pl. az 5593826 számú Amerikai Egyesült államokbeli szabadalmi irat által ismertetett OLA egy 3'-aminocsoportot tartalmazó és egy 5'-foszforilált oligonukleotidot alkalmaz, amelyek foszforamidát kötéssel rendelkező konjugátumot alakítanak ki. A Tobe és mtsai. [Nucleic Acid Res. 24, 3728 (1996)] által leírt másik OLA-variánsban a PCR-rel kombinált OLA két allél azonos mikrotiter-mélyedésben történő tipizálását teszi lehetővé. Az allélspecifikus láncindítók mindegyikének egyedi hapténnel (pl. digoxigeninnel és fluoreszcinnel) történő jelölésével az OLA-reakciók különböző enzimriporterekkel (alkalikus-foszfatazzal vagy tormagyökér-peroxidázzal) jelzett hapténspecifikus ellenanyagok segítségével mutathatók ki. Ebben a nagyszámú minta gyors vizsgálatára alkalmas rendszerben a két allél jelenlétének kimutatását két különböző szín kialakulása teszi lehetővé.

Az egy nukleotidot érintő polimorfizmusok vizsgálata céljából számos eljárást fejlesztettek ki. A találmány egy megvalósítási módjában az egy bázisra kiterjedő polimorfizmus speciális, exonukleáz-rezisztens nukleotid segítségével mutatható ki (pl. a Mundy, C. R. által a 4656127 számú Amerikai Egyesült államokbeli szabadalmi iratban ismertetettek szerint). Az eljárás szerint egy adott állatból vagy emberből nyert célmolekulával a polimorf helytől közvetlenül 3'-irányban lévő allélszekvenciával komplementer láncindítót hibridizáltatunk. Ha a célmolekula polimorf helyén az adott



exonukleáz-rezisztens nukleotidszármazékkal komplementer nukleotid található, akkor a hibridizált láncindító vége tartalmazni fogja a nukleotidszármazékot. Ez a beépülés a láncindítót exonukleáz-rezisztenssé teszi, lehetővé téve ezáltal a kimutatását. Mivel a mintabeli exonukleáz-rezisztens származék ismert, a láncindító exonukleáz-rezisztenssé válása arra utal, hogy a célmolekula polimorf helyén található nukleotid a reakcióban használt nukleotidszármazék komplementere volt. A módszer előnye, hogy nem igényli nagy mennyiségű külső szekvenciaadat meghatározását.

A találmány egy másik megvalósítási módjában a polimorf hely nukleotidjának meghatározására oldatfázisú eljárást alkalmazunk (Cohen, D. és mtsai.: 2650840 számú francia szabadalmi irat; WO91/02087 számú nemzetközi közzétételi irat). Itt, akárcsak a 4656127 számú Amerikai Egyesült Államokbeli szabadalmi leírásban ismertetett Mundy-féle eljárásban, a polimorf helytől közvetlenül 3'-irányban lévő allélszekvenciákkal komplementer láncindítót alkalmazunk. Az eljárás a polimorf hely nukleotidját jelölt dideoxinukleotid-származékok segítségével azonosítja, amelyek, ha komplementerek a polimorf hely nukleotidjával, beépülnek a láncindító végébe.

Goelet, P. és mtsai. egy alternatív, "Genetic Bit Analysis" vagy "GBATM" néven ismert eljárást ismertetnek (ld. WO92/15712 számú nemzetközi közzétételi irat). Eljárásuk során jelzett terminátorok keverékét és egy, a polimorf helytől 3'-irányban lévő szekvenciával komplementer láncindítót alkalmaznak. A reakció során a vizsgált célmolekula



polimorf helyén található nukleotiddal komplementer jelzett terminátor épül be. A Goelet, P. és mtsai. által leírt eljárás - ellentétben Cohen és mtsai. módszerével (2650840 számú francia szabadalmi irat, WO91/02087 számú nemzetközi közzétételi irat) - előnyösen heterogén fázisú vizsgálati eljárás, amelyben a láncindító vagy a célmolekula szilárd fázisú hordozóhoz van rögzítve.

A közelmúltban számos, a DNS polimorf helyeinek vizsgálatára alkalmas, láncindító-irányította nukleotid-beépítési eljárás leírását tették közzé [Komher, J. S. és mtsai.: Nucl. Acids Res. 17, 7779 (1989); Sokolov, B. P.: Nucl. Acids Res. 18, 3671 (1990); Syvanen, A. -C. és mtsai.: Genomics, 8, 684 (1990); Kuppuswamy, M. N. és mtsai.: Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 88, 1143 (1991); Prezant, T. R. és mtsai.: Hum. Mutat. 1, 159 (1992); Ugozzoli, L. és mtsai.: GATA 9, 107 (1992); Nyren, P. és mtsai.: Anal. Biochem. 208, 171 (1993)]. Ezek az eljárások annyiban térnek el a GBATM-től, hogy a polimorf helyen található bázisok elkülönítését jelölt dezoxinukleotidok beépítésére alapozzák. Ebben az elrendezésben, mivel a jel nagysága a beépült dezoxinukleotidok számával arányos, az azonos nukleotidból álló sorozat alkotta polimorfizmus jelenléte a sorozat nagyságával arányos jelek keletkezéséhez vezet [Syvanen, A. -C. és mtsai.: Amer. J. Hum. Genet. 52, 46 (1993)].

A proteint eredményező transzláció korai befejezéséhez vezető mutációk kimutatásának hatékony diagnosztikai eszköze a proteinrövidülési teszt ("protein truncation test",



PTT) [Roest és mtsai.: Hum. Mol. Genet. 2, 1719 (1993); van der Luijt és mtsai.: Genomics 20, 1 (1994)]. A PTT-ben a rendelkezésre álló szövetmintából izolált RNS-t reverz transzkripciónak vetjük alá, majd a kérdéses szegmensét PCR-rel amplifikáljuk. A reverz transzkripciós PCR termékeit ezután RNS-polimeráz-promotert és eukarióta transzlációs kezdőszekvenciát tartalmazó láncindítóval végzett „nested” PCR-amplifikációban templátként használjuk. A kérdéses régió amplifikációja után a láncindítóba beépült egyedi motívumok a PCR-termékek egymást követő *in vitro* transzkripcióját és transzlációját teszik lehetővé. A transzlációs termékek nátrium-dodecil-szulfát-poli(akril-amid)-gélelektroforézisét követően a megrövidült polipeptidek megjelenése a transzláció korai befejezését jelző mutációra utal. Az előbbi eljárás egy változatában, amikor a kérdéses célszakasza egy exonból származik, PCR-templátként RNS helyett DNS-t alkalmaznak.

A találmány szerinti diagnosztikai eljárásokban bármely sejt- vagy szövettípus alkalmas nukleinsav-minták nyelésére. Egy előnyös megvalósítási módban a DNS-mintát testfolyadékból, pl. vénapunkcióval vagy más ismert módszerrel vett vérből vagy nyálból nyerjük. Alternatív módon, nukleinsav-tesztek végezhetők "száraz", pl. szőr- vagy bőrmintákon is. RNS vagy protein alkalmazásakor a felhasználható sejteknek vagy szöveteknek IL-1-gént kell expresszálniuk.

Diagnosztikai vizsgálatok végezhetők a páciensből biopsziával vagy kimetszéssel nyert, fagyasztott vagy fixált metszeteken közvetlenül, *in situ* is, ekkor nukleinsav-



tisztításra nincs szükség. Az ilyen *in situ* eljárásokban próbaként és/vagy láncindítóként nukleinsav-reagensek alkalmazhatók [ld. pl. Nuovo, G. J.: "PCR *in situ* hybridization: protocols and applications", kiad.: Raven Press, NY (1992)].

Az elsődlegesen egy nukleinsav-sorrend kimutatását célzó eljárások mellett az ilyen detekciós rendszerekben profilvizsgálatokra is lehetőség van. Ujjlenyomat-profilok hozhatók létre pl. "differenciáló display"-eljárással, "northern-blot"-eljárással és/vagy RT-PCR-rel.

A találmány egy további megvalósítási módját az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulására, és/vagy annak gyorsabb vagy súlyosabb lefolyására való hajlam kimutatására alkalmas reagenskészletek jelentik. Egy ilyen reagenskészlet tartalmazhat egy vagy több oligonukleotidot, köztük 5'- és 3'-oligonukleotidokat, amelyek egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljével 5'- és 3'-irányban hibridizálnak. A további vizsgálatok céljára megfelelő méretű PCR-termék kialakítása érdekében a PCR-amplifikációs oligonukleotidoknak egymástól 25 és 2500, előnyösen 100 és 500 bázisnyira kell hibridizálniuk.

A reagenskészletben felhasználható nukleinsavak természetes vagy szintetikus vegyületek, többek közt pl. szintetikus oligonukleotidok, restrikciós fragmensek, cDNS-ek vagy szintetikus peptid nukleinsavak (PNS-ek) lehetnek. A vizsgálatra használt reagenskészletben és eljárásban az azonosítás megkönnyítése érdekében jelzett oligonukleotidok is alkalmazhatók. Ilyen felhasználható jelzőanyagok pl.



többek között a radioaktív jelzőanyagok, az enzimek, a fluoreszcens vegyületek, a sztreptavidin, a biotin, a mágneses gyökök, a fémkötő gyökök, valamint az antigén- és ellenanyag-gyökök.

A reagenskészlet szükség szerint tartalmazhat DNS-mintavételi eszközöket is. Szakember számára jól ismert DNS-mintavételi eszközök például, de nem kizárólag, a szubsztrátok, pl. a szűrőpapirok, az "AmpliCard™" (University of Sheffield, Sheffield, England S10 2JF; Tarlow, J. W. és mtsai.: J. of Invest. Dermatol. 103, 387 (1994)]; a DNS-tisztító reagensek, mint pl. a "Nukleon™"-reagenskészletek, a lízispufferek és a proteinázoldatok; a PCR-reagensek, mint pl. a 10X reakciópufferek, a hőstabil polimeráz és a dNTP-k; valamint az allélkimutatási módszerek, mint pl. a *Hinf*I restriktációs enzim, az allélspecifikus oligonukleotidok és a szárított vérből végzett „nested” PCR-ben alkalmazott degenerált oligonukleotid láncindítók.

Farmakogenomika

A farmakogenomika célkitűzése a terápiának a páciens genetikai profiljához igazítása. Ezt teszi lehetővé pl. a szeptikémiát előrejelző IL-1 polimorfizmusok ismerete önmagában, vagy az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulásához hozzájáruló egyéb genetikai defektusokról szerzett információval (az idült obstruktív légúti megbetegedés genetikai profiljával) együtt. Például, az IL-1B 2. (-511) és/vagy IL-1B 2. (+3954) allélje hajlamosítja az ezeket hordozó betegeket az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulására vagy a megbetegedés gyorsabb vagy súlyosabb



lefolyására. Így egy egyed gyulladást elősegítő IL-1-profiljának és a populáció idült obstruktív légúti megbetegedésre jellemző profiljának összehasonlításával olyan hatóanyagok tervezése vagy kiválasztása válik lehetővé, amelyek az adott betegben vagy betegpopulációban (azonos genetikai elváltozással rendelkező betegcsoportban) várhatóan hatékonyan és biztonságosan alkalmazhatók.

A várhatóan a legkifejezettebb klinikai gyógyulást mutató populációk IL-1B-re vagy a betegség genetikai profiljára alapozott kiválasztása megteremti a lehetőséget: 1) a kedvezőtlen piaci helyzetű asztmaellenes hatóanyagok pozíciójának javítására; 2) a betegcsoport-specifikus hatékonysági vagy biztonsági korlátok miatt félbehagyott fejlesztésű potenciális hatóanyagok további vizsgálatára; 3) a reménybeli asztmaellenes hatóanyagok gyorsabb és olcsóbb fejlesztésére, valamint a hatóanyagok felhasználási lehetőségeinek optimálisabb meghatározására (mivel pl. a találmány szerinti markerek alkalmazása elősegíti a hatékony dózis optimalizálását).

A páciensről egy készítmény alkalmazása előtt és után is sejtek nyerhetők az IL-1-en kívüli gének expresszió szintjének megállapítása érdekében, azt igazolandó, hogy a hatóanyag nem fokozza vagy csökkenti a génexpressziót, amely káros következményekkel járhat. Ez pl. a transzkripció karakterizálás ("transcriptional profiling") nevű eljárással érhető el. Ennek megfelelően a készítménnyel kezelt és nem kezelt sejtek génexpressziója összehasonlítható az *in vivo* egy hatóanyagnak kitett és az azzal nem találko-



zott, azonos típusú sejtekből származó mRNS reverz transzkripciójával és különböző génekből származó DNS-t tartalmazó chipekhez hibridizálásával.

A következő, nem korlátozó jellegű példák a találmány további illusztrálását szolgálják. Az összes itt idézett referencia tartalmát (beleértve a szakirodalmi hivatkozásokat, a szabadalmi iratokat, a közzétett szabadalmi beadványokat) egyértelműen, teljes egészében a kitanítás részének kell tekinteni. A találmány szerinti megoldás gyakorlati kivitelezésére (amennyiben másképp nem jelöltük) szakember számára ismert, hagyományos eljárások vehetők igénybe. Ezen eljárások részletes leírását ld. pl.: "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2. kiadás, szerk.: Sambrook, Fritsch és Maniatis, kiad.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989); "DNA Cloning", I. és II. kötet, szerk.: D. N. Glover (1985); "Oligonucleotide Synthesis", szerk.: M. J. Gait, (1984); Mullis és mtsai.: mtsai.: 4683195 számú Amerikai Egyesült államokbeli szabadalmi irat; "Nucleic Acid Hybridization", szerk.: B. D. Hames és S. J. Higgins (1984); "Transcription and Translation", szerk.: B. D. Hames és S. J. Higgins (1984)].

1. példa

IL-1B (+3954) kimutatása

Az IL-1B +3954-es bázisánál található, egy bázisból álló (C/T) polimorfizmus szkrínelését genomi templátok PCR-amplifikációjával végeztük. Pozitív kontrollként szolgáló TaqI-hely kialakítása érdekében egy láncindítóba egy bázis-



eltérést inzertáltunk. A polimorf TaqI-hely natív. A genomi szekvenciák alapján [Clark és mtsai.: (1986); GenBank depozítási szám X04500) ABI DNS szintetizáló készülékben a következő láncindítókat állítottuk elő:

5'-CTC AGG TGT CCT CGA AGA AAT CAA A-3' (a szekvencialistában az 1. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3' (a szekvencialistában a 2. azonosítószámon megadott szekvencia).

A PCR-t a következő körülmények mellett végeztük:

[95°C (2 perc)] 1 ciklus,

[95°C (1 perc), 67,5°C (1 perc), 74°C (1 perc)] 38 ciklus,

[72°C (8 perc)] 1 ciklus.

A restrikciós enzimmel végzett emésztést 60°C-on, 8 órán át végeztük. A fragmensek méret szerinti elválasztására 8%-os agarózgélen végzett PAGE-et alkalmaztunk. A PCR-termék TaqI-gyel történő emésztése egy 12 bázispáros szegmenst (ennek hiánya inkomplett emésztésre utal) valamint vagy további két, 85 és 97 bázispáros (1. allél), vagy egy 182 bázispáros (2. allél) szegmenst eredményez.

2. példa

IL-1B (-511) kimutatása

Az IL-1B -511-es bázisánál található, egy bázisból álló (C/T) polimorfizmus szkrínelését genomi templátok PCR-amplifikációját követő restrikciós fragmenshossz polimorfizmus vizsgálattal ("Restriction Fragment Length Polymorphism", RFLP) végeztük. A génvariációnak köszönhető-

en a leggyakoribb allélban *AvaI* restrikciós hely, a ritkább allélban *Bsu36I* hely található. Ennek köszönhetően a PCR-termék említett enzimekkel végzett emésztése az IL-1B (-511) lokusz hatékony vizsgálatát teszi lehetővé.

A genomi szekvencia alapján [Clark és mtsai.: (1986); GenBank deponálási szám X04500) *ABI* szintetizáló készülékben a következő láncindítókat állítottuk elő:

5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC-3' (a szekvencialistában a 3. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3' (a szekvencialistában a 4. azonosítószámon megadott szekvencia).

A PCR-t a következő körülmények mellett végeztük:

[95°C (1 perc)] 1 ciklus,

[95°C (1 perc), 53°C (1 perc), 72°C (1 perc)] 35 ciklus,

[72°C (5 perc)] 1 ciklus.

Mindegyik PCR-reakcióterméket két egyenlő, 25 µl-es részre osztottuk; a 3 µl specifikus 10X restrikciós puffer mellett az egyikhez 3 egység *AvaI*-et, a másikhoz 3,7 egység *Bsu36I*-et adtunk. Az emésztést egy éjszakán át 37°C-on végeztük, a kapott fragmensek méretének megállapítására 9%-os agarózgélén végzett PAGE-elektroforézist alkalmaztunk. Az *AvaI*-gyel végzett emésztés az 1. allél esetében 190 + 114 bázispáros szegmenseket eredményezett, a (304 bázispáros) 2. allélt nem hasította. A *Bsu36I*-gyel végzett emésztés a 2. allél esetében 190 + 114 bázispáros szegmenseket eredményezett, a (304 bázispáros) 1. allélt nem hasította. A kapott restrikciós mintázat a két reakcióelegyben (homozigó-



ták esetében) fordított vagy (heterozigóták esetében) azonos volt. Ez a protokoll az IL-1B (-511) lokusz hatékony vizsgálatát tette lehetővé.

3. példa

Az IL-1RN (VNTR) kimutatása

Az IL-1RN-gén 2. intronjában található változó számú tandem ismétlődés ("variable number of tandem repeats", VNTR) meglétéről először a gén klónozásakor számoltak be [Steinkasserer, A. és mtsai.: Nucleic Acids Res. 19, 5095 (1991)]. Ezt a VNTR-t Tarlow és mtsai. [Hum. Genet. 91, 403-404 (1993)] 86 bázispáros szakaszok változó számú (2-6-szoros) ismétlődéseként írták le. A genomi szekvencia alapján (GenBank deponálási szám X64532) ABI szintetizáló készületekben a következő láncindítókat állítottuk elő:

5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3' (+2879/+2895) (a szekven-
cialistában az 5. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TCC TGG TCT GCA GCT AA-3' (+3274/+3290) (a szekven-
cialistában a 6. azonosítószámon megadott szekvencia).

A PCR-reakció körülményei a következők voltak.

A reakciót [96°C-on 1 percre] 1 ciklusban [60°C-on 1 percre és 70°C-on 2 percre] 35 ciklusban; [70°C-on 5 percre] 1 ciklusban; majd 4°C-on végeztük. Az elektroforézist 2%-os agarózgélben, 90V feszültség mellett 30 percre folytattuk.

A PCR-termék mérete közvetlenül utal az ismétlődések számára: a leggyakoribb (1.) allél 412 bázispáros terméket eredményez. Mivel a szegélyező szakaszok 66 bázispárt tesz-



nek ki, a maradék 344 bázispár négy, 86 bázispáros ismétlődő szakasz jelenlétére utal. Hasonlóképpen, a 240 bázispáros termék két (2. allél), a 326 bázispáros három (3. allél), a 498 bázispáros öt (4. allél), az 584 bázispáros hat (6. allél) ismétlődő szakaszt jelent. Egy észak-brit kaukázusi populációban a négy leggyakoribb allél előfordulási gyakorisága 0,734, 0,241, 0,021 és 0,004.

4. példa

Az IL-1RN (+2018) kimutatása

Ezt a 2. exonban található egy bázisnyi eltérést (C/T a +2016-nál) Clay és mtsai. írták le [Hum. Genet. 97, 723-726 (1996)]. A két allél enzimes hasítóhelyeihez a genomi szekvenciától eltérő PCR-láncindítókat készítettünk. Ezek az allélek 100%-ig kapcsoltsági egyensúlyhiányban vannak az IL-1RN (VNTR) két leggyakoribb alléljával. A genomi szekvencia alapján (GenBank deponálási szám X04532) ABI szintetizáló készülékben a következő láncindítókat állítottuk elő:

5'-CTA TCT GAG GAA CAA ACT AGT AGC-3' (+1990/+2015) (a szekvencialistában a 7. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TAG GAC ATT GCA CCT AGG GTT TGT-3' (+2133/+2156) (a szekvencialistában a 8. azonosítószámon megadott szekvencia).

A reakciót (96°C-on 1 percig) 1 ciklusban; (94°C-on 1 percig, 57°C-on 1 percig; 70°C-on 2 percig) 35 ciklusban; (70°C-on 5 percig) 1 ciklusban; majd 4°C-on végeztük. A

PCR-reakciókat a specifikus 10X restrikciós puffer 2 µl-ében osztottuk el. Az inkubálást egy éjszakán keresztül, 37°C-on végeztük, az elektroforézist 9%-os poli(akrilamid)-gélen folytattuk.

A két enzim a két különböző allélt hasítja. Az *Alu* / az 1. allélból 126 + 28 bázispáros szakaszokat hoz létre, míg a 2. allélt (154 bázispár) nem emészt. Az *Msp* / 125 + 29 bázispáros szakaszokat alakít ki a 2. allélból, míg az 1. (154 bázispáros) allélt érintetlenül hagyja. Emiatt a poli(akrilamid)-gélelektroforézisben egymás mellett vizsgált két reakció homozigóta egyedek esetében fordított, heterozigótáknál pedig azonos emésztési mintázatot fog eredményezni. Egy észak-brit kaukázusi populációban az allélek előfordulási gyakorisága 0,74 és 0,26. Egy hasonló genetikai összetételű mintában 0,05-ös szignifikanciaszint és a teszt 90%-os ereje esetén az előfordulási gyakoriság másfélszeres emelkedésének kimutatásához 251 eset, 0,1-es abszolút növekedésének kimutatásához 420 eset vizsgálatára van szükség.

5. példa

Az IL-1A (-889) kimutatása

Az IL-1A promoterben található egy bázisnyi C/T eltérést McDowell és mtsai. írták le [Arthritis and Rheumatism 38, 221-228 (1995)]. Az egyik PCR-láncindítóban az 1. allél amplifikációjakor *Nco* I helyet eredményező báziscsere található (citozin a -889-es pozícióban). A genomi szekvencia

alapján (GenBank deponálási szám X03833) ABI szintetizáló készülékben a következő láncindítókat állítottuk elő:

5'-AAG CTT GTT CTA CCA CCT GAA CTA GGC-3' (-967/-945)
(a szekvencialistában a 9. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TTA CAT ATG AGC CTT CCA TG-3' (-888/-869) (a szekvencialistában a 10. azonosítószámon megadott szekvencia).

A $MgCl_2$ -t 1 mM, a PCR-láncindítókat 0,8 μM végkoncentrációban alkalmaztuk.

A reakciót (96°C-on 1 percig) 1 ciklusban; (94°C-on 1 percig, 50°C-on 1 percig; 72°C-on 2 percig) 45 ciklusban; (72°C-on 5 percig) 1 ciklusban; majd 4°C-on végeztük. A PCR-reakciókhoz a specifikus 10X restriktációs puffer 1 μl -e mellett 6 egység NcoI-et adtunk. Az inkubálást egy éjszakán keresztül, 37°C-on végeztük, az elektroforézist 6%-os poli(akril-amid)-gélen folytattuk.

Az NcoI az 1. allélból 83 + 16 bázispáros szakaszokat hoz létre, míg a 2. allélt (99 bázispár) nem hasítja. A heterozigótákból származó minta vizsgálata három csíkot eredményez. Egy észak-angliai kaukázusi fehér populációban az allélek előfordulási gyakorisága 0,71 és 0,29. Egy hasonló genetikai összetételű mintában 0,05-ös szignifikanciaszint és a teszt 90%-os ereje esetén az előfordulási gyakoriság másfélszeres emelkedésének kimutatásához 214 eset, 0,1-es abszolút növekedésének kimutatásához 446 eset vizsgálatára van szükség.

6. példa

Az IL-1B 2. allél (+3954) és az IL-1B 2. allél (-511) összefüggése az asztma jelenlétével

Az asztma és az IL-1B-gén megfelelő régióiban talált allélek közötti összefüggés vizsgálata érdekében a következő kísérletet végeztük el. A vizsgálatba 106 asztmás beteg vontunk be, kontrollként 251 észak-brit kaukázusi fehér, nem asztmás egyént vettünk igénybe. Mindegyik asztmás beteg megfelelt az ATS által felállított asztma definíció kritériumainak [Amer. Rev. Respir. Dis., 132, 180 (1985)], és a releváns esetekben kevesebb, mint 4 mg/ml PC 20 metakolinnal rendelkeztek. Az asztmás betegekből klinikailag egy "enyhe" és egy "súlyos" csoportot alakítottunk ki. A súlyos fokban asztmás betegek csoportjába azokat soroltuk, akiknek naponta 800 mg-nál magasabb szteroidadag belélegzésére volt szüksége. A csak béta-2-agonista terápiában részesülő betegeket az enyhe fokban asztmásak közé soroltuk. Az összes asztmás közül 50 csak béta-2-agonista terápiában részesülő, enyhe fokban beteg egyén volt (FEV_1 $92,5 \pm 1,5\%$ pred), $26,5 \pm 0,9$ év átlagos életkorral. Az asztmások közül 56 személy volt legalább 800 mg/nap szteroidot inhalálóló, súlyos beteg (FEV_1 $58,4 \pm 3,4\%$ pred), az ő átlagos életkoruk $47,2 \pm 2,3$ év volt. Megfelelő tájékoztatásukon alapuló beleegyezésük után mindegyik személytől EDTA-t tartalmazó csőbe 10 ml vénás vért vettünk. A mintából teljes genomi DNS-t vontunk ki és a 106 betegtől nyert DNS-ből meghatároztuk az allélfrekvenciákat. Az IL-1B (+3954) esetében 105, az IL-1B (-511) esetében 104 beteg genotipizálá-

sát tudtuk elvégezni. Mindegyik DNS esetében egy, az IL-1B-gén kérdéses területeit áthidaló PCR-terméket készítettünk, majd azt az 1. példában leírt módon vizsgáltuk. A ritka allél hordozásának (a 2. allél legalább egy példányát hordozó genotípusok kísérleti csoportok közötti megoszlásának) összehasonlítása érdekében a kapott adatokat Khi-négyzet próbával elemeztük. Az IL-1B (+3954) esetében kapott eredményeket az első, az IL-1B (-511) esetében kapott eredményeket a második táblázat tartalmazza.

1. táblázat: IL-1B (+3954)

A megbetegedés súlyossága	1.1	1.2	2.2
Enyhe (N=50)	28	17	5
Súlyos (N=55)	26	24	5
Kontroll (N=251)	165	81	5
Enyhe - Súlyos	Khi ² = 0,497 p = 0,48 (nem szignifikáns)		
"összes" - Kontroll	Khi ² = 6,402 p = 0,01 OR = 1,81 (95% CI = 1,14 - 2,88)		
Súlyos - Kontroll	Khi ² = 6,557 p = 0,01 OR = 2,14 (95% CI = 1,19 - 3,86)		

2. táblázat: IL-1B (-511)

A megbetegedés súlyossága	1.1	1.2	2.2
Enyhe (N=50)	2	19	3
Súlyos (N=54)	19	31	4
Kontroll (N=251)	89	129	33
Súlyos - Enyhe	$\text{Khi}^2 = 4,541$ $p = 0,033$ $\text{OR} = 2,34$ (95% $\text{CI} = 1,06 - 5,16$)		
"összes" - Kontroll	$\text{Khi}^2 = 2,948$ $p = 0,086$ (nem szignifikáns)		

Amint az 1. és 2. táblázatokból kitűnik, az IL-1B 2. (+3954) és az IL-1B 2. (-511) allél jelenléte szignifikáns összefüggést mutat a klinikai tünetekben megnyilvánuló asztmával. Emellett kimutattuk, hogy a 2. allél legalább egy példányának jelenléte az IL-1B (-511) lokusznál súlyosabb megbetegedéssel jár együtt.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás egy páciens idült obstruktív légúti megbetegedésre való hajlamának vagy a páciensben az idült obstruktív légúti megbetegedés kialakulása gyorsaságának vagy végkifejletének meghatározására, azzal jellemezve, hogy

a, a páciensből nukleinsav-mintát nyerünk,

b, a mintából kimutatjuk a gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljét,

és a gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy allélje jelenlétének kimutatása alapján arra következtünk, hogy a páciens az idült obstruktív légzőszervi megbetegedés kialakulására fokozottan hajlamos.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az IL-1B 2. (-511) allél kimutatására végezzük.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a kimutatási lépésben az alábbi láncindítók bármelyikének alkalmazásával amplifikációt végzünk:

5'-CTC AGG TGT CCT CGA AGA AAT CAA A-3' (a szekvencialistában az 1. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3' (a szekvencialistában a 2. azonosítószámon megadott szekvencia).

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a legalább egy allélként az IL-1B 2. (+3954) allél-t mutatjuk ki.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a kimutatási lépésben az alábbi láncindítók bármelyikének alkalmazásával amplifikációt végzünk:

34831

5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC-3' (a szekvencialistában a 3. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3' (a szekvencialistában a 4. azonosítószámon megadott szekvencia).

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az idült obstruktív légúti megbetegedést az asztma, emphysema, idült bronchitis és idült bronchiolitis alkotta csoportból választjuk ki.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a kimutatási lépésben az alábbi láncindítók bármelyikének alkalmazásával amplifikációt végzünk:

5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3' (a szekvencialistában az 5. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TCC TGG TCT GCA GCT AA-3' (a szekvencialistában a 6. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-CTA TCT GAG GAA CAA ACT AGT AGC-3' (a szekvencialistában a 7. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TAG GAC ATT GCA CCT AGG GTT TGT-3' (a szekvencialistában a 8. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-AAG CTT GTT CTA CCA CCT GAA CTA GGC-3' (a szekvencialistában a 9. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TTA CAT ATG AGC CTT CCA TG-3' (a szekvencialistában a 10. azonosítószámon megadott szekvencia).

8. Reagenskészlet egy páciens idült obstruktív légzőszervi megbetegedés kialakulása iránti hajlamának meghatározására, amely

a, DNS-minta gyűjtésére alkalmas eszközt, és

b, egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus legalább egy alléljének a DNS-mintából történő kimutatására alkalmas eszközt tartalmaz.

9. A 8. igénypont szerinti reagenskészlet, amely kimutatásra alkalmas eszközként egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus egy alléljéhez 5'- vagy 3'-irányban hibridizáló első láncindítót tartalmaz.

10. A 9. igénypont szerinti reagenskészlet, amely láncindítóként a következők bármelyikét tartalmazza:

5'-CTC AGG TGT CCT CGA AGA AAT CAA A-3' (a szekvencialistában az 1. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3' (a szekvencialistában a 2. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC-3' (a szekvencialistában a 3. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3' (a szekvencialistában a 4. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3' (a szekvencialistában az 5. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TCC TGG TCT GCA GCT AA-3' (a szekvencialistában a 6. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-CTA TCT GAG GAA CAA ACT AGT AGC-3' (a szekvencialistában a 7. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-TAG GAC ATT GCA CCT AGG GTT TGT-3' (a szekvencialistában a 8. azonosítószámon megadott szekvencia),

5'-AAG CTT GTT CTA CCA CCT GAA CTA GGC-3' (a szekvencialistában a 9. azonosítószámon megadott szekvencia),

34.02.1

5'-TTA CAT ATG AGC CTT CCA TG-3' (a szekvencialistában a 10. azonosítószámon megadott szekvencia).

11. A 8. igénypont szerinti reagenskészlet, amely a gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus következő alléljai bármelyikének kimutatására alkalmas: IL-1B 2. (-511) allél, IL-1A 4. (222/223) allél, IL-1A 1. (gz5/gz6) allél, IL-1A 1. (-889) allél, IL-1B 2. (6912) allél, IL-1B 1. (+3954) allél, IL-1B/IL-1RN (gaat.p33330) és (Y31) gének közötti régió, IL-1RN 2. (+2018) allél, IL-1RN 2. (+2018) allél.

12. A 10. igénypont szerinti reagenskészlet, amely tartalmaz egy második láncindítót is, amely egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus egy alléljéhez 3'-irányban hibridizál, ha az első láncindító 5'-irányban hibridizál, és amely egy gyulladást elősegítő IL-1-haplotípus egy alléljéhez 5'-irányban hibridizál, ha az első láncindító 3'-irányban hibridizál.

13. A 12. igénypont szerinti reagenskészlet, amely első és második láncindítóként kb. 50 és 1000 bázispár közötti nagyságú szakaszhoz hibridizáló első és második láncindítót tartalmaz.

14. A 10. igénypont szerinti reagenskészlet, amely kimutatást elősegítő oligonukleotidot is tartalmaz.

15. A 14. igénypont szerinti reagenskészlet, amely kimutatást elősegítő oligonukleotidként jelzett oligonukleotidot tartalmaz.

404 B = J3000

7/

2003.08.07


DANUBIA
Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft
Dr. Pethő Árpád
szabadalmi ügyvivő

1. ábra

A humán IL-1A-gén DNS-szekvenciája (GenBank deponálási száma: X03833)

```
-1437 AAGCTTCTAC CCTAGTCTGG TGCTACACTT ACATTGCTTA CATCCAAGTG TGGTTATTTTC
-1377 TGTGGCTCCT GTTATAACTA TTATAGCACC AGGTCTATGA CCAGGAGAAT TAGACTGGCA
-1317 TTAAATCAGA ATAAGAGATT TTGCACCTGC AATAGACCTT ATGACACCTA ACCAACCCCA
-1257 TTATTTACAA TTAAACAGGA ACAGAGGGAA TACTTTATCC AACTCACACA AGCTGTTTTTC
-1197 CTCCCAGATC CATGCTTTTT TGCGTTTATT ATTTTTTAGA GATGGGGGCT TCACTATGTT
-1137 GCCCACACTG GACTAAAACCT CTGGGCCTCA AGTGATTGTC CTGCCTCAGC CTCCTGAATA
-1077 GCTGGGACTA CAGGGGCATG CCATCACACC TAGTTTCATTT CCTCTATTTA AAATATACAT
-1017 GGCTTAAACT CCAACTGGGA ACCCAAAACA TTCATTTGCT AAGAGTCTGG TGTTCTACCA
-957 CCTGAACTAG GCTGGCCACA GGAATTATAA AAGCTGAGAA ATTCTTTAAT AATAGTAACC
-897 AGGCAACATC ATTGAAGGCT CATATGTAAA AATCCATGCC TTCCTTTCTC CCAATCTCCA
-837 TTCCCAAACCT TAGCCACTGG TTCTGGCTGA GGCCTTACGC ATACCTCCCG GGGCTTGCAC
-777 ACACCTTCTT CTACAGAAGA CACACCTTGG GCATATCCTA CAGAAGACCA GGCTTCTCTC
-717 TGGTCCTTGG TAGAGGGCTA CTTTACTGTA ACAGGGCCAG GGTGGAGAGT TCTCTCTCTGA
-657 AGCTCCATCC CCTCTATAGG AAATGTGTTG ACAATATTCA GAAGAGTAAG AGGATCAAGA
-597 CTTCTTTGTG CTCAAATACC ACTGTTCTCT TCTCTACCCT GCCCTAACCA GGAGCTTGTC
-537 ACCCCAAACT CTGAGGTGAT TTATGCCTTA ATCAAGCAAA CTTCCCTCTT CAGAAAAGAT
-477 GGCTCATTTT CCCTCAAAAG TTGCCAGGAG CTGCCAAGTA TTCTGCCAAT TCACCCTGGA
-417 GCACAATCAA CAAATTCAGC CAGAACACAA CTACAGCTAC TATTAGAATC ATTATTATTA
-357 ATAAATTCCT CTCCAAATCT AGCCCTTGA CTTTCGGATTT CACGATTTCT CCCTTCCTCC
-297 TAGAAACTTG ATAAGTTTCC CGCGCTTCCC TTTTCTAAG ACTACATGTT TGTCATCTTA
-237 TAAAGCAAAG GGGTGAATAA ATGAACCAA TCAATAACTT CTGGAATATC TGCAACAAC
-177 AATAATATCA GCTATGCCAT CTTTCACTAT TTTAGCCAGT ATCGAGTTGA ATGAACATAG
-117 AAAAATACAA AACTGAATTC TTCCCTGTAA ATTCCCCGTT TTGACGACGC ACTTGTAGCC
-57 ACGTAGCCAC GCCTACTTAA GACAATTACA AAAGGCGAAG AAGACTGACT CAGGCTTAAG
4 CTGCCAGCCA GAGAGGGAGT CATTTCATTG GCGTTTGAGT CAGCAAAGGT ATTGTCTCA
64 CATCTCTGGC TATTAAAGTA TTTTCTGTTG TTGTTTTTCT CTTTGGCTGT TTTCTCTCAC
124 ATTGCCTTCT CTAAAGCTAC AGTCTCTCCT TTCTTTTCTT GTCCCTCCCT GGTTTGGTAT
184 GTGACCTAGA ATTACAGTCA GATTTTCAGAA AATGATTCTC TCATTTTGCT GATAAGGACT
244 GATTCGTTTT ACTGAGGGAC GGCAGAACTA GTTTCCTATG AGGGCATGGG TGAATACAAC
304 TGAGGCTTCT CATGGGAGGG AATCTCTACT ATCCAAAATT ATTAGGAGAA AATTGAAAAT
364 TTCCAACCTCT GTCTCTCTCT TACCTCTGTG TAAGGCAAAT ACCTTATTCT TGTGGTGTTC
424 TTGTAACCTC TTCAAACCTT CATTGATTGA ATGCCTGTTT TGGCAATACA TTAGGTTGGG
484 CACATAAGGA ATACCAACAT AAATAAAAGA TTCTAAAAGA AGTTTACGAT CTAATAAAGG
544 AGACAGGTAC ATAGCAAACCT AATTCAAAGG AGCTAGAAGA TGGAGAAAAT GCTGAATGTG
604 GACTAAGTCA TTCAACAAAG TTTTCAGGAA GCACAAAGAG GAGGGGCTCC CCTCACAGAT
664 ATCTGGATTA GAGGCTGGCT GAGCTGATGG TGGCTGGTGT TCTCTGTTGC AGAAGTCAAG
724 ATGGCCAAAG TTCCAGACAT GTTTGAAGAC CTGAAGAACT GTTACAGGTA AGGAATAAGA
784 TTTATCTCTT GTGATTTAAT GAGGGTTTCA AGGCTCACCA GAATCCAGCT AGGCATAACA
844 GTGGCCAGCA TGGGGGCAGG CCGGCAGAGG TTGTAGAGAT GTGTACTAGT CCTGAAGTCA
904 GAGCAGGTTT AGAGAAGACC CAGAAAAACT AAGCATTTCAG CATGTTAAAC TGAGATTACA
964 TTGGCAGGGA GACCGCCATT TTAGAAAAAT TATTTTGTAG GTCTGCTGAG CCCTACATGA
1024 ATATCAGCAT CAACTTAGAC ACAGCCTCTG TTGAGATCAC ATGCCCTGAT ATAAGAATGG
1084 GTTTTACTGG TCCATTCTCA GGAAACTTGG ATCTCATTCA GGAACAGGAA ATGGCTCCAC
1144 AGCAAGCTGG GCATGTGAAC TCACATATGC AGGCAAATCT CACTCAGATG TAGAAGAAAG
1204 GTAAATGAAC ACAAAGATAA AATTACGGAA CATATTAAAC TAACATGATG TTTCCATTAT
1264 CTGTAGTAAA TACTAACACA AACTAGGCTG TCAAAATTTT GCCTGGATAT TTTACTAAGT
1324 ATAAATTATG AAATCTGTTT TAGTGAATAC ATGAAAGTAA TGTGTAACAT ATAAT CTATT
1384 TGGTTAAAAA AAAAAGGAAG TGCTTCAAAA CCTTTCTTTT CTCTAAAGGA GCTTAACATT
1444 CTTCCCTGAA CTTCAATTAA AGCTCTTCAA TTTGTTAGCC AAGTCCAATT TTTACAGATA
1504 AAGCACAGGT AAAGCTCAAA GCCTGTCTTG ATGACTACTA ATTCCAGATT AGTAAGATAT
```

1. ábra folytatása

1564	GAATTACTCT	ACCTATGTGT	ATGTGTAGAA	GTCCTTAAAT	TTCAAAGATG	ACAGTAATGG
1624	CCATGTGTAT	GTGTGTGACC	CACAACTATC	ATGGTCATTA	AAGTACATTG	GCCAGAGACC
1684	ACATGAAATA	ACAACAATTA	CATTCTCATC	ATCTTATTTT	GACAGTGAAA	ATGAAGAAGA
1744	CAGTTCCTCC	ATTGATCATC	TGTCTCTGAA	TCAGGTAAGC	AAATGACTGT	AATTCTCATG
1804	GGACTGCTAT	TCTTACACAG	TGGTTTCTTC	ATCCAAAGAG	AACAGCAATG	ACTTGAATCT
1864	TAAATACTTT	TGTTTTACCC	TCACTAGAGA	TCCAGAGACC	TGTCTTTTCAT	TATAAGTGAG
1924	ACCAGCTGCC	TCTCTAAACT	AATAGTTGAT	GTGCATTGGC	TTCTCCCAGA	ACAGAGCAGA
1984	ACTATCCCAA	ATCCCTGAGA	ACTGGAGTCT	CCTGGGGCAG	GCTTCATCAG	GATGTTAGTT
2044	ATGCCATCCT	GAGAAAGCCC	CGCAGGCCGC	TTCACCAGGT	GTCTGTCTCC	TAACGTGATG
2104	TGTTGTGGTT	GTCTTCTCTG	ACACCAGCAT	CAGAGGTTAG	AGAAAGTCTC	CAAACATGAA
2164	GCTGAGAGAG	AGGAAGCAAG	CCAGCTGAAA	GTGAGAAGTC	TACAGCCACT	CATCAATCTG
2224	TGTTATTGTG	TTTGGAGACC	ACAAATAGAC	ACTATAAGTA	CTGCCTAGTA	TGTCTTCACT
2284	ACTGGCTTTA	AAAGCTGTCC	CCAAAGGAGT	ATTTCTAAAA	TATTTTGAGC	ATTGTTAAGC
2344	AGATTTTTAA	CCTCCTGAGA	GGGAACATA	TGGAAAGCTA	CCACTCACTA	CAATCATTGT
2404	TAACCTATTT	AGTTACAACA	TCTCATTTTT	GAGCATGCAA	ATAAATGAAA	AAGTCTTCCT
2464	AAAAAATCA	TCTTTTTATC	CTGGAAGGAG	GAAGGAAGGT	GAGACAAAAG	GGAGAGAGGG
2524	AGGGAAGCCT	AATGAAACAC	CAGTTACCTA	AGACCAGAAT	GGAGATCCTC	CTCACTACCT
2584	CTGTTGAATA	CAGCACCTAC	TGAAAGAACT	TTCATTCCCT	GACCATGAAC	AGCCTCTCAG
2644	CTTCTGTTTT	CCTTCCTCAC	AGAAATCCTT	CTATCATGTA	AGCTATGGCC	CACTCCATGA
2704	AGGCTGCGATG	GATCAATCTG	TGTCTCTGAG	TATCTCTGAA	ACCTCTAAAA	CATCCAAGCT
2764	TACCTTCAAG	GAGAGCATGG	TGGTAGTAGC	AACCAACGGG	AAGGTTCTGA	AGAAGAGACG
2824	GTTGAGTTTA	AGCCAATCCA	TCACTGATGA	TGACCTGGAG	GCCATCGCCA	ATGACTCAGA
2884	GGAAGGTAAG	GGGTCAAGCA	CAATAATATC	TTTCTTTTAC	AGTTTTAAGC	AAGTAGGGAC
2944	AGTAGAATTT	AGGGGAAAAT	TAAACGTGGA	GTCAGAATAA	CAAGAAGACA	ACCAAGCATT
3004	AGTCTGGTAA	CTATACAGAG	GAAAATTAAT	TTTTATCCTT	CTCCAGGAGG	GAGAAATGAG
3064	CAGTGGCCTG	AATCGAGAAT	ACTTGCTCAC	AGCCATTATT	TCTTAGCCAT	ATTGTAAAGG
3124	TCGTGTGACT	TTTAGCCTTT	CAGGAGAAAG	CAGTAATAAG	ACCATTACG	AGCTATGTTT
3184	CTCTCATACT	AACTATGCCT	CCTTGGTCAT	GTTACATAAT	CTTTTCGTGA	TTCAGTTTCC
3244	TCTACTGTAA	AATGGAGATA	ATCAGAATCC	CCCCTCATT	GGATTGTTGT	AAAGATTAAG
3304	AGTCTCAGGC	TTTACAGACT	GAGCTAGCTG	GGCCCTCCTG	ACTGTTATAA	AGATTAATATG
3364	AGTCAACATC	CCCTAACTTC	TGGACTAGAA	TAATGTCTGG	TACAAAGTAA	GCACCCAATA
3424	AATGTTAGCT	ATTACTATCA	TTATTATTAT	TATTTTATTT	TTTTTTTTTTG	AGATGCGAGTC
3484	TGGCTCTGTC	ACCCAGGCTG	GAGTGCAGTG	GCACAATCTC	GGCTCACTGC	AAGCTCTGCC
3544	TCCTGGGTTT	ATGCCATTCT	CCTGCCTCAG	CCTCCCGAGT	AAGCTGGGAA	TACAGGCACC
3604	CGCCACTGTT	CCCGGCTAAT	TTTTTGATT	TTTAGTAGAG	ACGGAGTTTC	ACCGTGGTCT
3664	CCATCTCCTC	GTGATCCACC	CACCTTGGCC	TCCCAAAGTG	CCGGGATTAC	AGGCGTGAGC
3724	CACCGCGCCC	GGCCTATTAT	TATTATTATT	ACTACTACTA	CTACCTATAT	GAATACTACC
3784	AGCAATACTA	ATTTATTAAT	GACTGGATTA	TGTCTAAACC	TCACAAGAAT	CCTACCTTCT
3844	CATTTTACAT	AAAAGGAAAC	TAAGCTCATT	GAGATAGGTA	AACCTGCCAA	TGGCATACAT
3904	CTGTAAGTGG	GAGAGCCTCA	AATCTAATTC	AGTTCTACCT	GAGTAAAAAA	ATCATGGTTT
3964	CTCCTCCATC	CCTTTACTGT	ACAAGCCTCC	ACATGAACTA	TAAACCCAAT	ATTCTGTGTT
4024	TTAAGATAAT	ACCTAAGCAA	TAACGCATGT	TCACCTAGAA	GGTTTTTAAAA	TGTAACAAAA
4084	TATAAGAAAA	TAAAAATCAC	TCATATCGTC	AGTGAGAGTT	TACTACTGCC	AGCACTATGG
4144	TATGTTTCCT	TAAAATCTTT	GCTATACACA	TACCTACATG	TGAACAAATA	TGTCTAACAT
4204	CAAGACCACA	CTATTTACAA	CTTTATATCC	AGCTTTTCTT	ACTTAGCAAT	GTATTGAGGA
4264	CATTTTAGAG	TGCCCGTTTT	TCACCATTAT	AAGCAATGCA	ACAATGAACA	TCTGTATAAA
4324	TAAATATTCA	TTTCTCTCAC	CCTTTATTTT	CTTAGAATAT	ATTCTTAGAA	GTAGAATTTT
4384	CCAGAGCCAT	GAGGATTTGT	GACGCTATTG	ATATGTGCCA	CTTTGCACTC	TCTGTGACAT
4444	ATATAATTAT	TTTTAATGCA	TTCATTTTTT	TCTCAGAGTG	CATTCTGTTG	AAAACATAGA
4504	CGGGAAATAC	TGGTAGTCTT	CCTTGTCAGT	TAGAAACACC	CAAACAATGA	AAAATGAAAA
4564	AGTTGCACAA	ATAGTCTCTA	AAAACAATGA	AACTATTGCC	TGAGGAATTG	AAGTTTAAAA
4624	AGAAGCACAT	AAGCAACAAC	AAGGATAATC	CTAGAAAACC	AGTTCTGCTG	ACTGGGTGAT
4684	TTCACTTCTC	TTTGCTTCCT	CATCTGGATT	GGAATATTCC	TAATACCCCC	TCCAGAATA

1. ábra folytatása

4744 TTTTCCCTGT TTGTACTIONA CTGTGTATAT CATCTGTGTT TGTACATAGA CATTAACTCTG
4804 CACTTGTGAT CATGGTTTTA GAAATCATCA AGCCTAGGTC ATCACCTTTT AGCTTCCTGA
4864 GCAATGTGAA ATACAACTTT ATGAGGATCA TCAAATACGA ATTCATCCTG AATGACGCCC
4924 TCAATCAAAG TATAATTCTA GCCAATGATC AGTACCTCAC GGCTGCTGCA TTACATAATC
4984 TGGATGAAGC AGGTACATTA AAATGGCACC AGACATTTCT GTCATCCTCC CCTCCTTTCA
5044 TTTACTTATT TATTTATTTT AATCTTTCTG CTTGCAAAAA ACATACCTCT TCAGAGTTCT
5104 GGGTTGCACA ATTCTTCCAG AATAGCTTGA AGCACAGCAC CCCCATAAAA ATCCCAAGCC
5164 AGGGCAGAAG GTTCAACTAA ATCTGGAAGT TCCACAAGAG AGAAGTTTCC TATCTTTGAG
5224 AGTAAAGGGT TGTGCACAAA GCTAGCTGAT GTACTACCTC TTTGGTTCTT TCAGACATTC
5284 TTACCCTCAA TTTTAAACT GAGGAACTG TCAGACATAT TAAATGATTT ACTCAGATTT
5344 ACCCAGAAGC CAATGAAGAA CAATCACTCT CCTTTAAAAA GTCTGTTGAT CAAACTCACA
5404 AGTAACACCA AACCAGGAAG ATCTTTATTA TCTCTGATAA CATATTTGTG AGGCAAAACC
5464 TCCAATAAGC TACAAATATG GCTTAAAGGA TGAAGTTTAG TGTCCAAAAA CTTTATCAC
5524 ACACATCCAA TTTTCATGGC GGACATGTTT TAGTTTCAAC AGTATACATA TTTTCAAAGG
5584 TCCAGAGAGG CAATTTTGCA ATAAACAAGC AAGACTTTTT CTGATTGGAT GCACTTCAGC
5644 TAACATGCTT TCAACTCTAC ATTTACAAAT TATTTTGTGT TCTATTTTTC TACTTAATAT
5704 TATTTCTGCA ATTTTCCCAA TATTGACATC GTGTATGTAT TTGCCATTTT TAATATCACT
5764 AGACAATTCA ATCAGGTTGC TACGTTGGTC CCTTGGGTTT ACTCTAAATA GCTTGATTGC
5824 AAATATCTTT GTATATATTA TTGTTTTTTC TCCTATCTTG TAATTTCTTT GAGCACATCC
5884 CAAAGAGGAA TGCCTAGATC AATGGGCACA AATAATTTGA CAGCTCTTAT TAAACATTAT
5944 TCTGTAAGTA AAAACTGAAC TACTTTTCAG TATCACTAGC AACATATGAG TGTATCAGCT
6004 TCCTAAACCC CTCCATGTTA GGTCAATTATG AACTTATGAT CTAACAAATT ACAGGGTCTT
6064 ATCCCACTAA TGAAATTATA AGAGATTCAA CACTTATTCA GCCCCGAAGG ATTCATTCAA
6124 CGTAGAAAAT TCTAAGAACA TTAACCAAGT ATTTACCTGC CTAGTGAGTG TGGAAGACAT
6184 TGTGAAGGAC ACAAAGATGT ATAGAATTCC ATTCCTGACT TCCAGGTATT TACACCATAG
6244 GTGGGGACCT AACTACACAC ACACACACAC ACACACACAC ACACACACAC ACCATGCACA
6304 CACAATCTAC ATCAACACTT GATTTTATAC AAATACAATG AATTTACTTT CTTTTTGGTT
6364 CTTCTCTTCA CCAGTGAAT TGTACATGGG TGCTTATAAG TCATCAAAGG ATGATGCTAA
6424 AATTACCGTG ATTCTAAGAA TCTCAAAAAC TCAATTGTAT GTGACTGCCC AAGATGAAGA
6484 CCAACCACTG CTGCTGAAGG TCAGTTGTCC TTTGTCTCCA ACTTACCTTC ATTTACATCT
6544 CATATGTTTT TAAATAAGCC CAATAGGCAG ACACCTCTAA CAAGGTGACA CTGTCTCTT
6604 TCCTTCCTAC CACAGCCCCC ACCTACCCAC CCCACTCCCA TTGATTCCAG AGGCGTGCCT
6664 AGGCAGGATC TATGAGAAAA TATAACAGAG AGTAAGAGGA AAATTACCTT CTTTCTTTTT
6724 CCTTTCCCTG CCTGACCTTA TTCACCTCCC ATCCCAGAGC ATCCATTTAT TCCATTGATC
6784 TTTACTGACA TCTATTATCT GACCTACACA ATACTAGACA TTAGGACAAT GTGGCCTGCC
6844 TCCAAGAAAC TCAAATAAGC CAACTGAGAT CAGAGAGGAT TAATCACCTG CCAATGGGCA
6904 CAAAGCAACA AGCTGGGAGC CAAGTCCCAA AATGGGGCCT GCTGCTTCCA GTTCCCCTCT
6964 CTCTGCATTG ATGTCAGCAT TATCCTTCGT CCCAGTCCTG TCTCCACTAC CACTTTCCCC
7024 CTCAAACACA CACACACACA ACAGCCTTAG ATGTTTTCTC CACTGATAAG TAGGTGACTC
7084 AATTGTGAAG TATATAATCC AAGACCTTCT ATTCCCAAGT AGAATTTATG TGCCTGCCTG
7144 TGCTTTTCTA CCTGGATCAA GTGATGTCTA CAGAGTAGGG CAGTAGCTTC ATTCATGAAC
7204 TCATTCAACA AGCATTATTC ACTGAGAGCC TTGTATTTTT CAGGCATAGT GCCAACAGCA
7264 GTGTGGACAG TGGTGCATCA AAGCCTCTAG TCTCATAGAA CTTAGTCTTC TGGAGGATAT
7324 GGAAAACAGA CAACCCAAAC AACCACAAA AGAGCAAGAT GCTGCAAAAA AAAAAAAAT
7384 GAATAGGGTG CTAAGATAGA GAAAGTGGG AGAGTGCTAT TTAGACAAAG TGGTAAAAAC
7444 AAAGCCCCTT GTGAGATGAG AGCTGCCGAC AGAGGGGGCG GGTCAATGGT GTGGGTTTTT
7504 GGGTAGGACA TTCAGAGGAG GGGGCGGGTC GTGGTTGTGG GTTTTTGGGT AGGACATTCA
7564 GAGGAGGGGG CGGGTCGTGG TTGTGGGTTT TTGGGTAGGA CATTCAAGAG AGGGGGCGGG
7624 TCGTGTTTGT GGGTTTTTGG GTAGGACATT CAGAGGAGGG GGCGGGTCGT GGTGTGGGT
7684 TTTTGGGACA TTCAGAGGAG TCTGAATGCA CCCAGGCCTA CAACTTCAAG ATGGTAAAGG
7744 ACAGCTCCAA GGATCAGAAG AAGCATTCTT GGAAGTGGGG CATTTTGAGA AGGAGGAAAA
7804 ATATGCAGAG ACTAGTGCTT GCAGAGCTTG CATTTGGATT TCATTTGAGG TACAATGAAA
7864 ACCCATTAAT GGGTTTCACA CAGTGCAATG GCCTGACCTC ACTTATATTT CCTAAAATAG

1. ábra folytatása

7924	AAAACAGATC	AGAAGGAAGG	CAATAGAGAA	GCAGAAAGTC	CAATGAGGAG	GTTTCACAGC
7984	AGTCATGGGG	GTGGGGTAAG	GAAAAGAAGT	GGAAAGAAAC	AGACAGAATT	GGGTTATATT
8044	TTGGAGATAG	AACCAACAGA	AGGAAGAGGA	GAAACAACAT	TTACTGAGAA	GGGAAAAAAGT
8104	AGGAGAGGAA	TAGGTTTGGG	AAATAAATCC	TGCTGACATT	GGAAACCCCA	AGGAAGCCTC
8164	AAAAGTATAT	TTACTTGCTT	TAGATTTAAA	AGAATAGGAA	AGAAGCATCT	CAACTTGGAA
8224	TTTGAAATCT	ATTTTCCAT	AAAAGTATTG	TTAAATTCTA	CTCATACTCA	CAAGAAAAAGT
8284	ACATTCTAAA	GAGTATATTG	AAAGAGTTTA	CTGATATACT	TAGGAATTTT	GTGTGTATGT
8344	GTGTGTGTGT	ATGTGTGTGT	GTGTGTTTAA	CCTTCAATTG	TTGACTTAAA	TACTGAGATA
8404	AATGTCATCT	AAATGCTAAA	TTGATTTCCC	AAAGGTATGA	TTTGTTCACT	TGGAGATCAA
8464	AATGTTTAGG	GGGCTTAGAA	TCACTGTAGT	GCTCAGATT	GATGCAAAAT	GTCTTAGGCC
8524	TATGTTGAAG	GCAGGACAGA	AACAATGTTT	CCCTCCTACC	TGCCTGGATA	CAGTAAGATA
8584	CTAGTGTAC	TGACAATCTT	CATACTAAT	TTAGATCTCT	CTCCAATCAA	CTAAGGAAAT
8644	CAACTCTTAT	TAATAGACTG	GGCCACACAT	CTACTAGGCA	TGTAATAAAT	GCTTGCTGAA
8704	TGAACAAATG	AATGAAGAGC	CTATAGCATC	ATGTTACAGC	CATAGTCCTA	AAGTGGTGT
8764	TCTCATGAAG	GCCAAATGCT	AAGGGATTGA	GCTTCAGTCC	TTTTTCTAAC	ATCTTGTCT
8824	CTAACAGAAT	TCTCTTCTTT	TCTTCATAGG	AGATGCCTGA	GATACCCAAA	ACCATCACAG
8884	GTAGTGAGAC	CAACCTCCTC	TTCTTCTGGG	AAACTCACGG	CACTAAGAAC	TATTTTCACAT
8944	CAGTTGCCCA	TCCAAACTTG	TTTATTGCCA	CAAAGCAAGA	CTACTGGGTG	TGCTTGGCAG
9004	GGGGGCCACC	CTCTATCACT	GACTTTTCAGA	TACTGGAAAA	CCAGGCGTAG	GTCTGGAGTC
9064	TCACTTGTCT	CACTTGTGCA	GTGTTGACAG	TTCATATGTA	CCATGTACAT	GAAGAAGCTA
9124	AATCCTTTAC	TGTTAGTCAT	TTGCTGAGCA	TGCTACTGAGC	CTTGTAATTC	TAAATGAATG
9184	TTTACACTCT	TTGTAAGAGT	GGAACCAACA	CTAACATATA	ATGTTGTTAT	TTAAAGAACA
9244	CCCTATATTT	TGCATAGTAC	CAATCATTTT	AATTATTATT	CTTCATAACA	ATTTTAGGAG
9304	GACCAGAGCT	ACTGACTATG	GCTACCAAAA	AGACTCTACC	CATATTACAG	ATGGGCAAAAT
9364	TAAGGCATAA	GAAAACTAAG	AAATATGCAC	AATAGCAGTT	GAAACAAGAA	GCCACAGACC
9424	TAGGATTTC	TGATTTTCATT	TCAACTGTTT	GCCTTCTGCT	TTTAAGTTGC	TGATGAACTC
9484	TTAATCAAAT	AGCATAAGTT	TCTGGGACCT	CAGTTTTATC	ATTTTCAAAA	TGGAGGGAAT
9544	AATACCTAAG	CCTTCCTGCC	GCAACAGTTT	TTTATGCTAA	TCAGGGAGGT	CATTTTGGTA
9604	AAATACTTCT	CGAAGCCGAG	CCTCAAGATG	AAGGCAAAGC	ACGAAATGTT	ATTTTTTAAT
9664	TATTATTTAT	ATATGTATTT	ATAAATATAT	TTAAGATAAT	TATAATATAC	TATATTTATG
9724	GGAACCCCTT	CATCCTCTGA	GTGTGACCAG	GCATCCTCCA	CAATAGCAGA	CAGTGTTTTC
9784	TGGGATAAGT	AAGTTTGATT	TCATTAATAC	AGGGCATTTT	GGTCCAAGTT	GTGCTTATCC
9844	CATAGCCAGG	AAACTCTGCA	TTCTAGTACT	TGGGAGACCT	GTAATCATAT	AATAAATGTA
9904	CATTAATTAC	CTTGAGCCAG	TAATTGGTCC	GATCTTTGAC	TCTTTTGCCA	TTAAACTTAC
9964	CTGGGCATT	TTGTTTCATT	CAATTCCACC	TGCAATCAAG	TCCTACAAGC	TAAAATTAGA
10024	TGAACTCAAC	TTTGACAACC	ATGAGACCAC	TGTTATCAAA	ACTTTCTTTT	CTGGAATGTA
10084	ATCAATGTTT	CTTCTAGGTT	CTAAAAATTG	TGATCAGACC	ATAATGTTAC	ATTATTATCA
10144	ACAATAGTGA	TTGATAGAGT	GTTATCAGTC	ATAACTAAAT	AAAGCTTGCA	ACAAAATTCT
10204	CTGACACATA	GTTATTCATT	GCCTTAATCA	TTATTTTACT	GCATGGTAAT	TAGGGACAAA
10264	TGGTAAATGT	TTACATAAAT	AATTGTATTT	AGTGTTACTT	TATAAAATCA	AACCAAGATT
10324	TTATATTTTT	TTCTCCTCTT	TGTTAGCTGC	CAGTATGCAT	AAATGGCATT	AAGAATGATA
10384	ATATTTCCGG	GTTCACTTAA	AGCTCATATT	ACACATACAC	AAAACATGTG	TTCCCATCTT
10444	TATACAAACT	CACACATACA	GAGCTACATT	AAAAACAAC	AATAGGCCAG	GCACGGTGGC
10504	TCAGACCTGT	AATCCCAGCA	CTTTGGGAGG			

A humán IL-1B-gén DNS-szekvenciája (GenBank deponálási száma: X04500)

```
-1933 AGAAAGAAAG AGAGAGAGAA AGAAAAGAAA GAGGAAGGAA GGAAGGAAGG AAGAAAGACA
-1873 GGCTCTGAGG AAGGTGGCAG TTCCTACAAC GGGAGAACCA GTGGTTAATT TGCAAAGTGG
-1813 ATCCTGTGGA GGCANNCAGA GGAGTCCCCT AGGCCACCCA GACAGGGCTT TTAGCTATCT
-1753 GCAGGCCAGA CACCAAATTT CAGGAGGGCT CAGTGTTAGG AATGGATTAT GGCTTATCAA
-1693 ATTCACAGGA AACTAACATG TTGAACAGCT TTTAGATTTT CTGTGGAAAA TATAACTTAC
-1633 TAAAGATGGA GTTCTTGTGA CTGACTCCTG ATATCAAGAT ACTGGGAGCC AAATTAAGAA
-1573 TCAGAAGGCT GCTTGGAGAG CAAGTCCATG AAATGCTCTT TTTCCCACAG TAGAACCTAT
-1513 TTCCCTCGTG TCTCAAATAC TTGCACAGAG GCTCACTCCC TTGGATAATG CAGAGCGAGC
-1453 ACGATACCTG GCACATACTA ATTTGAATAA AATGCTGTCA AATTTCCATT CACCCATTCA
-1393 AGCAGCAAAC TCTATCTCAC CTGAATGTAC ATGCCAGGCA CTGTGCTAGA CTTGGCTCAA
-1333 AAAGATTTCA GTTTCCTGGA GGAACCAGGA GGGCAAGGTT TCAACTCAGT GCTATAAGAA
-1273 GTGTTACAGG CTGGACACGG TGGCTCACGC CTGTAATCCC AACATTTGGG AGGCCGAGGC
-1213 GGGCAGATCA CAAGGTCAGG AGATCGAGAC CATCCTGGCT AACATGGTGA AACCCCTGTCT
-1153 CTAATAAAAA TACAAAAAAT TAGCCGGGCG TTGGCGGCAG GTGCCTGTAG TCCCAGCTGC
-1093 TGGGGAGGCT GAGGCAGGAG AATGGTGTGA ACCCGGGAGG CGGAACCTGC AGGGGGCCGA
-1033 GATCGTGCCA CTGCACTCCA GCCTGGGCGA CAGAGTGAGA CTCTGTCTCA AAAAAAAAAA
-973 AAAAGTGTTA TGATGCAGAC CTGTCAAAGA GGCAAAGGAG GGTGTTCCCTA CACTCCAGGC
-913 ACTGTTTATA ACCTGGACTC TCATTTCATC TACAAATGGA GGGCTCCCCT GGGCAGATCC
-853 CTGGAGCAGG CACTTTGCTG GTGTCTCGGT TAAAGAGAAA CTGATAACTC TTGGTATTAC
-793 CAAGAGATAG AGTCTCAGAT GGATATTCTT ACAGAAACAA TATTTCCACT TTTTCAGAGTT
-733 CACCAAAAAA TCATTTTAGG CAGAGCTCAT CTGGCATTGA TCTGGTTCAT CCATGAGATT
-673 GGCTAGGGTA ACAGCACCTG GTCTTGCAGG GTTGTGTGAG CTTATCTCCA GGGTTGCCCC
-613 AACTCCGTCA GGAGCCTGAA CCCTGCATAC CGTATGTTCT CTGCCCCAGC CAAGAAAGGT
-553 CAATTTTCTC CTCAGAGGCT CCTGCAATTG ACAGAGAGCT CCCGAGGCAG AGAACAGCAC
-493 CCAAGGTAGA GACCCACACC CTCAATACAG ACAGGGAGGG CTATTGGCCC TTCATTGTAC
-433 CCATTTATCC ATCTGTAAGT GGGAAGATTC CTAAACTTAA GTACAAAGAA GTGAATGAAG
-373 AAAAGTATGT GCATGTATAA ATCTGTGTGT CTTCCACTTT GTCCACATA TACTAAATTT
-313 AAACATTCTT CTAACGTGGG AAAATCCAGT ATTTTAATGT GGACATCAAC TGCACAACGA
-253 TTGTAGGAA AACAAATGCAT ATTTGCATGG TGATACATTG GCAAAATGTG TCATAGTTTG
-193 CTAATCCTTG CCCTTCCATG AACCAGAGAA TTATCTCAGT TTATTAGTCC CCTCCCCTAA
-133 GAAGCTTCCA CCAATACTCT TTTCCCCTTT CTTTAACTT GATTGTGAAA TCAGGTATTC
-73 AACAGAGAAA TTTCTCAGCC TCCTACTTCT GCTTTTGAAA GCTATAAAAA CAGCGAGGGA
-13 GAAACTGGCA GATACCAAAC CTCTTCGAGG CACAAGGCAC AACAGGCTGC TCTGGGATTC
48 TCTTCAGCCA ATCTTCATTG CTCAAGTATG ACTTTAATCT TCCTTACAAC TAGGTGCTAA
108 GGGAGTCTCT CTGTCTCTCT GCCTCTTTGT GTGTATGCAT ATTCTCTCTC TCTCTCTCTT
168 TCTTTCTCTG TCTCTCTCTC CCTCTCTCTC TGCCTCCTCT CTCAGCTTTT TGCAAAAATG
228 CCAGGTGTAA TATAATGCTT ATGACTCGGG AAATATTCTG GGAATGGATA CTGCTTATCT
288 AACAGCTGAC ACCCTAAAGG TTAGTGTCAA AGCCTCTGCT CCAGCTCTCC TAGCCAATAC
238 ATTGCTAGTT GGGGTTTGGT TTAGCAAATG CTTTCTCTTA GACCCAAAGG ACTTCTCTTT
308 CACACATTCA TTCATTTACT CAGAGATCAT TTCTTTGCAT GACTGCCATG CACTGGATGC
468 TGAGAGAAAT CACACATGAA CGTAGCCGTC ATGGGGAAGT CACTCATTTT CTCCTTTTTA
528 CACAGGTGTC TGAAGCAGCC ATGGCAGAAG TACCTGAGCT CGCCAGTGAA ATGATGGCTT
588 ATTACAGGTC AGTGGAGACG CTGAGACCAG TAACATGAGC AGGTCTCCTC TTTCAAGAGT
648 AGAGTGTTAT CTGTGCTTGG AGACCAGATT TTTCCCCTAA ATTGCCTCTT TCAGTGGCAA
708 ACAGGGTGCC AAGTAAATCT GATTTAAAGA CTACTTTCCC ATTACAAGTC CCTCCAGCCT
768 TGGGACCTGG AGGCTATCCA GATGTGTTGT TGCAAGGGCT TCCTGCAGAG GCAAATGGGG
828 AGAAAAGATT CCAAGCCAC AATACAAGGA ATCCCTTTGC AAAGTGTGGC TTGGAGGGAG
888 AGGGAGAGCT CAGATTTTAG CTGACTCTGC TGGGCTAGAG GTTAGGCCTC AAGATCCAAC
948 AGGGAGCACC AGGGTGCCCA CCTGCCAGGC CTAGAATCTG CTTTCTGGAC TGTTCTGCGC
1008 ATATCACTGT GAAACTTGCC AGGTGTTTCA GGCAGCTTTG AGAGGCAGGC TGTTTGCAGT
```

2. ábra folytatása

1068 TTCTTATGAA CAGTCAAGTC TTGTACACAG GGAAGGAAAA ATAAACCTGT TTAGAAGACA
1128 TAATTGAGAC ATGTCCCTGT TTTTATTACA GTGGCAATGA GGATGACTTG TTCTTTGAAG
1188 CTGATGGCCC TAAACAGATG AAGGTAAGAC TATGGGTTTA ACTCCCAACC CAAGGAAGGG
1248 CTCTAACACA GGGAAAGCTC AAAGAAGGGA GTTCTGGGCC ACTTTGATGC CATGGTATTT
1308 TGTTTTAGAA AGACTTTAAC CTCTTCCAGT GAGACACAGG CTGCACCACT TGCTGACCTG
1368 GCCACTTGGT CATCATATCA CCACAGTCAC TCACTAACGT TGGTGGTGGT GGCCACACTT
1428 GGTGGTGACA GGGGAGGAGT AGTGATAATG TTCCCATTTC ATAGTAGGAA GACAACCAAG
1488 TCTTCAACAT AAATTTGATT ATCCTTTTAA GAGATGGATT CAGCCTATGC CAATCACTTG
1548 AGTTAAACTC TGAAACCAAG AGATGATCTT GAGAATAAC ATATGTCTAC CCCTTTTGAG
1608 TAGAATAGTT TTTTGCTACC TGGGGTGAAG CTTATAACAA CAAGACATAG ATGATATAAA
1668 CAAAAAGATG AATTGAGACT TGAAAGAAAA CCATTCACCT GCTGTTTGAC CTTGACAAGT
1728 CATTTTACCC GCTTTGGACC TCATCTGAAA AATAAAGGGC TGAGCTGGAT GATCTCTGAG
1788 ATTCCAGCAT CCTGCAACCT CCAGTTCTGA AATATTTTCA GTTGTAGCTA AGGGCATTG
1848 GGCAGCAAAT GGTCAATTTT CAGACTCATC CTTACAAAGA GCCATGTTAT ATTCTGCTG
1908 TCCCTTCTGT TTTATATGAT GCTCAGTAGC CTTCTAGGT GCCAGCCAT CAGCCTAGCT
1968 AGGTCAAGTT TGCAGGTTGG AGGCAGCCAC TTTTCTCTGG CTTTATTTTA TTCCAGTTG
2028 TGATAGCCTC CCCTAGCCTC ATAATCCAGT CCTCAATCTT GTTAAAAACA TATTTCTTTA
2088 GAAGTTTAA GACTGGCATA ACTTCTTGCC TGCAGCTGTG GGAGGAGCCC ATTGGCTTGT
2148 CTGCCTGGCC TTTGCCCCC ATTGCCTCTT CCAGCAGCTT GGCTCTGCTC CAGGCAGGAA
2208 ATTCTCTCCT GCTCAACTTT CTTTGTGCA CTTACAGGTC TCTTTAACTG TCTTTCAAGC
2268 CTTTGAACCA TTATCAGCCT TAAGGCAACC TCAGTGAAGC CTTAATACGG AGCTTCTCTG
2328 AATAAGAGGA AAGTGGTAAC ATTCACAAA AAGTACTCTC ACAGGATTTG CAGAATGCCT
2388 ATGAGACAGT GTTATGAAAA AGGAAAAAAA AGAACAGTGT AGAAAAATTG AATACTTGCT
2448 GAGTGAGCAT AGGTGAATGG AAAATGTTAT GGTCATCTGC ATGAAAAAGC AAATCATAGT
2508 GTGACAGCAT TAGGGATACA AAAAGATATA GAGAAGGTAT ACATGTATGG TGTAGGTGGG
2568 GCATGTACAA AAAGATGACA AGTAGAATCG GGATTTATTC TAAAGAATAG CCTGTAAGGT
2628 GTCCAGAAGC CACATTCTAG TCTTGAGTCT GCCTCTACCT GCTGTGTGCC CTTGAGTACA
2688 CCCTTAACCT CCTTGAGCTT CAGAGAGGGA TAATCTTTTT ATTTTATTTT ATTTTATTTT
2748 GTTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT TTTTGT
2808 GTGCAGTGGT ACAATCTTGG CTTACTGCAT CCTCCACCTC CTGAGTTCAA GCGATTCTCC
2868 TTCTCAGTC TCCTGAATAG CTAGGATTAC AGGTGCACCC CACCACACCC AGCTAATTTT
2928 TGTATTTTTA GTAGAGAAGG GGTTCGCCA TGTTGGCCAG GCTGGTTTTG AAGTCCTGAC
2988 CTAAATGATT CATCCACCTC GGCTTCCCAA AGTGCTGGGA TTACAGGCAT GAGCCACCAC
3048 GCCTGGCCCA GAGAGGGATG ATCTTTAGAA GCTCGGGATT CTTTCAAGCC CTTTCTCCT
3108 CTCTGAGCTT TCTACTCTCT GATGTCAAAG CATGGTTCCT GGCAGGACCA CCTCACCAGG
3168 CTCCCTCCCT CGCTCTCTCC GCAGTGCTCC TTCCAGGACC TGGACCTCTG CCCTCTGGAT
3228 GGCGGCATCC AGCTACGAAT CTCCGACCAC CACTACAGCA AGGGCTTCAG GCAGGCCGCG
3288 TCAGTTGTTG TGGCCATGGA CAAGCTGAGG AAGATGCTGG TTCCCTGCCC ACAGACCTTC
3348 CAGGAGAATG ACCTGAGCAC CTTCTTTCCC TTCATCTTG AAGAAGGTAG TTAGCCAAGA
3408 GCAGGCAGTA GATCTCCACT TGTGTCTCT TGGAAATCAT CAAGCCCCAG CCAACTCAAT
3468 TCCCCAGAG CCAAAGCCCT TTAAAGGTAG AAGGCCCAGC GGGGAGACAA AACAAAGAAG
3528 GCTGGAAACC AAAGCAATCA TCTCTTTAGT GGAAACTATT CTTAAAGAAG ATCTTGATGG
3588 CTAAGTACAT TTGCAACTCC CTCACTCTTT CTCAGGGGCC TTTCACTTAC ATTGTCACCA
3648 GAGGTTGCTA ACCTCCCTGT GGGCTAGTGT TATGACCATC ACCATTTTAC CTAAGTAGCT
3708 CTGTTGCTCG GCCACAGTGA GCAGTAATAG ACCTGAAGCT GGAACCCATG TCTAATAGTG
3768 TCAGGTCCAG TGTTCTTAGC CACCCCACTC CCAGCTTCAT CCTACTGGT GTTGTCTACA
3828 GACTTTGACC GTATATGCTC AGGTGTCCTC CAAGAAATCA AATTTTGCCA CCTCGCCTCA
3888 CGAGGCCTGC CTTTCTGATT TTATACCTAA ACAACATGTG CTCCACATTT CAGAACCTAT
3948 CTTCTTCGAC ACATGGGATA ACGAGGCTTA TGTGCACGAT GCACCTGTAC GATCACTGAA
4008 CTGCACGCTC CGGGACTCAC AGCAAAAAAG CTTGGTGATG TCTGGTCCAT ATGAACTGAA
4068 AGCTCTCCAC CTCCAGGGAC AGGATATGGA GCAACAAGGT AAATGGAAAC ATCTGGTTT
4128 CCCTGCCTGG CCTCCTGGCA GCTTGCTAAT TCTCCATGTT TTAACAAAG TAGAAAGTTA
4188 ATTTAAGGCA AATGATCAAC ACAAGTGAAA AAAAATATTA AAAAGGAATA TACAACTTT

2. ábra folytatása

4248 GGTCTAGAA ATGGCACATT TGATTGCACT GGCCAGTGCA TTTGTTAACA GGAGTGTGAC
4308 CCTGAGAAAT TAGACGGCTC AAGCACTCCC AGGACCATGT CCACCCAAGT CTCTTGGGCA
4368 TAGTGCACTG TCAATTCTTC CACAATATGG GGTCAATTTGA TGGACATGGC CTAAGTGCCT
4428 GTGGGTTCTC TCTTCCTGTT GTTGAGGCTG AAACAAGAGT GCTGGAGCGA TAATGTGTCC
4488 ATCCCCCTCC CCAGTCTTCC CCCCTTGCCC CAACATCCGT CCCACCCAAT GCCAGGTGGT
4548 TCCTTGTAGG GAAATTTTAC CGCCCAGCAG GAACTTATAT CTCTCCGCTG TAACGGGCAA
4608 AAGTTTCAAG TCGGGTGAAC CCATCATTAG CTGTGGTGAT CTGCCTGGCA TCGTGCCACA
4668 GTAGCCAAAG CCTCTGCACA GGAGTGTGGG CAACTAAGGC TGCTGACTTT GAAGGACAGC
4728 CTCACTCAGG GGGAAGCTAT TTGCTCTCAG CCAGGCCAAG AAAATCCTGT TTCTTTGGAA
4788 TCGGGTAGTA AGAGTGATCC CAGGGCCTCC AATTGACACT GCTGTGACTG AGGAAGATCA
4848 AAATGAGTGT CTCTCTTTGG AGCCACTTTC CCAGCTCAGC CTCTCCTCTC CCAGTTTCTT
4908 CCCATGGGCT ACTCTCTGTT CCTGAAACAG TTCTGGTGCC TGATTTCTGG CAGAAGTACA
4968 GCTTCACCTC TTTCTTTTCC TTCCACATTG ATCAAGTTGT TCCGCTCCTG TGGATGGGCA
5028 CATTGCCAGC CAGTGACACA ATGGCTTCCT TCCTTCCTTC CTTGAGCATT TAAAATGTAG
5088 ACCCTCTTTC ATTCTCCGTT CCTACTGCTA TGAGGCTCTG AGAAACCCTC AGGCCTTTGA
5148 GGGGAAACCC TAAATCAACA AAATGACCCT GCTATTGTCT GTGAGAAGTC AAGTTATCCT
5208 GTGTCTTAGG CCAAGGAACC TCACTGTGGG TTCCCACAGA GGCTACCAAT TACATGTATC
5268 CTACTCTCGG GGCTAGGGGT TGGGGTGACC CTGCATGCTG TGTCCCTAAC CACAAGACCC
5328 CCTTCTTTCT TCAGTGGTGT TCTCCATGTC CTTTGTACAA GGAGAAGAAA GTAATGACAA
5388 AATACCTGTG GCCTTGGGCC TCAAGGAAAA GAATCTGTAC CTGTCTGCG TGTGAAAGA
5448 TGATAAGCCC ACTCTACAGC TGGAGGTAAG TGAATGCTAT GGAATGAAGC CCTTCTCAGC
5508 CTCCTGCTAC CACTTATTCC CAGACAATTC ACCTTCTCCC CGCCCCATC CCTAGGAAAA
5568 GCTGGGAACA GGTCTATTG ACAAGTTTTG CATTAATGTA AATAAATTTA ACATAATTTT
5628 TAAGTGCCTG CAACCTTCAA TCCTGCTGCA GAAAATTAAA TCATTTTGCC GATGTTATTA
5688 TGTCCTACCA TAGTTACAAC CCCAACAGAT TATATATTGT TAGGGCTGCT CTCATTTGAT
5748 AGACACCTTG GGAAATAGAT GACTTAAAGG GTCCCATTAT CACGTCCACT CCACTCCCAA
5808 AATCACCACC ACTATCACCT CCAGCTTTCT CAGCAAAAGC TTCATTTCCA AGTTGATGTC
5868 ATTCTAGGAC CATAAGGAAA AATACAATAA AAAGCCCCTG GAAACTAGGT ACTTCAAGAA
5928 GCTCTAGCTT AATTTTCACC CCCCCAAAAA AAAAAAATTC TCACCTACAT TATGCTCCTC
5988 AGCATTGTGGC ACTAAGTTTT AGAAAAGAAG AAGGGCTCTT TTAATAATCA CACAGAAGT
6048 TGGGGGCCCA GTTACAACCTC AGGAGTCTGG CTCCTGATCA TGTGACCTGC TCGTCAGTTT
6108 CCTTTCTGGC CAACCCAAAG AACATCTTTC CCATAGGCAT CTTTGTCCCT TGCCCCACAA
6168 AAATTCTTCT TTCTCTTTCTG CTGCAGAGTG TAGATCCCAA AAATTACCCA AAGAAGAAGA
6228 TGGAAAAGCG ATTTGTCTTC AACAGATAG AAATCAATAA CAAGCTGGAA TTTGAGTCTG
6288 CCCAGTTCCC CAACTGGTAC ATCAGCACCT CTCAAGCAGA AAACATGCCC GTCTTCCTGG
6348 GAGGGACCAA AGGCGGCCAG GATATAACTG ACTTCACCAT GCAATTTGTG TCTTCCTAAA
6408 GAGAGCTGTA CCCAGAGAGT CCTGTGCTGA ATGTGGACTC AATCCCTAGG GCTGGCAGAA
6468 AGGGAACAGA AAGGTTTTTG AGTACGGCTA TAGCCTGGAC TTTCTGTGTTG TCTACACCAA
6528 TGCCCAACTG CCTGCCTTAG GGTAGTGCTA AGAGGATCTC CTGTCCATCA GCCAGGACAG
6588 TCAGCTCTCT CTTTTTCAGG CCAATCCCCA GCCCTTTTGT TGAGCCAGGC CTCTCTCACC
6648 TCTCCTACTC ACTTAAAGCC CGCCTGACAG AAACCACGGC CACATTTGGT TCTAAGAAAC
6708 CCTCTGTCAT TCGCTCCCAC ATTCTGATGA GCAACCGCTT CCCTATTTAT TTATTTATTT
6768 GTTTGTTTGT TTTGATTCTT TGGTCTAATT TATTCAAAGG GGGCAAGAAG TAGCAGTGTC
6828 TGTAAGAGAG CCTAGTTTTT AATAGCTATG GAATCAATTC AATTTGGACT GGTGTGCTCT
6888 CTTTAAATCA AGTCCTTTAA TTAAGACTGA AAATATATAA GCTCAGATTA TTTAAATGGG
6948 AATATTTTATA AATGAGCAAA TATCATACTG TTCAATGGTT CTGAAATAAA CTTCACTGAA
7008 GAAAAAATAA AAAGGGTCTC TCCTGATCAT TGACTGTCTG GATTGACACT GACAGTAAGC
7068 AAACAGGCTG TGAGAGTTCT TGGGACTAAG CCCACTCCTC ATTGCTGAGT GCTGCAAGTA
7128 CCTAGAAATA TCCTTGGCCA CCGAAGACTA TCCTCCTCAC CCATCCCCTT TATTTCGTTG
7188 TTCAACAGAA GGATATTCAG TGCACATCTG GAACAGGATC AGCTGAAGCA CTGCAGGGAG
7248 TCAGGACTGG TAGTAACAGC TACCATGATT TATCTATCAA TGCACCAAAC ATCTGTTGAG
7308 CAAGCGCTAT GTACTAGGAG CTGGGAGTAC AGAGATGAGA ACAGTCACAA GTCCCTCCTC
7368 AGATAGGAGA GGCAGCTAGT TATAAGCAGA ACAAGGTAAC ATGACAAGTA GAGTAAGATA

2. ábra folytatása

7428 GAAGAACGAA GAGGAGTAGC CAGGAAGGAG GGAGGAGAAC GACATAAGAA TCAAGCCTAA
7488 AGGGATAAAC AGAAGATTTC CACACATGGG CTGGGCCAAT TGGGTGTCGG TTACGCCTGT
7548 AATCCCAGCA CTTTGGGTGG CAGGGGCAGA AAGATCGCTT GAGCCCAGGA GTTCAAGACC
7608 AGCCTGGGCA ACATAGTGAG ACTCCCATCT CTACAAAAA TAAATAAATA AATAAAACAA
7668 TCAGCCAGGC ATGCTGGCAT GCACCTGTAG TCCTAGCTAC TTGGGAAGCT GACACTGGAG
7728 GATTGCTTGA GCCCAGAAGT TCAAGACTGC AGTGAGCTTA TCCGTTGACC TGCAGGTCGA
7788 C

3. ábra

A humán IL-1RN-gén DNS-szekvenciája (GenBank deponálási száma: X64532)

```
-5988 GTCGACCTGC AGGTCAACGG ATCTGAGAGG AGAGTAGCTT CTTGTAGATA ACAGTTGGAT
-5929 TATATACCAT GTCCTGATCC CCTTCATCAT CCAGGAGAGC AGAGGTGGTC ACCCTGATAG
-5868 CAGCAAGCCT GGGGGCTGCA GCTTGGTGGG TAGAGGTACT CAGGGGTACA GATGTCTCCA
-5808 AACCTGTCCT GCTGCCTTAG GGAGCTTCTA ATAAGTTGAT GGATTTGGTT AAAATTAAGT
-5748 TGGCTACTTG GCAGGACTGG GTCAGTGAGG ACCAACAAAA AGAAGACATC AGATTATACC
-5688 CTGGGGGTTT GTATTTCTTG TGTTCCTTTC TCTTCTTTGT ACTAAAATAT TTACCCATGA
-5628 CTGGGAAAGA GCAACTGGAG TCTTTGTAGC ATTATCTTAG CAAAAATTTA CAAAGTTTGG
-5568 AAAACAATAT TGCCCATATT GTGTGGTGTG TCCTGTGACA CTCAGGATTC AAGTGTGGC
-5508 CGAAGCCACT AAATGTGAGA TGAAGCCATT ACAAGGCAGT GTGCACATCT GTCCACCCAA
-5448 GCTGGATGCC AACATTTTAC AAATAGTGCT TGGCTGACAC AAATGCAGTT CCAGGAGGCC
-5388 CAAATGAAAA TGTGTGACT GAAATTTGTT AAAGCTTCCC GACAACTAG ATTTATCAGT
-5328 AAGGATTGTT TTCTGCAAGG GGGATGAAAC TTGTGGGGTG AGCCATTTGG GCTGAGGAGG
-5268 AGGGAGGTTG GAGCTGAGAA ATGTGGAGAC AATTTCCCTT TAGAAGGACT GAATCTCCCT
-5208 GCCTCTCTGG GGTGCGGCAG CCAGCAGGAT CCAATGCTGT ATATGTCTCC CCAGCTCCCC
-5148 ATTCAGTGAT ATCATGTCAG TAGCTTGAAA TTATCCGTGG TGGGAGTATT ATGTCTATGA
-5088 AATTGGCAAA TGGAAACTTT TATTGGAGAT TCAATTGTTA AACTTTTACC AGCACAACAC
-5028 TGCCCTGCCT TCAGAGTCAA TGACCCTATC CAAGTTTAAT CCATCTGTCC ACTGTCTCCA
-4968 ACACGATCTT TATAAAACAC ACCTGACAAC ATTACCCCTT TATTGAGTTT TTTAAAAGAT
-4908 AAGTTTCCAG CTCATCGGGG TGGCTTTAAA GGCCATTTCT CCTCTGGACC TCACCCAACT
-4848 TTTCAAATCA CTTTTCTTAC CCCTACCTCT AAATGCTACT CAAACTCCAG CCATCCTGAA
-4788 TAATAAGACT TTTGAAAAGT AGATTATGGG CTGGGCACAG TGGCTCACAC CTGTAATCCC
-4728 AGCACTTTGG GAGGCCAAGA TGGGTGGATC ACCTGAGGTC GGGAGTTCGA GACCAGCCTG
-4668 ACTAACATAG TGAAACCCTG TCTCTACTAA AAATACAAAA TTAGTTGGGG GTGGTGGCAC
-4608 AAGCCTGTAA TCCCAGCTAC TCAGGAGGTT GAGGCAGGGG AATTGCTTGA ACCTGGGAGG
-4548 CGGAGGTTGC GGTGAGCCTA GATTGCTCCA CTGCACTCCA GCCTGGGCAA CAAGAGCGAA
-4488 ACTCCATCTC AAAAAAATAA ATAAATAAAT AAAGTAGATT ACATCAGATA CCTCTGGCCT
-4428 AGGTTGTTTA TGACCAACTC TCCTGCTGAG AATAACTAGA AAAGCTAGAC AAAACATATT
-4368 TCCAAAAGAT CTCTTTGGAG GCATCAGAGA ATGGCCAAGG CTGTAAGGAA CTGCCTGAGC
-4308 CCAGAGAGGT GGAGCCCAGC ACTGGTGCCC TTTACTCCTG GGGACATGTG CTGGTTTCAA
-4248 AAACCTCAGC TGAGCTTTTG AGCATTTCAT GAACTTGGTG GGGGAGATGA AATTGTACC
-4188 TTAAATCCTG CCTACAGGGA GGGTCCCTGA TAATCCCCAC CCAATTTGGA AATCTGGGTC
-4128 AGCCTTCACA GGTACTGAAG CCCTCCTCTG AATGATCTCA AGTCTGCTA GGGTAGAGGT
-4068 TACCTGCTTT TGAAAGGCTC CTGGCCTACC TGTGCAGCAG GAGCAAAAGT GAACCATCTC
-3948 AGGGTACAGA TAACAATCAT CCAGAGCCTT GAATGACCTC TACTGTGCTT AATATATAGT
-3888 ATAGGCAATA AATTGAGATC CAGCAGGGAT TTGAATCATG GATTTGAATC AGGGGCAGCC
-3828 TTCGAAAGAA CTATGGAGAA TATACTCAGA TTTAAAACAT AAGATTGGAA TTTTGGCAG
-3768 AGAACTAACA ACTGTACAAA AAAGGAACCA AATGGAAATC CTAGAACTGA AAGATGCAAT
-3708 TAACCGATGT TGAGAAATAG CCAACATCTA TTGAACACTT CCCATGTGGA CAGCTGTGCT
-3648 AAACACTTTA CAGGCATCAA CATAAGATGT GTCCCCTTAC AGCAGTGCAG TGTCCCTCCT
-3588 AAGACATGGA CAGCCTGGTT TCCCTATCTC TCTGCTTCAT CAAAACCCCT TTACGTGGGG
-3528 CTTAGACACT CCTGTTGTCT CTAGTGTCTA GTAGCACAGG GCTCAGCACA TGAAGCCAC
-3468 TAGATACAAT TTGATGACCA GGACCTCCGA TGAAAGCCAT GGGTGCTGAT TGGGAAGGCA
-3408 TTGTCTTTTA TGTGCTATGG TCTTAAAGCT TCATCCAGGA AGCAGAACTC GGGGGGTGCT
-3348 GAGGACCCAG AACCAGAGAT AAGATTAGTC AGAGATTTC TGTGGGCAGA AATCATAAGG
-3288 ACGCCAACCTG TTTGGGTGAG ATAAGACGAA ACCAAGAGTG GACTTGTGGC CAGAAGCGTG
-3228 AGGAAGAGGG AGAGAGCTTC CCTTGTCCCC TTTCTTCCTC TCCCTAAGCC ACAGTGATTG
-3168 ACAGCCCCC CGCTTTGGAG TCAGAGCAGG CTTGAGACTG GACTGGGAAA GGAGGGTGGG
-3108 TCAGGATACA GAGCAGGAAG GCTGGGAGTG CAGGGCAGGA GCAAGGGGCT GGGGCATTCA
-3048 TTGTGCCTGA TCTCTCCAC TTTACCTGGG GTAAAGAAGC ATATGCAAAA GCCACGGTGT
```

3. ábra folytatása

-2988 GAGTATTTCC CAAGTGCCAG GGTGAGGGCA TGATTTCATCA CGTGCAGCAT TTCATTCAAT
-2928 CCTTATAGTA ACCGATGATG TGGCTTCTAT TATTAGCTCT ATCAGATAAT GAAACTGAGA
-2868 CCAAGACAGG CTCTGCACAT TGTGTGGGGT AATGACACAG GGGGATTTCAG ACCTAGACTC
-2808 CATAACTCCT GCCCCAGGGA CCACCCCCAC CCTCACCCTG TGCATGTCGA CAAAGGACAG
-2748 ACTGGGCCAC TTCTCAGGAC ACAGCGGGGA AATGACACAG AGCAGGGAGG TTCCAGGAGC
-2688 CCCGAGCGTC TTTTCTCCAG GAGAATACTC TCTGAATTCA GACTGGGGTC AGAGAAACAT
-2628 TTACCCAGGA GCCGCAGTGT GGGTGGGGCT TTTTACTTGA AACGCTGTCT GAAGGCAGTG
-2568 GCAGGATGAA CTCTCCACCC TACCTTGGA AGCCACTTCT CTTCTGCAAT CTGTAAGGAC
-2508 ATTGTTGAGA GAATTATGGT CTTCGAATTC CGGAGGGTTG AAGAAAGACA AATAGGAGAG
-2448 AACCTATCAT AGTCAGGTGC TAGCTGCCTT CTCTTTCAGA GAGTGTGAGA ATAAAGTGAT
-2388 ACACTTGATT ATTAGCAAAT ACTTTGGAAA TTTTAAACGC TAATATTCAA CACACTCTGG
-2328 AAGAGGCAAA TAAGTAGACA GGTTTCATATA CATCATCTCC TTCAGCTAGT CCTCACAAAA
-2268 ACAAACAAAT GAATAAACAA AATTCTTCTT TGGCCCTCAT AGGAAGACAC TGTTCCTTGA
-2208 ACGTGTTCAT AAAAGGATGG GTGACTCACT CAAGGTCACA CTGTTTATGA GGACAGTACA
-2148 GGAATACAGA CATGCCATTT TGCCTGAAAA AATCCATCAC CCAGGGAGGT GACACAATTT
-2088 TGCAGAAATG TTCTATTTCC TCTGAAGGAT ACATTCTTTA AACCTTTGGG AAATTCATTC
-2028 ATAGTCTTCC TCCTTTGAAG GATTACTCTC TGGACACAAA GTGTTTGATT CTGATTTGTT
-1968 GGTTGGAAGA TGTGTTGGTT GAGAGAAAGA TTCTGATTTG TTGGTTGAAA ATAGACTCAT
-1908 CAAGATCAAC TGCTGTAGTA GTAAATATTT TGACATTTTG TCTGTATTCC TGTGCTGCCC
-1848 TCACAAGCTG CATCACCTTG AGTGAGTCAT TCATACTTTT TTGTTTGTTT TTGTTTGGGA
-1788 GATGGAGTCT TACTCTGTTG CCTAGGCTGG AGTGCGGTGG CGTGATCTTG GCTCACTGCG
-1728 ACCTCCATCT CCTGGGTTCA AGTGATCCTC CTGCCTCAGC CTCCCAGTA GCTGGGATTA
-1668 CAGGCACATG CCACCATCCC TGCTAATTTT TGCATTTTCA CTAGAGACGG AGTTTCACCA
-1608 TGTGGTCAG GTTGGTCTTG AACTCCTGAC CTCAGGTGAT CCGCCACCT CAGCCTCCCC
-1548 AAGTGCTGGG ATTACAGGTG TGAGCCACCG TGCCCAGCCC AGCCATCATT TTTGAAACAC
-1488 GTTTGAGAAA TAGTGTCTTC CTTTGAGGGC CAAGGAGACA TTTTTTTTGT TTATTTGTTT
-1428 GTTTTTGTGA GGAAGTCTG AAGGGGGTGA TGTATATTAA CCTGCCTACT TATTTGCCTC
-1368 TTCCCAGAGT GTGATGAATA TTAGGGTTTA AAGTTTCTGA AGCATTGTGT AATAAAGCCC
-1308 GGGGCTGGAG GTCAGAAGAC CTGGATTTCT CTGCATACTT TTGCCATCAG CAAGCTGTGT
-1248 GACCTTGGAC AGATCCCTTT TTTGTCTAAA TCTTTCTGAG TCTTCTTGAA AACATGGCCA
-1188 GGTTGGGACA GGATGATTGC CAAGCTCCCG TCCAGCTCTA TGCAGAAATT CTCTTCAACT TTTCTCTACC
-1128 CTGCACCAGC ACTGTCCATC CTGTAGATCA TGCAGAAATT CTCTTCAACT TTTCTCTACC
-1068 CATAAAATAG GAGCATGCTT ACCTTTTTTCC TAATGTTCCA GGCCCCGGGT CTAGATATTG
-1008 TAAGTAAGGA AGTTAATGTG TATCAGAGCC CATTATGGGC CAGAAAGTCT CCTCTTCCCT
-948 CCTACACCTG CTTCTCTCCCT CCCTCCCTCC CTCTTTCCCT TCCTTCCTTC CATCCATTTG
-888 TGAAGAAGAC ATGATCACCC TCATTCTGAG AGTGAAGAGA CAGAGGCTCA ACTAATGAAA
-828 TGATTTGTTT AAGGTCACAC GGGTGGCACA AGGCAAGTGG CAGAGGTTGA ATTTAGACCC
-768 ATTCTGTGCC AAATGCTGAG TTTATGTCAT CGTCCCGAGA CCATAACTTT AAAGATGTAA
-708 GATAGTGGGA AAAGAGTTGA TTTCAAAGCA CCTCTCAGAA GGACTCACTT TACATCAGGG
-648 GTCAGCAGAC TCAGGCCAAA TCCGGTCCAT TCCCCGCTTT TGCAAGAAA GTTGTAGTGG
-588 AACACAGCTA GGCTTATTGA TTTATGGATT GCCAACGTCC TTTTGTGAAA CAGACAGCTG
-528 AGCTGAGTAA TCGTGGCGCA CAAAACCTAA AATATTTACT ATCTCGTCTT TTACAGAATG
-468 TTTGCCAATC TATGGTCCGG AGTCCAAGGC TGTCATTTT TCAAAGACA CAAAGTGACA
-408 TGAGACTGTC CCATGTGCAG GGAGCCCTAT CATTTTATTA TGAAGGAGG GCCTTTCTGC
-348 TCAAATCTGT TTTTTAAAA GTCAACAAAC AGACTCTGGG TACCTGTCAG GAACAGTAGG
-288 GAGTTTGGTT TCCATTGTGC TCTTCTTCCC AGGAACTCAA TGAAGGGGAA ATAGAAATCT
-228 TAATTTTGGG GAAATTGCAC AGGGGAAAAA GGGGAGGGAA TCAGTTACAA CACTCCATTG
-168 CGACACTTAG TGGGGTTGAA AGTGACAACA GCAAGGGTTT CTCTTTTGG AAATGCGAGG
-108 AGGGTATTTT CGCTTCTCGC AGTGGGGCAG GGTGGCAGAC GCCTAGCTTG GGTGAGTGAC
-48 TATTTCTTTA TAAACCACAA CTCTGGGCCC GCAATGGCAG TCCACTGCTT GCTGCAGTCA
13 CAGAATGGAA ATCTGCAGAG GCCTCCGCAG TCACCTAATC ACTCTCCTCC TCTTCTGT
73 CCATTTCAGAG ACGATCTGCC GACCCTCTGG GAGAAAATCC AGCAAGATGC AAGCCTTCAG
133 GTAAGGCTAC CCAAGGAGG AGAAGGTGAG GGTGGATCAG CTGGAGACTG GAAACATATC

3. ábra folytatása

193 ACAGCTGCCA GGGCTGCCAG GCCAGAGGGC CTGAGAACTG GGTTTGGGCT GGAGAGGATG
253 TCCATTATTC AAGAAAGAGG CTGTTACATG CATGGGCTTC AGGACTTGTG TTTCAAAATA
313 TCCCAGATGT GGATAGTGCG ACCGGAGGGC TGTCTTACTT TCCCAGAGAC TCAGGAACCC
373 AGTGAGTAAT AGATGCATGC CAAGGAGTGG GACTGCGATT CAGGCCTAGT TGAATGTGCT
433 GACAGAGAAG CAGAGAGGGG CACCAGGGGC ACAGCCCGAA GGCCCAGACT GATATGGGCA
493 AGGCCTGTCT GTGCTGACAT GTCGGAGGGT CCCACTCTCC AGGGACCTTG GTTTCCCCGT
553 CTGTGACATC TGTGACATGA GAGTCACGAT AACTCCTTGT GTGCCTTACA GGGTTGTTGT
613 GAAAATTAAA TGCACAGATA ATAGCGTAAC AGTATTCCGT GCATTGTAAA GAGCCTGAAA
673 ACCATTATGA TTTGAAAATG GAATCGGCTT TGTGAGACCA TCACTATTGT AAAGATGTGA
733 TGCTGATAGA AATGACAGGA CTGCTTGTGC ATGCCCTCTG CAGTGTGACA TTCCAGCAGT
793 GAAATCATGT TGGGGTGACT TCTCCCCCAC TCTGACCTTT ATGTTTGTCT GGGCCGAGGC
853 TGCAAGTCGG GCTCTGTGGG TGTATGAGTG ACAAGTCTCT CCCTTCCAGA TATGGGGACT
913 GTCTGCTTCC CTAGGTTGCC TCTCCCTGCT CTGATCAGCT AGAAGCTCCA GGAGATCCTC
973 CTGGAGGCCC CAGCAGGTGA TGTTTATCCC TCCAGACTGA GGCTAAATCT AGAACTAGG
1033 ATAATCACAA ACAGGCCAAT GCTGCCATAT GCAAAGCACT TTGGTTTGCC TGGCCACCCC
1093 TCGTCGAGCA TGTGGGCTCT TCAGAGCACC TGATGAGGTG GGTACAGTTA GCCACACTTC
1153 ACAGGTGAAG AGGTGAGGCA CAGGTCCCAG GTCAGGCTGG CCGGAGCTCT GTTTATTACG
1213 TCTCACAGCT TTGAGTCCTG CTCTCAACCA GAGAGGCCCT TTACCAAGAA GAAAGGATTG
1273 GGACCCAGAA TCAGGTCACT GGCTGAGGTA GAGAGGAAGC CGGGTTGTTC CCAAGGGTAG
1333 CTGCTCCTGC AGGACTCTGA GCAGGTCACC AGCTAATGGA GGAAAGGCTC TAGGGAAAGA
1393 CCCTTCTGGT CTCAGACTCA GAGCGAGTTA GCTGCAAGGT GTTCCGTCTC TTGAACTTC
1453 TACCTAGGTG CTATGGTAGC CACTAGTCTC AGGTGGCTAT TTAAATTTAT ACTTAAATGA
1513 ATGAAAATAG AAGAAAATTT AAAATCCAGA CCCTTGCTCA CACTATCCAC ATTTAAAGAG
1573 GTCAATAGCC ACATGTGGTT AGTGGCCACC CTATTGGGCA GTGCAGCTAC AGAACATTTT
1633 TGCATCCAG AAAGTTCTTT TGGATGTTGC TGCTCTACAG CATGCTTTGC TGAACAGAA
1693 GTGCCTTCCC TGGGAATCTC AGATGGGAAG GTTGGGCCTG CCTCTTAACC ATTGTCAGCC TCAGTCTTCT
1753 ACTGCTCACC AGCTGTGAGG GTTGGGCCTG ATACTAAAT ACTATACCC TGAAGAGCT GGATGCAAAT
1813 CATCCATGCA TGCCGTGGGT CTGGGGGACA CAGGAAGGTG CCAAGCACAA GGCTGGGCAC ATGGTGGCTG
1873 TTGACAAGTT CTGAGTCCTT TTCCTTTTCA GAATCTGGGA TGTTAACCAG AAGACCTTCT
1933 TGCATACAG CTGAGTCCTT GTTGCTGGAT ACTTGCAAGG ACCAAATGTC AATTTAGAAG
1993 ATCTGAGGAA CAACCAACTA GGTGCTGGAT TGGGCATCAC GTCACCTTGC CCGTCTGTCT
2053 GTGAGTGGTT GCCAGGAAAG CCAATGTATC AGGTGCAATG TCCTAATCCT TGTGGGTCT
2113 GCAGCAGCAT GGCCTGCCTG CACAAACCCT GGGAGGGCCT GGCTACTGAA GGGCACATAT GAGGGTAGCC
2173 TTGTATTCAA GTTTGAAGCT AGAGTCTAGG TCAGAGGTCA GTGCCTATAG GCAAGTGGTC
2233 TGAAGAGGGT GTGGAGAGGT AGAGTCTAGG AGAAGGCAAG GTTGACCATT CCCTTCCTCA
2293 CCAGGGCCAC AGCTGGGAAG GGCAAATACC TGTTCATACC CTAACCTAAT CCCAAATTAA
2353 AGTGCCTATT AAGGCTCCAT GTTCTATGT GCTATGTCTC TTATTCCTGG ACACCATACT CAGCCATATC
2413 TCCACCATGT ATAAGGTTGA GCTATGTCTC GGATGACCTT GAAGAAGCTT CACCCACTCT GTTCTCAGC
2473 TGGTCCACAC ATTAACAGCT GGATGACCTT CAACAGGATG TGCGATTCTT TTAGTTCCAG
2533 TTTCCCTTCA GTGGGATGAT ATCAACTGGA TTGTTGTAGG ATGGTATTAC CTCCACCTTC
2593 CCTTCCAGGA TGTTTTTCACT CCCCTGTTTG TGTGCCTCGC TCTGAAAGTG GATGAGACCT
2653 CCACCTTCCC TATGCCCTGG TTCTGTCTCC AACACACTGA AGCAGGAGGA AGCTGAGATT
2713 ACAATTCCTG TCCTGGTAGT TCTCCTAATG TTAGGGAGAG AGGAGGTTCA GAGACTCCTA
2773 TTTGTTGCTA CATGAGAGCA TGGAGGCCTC GTTCATTTTC CCTGCCCCTC AGCAACACTC
2833 GGCTCCTGGT GGAGCCCCAC TCATGGCCTT AAAGTGAGGG AAATATGGAC ATCACATGGA
2893 CTATTGACCT GGAGCACAGG TATCCTGGGG GCCTCTAGGA GTAAGTGGGT AGTGTGCATC CTGGGGAAAG
2953 ACAACATCCA GGAGACTCAG GCCTCTAGGA CATGGAACAA CATCCAGGAG ACTCAGGCCT CTAGGAGTAA
3013 TGAGGGAAAT ATGGACATCA CATGGAACAA ACATCACATG GAACAACATC
3073 CTGGGTAAGT TGCATCCTGG GGAAAGTGAG GGAAATATGG ACATCACATG AGTGAGGGAA
3133 CAGGAGACTC AGGCCTCTAG GAGTAACTGG GTAGTGTGCA TCCTGGGGAA AGTGGGGTAA
3193 ATATGGACAT CACATGGAAC AACATCCAGG AGACTCAGGC CTCTAGGAGT AACTGGGTAG
3253 TGTGCTTGGT TTAATCTTCT ATTTACCTGC AGACCAGGAA GATGAGACCT CTCTGCCCTT
3313 CTGACCTCGG GATTTTAGTT TTGTGGGGAC CAGGGGAGAT AGAAAAATAC CCGGGGTCTC

3. ábra folytatása

3373 TTCATTATTG CTGCTTCCTC TTCTATTAAC CTGACCCTCC CCTCTGTTCT TCCCCAGAAA
3433 AGATAGATGT GGTACCCATT GAGCCTCATG CTCTGTTCTT GGGGAATCCAT GGAGGGAAGA
3493 TGTGCCTGTC CTGTGTCAAG TCTGGTGATG AGACCAGACT CCAGCTGGAG GTAAAAACAT
3553 GCTTTGGATC TCAAATCACC CCAAAACCCA GTGGCTTGAA ACAACCAAAA TTTTTTCTTA
3613 TGATTCTGTG GGTTGACCAG GATTAGCTGG GTAGTTCTGT TCCATGTGGT GGAACATGCT
3673 GGGGTCACCT TGGAAGCTGC ATTCAGCAGA GTGCCAGGCT TGCGCTGGGC ATCCAAGGTG
3733 GTCCCTCATC CTCCAGGCTC TCTTTCCATG TGATCTCTCA GTGTTTAAGA GTTAGTTGGA
3793 GCTTCCTTAC AGCATGGCGG CTGACTTCCA AAAGGGATTA TTCCAAAAAG AGCCTCAACA
3853 TGCAGGCGCT TATTATGACT TCTGTTGCA TCATCCTATT GGCCAAAGCC AGTCACGTGG
3913 CTAAGTCTAG CCCCCTGTGA GAGGAGACTG CATAAGAGTG TGAACACCAG GAGACACGGT
3973 CACTGGGGGC CACCACTGTA ACCATCTACC ACAGGACCTG AATCTCTGTG TGCTACTCCC
4033 TTGCTCAAGG GCCCCCTAC CCACGCAGAC CTGCTGTCTT CTAGCAAAGC CCATCCTCAG
4093 GACCTTTCTC TTCCAATCCT TATTGACTCA AATGATTAG TTGGTGCTCC ACCCAGAGCC
4153 CTGTGCTCCT TTATCTCATG TAATGTTAAT GGGTTTCCCA GCCCTGGGAA AACATGGCTT
4213 TGTCTCAGGG GCTTGCTGGA TGCAACCTTA ACCTCAATGT GAGTGGCCAT ACTGTGGCAC
4273 TGTCCCATCC CTCACCAGGG ACACTGTTCT GGAGGGTGAC TGCCTGTTCT GTGAGGAGTG
4333 GGGATGGCTA GGACATTGCA TGGAACACAC CACCACCCCA TCTTCTCAGA GCTCAAACCC
4393 TGACAGAACA CCAGCTCCAC AGGCCTTGGC TTCTGCTGAT GTTGCCGTGT ATTTACCAGA
4453 CTTAGTGGTC CAAGGCCAGA GTGGCAGATT TCCCAAAGTC AAGGTGTGAC AGTGGGACAG
4513 CCTCTTTGTG TCTTTGCTGT CCTAAGAAAC CTGGGCCAGG CCAGGCGCAG TGGCTCACGC
4573 CTTGTAATCC CAGCACTTTG AGAGGCCAAG GTGGGCAGAT CACGAGTCA GGAGTTGAG
4633 ACCAGCCTGG CCAACATTGG TGAAACCCTG TCTCTATTAA AAATAGAAAA CATTAGACAG
4693 GTGTGGTGGT GCATGCCTGT AATCCCAGCT ACTCAGGAGG CTGAGGCAGG AGAATCGCTT
4753 GAACCCAGGA GGTGGAGGTT GCAGTGAGCC GAGATTGTGC CACTGCACTC CAGCTAGGC
4813 GACAGAGCAA GACTCCGTCT CGGGAAAATT AATTAATAAA TAAATAAACC TAGGTCCCAG
4873 AGTCCCACAG AATGGCAGAC AGGAGCACCT GGGGGCTTTT AGGGTATGGC ATTTCCCTTG
4933 TACTAACTCT GGGCTGTCCA GAGGCGATTT CATGGCGTGG AGTGGAGAGG GAGGCAGCAC
4993 AGGACTTCCT AGGCCTCAGC TCTCACCTGC CCATCTTTTG ATTTCCAGGC AGTTAACATC
5053 ACTGACCTGA GCGAGAACAG AAAGCAGGAC AAGCGCTTCG CCTTCATCCG CTCAGACAGT
5113 GGCCCCACCA CCAGTTTGA GTCTGCCGCC TGCCCCGGTT GGTTCCTCTG CACAGCGATG
5173 GAAGCTGACC AGCCCGTCAG CCTCACCAAT ATGCCTGACG AAGGCGTCAT GGTCAACCAA
5233 TTCTACTTCC AGGAGGACGA GTAGTACTGC CCAGGCCTGC CTGTTCCCAT TCTTGCATGG
5293 CAAGGACTGC AGGGACTGCC AGTCCCCCTG CCCCAGGGCT CCCGGCTATG GGGGCACTGA
5353 GGACCAGCCA TTGAGGGGTG GACCCTCAGA AGGCGTCACA ACAACCTGGT CACAGGACTC
5413 TGCCTCCTCT TCAACTGACC AGCCTCCATG CTGCCTCCAG AATGGTCTTT CTAATGTGTG
5473 AATCAGAGCA CAGCAGCCCC TGCACAAAGC CCTTCCATGT CGCCTCTGCA TTCAGGATCA
5533 AACCCCGACC ACCTGCCCCA CCTGCTCTCC TCTTGCCACT GCCTCTTCCT CCCTCATTCC
5593 ACCTTCCCAT GCCCTGGATC CATCAGGCCA CTTGATGACC CCCAACCAAG TGGCTCCCAC
5653 ACCCTGTTTT ACAAAAAAGA AAAGACCAGT CCATGAGGGA GGTTTTTAAG GGTGTGTGGA
5713 AAATGAAAAT TAGGATTTCA TGATTTTTTT TTTTCAGTCC CCGTGAAGGA GAGCCCTTCA
5773 TTTGGAGATT ATGTTCTTTC GGGGAGAGGC TGAGGACTTA AAATATTCCCT GCATTTGTGA
5833 AATGATGGTG AAAGTAAGTG GTAGCTTTTC CTTCTTTTTT CTTCTTTTTT TGTGATGTCC
5893 CAACTTGTA AAATTAAAAG TTATGGTACT ATGTTAGCCC CATAATTTTT TTTTTCCTTT
5953 TAAAACACTT CCATAATCTG GACTCCTCTG TCCAGGCACT GCTGCCCAGC CTCCAAGCTC
6013 CATCTCCACT CCAGATTTTT TACAGCTGCC TGCAGTACTT TACCTCCTAT CAGAAGTTTC
6073 TCAGCTCCCA AGGCTCTGAG CAAATGTGGC TCCTGGGGGT TCTTTCTTCC TCTGCTGAAG
6133 GAATAAATTG CTCCTTGACA TTGTAGAGCT TCTGGCACTT GGAGACTTGT ATGAAAGATG
6193 GCTGTGCCTC TGCCTGTCTC CCCACCAGGC TGGGAGCTCT GCAGAGCAGG AAACATGACT
6253 CGTATATGTC TCAGGTCCCT GCAGGGCCAA GCACCTAGCC TCGCTCTTGG CAGGTACTCA
6313 GCGAATGAAT GCTGTATATG TTGGGTGCAA AGTCCCTAC TTCCTGTGAC TTCAGCTCTG
6373 TTTTACAATA AAATCTTGAA AATGCCTATA TTGTTGACTA TGTCCTTGGC CTTGACAGGC
6433 TTTGGGTATA GAGTGCTGAG GAAACTGAAA GACCAATGTG TYTTYCTTAC CCCAGAGGCT
6493 GGCGCCTGGC CTCTTCTCTG AGAGTTCTTT TCTTCCTTCA GCCTCACTCT CCCTGGATAA

3. ábra folytatása

6553 CATGAGAGCA AATCTCTCTG CGGGG