

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992102** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.02.10

(51) Int. Cl. *C12Q 1/68* (2018.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.03.07

(54) **АНАЛИЗ РНК-ПРОФИЛЕЙ ДЛЯ ВЫДАЧИ ИНДИВИДУАЛИЗИРОВАННЫХ РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ДИЕТЕ И ЛЕЧЕНИЮ**

(31) 17159630.7

(32) 2017.03.07

(33) EP

(86) PCT/EP2018/055548

(87) WO 2018/162525 2018.09.13

(71) Заявитель:

**СТИХТИНГ КАТОЛИКЕ
УНИВЕРСИТЕТ (NL)**

(72) Изобретатель:

**Лендерс Вильгельмус Петрус
Йоханнес (NL)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к области медицины и молекулярной диагностики. В частности, оно относится к новому анализу профилирования на основе секвенирования РНК следующего поколения, позволяющему одновременно обнаруживать транскрипты и их альтернативные варианты сплайсинга и мутации в них для генов, вовлеченных в заболевание, включая гены, участвующие в метаболизме, что обеспечивает рекомендации по индивидуальному лечению лекарственными средствами, направленными на ассоциированные с заболеванием молекулярные aberrации, в сочетании с диетическими соединениями, пищевыми добавками или ингибиторами метаболизма.

A1

201992102

201992102

A1

**АНАЛИЗ РНК-ПРОФИЛЕЙ ДЛЯ ВЫДАЧИ ИНДИВИДУАЛИЗИРОВАННЫХ
РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ДИЕТЕ И ЛЕЧЕНИЮ**

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к области медицины и молекулярной диагностики. В частности, оно относится к новому анализу профилей РНК, позволяющему одновременно обнаруживать, помимо прочего, транскрипты и их альтернативные варианты сплайсинга, и мутации в них, для генов, вовлеченных в заболевание, включая гены, участвующие в метаболизме, что позволяет создать руководство по персонализированному лечению лекарственными средствами, нацеленными на ассоциированные с заболеванием молекулярные aberrации, необязательно, в сочетании с диетическими композициями, пищевыми добавками или ингибиторами метаболизма.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Клетки с нарушенным функционированием обычно отличаются от здоровых клеток тем, что они имеют измененный метаболизм. Например, клетки у пациентов с диабетом приспособились справляться с отсутствием гликогенеза и высокими концентрациями внеклеточной глюкозы. В другом примере aberrантно растущие клетки, например, при гиперплазии и раке, должны обрабатывать чрезмерное количество питательных веществ для производства нуклеотидов, аминокислот и жирных кислот для синтеза ДНК/РНК, синтеза белка и мембранного синтеза. Для того, чтобы удовлетворить данную потребность, растущие клетки приспособились к измененному метаболизму. Существует ряд соединений, которые могут служить топливом для клеток с нарушенным функционированием. К ним относятся глюкоза, жирные кислоты и аминокислоты, такие как глутамин и глутамат. Выборка генов, которые участвуют в клеточном метаболизме, представлена в таблице I ниже. Следует отметить, что гены, участвующие в метаболическом пути, могут также участвовать в другом метаболическом пути; специалисту в данной области техники это будет известно.

Таблица I: Выборка генов, которые участвуют в клеточном метаболизме Переработка глюкозы (GLY1: глюкоза в пируват; PPP: пентозофосфатный путь; GLY2: пируват в лактат; TCA: цикл трикарбоновых кислот)

1. Трансмембранные транспортеры глюкозы GLUT1 и GLUT3 (SLC2A1 и SLC2A) для обеспечения импорта глюкозы в цитозоль
2. Гексокиназа (HK1,2,3), для преобразования глюкозы в глюкозо-6-фосфат (GLY1)
3. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD) для превращения глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконолактон (PPP)
4. Глюконолактоназа для превращения 6-фосфоглюконолактона в 6-фосфоглюконат (PPP)
5. 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (PGD) для превращения 6-фосфоглюконата в рибулозо-5-фосфат (PPP)
6. рибулозо-5-фосфатизомераза (RPIA) для превращения рибулозо-5-фосфата в рибозо-5-фосфат (PPP)
7. рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза (RPE) для превращения рибулозо-5-фосфата в ксилулозо-5-фосфат (PPP)
8. Транскетолаза (ТКТ) для превращения продуктов стадии 5 и стадии 6 в глицеральдегид-3-фосфат и седогептулозо-7-фосфат (PPP)
9. Трансальдолаза для превращения продуктов стадии 8 в фритозо-6-фосфат и эритрозо-4-фосфат (PPP)
10. Фосфоглюкозоизомераза (PGI) для превращения глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат (GLY1)
11. Фосфофруктокиназа (PFK) для превращения фруктозо-6-фосфата в фруктозо-1,6-бифосфат (GLY1)
12. Фруктозо-бисфосфат-альдолаза (ALDOA) для превращения фруктозо-1,6-бисфосфата в дигидроксиацетонфосфат и глицеральдегид-3-фосфат (GLY1)
13. Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH) для превращения глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-бифосфоглицерат (GLY1)
14. Фосфоглицераткиназа (PGK) для превращения 1,3-бифосфоглицерата в 3-фосфоглицерат (GLY1)
15. Фосфоглицератмутаза (PGAM1/2) для превращения 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат (GLY1)
16. Энолаза (ENO) для превращения 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват (GLY1)
17. Пируваткиназа (PKM1/2) для превращения фосфоенолпирувата в пируват (GLY1)
18. Пируватдегидрогеназа (PDH) для превращения пирувата в ацетил-КоА (TCA)
19. Пируваткарбоксилаза (ПК) для превращения ацетил-КоА в

щавелевоуксусную кислоту (TCA)

20. Цитратсинтаза (CS) для получения цитрата из ацетил-КоА и щавелевоуксусной кислоты (TCA)

21. Акотиназа (ACO1) для превращения цитрата в цис-акотинат и изоцитрат (TCA)

22. Изоцитратдегидрогеназа 1/2/3 (IDH1/2/3) для превращения изоцитрата в α KG (TCA)

23. α KG-дегидрогеназа (OGDH) для превращения α KG в сукцинил-КоА (TCA)

24. Сукцинил-КоА-синтетаза (SUCLA2) для превращения сукцинил-КоА в сукцинат (TCA)

25. NADH-коэнзим Q-оксидоредуктаза (OXPHOS)

26. Сукцинат-Q-оксидоредуктаза (OXPHOS)

27. Флавопротеин-Q-оксидоредуктаза (OXPHOS)

28. Цитохром C-оксидаза (OXPHOS)

29. АТФ-синтаза (OXPHOS)

30. Сукцинатдегидрогеназа (SDHA/B/C/D) для превращения сукцината в фумарат (TCA)

31. Фумаратгидратаза (FH) для превращения фумарата в малат (TCA)

32. Малатдегидрогеназа (MDH1/2) для превращения малата в оксалоацетат (TCA)

33. Пируватдегидрогеназы киназа (PDK) для фосфорилирования и блокирования PDH (стадия 11) (GLY2)

34. Лактатдегидрогеназа (LDHA) для получения лактата из пирувата (GLY2)

35. Лактатдегидрогеназа (ЛДГБ) для превращения лактата в пируват.

36. Монокарбоксилатные транспортеры MCT1 (SLC16A1) и MCT4 (SLC16A3) для транспортировки лактата и связанных с ним протонов из клетки в целях регулирования гомеостаза pH

37. Карбоновые ангидразы (CA9 и CA12) для продуцирования HCO_3^- из H_2O и CO_2 на поверхности клетки

38. HCO_3^- импортер (SLC4A10) для импорта HCO_3^- для гомеостаза pH

Переработка глутамина

Существует целый ряд клеток, которые также зависят от аминокислоты глутамина для пролиферации. Гены, которые участвуют в метаболизме глутамина, включают

39. SLC1A5 или ASCT2, мембранный импортер белка для

глутамина

40. Глутаминаза (GLS) для превращения глутамина в глутамат
41. Глутаматдегидрогеназа (GLUD1/2) для превращения глутамата в альфа-кетоглутарат (α KG)
42. Аминокислотная трансфераза разветвленной цепи 1 и 2 (BCAT1/2) для получения глутамата из α KG
43. Возбуждающий аминокислотный транспортер EAAT2 (SLC1A2) для импорта глутамата в клетку
44. Система Xc₋ (SLC7A11) для экспорта глутамата из клетки в обмен на цистин

Жирные кислоты

Жирные кислоты являются важными строительными блоками для клеток, поскольку они являются основой для синтеза фосфолипидных бислоев, которые образуют мембраны для ядер, митохондрий, эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи и лизосом и пероксисом. Ферменты, которые участвуют в анаболизме жирных кислот, включают

45. CIC (SLC25A1) для транспорта цитрата из митохондрий в цитозоль
46. АТФ-цитрат-лиаза (ACLY) для превращения цитрата в оксалоацетат и ацетил-КоА
47. Ацетил-КоА-карбоксилаза (ACACA, ACACB) для превращения ацетил-КоА в малонил-КоА
48. Синтаза жирных кислот (FASN) для превращения ацетил-КоА, малонил-КоА и NADPH в пальмитат
49. Транспортер жирных кислот (CPT1) для поглощения жирных кислот
50. Транспортер холина (SLC5A7) для импорта холина
51. Холинкиназа (CHKA) для превращения холина в фосфатидилхолин
52. Карнитинпальмитоилтрансфераза 2 (CPT2) для превращения ацилкарнитина в длинноцепочечный ацил-КоА
53. Ацил-КоА-дегидрогеназа (VLCAD) для превращения длинноцепочечного ацил-КоА в 2-еноил-КоА
54. Трифункциональный белок (HADHA/B) для превращения 2-еноил-КоА в ацил-КоА со средней и короткой цепью
55. Ацил-КоА-дегидрогеназа (SCAD, MCAD, LCAD) для превращения ацил-КоА в 2-еноил-КоА
56. 2-еноил-ВоА гидратаза для превращения 2-еноил-КоА в 3-гидроксиацил-КоА

57. 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа (SCHAD) для превращения 3-гидроксиацил-КоА в 3-кетоацил-КоА

58. 3-кетоацил-КоА-тиолаза (MCKAT) для превращения 3-кетоацил-КоА в ацетил-КоА

Метаболические изменения при раке

Измененный метаболизм может являться результатом раковой трансформации клеток, но для ряда типов рака он также является причиной рака. Хорошо известным примером метаболических изменений (изменений в пределах одного или нескольких метаболических путей), возникающих в результате роста рака, являются изменения, являющиеся следствием гипоксии, недостатка кислорода, который возникает в растущих тканях, которые переросли свои кровоснабжающие сосуды. В оксигенированных условиях факторы транскрипции, индуцируемые гипоксией HIF1 α и HIF2 α , гидроксилируются кислород-зависимым ферментом пролингидроксилазой (PHD). Пролин-гидроксилированные HIF имеют сайты связывания для комплекса убиквитина VHL-E3, что приводит к убиквитинилированию HIF и расщеплению протеасомы. Этот путь является важным регулятором HIF-уровней в клетках. В нормоксических условиях глюкоза будет превращаться в пируват, который будет перерабатываться в ацетил-КоА, который поступает в митохондрии для переработки в цикле трикарбоновых кислот (TCA). Цикл TCA напрямую связан с окислительным фосфорилированием и дает на каждый моль глюкозы энергетический эквивалент 36 молей АТФ, CO₂ и H₂O. Полная переработка глюкозы через этот путь не дает углеродных строительных блоков.

В условиях гипоксии PHD неактивны, и в результате негидроксилированный HIF1/2 α накапливается в клетках, гетеродимеризуется с помощью HIF- β (ARNT) и активирует гены, необходимые для выживания при гипоксии. Эти гены (таблица I, стадии 1-38) регулируют различную переработку глюкозы, используя пируват для продуцирования лактата вместо ацетил-КоА. Превращение пирувата в лактат дает только 2 моля АТФ на каждый моль глюкозы. Неэффективность этого процесса с точки зрения производства энергии требует дополнительного потребления глюкозы, что достигается за счет повышенной экспрессии переносчиков глюкозы (GLUT1, GLUT3). Гены, участвующие в следующих этапах переработки глюкозы, также активируются (особенно гексокиназа 2). Накопление HIF также приводит к активации гена, кодирующего фактор роста эндотелия сосудов

(VEGF-A), что приводит к ангиогенному ответу.

Гликолиз при раке не ограничивается гипоксическими областями, но также может происходить в нормоксических условиях. Существует ряд причин гликолиза при нормоксическом раке, например, повышенная экспрессия онкогена Мус [приводящая к активации PDK (таблица I, стадия 33) и предотвращающая приток ацетил-КоА в цикл TCA], снижение функционирования супрессоров опухоли (VHL, PTEN) и повышенная активность онкогенных путей (например, PI3K, AKT) – все это приводит к повышению активности HIF. Аэробный гликолиз при раке известен как эффект Варбурга.

Хотя аберрации в онкогенах и генах-супрессорах опухолей при раке и состояниях, таких как гипоксия, вызывают метаболические изменения, эти изменения зависят от специфической природы молекулярных аберраций. Как следствие, каждая опухоль имеет свои специфические метаболические потребности.

Дополнительный уровень сложности добавляет тот факт, что вместо того, чтобы являться следствием канцерогенеза, измененный метаболизм может также стимулировать канцерогенез. Мутации горячих точек в изоцитратдегидрогеназе 1 и 2 (таблица I, стадия 22) в значительном проценте диффузных глиом головного мозга, острой миелоидной лейкемии, хондросаркомы и холангиокарциномы печени приводят к потреблению альфа-кетоглутарата (α -KG) и NADPH для получения онкогена D-2-гидроксиглутарата (D-2HG), который может накапливаться до миллимолярных концентраций. Небольшое различие между химической структурой α -KG и D-2HG в сочетании с высокими концентрациями последних приводит к конкурентному вытеснению α -KG из α -KG-зависимых ферментов, которые впоследствии не могут функционировать должным образом. Важными примерами являются семейство ферментов из транслокации десять-одиннадцать (TET), которые участвуют в деметилировании CpG-островков в ДНК, и белки JmJ, которые участвуют в деметилировании гистонов. Следовательно, рак с IDH-мутациями имеет гиперметилированные CpG-островки и гистоны, что приводит к нарушению профилей транскрипции генов. Важно, что потребление NADPH в имеющих IDH-мутации раковых клетках приводит к низким уровням восстановленного глутатиона и пониженной устойчивости к активным видам кислорода (ROS). Повышенная активность ROS в раковых клетках с мутациями IDH может повысить вероятность повторных попаданий в онкогены и гены-супрессоры опухоли и привести к раку. За исключением известной мутации горячей точки,

которая приводит к продуцированию 2-HG, были описаны мутанты IDH, которые являлись дефектными по продуцированию NADPH, но не продуцировали D-2HG (1).

Другими примерами раковых заболеваний, при которых мутации в метаболических ферментах являются возбудителями рака, являются феохромоцитомы и параганглиомы, которые несут инактивирующие мутации в одной из субъединиц SDH A-D (таблица I, стадия 30) или в факторе сборки SDH SDHAF2 (2). Эти мутации могут быть наследственными, приводящими к синдрому HPGL/PCC, или соматическими. Другие мутации в метаболических генах, которые вызывают рак, происходят в FH (таблица I, стадия 31). Мутации в FH ассоциированы с лейомиоматозом и папиллярным почечно-клеточным раком (3). Мутации в белке VHL возникают при светлоклеточном раке почек и непосредственно приводят к гликолизу через дефект расщепления HIF, как описано выше. Поэтому гены IDH, SDH и FH можно рассматривать как гены-супрессоры опухолей.

Существуют диетические соединения, пищевые добавки или безопасные для применения лекарственные средства, которые могут ингибировать метаболические пути, и применение таких лекарственных средств рассматривалось как потенциально полезное для лечения рака. Примерами являются дезоксиглюкоза, ингибирующая поглощение глюкозы клеткой и предотвращающая гликолиз (таблица I, стадия 1 и последующие) (4), 3-бромпируват, блокирующий активность гексокиназ (таблица I, этап 2 и последующие) (5, 6), 6-амино-никотинамид (6-AN, блокирующий G6PD в пентозофосфатном пути, таблица I, стадия 3 (7)), метформин, блокирующий OXPHOS (8), бис-2-(5-фенилацетамидо-1,2,4-тиадиазол-2-ил) этилсульфид (BPTES, блокирующий глутаминазу, таблица I, стадия 28), эпигалло-3-катехин галлат (EGCG, блокирующий глутаматдегидрогеназы и другие NADPH-генерирующие ферменты (таблица I, стадия 41) и синтазу жирных кислот (таблица I, стадия 36 (9)) (10), церуленин, ингибирующий синтазу жирных кислот (таблица I, стадия 48) (9). Было показано, что эти ингибиторы обладают противоопухолевым воздействием в различных моделях рака.

Хотя эти соединения также были испытаны на людях, для противоракового воздействия могут потребоваться системные концентрации, которые не переносят здоровые ткани. В нетоксичных концентрациях лечение ингибиторами метаболизма ниже максимально

допустимых доз может, однако, повысить активность других видов лечения, таких как лучевая терапия, химиотерапия или направленная терапия.

Современные протоколы лечения пациентов с раковыми заболеваниями, которые не могут быть вылечены хирургическим путем, являются неэффективными, поскольку у рака обычно развивается устойчивость к лечению (11-14).

Следовательно, существует большая потребность в безопасных и вспомогательных способах лечения, которые повышают эффективность современных способов лечения. Эти современные способы лечения применяют в соответствии с руководящими принципами, которые основаны на результатах фазы III клинических испытаний. Для некоторых типов рака эффекты лечения могут быть предсказаны (например, рак толстой кишки с мутациями KRAS не реагирует на ингибиторы EGFR, рак с мутацией BRAF-V600E развивает устойчивость к ингибитору BRAF вемурафенибу за счет усиления передачи сигналов от EGFR, глиомы с гиперметилированием гена репарации ДНК MGMT лучше реагируют на ДНК-алкилирующую химиотерапию темозоломидом). Хотя некоторые типы рака в настоящее время регулярно анализируют на наличие так называемых сопутствующих биомаркеров – биомаркеров, на основе которых может быть начато персонализированное лечение, – анализ таких маркеров не может быть выполнен, если не может быть получена ткань, например, это относится к пациентам с неоперабельным раком.

Следовательно, существует острая необходимость в анализе, который измеряет параметры у пациента (субъекта), которые являются релевантными для принятия решения о лечении, с протоколами лечения, состоящими из наиболее подходящих ингибиторов метаболизма, в сочетании с наиболее подходящими доступными направленными лекарственными средствами, или лучевой терапией, или химиотерапией. Доступные в настоящее время анализы для изучения метаболизма при раке включают магнитно-резонансную спектроскопическую визуализацию (MRSI), но она является технически сложной методикой, которая может быть выполнена только в специализированных центрах и требует сопутствующего глубокого знания принципов MR и клеточной биологии. Кроме того, MRSI может измерять только ограниченное количество метаболитов. Альтернативный способ исследования метаболизма при раке заключается в изготовлении экстрактов метаболитов рака и проведении масс-спектропии. В этом случае на результаты будет

влиять тот факт, что эти анализы проводятся на тканях, в которых после операции наблюдалась гипоксия.

Молекулярную диагностику рака в настоящее время выполняют путем анализа ДНК опухоли, и она направлена на выявление действующих мутаций. Анализ ДНК позволяет идентифицировать мутации и вариации метаболических ферментов, таких как FH, SDH и IDH, а также действующие мутации и амплификации в онкогенах и генах-супрессорах опухолей. Анализы ДНК могут быть выполнены с применением анализа всего генома или анализа всего экзона, но также могут быть выполнены с помощью молекулярных обратных зондов, как описано в литературе (15). Методика изображена на фигуре 1. МIP подвергается обратной гибридизации с интересующей ДНК через зонд удлинения и зонд лигирования, которые соединяются последовательностью остова, оставляя небольшой разрыв на целевой последовательности. Этот разрыв ферментативно заполняется и лигируется, в результате чего образуется кольцевая молекула, которая может быть очищена посредством экзонуклеазного разложения некольцевых нуклеотидных нитей. ПЦР-амплификация заполненного разрыва с использованием олигонуклеотидных праймеров в остове генерирует библиотеку ампликонов, которые можно анализировать, используя, например, методологию секвенирования следующего поколения. Для того, чтобы сделать анализ количественным, в МIP может быть включен уникальный молекулярный идентификатор (UMI), например, из 8 случайных нуклеотидов, чтобы обеспечить возможность обратного подсчета всех продуктов ПЦР с одним и тем же UMI для одного МIP. Вероятность того, что 2 разных smMIP имеют один и тот же UMI, составляет $(\frac{1}{4})^8 = 1:65536$, что делает эти UMI уникальными для каждого МIP. МIP с UMI называется одномолекулярным МIP или smMIP (16). Методика smMIP для анализа последовательностей ДНК описана в литературе.

Анализ ДНК не позволяет измерять активность генов, например, активность метаболических генов, которая регулируется эпигенетическими процессами и наличием факторов транскрипции и репрессоров транскрипции (17).

Описание чертежей

Фиг. 1. Принцип направленного секвенирования РНК на основе smMIP. Процедура зависит от гибридизации молекулярных обратных зондов, состоящей из зонда лигирования и зонда удлинения, которые соединены через последовательность остова. Гибридизация

с захватом оставляет для каждого smMIP разрыв в 112 нуклеотидов, который ферментативно удлиняется и закрывается путем лигирования. После расщепления экзонуклеазой нелигированных зондов оставшуюся библиотеку циркуляризованных smMIP амплифицируют с помощью ПЦР с праймерами в остове smMIP. Зонд лигирования окружен случайной последовательностью 8N уникального молекулярного идентификатора (UMI), которая позволяет исправлять дубликаты ПЦР. В течение ПЦР для каждого образца используется уникальный баркодовый праймер, позволяющий идентифицировать прочтения для конкретного образца.

Фиг. 2. А, В Представление в программном обеспечении Integrative Genome Viewer (IGV) VHL-локса клеток SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA}. BAM-файлы, содержащие полные данные РНК-секвенирования из этих клеточных линий, были загружены в IGV. Следует отметить мутацию САА-УАА, приводящую к мутации Q132-стоп VHL на уровне белка. В С и D показаны представления в программном обеспечении SeqNext того же локуса VHL клеток SKRC7 (С) и SKRC7-VHL^{HA}. Е) гистограмма, показывающая связанные с VHL значения TPM и FPM для SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA}. F) Вестерн-блот клеток SKRC7 и VHL-экспрессирующих производных, окрашенных антителом против HA.

Фиг. 3. Направленное РНК-секвенирование на основе smMIP хорошо коррелирует с РНК-секвенированием полного транскриптома. Средние метаболические уровни FPM на основе smMIP (А, С) и уровни FPM транскрипта тирозинкиназы (В, D) наносили на уровни TPM тех же транскриптов, извлеченных из данных полного РНК-секвенирования. Следует отметить, что транскрипты с очень низкими значениями FPM (10^{-2} FPM) не были обнаружены в множестве данных РНК-секвенирования. Мы включили эти транскрипты в эти анализы, хотя они могли снизить коэффициент Пирсона.

Фиг. 4. Направленное РНК-секвенирование на основе smMIP обнаруживает снижение уровней экспрессии связанных с гликолизом генов, таких как SLC2A1, CA9, HK2 и LDHA, в экспериментах с двумя независимыми повторностями (А, В). Относительные значения были сопоставимы со значениями, полученными в результате анализа РНК-секвенирования всего транскриптома (С), что согласуется с корреляцией, показанной на фигуре 3. Различия в уровнях экспрессии были подтверждены на уровне белка для HK2 и CA9 с использованием тубулина в качестве вспомогательного контроля (D).

Фиг. 5. Направленное РНК-секвенирование следующего

поколения на основе smMIP можно применять для адекватного поиска вариантов. Показаны локусы, содержащие мутацию IDH1-R132H в ксенотрансплантатах E478 (A) и в астроцитоме клинической степени III (C, эта мутация была подтверждена генетическим анализом), тогда как мутация IDH1-R314C в клетках E98 также может быть идентифицирована (B).

Фиг. 6. Пример анализа на основе smMIP РНК, кодирующих метаболические ферменты в двух различных клеточных линиях ссRCC.

Фиг. 7. SmMIP позволяют специфично детектировать варианты сплайсинга. Клеточная линия Mel57, которая не экспрессирует эндогенный VEGF-A, была трансфецирована экспрессионными плазмидами pIRESneo-VEGF-A121 и pIRESneo-VEGF-A165 и культивирована в среде, содержащей неомицин, для генерации стабильных трансфектантов. РНК из этих трансфектантов подвергали smMIP-профилированию с использованием панели smMIP, среди которых был smMIP121 с зондами лигирования и удлинения в экзонах 5 и 8 транскрипта VEGF-A, соответственно, с помощью которого детектировали только VEGF-A121, и smMIP с зондами лигирования и удлинения в экзонах 5 и 7 транскрипта VEGF-A, соответственно, с помощью которого детектировали только VEGF-A165. Следует отметить, что smMIP121 детектирует VEGF-A121, но не VEGF-A165, а smMIP165 детектирует только VEGF-A165, но не VEGF-A121.

Фиг. 8. Направленное РНК-секвенирование следующего поколения на основе smMIP может быть применено для адекватной диагностики. Показан локус IDH, содержащий мутацию IDH1-R132H в астроцитоме клинической степени III. Анализ транскриптома тирозинкиназ выявил высокие уровни экспрессии генов, кодирующих тирозинкиназы NTRK2 и PDGFRA в этой опухоли, что свидетельствует об ответной реакции на соответствующие ингибиторы тирозинкиназы.

Фиг. 9. Основанное на smMIP детектирование вариантов сплайсинга EGFR в глиомах. Показано, что в группе глиом наблюдается повышенная экспрессия EGFR в 39 из 75 опухолей головного мозга (52%; среднее значение FPM составило 738 в положительной группе по сравнению со средним FPM, равным 35, в отрицательной группе, с использованием произвольного порогового значения FPM, равного 100) и экспрессия EGFRvIII в 12 из 75 опухолей головного мозга (16%; среднее значение FPM составило 642 в положительной группе по сравнению со средним FPM, равным 0,27, в отрицательной группе, с использованием произвольного порогового значения FPM, равного 6).

Фиг. 10. Направленное РНК-секвенирование на основе smMIP может быть применено для точной диагностики и прогнозирования.

А) Тепловая карта профилей отдельных генов. Была проведена неконтролируемая агломерационная кластеризация уровней экспрессии, подвергнутых логарифмическому преобразованию, для целевых генов, представляющих интерес. Агломерационную кластеризацию проводили по методу WardD2 путем расчета манхэттенского расстояния между отдельными профилями с использованием биоинформатических скриптов программного обеспечения R.

В) Кривая Каплана-Мейера, отображающая общие данные о выживаемости сгенерированных компьютером групп А и В тепловой карты на панели а). Результаты показывают, что группы А и В имеют различную выживаемость на высоком уровне значимости (точный критерий Фишера; $p < 0,0001$), что демонстрирует, что этот критерий имеет высокую прогностическую ценность при глиомах. Группы А и В здесь обозначены как IDH-MT и IDH-WT.

С) обнаружение гетерозиготного IDH1R132H в одном из образцов для случая, когда 38% транскриптов происходят из мутантного аллеля, а 62% транскриптов – из аллеля дикого типа

Д) Анализ подгрупп пациентов с IDH дикого типа с очень низкой выживаемостью (OS < 12 месяцев) по сравнению с пациентами с IDH дикого типа с лучшим прогнозом (OS > 14 месяцев) показал, что высокие уровни экспрессии карбоангидразы 12 ассоциированы с плохим прогнозом ($p < 0,001$; точный критерий Фишера, см. кривую Каплана-Мейера в D).

Фиг. 11. Иммуногистохимия опухолей с высоким и низким уровнями транскриптов PSMA. Экспрессия белка PSMA в кровеносных сосудах наблюдается в кровеносных сосудах из опухолей с высоким уровнем транскрипта, но не в опухолях с низким уровнем транскрипта (см. значения FPM под разными фотографиями).

Фиг. 12. Профили тирозинкиназ предсказывают чувствительность и нечувствительность к направленной терапии *in vitro*. А) клеточная линия астроцитомы E98 экспрессирует уровни MET, сходные с уровнями клеточной линии рака почки SKRC17, изображенной в (B). С) Однако, в отличие от клеток E98, клетки SKRC17 не реагируют на соединение А понижением скорости пролиферации. D) Профилирование мембранных тирозинкиназ показывает, что в выбранной группе мембранных тирозинкиназ, которые измеряют в анализе, MET является единственной,

экспрессируемой E98, тогда как клетки SKRC17 экспрессируют дополнительное количество других ингибиторов тирозинкиназы, включая AXL, EGFR, FGFR.

Фиг. 13. Профилирование РНК ВПЧ. Профиль 29 гинекологических тканей, от иссечений здоровой матки до рака яичников, рака эндометрия и рака шейки матки. Экспрессия РНК HPV16 E6/E7 наблюдалась в 12 образцах. Все HPV16-положительные образцы были подтверждены на уровне ДНК, но пять тканей, которые были отрицательными в тесте ВПЧ-РНК, были положительными в стрелках теста ВПЧ-ДНК.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения применяли профилирование множества РНК-транскриптов для определения того, какие из генов, вовлеченных в метаболизм, являются активными, и какие гены, вовлеченные в патологии, являются активными. Авторы изобретения обнаружили, что по объединенной информации в профилях РНК можно определить метаболические пути, которые являются наиболее заметными в патологической ткани, и можно идентифицировать гены, которые активно участвуют в патологиях. Эта информация может позволить дать персонализированную рекомендацию по лечению индивида, страдающего заболеванием, например, по лекарственным средствам, которые нацелены на продукт гена, который aberrантно экспрессируется и участвует в прогрессировании заболевания. Эти лекарственные средства (фармацевтические соединения) включают, но не ограничиваются указанным, лекарственные средства, одобренные Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и/или Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) и известные как направленные лекарственные средства специалистам в данной области техники. Такие рекомендации по лечению могут сочетаться с рекомендациями по дальнейшему лечению заболевания соединением, которое ингибирует наиболее важные метаболические пути в патологической ткани. Эта концепция известна специалисту в данной области техники как синтетическая летальность. Дополнительная значимость анализа достигается за счет сопутствующей информации о мутационном статусе метаболических генов.

Для проведения анализа требуется небольшая аликвота представляющей интерес РНК, которая может быть получена из твердой ткани, изолированных клеток или жидкостей организма,

включая, но не ограничиваясь указанным, слюну, мочу, сперму, кровь, тромбоциты и спинномозговую жидкость. Образец РНК может быть преобразован в комплементарную ДНК (кДНК) с применением способа, известного в данной области техники, такого как использование праймеров олиго-dT или смеси случайных гексамерных олигонуклеотидных праймеров. Эти методики являются стандартными и известны специалисту в данной области техники (см., например, Green and Sambrook (2012) *Molecular Cloning: Laboratory Manual*, Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY).

Представляющая интерес РНК может происходить из генов человека, но также может происходить из генов патогенов, таких как ДНК-вирусы и РНК-вирусы, включая, но не ограничиваясь указанным, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ); вирусы папилломы человека, включая, но не ограничиваясь указанным, подтипы HPV16 и HPV18; вирус гепатита А; вирус гепатита В; вирус гепатита С; вирус гепатита Е; вирус Эбола; вирус Эпштейна-Барр (EBV); вирусы гриппа; вирус Западного Нила, вирус чикунгуньи, вирус полиомы; цитомегаловирус; риновирус, но также гены из категории онколитических вирусов, которые являются известными для лечения рака специалистам в данной области техники. Представляющая интерес РНК может также происходить из генов паразитов, включая, но не ограничиваясь указанным, *Plasmodium falciparum* и *Plasmodium vivax*, паразитов, вызывающих малярию, и трипаному. Кроме того, представляющая интерес РНК может происходить из (патогенных) грибов, включая, но не ограничиваясь указанным, *Aspergillus*. Представляющая интерес РНК также может происходить из (патогенных) бактерий, таких как *Listeria*, *Legionella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium* и/или *Yersinia*.

Субъект (также взаимозаменяемо называемый пациентом) может являться человеком или животным. Соответственно, представляющая интерес РНК может также происходить из генов одомашненных, диких и сельскохозяйственных животных и/или из генов, которые присутствуют в патогенах, таких как патогены, перечисленные выше в настоящем описании, или их аналогов, вызывающих заболевание у животных.

Настоящее изобретение также предоставляет множество одномолекулярных обратных зондов (smMIP) для детектирования представляющих интерес РНК, которые несут информацию, необходимую для формулирования рекомендации по лечению. Предпочтительное множество выбирают из группы, указанной в

таблице II.

Предпочтительным способом генерации профилей РНК является использование smMIP, которые могут быть сконструированы с помощью опубликованного протокола MIPGEN (18), в котором выбирают оптимальные последовательности зондов для лигирования и удлинения, которые, в соответствии с предсказанием, гибридизуются с интересующей кДНК, оставляя разрыв между частями лигирования и удлинения зонда. Части лигирования и удлинения зондов могут гибридизоваться с любой частью кДНК, включая последовательности, которые кодируют белок, и нетранслируемые области. Части зонда для удлинения и лигирования могут быть расположены в одном экзоне.

Предпочтительный способ заключается в размещении частей лигирования и удлинения зондов в разных экзонах кДНК, что позволяет детектировать конкретные варианты сплайсинга.

Предпочтительный способ в соответствии с изобретением состоит в том, чтобы привести в контакт библиотеку сконструированных smMIP согласно изобретению, которая может состоять из любого количества smMIP, с популяцией молекул кДНК. После начального этапа нагревания и денатурации с последующим охлаждением каждый smMIP будет гибридизоваться с последовательностью своей кДНК-мишени. При инкубировании смеси с ферментом ДНК-полимеразой, всеми четырьмя дезоксинуклеотидами и ДНК-лигазой в соответствующем буфере, часть зонда удлинения MIP будет удлинена до достижения 5'-конца зонда лигирования. Затем ДНК-лигаза будет ковалентно связывать 3'-конец части удлиненную часть зонда удлинения с частью зонда лигирования, образуя кольцевую молекулу smMIP.

На следующем этапе способ, известный специалисту в данной области техники, применяют для удаления непрореагировавших линейных smMIP и кДНК из реакционной смеси посредством обработки экзонуклеазой, оставляя очищенную библиотеку кольцевых smMIP.

С использованием прямого и обратного олигонуклеотидного праймера, которые специфично отжигаются с последовательностью остова, которая соединяет части зондов лигирования и удлинения MIP, выполняют ПЦР-амплификацию последовательности с разрывом. Предпочтительно, один из олигонуклеотидных праймеров, которые используются в этой ПЦР, снабжен баркодом, позволяющим легко отобрать все продукты ПЦР, которые получены из конкретного образца. На следующем этапе библиотеку ампликонов ПЦР,

предпочтительно, анализируют на платформе секвенирования следующего поколения, которая выдает файлы FASTQ, содержащие информацию о нуклеотидных последовательностях всех ампликонов ПЦР в образце. С применением алгоритма все ампликоны ПЦР с одинаковым баркодом группируют, создавая список последовательностей для каждого отдельного образца кДНК.

Затем, с применением другого алгоритма, в котором используются UMI, все идентичные продукты ПЦР будут рассматриваться как производные от одного исходного smMIP. Таким образом, для каждого исходного образца РНК может быть создан список, содержащий значения, которые представляют исходное количество кольцевых smMIP в исходной библиотеке. Это число пропорционально количеству кДНК в исходном образце.

В предпочтительном способе интерпретации значения, полученные для каждого отдельного smMIP, делят на суммарные значения всех smMIP для каждого образца с последующим умножением на коэффициент один миллион, что дает количество фрагментов на миллион для каждого smMIP.

В предпочтительном способе интерпретации средние значения FPM всех различных smMIP, которые соответствуют одному транскрипту, считают пропорциональными количеству транскриптов, которые присутствовали в исходном образце РНК данного анализа.

В другом предпочтительном способе интерпретации средние значения FPM отдельных транскриптов делят на средние значения FPM так называемых генов домашнего хозяйства, чтобы получить значение относительной распространенности интересующего транскрипта.

В другом предпочтительном способе средние значения FPM для транскриптов из генов, которые участвуют в метаболических путях, используют для определения преобладающих метаболических путей в ткани.

Предпочтительным способом дальнейшего анализа файлов FASTQ является обнаружение мутаций в данных секвенирования следующего поколения. Предпочтительно, мутации считают релевантными, если они обнаружены в более чем двух прочтениях. Информация о последовательности, представленная в файлах FASTQ, не должна толковаться настолько узко, чтобы требовать включения ошибочно идентифицированных оснований. Специалист способен идентифицировать такие ошибочно идентифицированные основания и знает, как исправить такие ошибки. Список соответствующих

мутаций в образце может быть включен в базу данных, предпочтительно базу данных на основе стандартного языка запросов (SQL), которая позволяет проводить статистический анализ, например, посредством многофакторного анализа.

Предпочтительный способ анализа базы данных позволяет получить список метаболических путей, которые являются активными в ткани или у человека с заболеванием, и которые можно использовать для предоставления рекомендаций по питанию в целях облегчения симптомов заболевания и повышения эффективности других способом лечения.

Другой предпочтительный способ анализа базы данных позволяет получить список отклонений, которые можно лечить с помощью доступных фармакологических лекарственных средств.

В еще одном предпочтительном способе изобретения применяют программный алгоритм, который переводит профили РНК пораженных тканей непосредственно в рекомендации по лечению, которые могут быть даны через приложение, которое может быть установлено на персональном компьютере или мобильном устройстве.

Способ в соответствии с изобретением может быть легко реализован при обычной помощи пациентам, если доступна РНК из пораженной ткани или тромбоцитов.

Соответственно, в первом аспекте настоящее изобретение относится к способу определения *in vitro* чувствительности и/или устойчивости субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, включающему в себя:

- предоставление образца от субъекта,
- выполнение профилирования РНК для образца,

При этом наличие аберрантного уровня транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации является показателем чувствительности и/или устойчивости.

Указанный способ в настоящем описании называется способом по изобретению. «Профилирование РНК» в настоящем описании также называют направленным РНК-секвенированием транскриптов. Аберрантный уровень транскрипта представляет собой уровень транскрипции, который может быть выше или ниже уровня транскрипта по сравнению с контрольным образцом и/или по сравнению с уровнем транскрипта у здорового субъекта.

Предпочтительно, в способе по изобретению профилирование

РНК выполняют путем мультиплексного секвенирования мРНК, направленного на несколько областей, представляющих интерес. Представляющий интерес образец РНК может быть сначала преобразован в комплементарную ДНК (кДНК) с применением способа, известного в данной области техники, такого как использование праймеров олиго-dT или смеси случайных гексамерных олигонуклеотидных праймеров. Представляющая интерес РНК может происходить из генов человека, но также может происходить из генов патогенов, таких как ДНК-вирусы и РНК-вирусы, включая, но не ограничиваясь указанным, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ); вирусы папилломы человека, включая, но не ограничиваясь указанным, подтипы HPV16 и HPV18; вирус гепатита А; вирус гепатита В; вирус гепатита С; вирус гепатита Е; вирус Эбола; вирус Эпштейна-Барр (EBV); вирусы гриппа; вирус Западного Нила, вирус чикунгуньи, вирус полиомы; цитомегаловирус; риновирус, но также гены из категории онколитических вирусов, которые являются известными для лечения рака специалистам в данной области техники. Представляющая интерес РНК может также происходить из генов паразитов, включая, но не ограничиваясь указанным, *Plasmodium falciparum* и *Plasmodium vivax*, паразитов, вызывающих малярию, и трипаносому. Кроме того, представляющая интерес РНК может происходить из (патогенных) грибов, включая, но не ограничиваясь указанным, *Aspergillus*. Представляющая интерес РНК также может происходить из (патогенных) бактерий, таких как *Listeria*, *Legionella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium* и/или *Yersinia*.

Предпочтительно, в способе согласно изобретению мультиплексное секвенирование мРНК выполняют с использованием молекулярных обратных зондов (МІР), предпочтительно, МІР, содержащих детектируемый фрагмент, предпочтительно, последовательность уникального идентификатора, состоящую из строки из 3-10 случайных нуклеотидов (обозначается как «N» в списке последовательностей), более предпочтительно, 3, более предпочтительно, 4, более предпочтительно, 5, более предпочтительно, 6, более предпочтительно, 7, наиболее предпочтительно, 7, наиболее предпочтительно, 8 или, предпочтительно, более 8 случайных нуклеотидов (N), смежных с частью лигирования МІР или с частью удлинения последовательности МІР (smMIR).

Предпочтительно, в способе согласно изобретению аберрантный

уровень транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации связан с аберрацией в метаболическом пути, которая, в свою очередь, связана с чувствительностью и/или устойчивостью субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства. Во всех вариантах осуществления изобретения лекарственное средство, как подразумевается в данной области техники, представляет собой фармацевтическое соединение. Такое фармацевтическое соединение может содержаться в фармацевтической композиции. Во всех вариантах осуществления изобретения субъектом является человек или животное, предпочтительно, человек. Животным может быть любое животное, предпочтительно, домашнее, дикое или сельскохозяйственное животное.

Предпочтительно, в способе согласно изобретению заболевание или состояние представляет собой по меньшей мере одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака, вирусной инфекции, бактериальной инфекции, аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

В способе согласно изобретению образец может представлять собой любой подходящий образец, известный специалисту в данной области техники, предпочтительно, выбранный из группы, состоящей из ткани, опухолевой ткани, мочи, спермы, слюны, крови, плазмы крови, цереброспинальной жидкости, тромбоцитов крови и/или экзосом, более предпочтительно, выбранный из опухолевой ткани и тромбоцитов крови.

В способе согласно изобретению метаболический путь, предпочтительно, выбирают из группы, состоящей из пути переработки глюкозы, пути переработки глутамина и/или пути жирных кислот.

Предпочтительно, в способе согласно изобретению множественные области, представляющие интерес, находятся в мРНК генов переработки глюкозы, генов переработки глутамина, генов анаболизма жирных кислот, генов-транспортеров, генов окислительно-восстановительного гомеостаза, генов с потенциальным участием в раке, таких как онкогены, гены, участвующие в ангиогенезе, гены, участвующие в подавлении иммунитета, и вирусные гены.

Предпочтительно, в способе согласно изобретению множество областей, представляющих интерес, находятся в мРНК по меньшей

мере одного, двух, трех, четырех, пяти или по меньшей мере шести генов, выбранных из группы, состоящей из: ABAT, ACACA, ACACB, ACLY, ACO2, ACSS2, ADPGK, ALDOA, ARHGAP26, ATG4A. ATP5A1, CBR1, CBS, CHKA, CKB, CPT1A, CYCS, EGLN1, ENO1, G6PC, GAD1, GCLC, GCLM, GFPT1, GLDC, GSS, HK1, HK2, HK3, GLY1, G6PD, RGN, PGD, RPIA, RPE, TKT, PGI, ALDOA, GAPDH, PGAM1/2, ENO, PKM1/2, PDHA1, PDK1, PFKB1, PFKMb, PGAM1, PGD, PGK1, PKM, PRDX1, PRKAA1, RPIA, PC, CS, ACO1, IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B, IDH3G, OGDH, SUCLA2, SDHA/B/C/D, FH, MDH1, MDH2, PDK, LDHA, LDHB, SLC16A1, SLC16A3, CA9, CA12, SLC4A10, VHL, SDH, SDHAF2, HPGL/PCC, FH, CS, D-2HGDH, L-2HGDH, FH, IDH1-3A-G, MDH1-2, MYC, OGDH, SDHA-D, VHL, PHD, HIF1a, EPAS2 PDCD1, SLC1A5, ASCT2, GLS, GLUD1/2, GOT, GPI, GS, BCAT1, BCAT2, SLC1A2, SLC7A11, SLC25A1, ACLY, ACACA, ACACB, FASN, CPT1, SLC5A7, CHKA, CPT2, VLCAD, HADHA/B, SCAD, MCAD, LCAD, SCHA-D, 2-эноил-ВоА гидратазы, MCKAT, SLC16A1, SLC16A7, SLC2A1, SLC2A3, SLC5A1, SLC5A5, SLC7A1, SLC9A1, SLCA12, генов окислительно-восстановительного гомеостаза: NAMPT, NAPRT1, NOX1, NOX3, NOX4A, NQO1, SOD, SOD2, CAT, TAL, TIGAR, TRX, PARP1, ALK, AXL, BRAF, KRAS, TP53, MAPK8, MYC, TP53I3, FGFR1, FGFR2, IGF1-R, KDR, NTRK1, NTRK2, PDGFRA, PDGFRB, EGFR, EGFRvIII, ERBB2, ERBB3, ERBB4, MERTK, PLXND1, RET, андрогенного рецептора (AR), AR вариант 7, AR вариант 12, FOLH1, KLK3, MET, METdelta14, METdelat7-8, KIT, RON PTEN, VEGF-A121, VEGF-A144, VEGF-A165, VEGF-A189, CD274, CTLA4, HPV-E2, HPV-E6 и HPV-E7.

Предпочтительно, в способе согласно изобретению множественные представляющие интерес области находятся в мРНК: - генов переработки глюкозы, таких как, но не ограничиваясь указанным: ABAT, ACACA, ACACB, ACLY, ACO2, ACSS2, ADPGK, ALDOA, ARHGAP26, ATG4A. ATP5A1, CBR1, CBS, CHKA, CKB, CPT1A, CYCS, EGLN1, ENO1, G6PC, GAD1, GCLC, GCLM, GFPT1, GLDC, GSS, HK1, HK2, HK3, GLY1, G6PD, глюконолактоназа, PGD, RPIA, RPE, TKT, PGI, ALDOA, GAPDH, PGAM1/2, ENO, PKM1/2, PDHA1, PDK1, PFKB1, PFKMb, PGAM1, PGD, PGK1, PKM, PRDX1, PRKAA1, RPIA, PC, CS, ACO1, IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B, IDH3G, OGDH, SUCLA2, SDHA/B/C/D, FH, MDH1, MDH2, PDK, LDHA, LDHB, SLC16A1, SLC16A3, CA9, CA12, SLC4A10, VHL, SDH, SDHAF2, HPGL/PCC, FH, CS, D-2HGDH, L-2HGDH, FH, IDH1-3A-G, MDH1-2, MYC, OGDH, SDHA-D, VHL, PHD, HIF1a, EPAS2 и/или PDCD1;

- генов переработки глутамина, таких как, но не ограничиваясь указанным: SLC1A5, ASCT2, GLS, GLUD1/2, GOT, GPI,

GS, BCAT1, BCAT2, SLC1A2 и/или SLC7A11;

- генов анаболизма жирных кислот, таких как, но не ограничиваясь указанным: SLC25A1, ACLY, ACACA, ACACB, FASN, CPT1, SLC5A7, CNKA, CPT2, VLCAD, HADHA/B, SCAD, MCAD, LCAD, SCHA-D, 2-эноил-VoA гидратаза и/или MCKAT;

- генов-транспортеров, таких как, но не ограничиваясь указанным: SLC16A1, SLC16A7, SLC2A1, SLC2A3, SLC5A1, SLC5A5, SLC7A1, SLC9A1 и/или SLCA12;

- генов окислительно-восстановительного гомеостаза, таких как, но не ограничиваясь указанным: NAMPT, NAPRT1, NOX1, NOX3, NOX4A, NQO1, SOD, SOD2, CAT, TAL, TIGAR и/или TRX;

- генов репарации ДНК, таких как, но не ограничиваясь указанным: PARP1;

- генов с потенциальным вовлечением в рак, таких как, но не ограничиваясь указанным: ALK, AXL, BRAF, KRAS, HRAS, NRAS, GNAQ, GNA11, TP53, MAPK8, MYC, TP53I3, FGFR1, FGFR2, IGF1-R, KDR, NTRK1, NTRK2, PDGFRA, PDGFRB, EGFR, EGFRvIII, ERBB2, ERBB3, ERBB4, MERTK, PLXND1, RET, андрогенный рецептор (AR), AR вариант 7, AR вариант 12, FOLH1, KLK3, MET, METdelta14, METdelat7-8, KIT, RON и/или PTEN;

- генов, вовлеченных в ангиогенез, таких как, но не ограничиваясь указанным: VEGF-A121, VEGF-A144, VEGF-A165 и/или VEGF-A189;

- генов, участвующих в подавлении иммунитета, таких как, но не ограничиваясь указанным: CD274 и/или CTLA4; и/или

- вирусных генов, таких как, но не ограничиваясь указанным: HPV-E2, HPV-E6 и/или HPV-E7.

Предпочтительно в способе согласно изобретению наличие аберрантного уровня транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации также является показанием для лечения диетическими соединениями или фитохимическими веществами, необязательно, в комбинации с лекарственным средством. Специалисту в данной области техники известно, что лечение лекарственными средствами может с выгодой сочетаться с лечением диетическими соединениями или фитохимическими веществами.

Способ по изобретению может быть удобно применен для направления хода лечения субъекта (персонализированная медицина). Соответственно, в дополнительном аспекте изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего или подверженному риску заболевания или состояния, включающему в

себя:

- запрос выполнения или выполнение способа согласно изобретению, посредством чего определяют чувствительность и/или устойчивость субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, и
- лечение заболевания или состояния субъекта лекарственным средством, к которому заболевание или состояние субъекта является чувствительным. В данном аспекте все характеристики предпочтительно совпадают с характеристиками первого аспекта.

Предпочтительно, в способе лечения согласно изобретению заболевание или состояние представляет собой, по меньшей мере, одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, включая глиому, менингиому, эпендимому, пилоцитарную астроцитому, аденокарциномы, саркомы, гемангиомы, рак головы и шеи, рак молочной железы, рак легких, рак простаты, рак почки, рак яичников, рак эндометрия, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак поджелудочной железы, рак пищевода, рак базальных клеток, рак полового члена, рак вульвы, меланому, увеальную меланому, лимфому, острую миелоидную лейкемию, острую лимфобластную лейкемию, холангиокарциному, гепатоцеллюлярную карциному, саркому мягких тканей и остеосаркому; вирусной инфекции; бактериальной инфекции; аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

Предпочтительно, в способе лечения согласно изобретению лечение лекарственными средствами дополняют лечением диетическими соединениями или фитохимическими веществами.

Изобретение также предоставляет медикамент лекарственное средство для применения в лечении субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, при этом:

- способ согласно изобретению выполняют или запрашивают его выполнение, посредством чего определяют чувствительность и/или устойчивость субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, и
- вводят субъекту, страдающему или подверженному риску заболевания или состояния, лекарственное средство, к которому заболевание или состояние субъекта является чувствительным.

Предпочтительно, для лекарственного средства для применения

согласно изобретению заболевание или состояние представляет собой, по меньшей мере, одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака, вирусной инфекции, бактериальной инфекции, аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

Предпочтительно, для лекарственного средства для применения согласно изобретению лекарственную терапию дополняют лечением диетическими соединениями или фитохимическими веществами.

Изобретение также предоставляет способ для производства лекарственного средства для лечения субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, включающий в себя:

- запрос выполнения или выполнение способа согласно изобретению, посредством чего определяют чувствительность и/или устойчивость субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, и

- лечение заболевания или состояния субъекта лекарственным средством, к которому заболевание или состояние субъекта является чувствительным.

Предпочтительно, в способе производства лекарственного средства для лечения согласно изобретению заболевание или состояние представляет собой, по меньшей мере, одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака, вирусной инфекции, бактериальной инфекции, аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

Предпочтительно, в способе производства лекарственного средства для лечения по изобретению лекарственную терапию дополняют лечением диетическими соединениями или фитохимическими веществами.

Изобретение дополнительно предусматривает молекулярный обратный зонд, выбранный из группы, изложенной в таблице II. Изобретение дополнительно предоставляет набор молекулярных обратных зондов, по меньшей мере, из двух, трех, четырех, пяти, шести или более, выбранных из группы, изложенной в таблице II.

Изобретение также предоставляет библиотеку кольцевых молекулярных обратных зондов, которые можно получить посредством способа согласно первому или второму аспекту изобретения.

Определения

В настоящем описании и в формуле изобретения глагол «содержать» и его спряжения используют в неограничивающем смысле

для обозначения того, что элементы, следующие за словом, включены, но элементы, конкретно не упомянутые, не исключены. Кроме того, ссылка на элемент в единственном числе не исключает возможности того, что присутствует более одного элемента, если контекст явно не требует наличия одного и только одного из элементов. Таким образом, единственное число обычно означает «по меньшей мере, один».

Слово «около» или «приблизительно» при использовании в сочетании с числовым значением (например, около 10), предпочтительно, означает, что значением может быть заданное значение (10), и значение на 5% большее или меньшее заданного значения.

Информация о последовательности, представленная в настоящем описании, не должна толковаться настолько узко, чтобы требовать включения ошибочно идентифицированных оснований. Специалист способен идентифицировать такие ошибочно идентифицированные основания и знает, как исправить такие ошибки. В случае ошибок последовательности, последовательность полипептидов, которые можно получить путем экспрессии генов, присутствующих под SEQ ID № 1, содержащей последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих полипептиды, должна иметь преимущественную силу.

Все ссылки на патенты и литературу, процитированные в настоящем описании, полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

Таблица II. Описание последовательностей

| ID последовательности № | Название последовательности | Последовательность |
|-------------------------|-----------------------------|--|
| 1 | ABAT_0817 | CGTTGAATTTGATTATGATGGGCCTCTGNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTCCC TCAAGGGGTCA |
| 2 | ABAT_0820 | CAACAGACCCGCCCTCGGAATCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTACCTGGTTGA TGTGGACGGC |
| 3 | ABAT_0823 | CCTCTCCTTCATGGGCGCGTTCCATGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCGC CTTAAAGACCA |

| | | |
|----|------------|---|
| 4 | ABAT_0827 | GCCTTCTTGGTGGACGAGGTCCAGACCGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAA AAGAAGAAGAC |
| 5 | ABAT_0831 | GATTCATACGGAATAAGCTCATTTTAATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAAT GCAGCCCATGC |
| 6 | ACACA_3334 | GCTCATTTTGGAGGAATAATGGATGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGGCC AAATTGAGG |
| 7 | ACACA_3360 | GCTGGGAAGTTAATCCAGTACATTGTAGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGAT GGCAGCAGTTA |
| 8 | ACACA_3375 | CTCCTCCAACCTCAACCACNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTATTGCCTATGAACT TAACAGCGTAC |
| 9 | ACACA_3390 | GCAATGACATCACATACCGAATTGGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGATGATC AAGGTCAGCTG |
| 10 | ACACA_3408 | GCGCTGGTTTGTGGAAGTGAAGGAACAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAC ATCCCGTACCT |
| 11 | ACACB_0664 | TCCCACCAGAAGCCCCAANNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGATAACTCAGGG GAGACACCGCA |
| 12 | ACACB_0681 | GCAGGGACAGTGAATACCTCTATANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCCATC CAGCGGCGGCA |
| 13 | ACACB_0698 | CCCAGAGCATCGTGCAGTTGGTCCAGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATATG CCAGCAACATC |
| 14 | ACACB_0714 | CCACTGTCATCATGGACCCCTCAAGATCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCG AATACCTGCAG |
| 15 | ACACB_0730 | GCAGGCAGGACAGGTGTGGTTNNNNNNNNCTTCAGC TCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGACCGTGGTGAC |

| | | |
|----|------------|---|
| | | AGGACGA |
| 16 | ACLY_1628 | ACCACCTCAGCCATCCAGNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTTCGTCGGGCTGTGG AAGAAGCGCCG |
| 17 | ACLY_1636 | GCTGACCTTGCTGAACCCCAAAGGGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTGCCGA CTACATCTGCA |
| 18 | ACLY_1644 | GCTCCCGAGACGAGCCCTCAGTGGCTNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAAGG CCAAGCCT |
| 19 | ACLY_1652 | GCCAAGAACCAGGCTTTGAAGGAAGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGAGGGC CGCCTCACTAA |
| 20 | ACLY_1660 | GCTCGATTATGCACTGGAAGTAGAGAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATGAA GAAGGAAGGGA |
| 21 | ACO2_0767 | CCTGGATGACCCCGCCAGCCAGGAANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGGCGAT GAGCCACTTTG |
| 22 | ACO2_0773 | CGGTGAAAGGTGGCACAGGTGCAANNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGATGTCA TGGCTGGG |
| 23 | ACO2_0777 | GCTGCACCAATTCAAGCTATGAAGATATGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGC TGAAGCCACAC |
| 24 | ACO2_0783 | GCAAGGACCTGGAGGACCTGCAGATNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGGGAGT TTGACCCAGGG |
| 25 | ACO2_0787 | CGAGACCAACCTGAAGAAACAGGGCNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCATCAG GTGGGTGGTG |
| 26 | ACSS2_1192 | GCAATGAGCCAGGGGAGACCACTCAGATCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACTA AAGGGAAAATC |
| 27 | ACSS2_1196 | GCTGCATTGTGGTCAAGCACCTNNNNNNNNNCTTCAG |

| | | |
|----|---------------|---|
| | | CTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTTCTTGGATTCCA GCTGCAGTCTT |
| 28 | ACSS2_1202 | AGCCTGTCACCAAGCATAGCCGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTTTGTGTTTGTGTTG AGGGGATTCCC |
| 29 | ACSS2_1206 | CGCTTTGAGACAACCTACNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTTTCCCATTCTTTGGT GTAGCTCCTGC |
| 30 | ACSS2_1210 | CTTGCCTAAAACCCGCTCAGNNNNNNNNCTTCAGCT TCCC GATATCCGACGGTAGTGTTGCCTCTACTGCTT TGTCACCTTGT |
| 31 | ALDOA_0076 | CACTGGGAGCATTGCCAAGCGGCTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTAACCTTGCTAC TACCAGCACCA |
| 32 | ALDOA_0080 | GCCATCATGGAAAATGCCAATGTTCTGGCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTA GACTACCACCCAAGG |
| 33 | ALDOA_0082 | GCTCTGAGTGACCACCACATCTACNNNNNNNNCTTC AGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTTTATGCCAGT ATCTGCCAGCA |
| 34 | ALDOA_0084 | GAGGCGTCCATCAACCTCAATGCCATTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTGTC CATGCTTGCACTCAGAA |
| 35 | ALDOA_0086 | GCCTGTCAAGGAAAGTACACTCCGAGCGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTG TGCCCTGACCTTCTCCT |
| 36 | ARHGAP26_2921 | GTGCATAGGAGATGCAGAAACAGATGATGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTG TGACAA GACCAACAAAT |
| 37 | ARHGAP26_2925 | GTTTGTGGAGCCTCTGCTGGCCTTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTG TCCAAAAAGAA AGAATCTCAGC |
| 38 | ARHGAP26_2931 | GTGAAGGGACTGCGCAGTTGGACAGCATTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCC GATATCCGACGGTAGTG TGGAAG CAGTAGACAGG |

| | | |
|----|---------------|--|
| 39 | ARHGAP26_2939 | CAGCATCCTTAATTCCAGCAGCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGACTCCAAGCC CCCGTCCTGCA |
| 40 | ARHGAP26_2944 | G TTCACAGCAGGCACGGTCTTCGATAACGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCC AAACCTGCACT |
| 41 | ATG4A_3103 | GCTGGTATGGATCTTAGGGAAGCAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCGTAGTCAA GTTGCCGGTGG |
| 42 | ATG4A_3107 | CAGTTGCACAGGTGTTAAAAAACTTGCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAAT ACCAACGCATC |
| 43 | ATG4A_3110 | GTGTTTTAAGATGCCACAGTCTTTAGGGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTTC AAACCAGAGTA |
| 44 | ATG4A_3112 | TCCATTGCCTGCAGTCCCCACAGCGAATGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTA AAC CAAATAACGCG |
| 45 | ATG4A_3114 | GCCAAGCCAGAAGTGACAACCACTGGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCAAAGAA GAAAAAGACT |
| 46 | ATP5A1_1339 | GCCCGCGTACATGGGCTGAGGAATGTTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCACTCAT CTTCAAAGAC |
| 47 | ATP5A1_1342 | GAGTTGGTCTGAAAGCCCCGGTATCATNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTG TAGTGA AGAGGACAGGA |
| 48 | ATP5A1_1347 | ATGTCTCTGTTGCTCCGCCGACNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATGCTGCCCA CTTCAGTACCT |
| 49 | ATP5A1_1350 | GCTGCCCAAACCAGGGCTATGAAGCAGGTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTTAC ATTCCAACAAA |
| 50 | ATP5A1_1353 | GCCTTGTTGGGCACTATCAGGGCTGATNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTG TGGCTATT |

| | | |
|----|-------------|---|
| | | GAAGAACAAGT |
| 51 | ATP5C1_0551 | GCTGAGAGAGAGCTGAAACCAGCTCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGCAATGG ATTCAAGTTCG |
| 52 | ATP5C1_0553 | GTTATGCTTGTGGAATTGGTGACAANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGACAAG AAGAAACACC |
| 53 | ATP5C1_0555 | AAATTCAGGTCTGTCATCTCCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTCTGACCAGTTT CTGGTGGCATT |
| 54 | ATP5C1_0557 | GCCAGGATGACAGCCATGGACAATGCCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGTGCT GACAGCATGAG |
| 55 | ATP5C1_0559 | GTTCCATCCTCAGACAAGAGGTAAAGAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAATG CTTCTGAGATG |
| 56 | BCAT1_0990 | TAGTCACACCAGCTACCANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCTTTTTTGTGTTTGC CTGGGTCCTGG |
| 57 | BCAT1_0993 | GCTGTGAGGGCAACTCTGCCGGTATTTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTGGC TCATCAGCTTT |
| 58 | BCAT1_0996 | GTGGAAGTGGGGACTGCAAGATGGGAGGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGA AGCCTACCAA |
| 59 | BCAT1_0998 | GCATCATCTTCCAGGAGTGACANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGTGTCAGC AGGTCCTGTG |
| 60 | BCAT1_1000 | GCGAGACAATACACATTCCAATATGGAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAG AGAGATACCTC |
| 61 | BCAT2_1494 | GCCAGTGGGTGCCTACTTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTTCATCGAAGTGGACA AGGACTGGGTC |
| 62 | BCAT2_1497 | GCCTGCCGAGTTTCGACAAGCTGGAGTNNNNNNNNN |

| | | |
|----|------------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCCTCC ACTACTCCCT |
| 63 | BCAT2_1499 | GTGGGAATTATGGGCCACCGTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCCTGTTCCG TCATTCTCT |
| 64 | BCAT2_1501 | GCCTGGAGTGGTCAGACAGAGTCTANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCCTCTG GCTGTATGGG |
| 65 | BCAT2_1503 | CCTGTACAAAGACAGGAACCTCCNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGTGAGTT CCGGGTGGTGG |
| 66 | CA12_3467 | CCTGATGGGGAGAATAGCTGGTCCAAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAGGAG CCCGCAAGA |
| 67 | CA12_3470 | ACCCGCACGGCTCTGAGCACANNNNNNNNCTTCAGC TCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAAGCAGTTTC TCCTGACCAAC |
| 68 | CA12_3472 | CACCTTCAACATGTAAAGTACAAAGGCNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCATTAT AACTCAGACCT |
| 69 | CA12_3474 | GCTGCTGGCTTTGGAGACAGNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACATTGAAGAGCT GCTTCCGGAGA |
| 70 | CA12_3476 | GTGGTGGTGTCCATTTGGCTTTTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCCAGAGAA ATGATCAACAA |
| 71 | CA9_1143 | GCCCAGTGAAGAGGATTCACCCAGAGAGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCT GCTGTCACTGC |
| 72 | CA9_1145 | GAGGCTCCTGGAGATCCTCAAGAACCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGATCCA CCCGGAGAGGA |
| 73 | CA9_1148 | CCCTCTGACTTCAGCCGCTANNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTGGCCGCCTTT CTGGAGGAGGG |

| | | |
|----|-----------|---|
| 74 | CA9_1150 | GCGACGCAGCCTTTGAATGGGCGAGTGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTGCC CAGGGTGTCA |
| 75 | CA9_1152 | GCAGATGAGAAGGCAGCACAGAAGGGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGAGT GGACAGCAGT |
| 76 | CBR1_1512 | GTTGCTGATCCCACACCCTTTCATATNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGCCCG CGCTTCCACCA |
| 77 | CBR1_1515 | CCCCAAGCATCCTGCGTACTNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGTCAACAACGCG GGCATCGCCTT |
| 78 | CBR1_1516 | ATCTGCCGCTGCTTAACTCTGGGCCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCACAGAA TTACTCCCTCT |
| 79 | CBR1_1517 | GTCTTTGGTTGTAAACTGCTGTGATAGTTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGAG GAAAGTCCAAG |
| 80 | CBS_0094 | CCCTGTGGATCCGGCCCGATGCTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCAGCATGC CTTCTGAGACC |
| 81 | CBS_0099 | GCTCTTGGCCAAGTGTGAGTTCTTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGTCCCCACA TCACCACACT |
| 82 | CBS_0102 | CGGAGTCACACGTGGGGGTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCTGCGGCAGTGA GGGGCTAT |
| 83 | CBS_0107 | GCAAGAGGGGCTGCTGTGCGGTGGCAGTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACCTA CGAGGTGGAAG |
| 84 | CBS_0112 | GCTCTCGCACATCCTGGAGATGGANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGAATGGT GACGCTTGGG |
| 85 | CHKA_3492 | ACACCACAGCCACCCTTGGTGATGANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAGGGCCT |

| | | |
|----|------------|--|
| | | ATCTGTGGTGC |
| 86 | CHKA_3494 | GCCGGCGATTAGATACTGAAGAATTAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGAGA TGGGGGCTGAG |
| 87 | CHKA_3496 | GCTCAGTTACAATCTGCCCTTGGAAGTGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTAT GAAAATGCCAT |
| 88 | CHKA_3499 | CCAGTTACTTGCCTGCATTCCAAAATGANNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGAT TCGACATTGG |
| 89 | CHKA_3501 | GCAAGGTTTGATGCCTATTTCCACCAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAA GAAATGTTGC |
| 90 | CKB_1938 | CCACCTGCGGGTCATCTCCATNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCACTTCCTCTT CGACAAGCCC |
| 91 | CKB_1940 | GCGACGACCTGGACCCCACTACGTGCTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACG AGGAGTCCTAC |
| 92 | CKB_1945 | GGACTATGAGTTCATGTGGAACCCTCANNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTG GGTCAACGAGG |
| 93 | CKB_1947 | GCACAGGCGGTGTGGACACGGCTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTACATCCTCA CCTGCCCAT |
| 94 | CKB_1948 | GTGGTGGACGGAGTGAAGCTGCTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGTGCTTAAG CGGCTGCGAC |
| 95 | CPT1A_0611 | GGACTTCATTCTGAAAAAGAAGTTCNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGACT CGGTACTCTCT |
| 96 | CPT1A_0615 | GATCTGGATGGGTATGGTCAAGATCTTTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGCT GTTTGGCACCG |
| 97 | CPT1A_0621 | GCACATGAGAGACAGCAAGCACATCGNNNNNNNNNCT |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCTGGA CCGGGAGGAAA |
| 98 | CPT1A_0629 | GCTGGCGCACTACAAGGACATGGGCAAGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAC CGCAAATCTTC |
| 99 | CPT1A_0633 | GTTTGACTTGGAGAATAACCCAGAGTACGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCACCT CTTCTGCCTTT |
| 100 | CYCS_3031 | GGTCTCTTTGGGCGGAAGACAGGTCAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCGACTA AAAAGAGAAT |
| 101 | CYCS_3032 | GGGAGAGGATACACTGATGGAGTATTTGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACCGT TGAAAAGGGAG |
| 102 | CYCS_3033 | GGAAGAAAGGGCAGACTTAATAGCTTATCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTACAC AGCCGCCAATA |
| 103 | CYCS_3034 | CTTTTTTATGTGTACCATCCTTTAATAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGATCT TTGTCGGCATT |
| 104 | EGLN1_3069 | CGGGCAGCTGGTCAGCCAGAAGAGTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGTACAT CGTGCCGTG |
| 105 | EGLN1_3075 | GGAACGGGTTATGTACGTCATGTTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCTGCGAA ACCATTGGG |
| 106 | EGLN1_3077 | GATAGACTGCTGTTTTTCTGGTCTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGAGATGGA AGATGTGTG |
| 107 | EGLN1_3079 | GGTCGGTAAAGACGTCTTCTAGAGCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATATGC TACAAGGTACG |
| 108 | EGLN1_3080 | GTGAATACGAATAAATGGGATAAAGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGTAAAA AGGTGTGAGGG |

| | | |
|-----|-----------|---|
| 109 | ENO1_1724 | GCTGTGCCAGTGGTGCTTCAACTGGTANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGACCC AGTGGCTAGAA |
| 110 | ENO1_1728 | GCGGTTCTCATGCTGGCAANNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGGGGTGTCCC TTGCCGTCTG |
| 111 | ENO1_1732 | GCCTGACCAGCTGGCTGACCTGTACAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGAA AGCTGGCTACA |
| 112 | ENO1_1735 | GCCAATGGTTGGGGCGTCATGGTGTCTCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGTG ACCAACCCAAA |
| 113 | ENO1_1737 | CGGCAGGAACTTCAGAAACCCTTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACCTGGT TGTGGGGCTGT |
| 114 | FASN_2387 | CCCAGCCCCACCCACAANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCCACAGCCTGGCTGC CTACTACATC |
| 115 | FASN_2394 | CGTGGAGCAGCTGAGGAAGGAGGGTGTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCAGC CGTGGGCTT |
| 116 | FASN_2423 | GCCATCCAGATAGGCCTCATAGACNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCCGAGAT TCCATCCTAC |
| 117 | FASN_2438 | GCGTTCTTCAACGAGAGCAGTGCTGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGTGAGG TGCTTGGCT |
| 118 | FASN_2445 | GTGCTGGCTGAGAAGGCTGNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGGCATTTGGTG GAGACGAT |
| 119 | FASN_2447 | GGGCCTAGAGGAGCGTGTGGCAGCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGCTACCG GGCAAAG |
| 120 | G6PC_0139 | GCTGTGGGCATTAAACTCCTTTGGGTAGCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAACA |

| | | |
|-----|-----------|---|
| | | CATTACCTCCA |
| 121 | G6PC_0142 | GCCGACCTACAGATTTTCGGTGCTTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATAAAGCA GTTCCCTGTA |
| 122 | G6PC_0144 | GCATCTATAATGCCAGCCNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGGTTGGGATTCTGGG CTGTGCAGCTG |
| 123 | G6PC_0146 | CACCCTTTGCCAGCCTCCTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTTACCTTCTTCCTGT TCAGCTTCGCC |
| 124 | G6PC_0148 | CGTCTTGTCTTCTGCAAGAGTGCCGGTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGCTG CAAGGGGAAA |
| 125 | G6PD_0394 | CAGAGTGAGCCCTTCTTCAAGGCCACCCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCTG GCCAAGAAGAA |
| 126 | G6PD_0397 | ACCTGCAGAGCTCTGACCGGCTGTCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAACCGCC TCTTCTACCT |
| 127 | G6PD_0401 | GTACGTGGGGAACCCCGATGGAGANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGATGCT GTGTCTGGTGG |
| 128 | G6PD_0405 | GACGTCTTCTGCGGGAGCCAGATGCANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACCAAG ATGATGACCAA |
| 129 | G6PD_0407 | CCAGTATGAGGGCACCTACAAGTGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGAGGCCTG GCGTATTTTC |
| 130 | GAD1_0451 | GAAGAGTCGCCTTGTGAGTGCCTTCAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCCAA TACCACTAACC |
| 131 | GAD1_0455 | GCACAGGTCATCCTCGATTTTTCAACCANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTTTC ATCACCCACAC |
| 132 | GAD1_0459 | GATAAAGTGCAATGAAAGGGGGAAAATANNNNNNNN |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAGT TAAGACAAAGG |
| 133 | GAD1_0463 | GATGTCTCCTACGACACCGGGGACAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACCCT CACAAGATGA |
| 134 | GAD1_0467 | TTCCGGATGGTCATCTCCAACCCAGCCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTGCCA GACAGCCCTCA |
| 135 | GAPDH_1973 | CCCCTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCACA TCGCTCAGACA |
| 136 | GAPDH_1975 | GCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAATATGAT TCCACCCATGG |
| 137 | GAPDH_1978 | CCATCACTGCCACCCAGAAGACNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGAGAAGTATG ACAACAGCCTC |
| 138 | GAPDH_1980 | GCCAACGTGTCAGTGGTGGACCTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTGGCGTGAT GGCCGCGGGG |
| 139 | GAPDH_1982 | GCATTGCCCTCAACGACCACTTGTCAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAGG TGGTGAAGCAG |
| 140 | GCLC_1788 | GAAAATAAAAAAGTCCGGTTGGTCTGTCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAC GTGCGGCGGCA |
| 141 | GCLC_1792 | CCTCGCTTCAGTACCTTAACNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTTTGCACAATA ACTTCATTTCC |
| 142 | GCLC_1796 | GATCAGTAAATCCCGATATGACTCAATAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTCC CTTTTACCGAG |
| 143 | GCLC_1800 | CCTACAAATTGGATTTTCTCATTCCTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTC CTCCAAACTCA |

| | | |
|-----|------------|--|
| 144 | GCLC_1804 | GAACTAATGACAGTTGCCAGATGGATGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAGGT GTGTTTCCTGG |
| 145 | GCLM_1678 | GAAATGAAAGTTTCTGCAAAACTGTTTCATNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTG AACTGGGGCCG |
| 146 | GCLM_1680 | GCAAAAAGATTGTTGCCATAGGTACCNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCAGTCC TTGGAGTTGCA |
| 147 | GCLM_1682 | GCTTTCTGAAGCAAGTTTCCAAGAAGCNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGGT AAAACCAAATA |
| 148 | GCLM_1683 | GCTACTGCGGTATTCGGTCATTGTGAAANNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAATT TGACATACAGC |
| 149 | GCLM_1684 | CTTACCTGTAATTTCCCTCAATATGAGAGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGTG GGTGCCGCTGT |
| 150 | GFPT1_1220 | GCACTGGATGAAGAAGTTCACAAGCNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCTTCAG AGACTGGAGTA |
| 151 | GFPT1_1224 | GCCCTCTGTTGATTGGTGTACGGAGTGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAAGTC AAGATACCA |
| 152 | GFPT1_1228 | CACTCCAGATGGAACTCCAGCAGATCANNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAGAAC ACACCAATCGC |
| 153 | GFPT1_1234 | GTTTGCCCTTATGATGTGTGATGATCGNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAA CACAGTTGGCA |
| 154 | GFPT1_1238 | GCTCTTCAGCAAGTGGTTGCTCGGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTTATATG CACTCTGAAGG |
| 155 | GLDC_0162 | GACGGTCCCTGCCAACATCCGTTTGAAAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGA |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | GCGCCTTCTGC |
| 156 | GLDC_0168 | CAGACACGGAGGGGAAGGTGGAAGACTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCAC AGACAATAGC |
| 157 | GLDC_0177 | GCATGATTCCACTGGGATCCTGCACCANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGTCTG TGTTCAAGAGG |
| 158 | GLDC_0183 | GCCCTGGAGACTTCGGGTCTGATGTCTNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATAACC CATCCACCAA |
| 159 | GLDC_0189 | ACTGAGTCGGAGGACAAGGCAGAGCTGGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAGA CCCTTCAAAA |
| 160 | GLS_1282 | GCTGAAGGACAAGAGAAAATACCTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGACGGC CCCGGGGAGA |
| 161 | GLS_1285 | GGTTGCAGATTATATTCCTCAACTGGCCANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGAG CAACATTGTTT |
| 162 | GLS_1288 | GCTGGAGCAATTGTTGTGACTTCACNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCCATTGCT GTTAATGATCT |
| 163 | GLS_1292 | GCAGTTCGAAATACATTGAGTTTGATGCANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAC TTCTACTTCCA |
| 164 | GLS_1295 | GAAGGTGGTGATCAAAGGCATTCCTTTGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTG GATAAGATGGG |
| 165 | GLUD1_2495 | GCGGCATCCTGCGGATCATCAAGCCCTGNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGACC CCAACTTCTT |
| 166 | GLUD1_2501 | GTGAGCGGGAGATGTCCTGGATCGCTGATNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAATC CCAAGAACTAT |
| 167 | GLUD1_2504 | GCTAAATGTATTGCTGTTGGTGAGTCTNNNNNNNNC |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCAAT GAAGCTTCTTA |
| 168 | GLUD1_2507 | GCTGACAAGATCTTCCCTGGAGAGAAACANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGAG GCCGACTGTG |
| 169 | GLUD1_2510 | GCACTCTGGCTTGGCATAACAATGGAGCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCT CATGTCTGTTC |
| 170 | GLUD2_2853 | GCGAGGAGCAGAAGCGGAACCGGGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACTACAGCG AGTTGGTGG |
| 171 | GLUD2_2856 | ACCGAAAATGAATTGGAAAAGATCACAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACT GATGTGAGTGT |
| 172 | GLUD2_2859 | GCATTTTAGGAATGACACCAGGGTTTAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATGCAC ACGCCTGTGTT |
| 173 | GLUD2_2862 | TCGACTGTGACATACTGATCCCAGCTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGATG GGAGTATATGG |
| 174 | GLUD2_2867 | GCCAGGCAAATTATGCACACAGCCATGAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAATTT GGAAAGCATGG |
| 175 | GOT_1990 | GACCCCGCAAGGTCAACCTGGGAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCGTGGG GTGAAAT |
| 176 | GOT_1993 | CAAACAACAAGAACACACCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCTTCTCGTCTTG CCCTTGGGG |
| 177 | GOT_1996 | GACTCAGCCTATCAGGGCTTCGCATCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTCCTGAG TTCTCCATTG |
| 178 | GOT_1998 | CCTGCAAGTCCTTTCCAGNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCCTGGGCCATTG CTATTTTGTGT |

| | | |
|-----|----------|--|
| 179 | GOT_2000 | AGCCCTCAAACCCCTGGGACCTGGAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGGAGC ACGAATTGTGG |
| 180 | GPI_1522 | GCTTTGACCAGTGGGGAGTGGAGCTGGGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAG GAAATCGCCCA |
| 181 | GPI_1523 | GCTCATCAACTTCATCAAGCAGCAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATCATCTG GGACATCAACA |
| 182 | GPI_1524 | GTGCTCATCTGCAGCCTCCTCTGTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCAGCTGG CTAAGAAAATA |
| 183 | GPT_2527 | GGAGCTGCGCCAGGGTGTGAAGAANNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGCCAGGC GGTGAG |
| 184 | GPT_2528 | GCATGGACTGAGGGCGAAGGTGCTGACGNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCACTAA GCCAGACCCA |
| 185 | GPT_2536 | GGGCAGAGGCCCATCACCTTNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGAGTGGAGTAC GCAGTGCGTGG |
| 186 | GPT_2537 | CGATGCCAAGAAAAGGGCGGAGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCACCGAGGT CATCCGTGCC |
| 187 | GPT_2540 | GCTGGGTCGCCCTGGACTGTGTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGCACCTACC ACTTCC |
| 188 | GS_0645 | TGGAGAAGGACTGCGCTGCAAGACCCGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACGAAC ACCTTCCACCA |
| 189 | GS_0648 | ACATGGTGAGCAACCAGCACCCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGTGCCTGCTG CCATGTTTCGG |
| 190 | GS_0650 | GCTTGTATGCTGGAGTCAAGATTGCGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGATG |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | GGCACCCCTTT |
| 191 | GS_0653 | CGAGGAGGCCATTGAGAACTAAGCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGTGAAGA CTTTGGAGTG |
| 192 | GS_0656 | CCTCATCCGCACGTGTCTTCTCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTTTCTGCTGG TGTAGCCAATC |
| 193 | GSS_0206 | GCTGTCAGCCAGAACGCTGCCTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCTCACAGGAG CCCCTTCCT |
| 194 | GSS_0208 | GCAGCGCAGATGGCTCCCCAGCCCTGAAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGCA CCATCAAACAG |
| 195 | GSS_0212 | GCTGTTTGTGGATGGCCAGGAAATTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAAGGA AAGAAACATAT |
| 196 | GSS_0215 | GATGTGGGTGAAGAAGGGGACCAGGCCATNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCT GGGACTAAGAA |
| 197 | GSS_0218 | GCAGGAAAAGACACTCGTGATGAACAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCCTA CATCCTCAT |
| 198 | HIF1A_1815 | GTTTTTTATGAGCTTGCTCATCAGTTGCCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGGG GACCGATTAC |
| 199 | HIF1A_1821 | GCTTGGTGCTGATTTGTGAACCCATTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGAGGAA GAACTATGAAC |
| 200 | HIF1A_1827 | GATGCTTTAACTTTGCTGGCCCCAGCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTTCAA CAAACAGAATG |
| 201 | HIF1A_1833 | CACCATTAGAAAGCAGTCCGCAAGCCCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTG AAGACACAGAA |
| 202 | HIF1A_1839 | GCAGCTACTACATCACTTTCTTGAAACGNNNNNNNN |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAA CTAAATCCAAA |
| 203 | HIF2A_1750 | GCCTCCATCATGCGACTGGCAATCAGCTTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGAGG AGGAAGGAGAA |
| 204 | HIF2A_1754 | CACGGTCACCAACAGAGGCCNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGATCTTTGACTTCAC TCATCCCTGCG |
| 205 | HIF2A_1760 | GGACCAGACTGAATCCCTGTTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGGGCTACGT GTGGCTGG |
| 206 | HIF2A_1768 | GTCTGCAAAGGGTTTTGGGGCTCGAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAGATCC ACCATTACA |
| 207 | HIF2A_1772 | TTCCCCCACAGTGCTACGCCANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGAGCGCAAAT GTACCCAATG |
| 208 | HK1_0224 | TGGCCTCTCCCGGATTTTAATCCAACNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCTATTA CTTCACGGAGC |
| 209 | HK1_0230 | GCACATTGATCTGGTGAAGGAGACGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACATCGT AGCTGTGGTGA |
| 210 | HK1_0236 | GCGCTTCCTCCTCTCGGAGAGTGGCAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATAACAA GGGCACACCCA |
| 211 | HK1_0242 | GCGGGAATCTTGATCACGTGGACAANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGAAGAG CTGTTTGATCA |
| 212 | HK1_0248 | GCTATCCTCCAGCAGCTAGGTCTGAANNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTIONTACC AAGAAGGGATT |
| 213 | HK2_0268 | CTACCACATGCGCCTCTCTGATNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTCGCGTCTCC GCCTCGGTTC |

| | | |
|-----|----------------------------|--|
| 214 | HK2_0274 | GTTGGGACCATGATGACCTGTGGTTATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATGG ACCAAGGGAT |
| 215 | HK2_0283 | GCTGGTCCGTGTTCCGGAATGGGAAGTGGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGA GACTCATGCCA |
| 216 | HK2_0291 | GTCTCAGATTGAGAGTGACTIONNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGAAT GTACCTGGGTG |
| 217 | HK2_0295 | GCGGCGCTCATCACTGCTGTGGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGGTGTGGAT GGGACCCTCTA |
| 218 | HK3_2013 | CGTCTGTGCGGCCGTGTGNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGAGCCAAGGCAGCAT CCTCCTG |
| 219 | HK3_2028 | CTCTTTCCCTTGTACCAGACGGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTGTGATCCC CCAAGAGGTG |
| 220 | HK3_2032 | CGGAGGCCTGTACCTGGGTGAGCTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCGTCAG CGTCGAGT |
| 221 | HK3_2041 | GGCCTCATTTGTGGAACCGGCANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATGTCGTGAGT CTGTTGCGGG |
| 222 | HK3_2045 | GAGATCGAAAGTGACAGCCTGGCCCTGCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGTAC CTGGGGGAGA |
| 223 | Housekeeping_ ACTB_0800 | GCCCAGAGCAAGAGAGGCATCCTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCATGTGCAAG GCCGGCTT |
| 224 | Housekeeping_ ACTB_0802 | GAAGATGACCCAGATCATGTTTGTGACCTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAA CTGGGACGACA |
| 225 | Housekeeping_ ACTB_0805 | GCTACGTGCCCTGGACTTCGAGCAAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGTC |

| | | |
|-----|----------------------------|--|
| | | TGGACCTGGCT |
| 226 | Housekeeping_ ACTB_0808 | ACCACCATGTACCCTGGCATTGCCGACANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCAG CCTTCCTCCT |
| 227 | Housekeeping_ ACTB_0810 | GTGGATCAGCAAGCAGGAGTATGACGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAGGA GATCACTGCC |
| 228 | Housekeeping_ TUBB_1551 | GCTCAGGTCCTTTTGGCCAGATCTNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGCGAGC AAAAAATTAA |
| 229 | Housekeeping_ TUBB_1554 | GCCTTCACCCAAAGTGTCTGACACNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTGCCTGCA GGGCTTCCAGC |
| 230 | Housekeeping_ TUBB_1557 | GTCCCCTTCCCACGTCTCCATTTCTTTATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACC ACACCAACCTA |
| 231 | Housekeeping_ TUBB_1559 | GTGGTCGGATGTCCATGAAGGAGGTCGATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCC AGCAGTATCGA |
| 232 | Housekeeping_ TUBB_1563 | GCCGAAGAGGAGGCCTAAGGCAGAGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACAGGC GAGGGCATGGA |
| 233 | IDH3A_2545 | GCCATTCAAGGACCTGGAGGAAAGTGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGGT GTTTCAGACAGT |
| 234 | IDH3A_2546 | TAGCAGCCGGTCACCCATCTATGAANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCAGTGGG AGGAGCGG |
| 235 | IDH3A_2547 | CCCCTTACACCGATGTAAATATTGTGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGCTTGA AAGGCCCTTG |
| 236 | IDH3A_2548 | CGTGCAGAGTATCAAGCTCATCACCGAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCG ACCATGTGTCT |
| 237 | IDH3A_2549 | CGGAGCAACGTCACGGCGGTGCACANNNNNNNNNCTT |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGGAGAA TACAGTGG |
| 238 | IDH3A_2550 | GAGATGTACCTTGATACAGTATGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGCCCGGAAC AACCAC |
| 239 | IDH3A_2551 | GTGACTTGTGTGCAGGATTGATCGGAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGAAA GCTGTAAAGAT |
| 240 | IDH3A_2552 | GTCGGTTCATGGGACGGCTCCNNNNNNNNCTTCAGC TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCAATTTGATGT TCTTGTTATGC |
| 241 | IDH3A_2553 | GATGCTGCGCCACATGGGACTTTTTGACCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACC AAGTGGCAACA |
| 242 | IDH3A_2554 | GCAAAATGCTCAGACTTCACAGAGGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTGCTC AGTGCCGTGAT |
| 243 | IDH3A_2555 | TCTACAACGGCATTTCATCAGTCACNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGCTG CGTGTTTTG |
| 244 | IDH3B_2791 | GCTGAGTTCCATGAAGGAGAACAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGTGGGGCC TGAGCTGATG |
| 245 | IDH3B_2792 | GCGGCTGAGGCGTAAGTTGGACTTATTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAATAT GGCATCTGAGG |
| 246 | IDH3B_2793 | GTGATCATTCGAGAGCAGACAGAAGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGTAT AAGGGGGAG |
| 247 | IDH3B_2794 | GCGGATTGCAAAGTTCGCCTTTGACTATGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCACAA CAATCTAGACC |
| 248 | IDH3B_2795 | GAAACTTGGGGATGGGTGTTCTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGTGTGAT TGAGTGTTTG |

| | | |
|-----|------------|---|
| 249 | IDH3B_2796 | GTGCAGAATCCTTACCAGTTTGATGTGCTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAG GCCAACATCAT |
| 250 | IDH3B_2797 | GCTGGTGTGGTCCCTGGTGAGAGCTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGACAATG ATCATAGACAA |
| 251 | IDH3B_2798 | GCCATGCTGCTGTCTGGCTTCNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTGCTGGCCTG GTTGGGGG |
| 252 | IDH3B_2799 | GCAAGGTGCGGACTCGAGACATGGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGTGGGCA GGAATATAG |
| 253 | IDH3B_2800 | GCCCTTTATTTCTTCCAACCTTGCAAGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGATG CGGTGAAGAAG |
| 254 | IDH3G_3240 | GCACACGGTGACCATGATCCCAGGGGATNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGGC GGTGCTCGGG |
| 255 | IDH3G_3241 | GTACCAGTGGACTTTGAAGAGGTGCACGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAA CAAACAATTCC |
| 256 | IDH3G_3242 | GCCCTGAAGGGCAACATCGAAACNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGCATGTC AAGTCCGTCTT |
| 257 | IDH3G_3243 | CGTCATCCACTGTAAGAGCCTTCCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGCCATCAT GGCCATCCGCC |
| 258 | IDH3G_3244 | GTACAGCAGCCTGGAGCATGAGAGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAACAT CCTTCGCACCA |
| 259 | IDH3G_3245 | GCATTGCCGAGTATGCCTTCAAGCTGGCGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGG ACATAGACATC |
| 260 | IDH3G_3246 | GCTTTTCTCCAGTGCTGCAGGGAGGTGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAT |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | CATCACCAAGG |
| 261 | IDH3G_3247 | CGGCCCCAGCAGTTTGATGTCATGGTGATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAAC ATCATGAAACT |
| 262 | IDH3G_3248 | GTGGCTGGGGCCAACACTATGGCCATGTGTANNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAT AACACCACCAT |
| 263 | IDH3G_3249 | CCAACCCCACGGCCACCCTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGTCAACAATGTCT GCGCGGGACTG |
| 264 | IDH3G_3250 | GCTGTCCTGGCATCCATGGACAATGAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAGG AACACCGGCAA |
| 265 | IDH3G_3239 | CACTGACCACAGCCCCANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGCACTCCTATGCCAC CTCCATCCGT |
| 266 | L2HGDH_3084 | GTCATCGTTGGTGGCGGANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGGTTGGTGGTGCCTGC GGACGGG |
| 267 | L2HGDH_3085 | GTTCTGGAAAAGGAGAAAGATTTAGCTGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGT GGAGGTAGCCG |
| 268 | L2HGDH_3086 | TGTGTACAAGGTGCAGCCCTCCTCTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCCATCA CTTTCTATTGG |
| 269 | L2HGDH_3087 | TTCCCAGACTTCAGGCCNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTATTATAAACCTGAGT CTCTGAAAGCC |
| 270 | L2HGDH_3088 | GCCATATTGTAGGGGTCTAATGGCTATTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGCT TATAGTAGCTG |
| 271 | L2HGDH_3089 | GCAGGTGGCTCTGTCTTGNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGCTGATCCAGCAG GAGGAT |
| 272 | L2HGDH_3090 | GAATACAAAGGGAGAGGAAATTCGATGTCNNNNNNN |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCCCA GGATTTCCAAG |
| 273 | L2HGDH_3091 | GGCTGCACTCCTGATCCTCGAATTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCAAGA AGTATAGATGG |
| 274 | L2HGDH_3092 | GCCGGTTTCCTTTCCTAGGAGTTCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACCGTATTT CAGAGTTGAGT |
| 275 | L2HGDH_3093 | CCCTTTGACTTCAGTGCCACAGATGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAATATT TATCCGGTCCC |
| 276 | L2HGDH_3094 | GCATGTTTTCTTGGTGCAACAGTGAAGTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACGA GAGGGTTACAG |
| 277 | L2HGDH_3095 | GCCCAGCTGGAGTAAGAGCCCAGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATTAACTGG CATCCCAGAAT |
| 278 | L2HGDH_3096 | GGGATATTGGAAATCGCATTCTTCATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCAA AAATTCATCCC |
| 279 | L2HGDH_3097 | GCAGATGAAGTACAACAAAGATTTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATGGAAAT CTGGTAGAAG |
| 280 | L2HGDH_3098 | GCAACAAGAATGTACTAATTGCATTCTTTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACC TTCTCCTGCTG |
| 281 | LDHA_0840 | GCATGGCCTGTGCCATCAGTATCTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCATTCCCGA TTCCTTTTGGT |
| 282 | LDHA_0842 | GTTATTGGAAGCGGTTGCAATCTGGANNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGGGA GAGATGATGGA |
| 283 | LDHA_0844 | GCACCCAGATTTAGGGACTGATAAAGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATGGG GGAAAGGCTGG |

| | | |
|-----|------------|---|
| 284 | LDHA_0846 | GGATGATGTCTTCCTTAGTGTTCCTTGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCTCAA AGGCTACACAT |
| 285 | LDHA_0848 | GCATGTTGTCCTTTTTATCTGATCTGTGNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCCG TTTGAAGAAGA |
| 286 | LDHB_0954 | GTTGGTATGGCGTGTGCTATCAGCATTCNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACC AGGCCCTACT |
| 287 | LDHB_0956 | GCAAGAAGGGGAGAGTCGGCTCAATCNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGAGA AATGATGGATC |
| 288 | LDHB_0959 | GTGTGGCTGTGTGGAGTGGTGTGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCAAACACCGCG TGATTGGAA |
| 289 | LDHB_0961 | GTGTGGCTGATCTTATTGAATCCATGTTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAATC CAGAAATGGGA |
| 290 | LDHB_0963 | GCTCAAGAAAAGTGCAGATACCCTGTGGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAT GGTAAAGGGGA |
| 291 | MAPK8_1429 | CCTATAGGCTCAGGAGCTCAAGGAATAGTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGATG AAGCCATTAAA |
| 292 | MAPK8_1432 | GCAAATCTTTGCCAAGTGATTCAGATGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAGAG CTAGTTCTTAT |
| 293 | MAPK8_1435 | CGTTGACATTTGGTCAGTTGGGTGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACTTTGAA GATTCTTGACT |
| 294 | MAPK8_1438 | GCTGGTAATAGATGCATCTAAAAGGATCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAAA CAGACCTAAAT |
| 295 | MAPK8_1441 | GCTCTCAGCATCCATCATCATCGTCTGCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAC |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | ACACAATAGAA |
| 296 | MYC_2089 | CGACTCGGTGCAGCCGTATTTCTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCTCTGAAA GGCTCTCCTTG |
| 297 | MYC_2090 | TTCGAGCTGCTGCCCACCCNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGGA ACTATGAC CTCGACT |
| 298 | MYC_2093 | TCTGTGAAAAGAGGCAGGCTCCNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCTCCTCG ACGGAGTCCT |
| 299 | MYC_2094 | CTGGTCCTCAAGAGGTGCCACGTCTNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGAGGAA CAAGAAGA |
| 300 | MYC_2095 | CAGTGT CAGAGTCTGAGACAGATCAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGCAA ACCTCCTCACA |
| 301 | MYC_2096 | GCGCCAGAGGAGGAACGAGCTAAAACGGANNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAG GGTCAAGTTGG |
| 302 | MYC_2097 | AGCCACAGCATA CATCCTGTCCGTCCNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAACACA CAACGTCTTGG |
| 303 | MYC_2098 | CTTGAACAGCTACGGAACTCTTGTGCGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCCCC AAGGTAGTTAT |
| 304 | MYC_2099 | CCTTCTAACAGAAATGTCCTGAGCAATCANNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCA GAGGAGCAAAA |
| 305 | NAMPT_2562 | CTTTGAATGCCGTGAAAAGAAGACAGAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCT CCGGCCCGAGA |
| 306 | NAMPT_2565 | GGAAATGTTCTCTTCACGGTGAAAACACNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAA GAACATTTCCA |
| 307 | NAMPT_2568 | GTAGCAGGACTTGCTCTAATTANNNNNNNNNCTTCAG |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAACTTCTGGT AACTTAGATGG |
| 308 | NAMPT_2572 | GCCACCTTATCTTAGAGTTATTCAAGGGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACA GGCACCCTAA |
| 309 | NAMPT_2575 | CGCCAGCAGGGAATTTTGTACTGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTTGA ATTGTTCCCTC |
| 310 | NAPRT1_3185 | GCCCAGGTGGAGCCACTANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTTCGGCTCCTGGGC TCTGACGGGT |
| 311 | NAPRT1_3193 | GTTCCAGGTGCCCTGGCTGGAGTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCTCCTAGC AGTCGCCCT |
| 312 | NAPRT1_3194 | GTCATTGGCATTGGCACCAGTGTGGTCANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCTTC CGAGCTGCTG |
| 313 | NAPRT1_3195 | CGAGGACCCCGAGAAGCAGACGTTGCCTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGG CAGTGAGGTGA |
| 314 | NOX1_2825 | GCCTTCCTGAAATATGAGAAGGCCGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCCCTG TTGCCTAGAAG |
| 315 | NOX1_2829 | CCCATCCAGTCCCGAAACACNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTATTCACATCATT GCACACCTGTT |
| 316 | NOX1_2833 | GCACCGGTCATTCTTTATATCTGTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAGCATG AATGAGAGTCA |
| 317 | NOX1_2837 | GCTGGTTGGAGCAGGAATTGGGTTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAGGGGA CTGGACAGAAA |
| 318 | NOX1_2841 | GTCTGTAGTGGGAGTTTTCTTATGTGGCCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCA TGCAGCATTAA |

| | | |
|-----|------------|--|
| 319 | NOX3_2954 | CGAGTTATTTTGGGTTCAACACTGGCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGTGC TGGATTTTGAA |
| 320 | NOX3_2958 | CCCCACAAACACAACCACNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTACATCGTGGCGCATTT CTTCAACCTGG |
| 321 | NOX3_2962 | GCGATTTCAACAAGAAGTTGTCATTACCANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGA ATGGCAGACAG |
| 322 | NOX3_2966 | GCGTTGCCGCGGGGATCGGAGTCACTCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTACTGG AGGCCTTTGG |
| 323 | NOX3_2970 | CAAGCAGATTGCCTACAATCACCCANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCTTAC CGGCTGGGATG |
| 324 | NOX4a_3007 | GTCCTGCTTTTCTGGAAAACCTTCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTTCTCGG TCCGGCGGGCA |
| 325 | NOX4a_3011 | ACTTCTCTTCACAACCTGTTCTGGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTATCTGTAT TTTCTCAGGCG |
| 326 | NOX4a_3015 | GCCAGATTCCAAGCTAATTTTCCACNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAGCTC TCAGAATATTT |
| 327 | NOX4a_3019 | GAAATTCTGCCCTTCATTCAATCNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCATCCATTT ACCCTCACAAAT |
| 328 | NOX4a_3023 | CGGTGGAAACTTTTGTGTTGATGAAATAGCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCAA GAGAACAGACC |
| 329 | NQ01_0486 | GCGGCTTTGAAGAAGAAAGGATGGGANNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACCACGA GCCAGCCAAT |
| 330 | NQ01_0488 | GCTGGAAGCCGCAGACCTTGTGATATTCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAATTC |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | CAGAAAGGACA |
| 331 | NQ01_0490 | CATCACCCTGGTGGCAGTGGCTCCATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGTT TGGAGTCCCTG |
| 332 | NQ01_0492 | GCCCGAATTCAAATCCTGGAAGGATGGAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGG ATCCACGGGGA |
| 333 | NQ01_0494 | CAAGTCCATCCCAACTGACAACCNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACCACTGTA TTTTGCTCCAA |
| 334 | OGDH_0591 | GATTCGGTGCTATTCTGCACCTGTTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAACTT CAGGACAAAA |
| 335 | OGDH_0592 | GCTGGAAAACCCCAAAGTGTACATAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAAA CAGACCAGCAG |
| 336 | OGDH_0593 | CTGCCTACCAGAGTCCCCTTCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTTTCTCAGTG GGACTAGTTCG |
| 337 | OGDH_0595 | GCTGATCTGGACTCCTCCGTGCCCGCTGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAA GCACAGCCCAA |
| 338 | OGDH_0596 | TTCCAATTGCCACCACCACNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCATGTAGCACAG CTGGACCCCT |
| 339 | OGDH_0597 | GCATATTGGGGTGGAGTTCATGTTTCATNNNNNNNN TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGCCT GGATGAGTCTG |
| 340 | OGDH_0598 | GCAGTTCACAAATGAGGAGAAACGGACNNNNNNNN TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGGGA GATCATCCG |
| 341 | OGDH_0599 | GCTTTGGTCTAGAAGGCTGCGAGGTACTIONNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAGT TTGAGACCCCT |
| 342 | OGDH_0600 | GAGGGCGGCTGAACGTGCTTGCAAATNNNNNNNNCT |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGTGGT CCTCTGAGAAG |
| 343 | OGDH_0601 | GCTGATGAGGGCTCCGGAGATGTGAAGTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAAT GGCGTGGACT |
| 344 | OGDH_0602 | CTTGTCCCTGGTGGCCAACCCTTCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCTGGAACA GATCTTCTGTC |
| 345 | OGDH_0603 | GCGACACTGAAGGGAAAAAGGTAAGGCCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCGCA GGATCAATCGT |
| 346 | OGDH_0604 | GGAGTTCCGCTCACCAACATAACCCAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACCC CGTGGTGATGG |
| 347 | PARP1_1853 | AGCATCCCCAAGGACTCGCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTCTAGGTCGTG GCGTCGGGCTT |
| 348 | PARP1_1859 | GAGTGGATGAAGTGGCGAAGAAGAAATCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGAGT ACAGTGCGAGT |
| 349 | PARP1_1868 | GCAAGGGCCAGGTCAAGGAGGAAGGTATCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGA GCCTTCAGGAG |
| 350 | PARP1_1877 | GCTGGACATCGAGGTGGCCTACAGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTCAGAT CCTGGATCTCT |
| 351 | PARP1_1883 | CCTTCAGCTAACATTAGTCTGGATGGTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTTA ATCCTGTTGGG |
| 352 | PC_0499 | GTGGATGTGGCAGCTGATTCCATGTCTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCATG CTGGTCAGCT |
| 353 | PC_0507 | GCATGAGGGTGGTGCACAGCTANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGCGGGTG TTCCCGTTGTC |

| | | |
|-----|------------|--|
| 354 | PC_0515 | CCAAAAGCTGTTGCACTACCTCGGCCNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGACCAA CATCGCCTTCC |
| 355 | PC_0524 | GCGCGTGTTTGACTACAGTGAGTACTGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGCTGG AGCTGATGTG |
| 356 | PC_0532 | CAAGGACACCCAGGCCATGAAGGAGATGNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGGT GGAGCTGGAG |
| 357 | PDHA1_0305 | GAAATTAAGAAATGTGACCTTCACCGGCNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCACTGC CTGTGCTTCAT |
| 358 | PDHA1_0308 | GCTCACGGCTTTACTTTACCCGGGGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAGATCAG CTGTATAAACA |
| 359 | PDHA1_0311 | GTGGAAATTACCTTGTATTTTCATCTGTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGGG CGCTGGGATTG |
| 360 | PDHA1_0313 | GTAGATCTGGGAAGGGGCCCATCCTGATGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTTG AGAGAGCGGCA |
| 361 | PDHA1_0316 | GGAAGAGCTGGGCTACCACATCTACTCCANNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGA CAGGATGGTGA |
| 362 | PDK1_1451 | GATAATCTTCTCAGGACACCATCCGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTCTCCATG AAGCAGTTCCT |
| 363 | PDK1_1453 | GCAAGATGATCTTTACAGATACTGTGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGGTATA TCCAGAGTCTT |
| 364 | PDK1_1456 | GCTATGAAAATGCTAGGCGTCTGTGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCAATTAGAA TGTTACTCAAT |
| 365 | PDK1_1459 | GCGTTCCTTTGAGGAAAATTGACAGACTTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCAAGA |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | ATGCAATGAGA |
| 366 | PDK1_1462 | GCCTGGAAGCATTACAACACCAACNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTACGCACAA TACTTCCAAGG |
| 367 | PFKB1_1411 | TGCGCCCTGGCAGCCCTGAAGGATGTTCANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAA AAAACCTCTAG |
| 368 | PFKB1_1414 | GAGGAACTGGACAGCCACCTGTCCTACATNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAGAA AACATCAGGCA |
| 369 | PFKB1_1417 | GTCACATGAAGAGGACCATCCAGACAGCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGTCA ACATCAGAGGC |
| 370 | PFKB1_1420 | GCTGTCATGCGGTGCCTCCTGGCCTATTTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAA GATAAATATCG |
| 371 | PFKB1_1422 | ACATCACCCGGGAACCTGANNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGCTTCCATATCTCA AGTGCCCTCTG |
| 372 | PFKMb_0914 | GCTGGGGAAGCTTCTACTTCCAGCATGCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCG CCTTCACAGCA |
| 373 | PFKMb_0920 | GTGGAGTGACTTGTTGAGTGACCTCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGACTT TCGGGAACGAG |
| 374 | PFKMb_0926 | GCAGGATGGGTGTGGAAGCAGTGATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCAATCA CCTCAGAAGAC |
| 375 | PFKMb_0932 | CATTGGGGGCTTTGAGGCTTACACAGGGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTATGT TGGGGGCTGGA |
| 376 | PFKMb_0940 | GCTGAAGGACCAGACAGATTTTGAGCANNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAACTG GATGTCTGGG |
| 377 | PGAM1_2160 | GATGTGGCTGCCAGTGGTGAGGACTTGNNNNNNNNNC |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAGGA GGCGAAGCG |
| 378 | PGAM1_2162 | CGCAGGTATGCAGACCTCACAGAAGATNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAATAAA GCAGAAACTGC |
| 379 | PGAM1_2163 | CAGATCAAGGAGGGGAAACGTGTACTGATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGC AACATCAGTAA |
| 380 | PGAM1_2165 | GCGCAAAGCCATGGAAGCTGTGGCTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGGGTCT CTCTGAAGAG |
| 381 | PGAM1_2166 | GCCGGCGGGGAGGATACTGTNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTATCCCATTGT CTATGAATTGG |
| 382 | PGD_2169 | GCCAATGAGGCAAAGGGAACCAAAGTGGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCT GACATCGCGCT |
| 383 | PGD_2173 | GCTGCAAAGTGGGAACTGGAGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCCAAGGGAATT TTATTTGTGGG |
| 384 | PGD_2177 | CCCGTCACCCTCATTGGAGAAGCTGTCTTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGCC AATATTCTCAA |
| 385 | PGD_2181 | GTCAGCTGTTGAAAACCTGCCAGGACNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTATGGTGG CATCGCCCTGA |
| 386 | PGD_2183 | CCAGGGCAGTTTATCCACACCAANNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATGCCC TGTTTTACCAC |
| 387 | PGI_1528 | ACCGCTTCAACCACTTCAGCNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCACTCAGTGTAC CTTCTAGTCCC |
| 388 | PGI_1533 | GTGGTTTCTCCAGGCGGCAAGGATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAACATTGA TGGAACCTACA |

| | | |
|-----|-----------|--|
| 389 | PGI_1536 | GCTGGGTATCTGGTACATCAACTGCTTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTCTC CATTGCCCTGC |
| 390 | PGI_1539 | GCATCACAAGATCCTCCTGGCCAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGTGGGG GGAGCCAGGG |
| 391 | PGI_1542 | GCTGGCTAAGAAAATAGAGCCTGAGCTTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAA GCTCACACCAT |
| 392 | PGK1_0371 | CAACCAGAGGATTAAGGCTGCTGTCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCAGCTG TATTTCCAAAA |
| 393 | PGK1_0374 | GCTGGAGAACCTCCGCTTTCATGTGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTTAGA GCCAGTTGCTG |
| 394 | PGK1_0377 | GCAGACAAGATCCAGCTCATCANNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATGGTAGGA GTCAATCTGCC |
| 395 | PGK1_0380 | GCTGGCTGGATGGGCTTGGACTGTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGACCTA ATGTCCAAAGC |
| 396 | PGK1_0383 | GTGGTGCCAGTTTGGAGCTCCTGGAAGGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATGG ATGAGGTGGTG |
| 397 | PGK2_3123 | CCAGATTACAAACAACCAGAGGATCANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTTCAG CCTATGTCTTT |
| 398 | PGK2_3125 | GTTCTGAAGGACTGTGTAGGCGCAGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAATGGAGC CAAGGCAGTAG |
| 399 | PGK2_3128 | GCTAAAGCCTTGGAAAACCCAGTGAGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTAGGG GACGTCTATGT |
| 400 | PGK2_3131 | GTTTGACGAGAACGCTCAGGTTGGAAAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGA |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | GATTGGTGCTT |
| 401 | PGK2_3134 | GATAAAGTCAGCCATGTCAGCACTGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGATGCC TTTGCTAAGGG |
| 402 | PKM_1091 | CCCAACCCAGAGAACCAANNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAGTCCCAGCGC CGTTCCTTCCA |
| 403 | PKM_1095 | CACTAAAGGACCTGAGATCCGAACNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTCGTCT GAACTTCTCTC |
| 404 | PKM_1099 | GCAGGATGTTGATATGGTGTGGCGTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGTGAC GGAGGTGGAAA |
| 405 | PKM_1103 | GCCAAAGGGGACTATCCTCTGGANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTCATCTGT GCTACTCAGAT |
| 406 | PKM_1107 | ACCTCCGGGTGAACTTTGCCATGAATGTTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGTG CCCCATCATT |
| 407 | PRDX1_1078 | GTTGTGTTCTTCTTTTACCCTCTTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGATAGG AAGATGTCTTC |
| 408 | PRDX1_1080 | CGAAGCGCACCATTGCTCAGGATTATGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAAAC TCAACTGCCAA |
| 409 | PRDX1_1081 | GCAGATCACTGTAAATGACCTCCCTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCATGAA CATTCCTTTGG |
| 410 | PRDX1_1082 | ACAAACATGGGGAAGTGTGCCAGCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCGTTCA GGGGCCTTTTT |
| 411 | PRDX1_1083 | GCTGGGCTGTTTTAGTGCCAGGCTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGTTCAGGC CTTCCAGTTCA |
| 412 | PRKAA1_2662 | CAGAACCTCAAGCTTTTCAGGCATCCNNNNNNNNCT |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGGCACC TTCGGCAAAGT |
| 413 | PRKAA1_2666 | CACCCAACTATGCTGCACCAGAAGTANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGGTCC ATAGAGATTTG |
| 414 | PRKAA1_2670 | GAGTGCTCAGAAGAGGAAGTTCTCAGCTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAT ATCAGGGAACA |
| 415 | PRKAA1_2674 | GGATTATGAATGGAAGGTTGTAAACCCATNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAATT AAATCCACAGA |
| 416 | PRKAA1_2678 | GTGCAAATCTAATTAAAATTCTTGACAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTG AGGCTCAAGGA |
| 417 | PRKAA2_2685 | CGAGAAATTCAAAATCTAAACTCTTTCGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGC GTCGGCACCTT |
| 418 | PRKAA2_2688 | GCCAAGATAGCCGATTTCCGATTATCTAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAG ATGGAAGCCAG |
| 419 | PRKAA2_2691 | GCTGCAGGTTGACCCACTNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGATGCTCTTCTTTG TGGCACCTCC |
| 420 | PRKAA2_2695 | GCAGACAGCCCCAAAGCAAGATGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAATAATGAAC CAAGCCAGTGA |
| 421 | PRKAA2_2699 | CCACAACCTGCAGAGAGCCNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGTTGATAACAGGAGCT ATCTTTTGGAC |
| 422 | RPIA_3164 | CTACAATTGTCCATGCTGTGCAGCGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTCCAACA GCATCTGCCC |
| 423 | RPIA_3166 | CTCAATCTCATCAAGGGTGGCNNNNNNNNNCTTCAGC TTCGATATCCGACGGTAGTGTCTCGTCTGTATT CCCCTTCCTT |

| | | |
|-----|-----------|---|
| 424 | RPIA_3168 | GCTGTGAGCCAGAAGTTTGGGGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGCTGGCTAT GCTAGTCGCTT |
| 425 | RPIA_3169 | GTTTGACCGGGTACACAAATGGAGTGAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCTA TGTCACAGTGA |
| 426 | RPIA_3171 | GGAGCAGAGTGTGTTTACCTTGAGTCTCCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCAA AATGATCCCAG |
| 427 | SDHA_1569 | GGGCATCTGCTAAAGTTTCAGATTCCATNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCGG GGGTCCGGGG |
| 428 | SDHA_1570 | GCATTTGGCCTTTCTGAGGCAGGGTTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCACTGTT GATGGGAACAA |
| 429 | SDHA_1571 | GCACAGCTAGAAAATTATGGCATGCCGTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTGAT GCAGTGGTGGT |
| 430 | SDHA_1572 | GCCTCAAGTTTGGAAAGGGCGGGCAGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCATGTG TTACCAAGCTG |
| 431 | SDHA_1573 | GCGATATGATACCAGCTATTTTGTGGAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTATCA GCGTGCATTTG |
| 432 | SDHA_1574 | GCATAGAGGACGGGTCCATCCATNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACTGGCCACT CGCTATTGCA |
| 433 | SDHA_1575 | CTTCAGCTGCACGTCTGCCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTGCCTTGGATCT CCTGATGGAGA |
| 434 | SDHA_1576 | GTTTCAGTTCACCCTACAGGCATATATGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTT GTTGCCACAGG |
| 435 | SDHA_1577 | GCGAAAGGTTTATGGAGCGATACGCCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGGCAG |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | GCCTTCCTTG |
| 436 | SDHA_1578 | CGAGAAGGAAGAGGCTGTGGCCCTGAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGTCGT GGAGAGGGAGG |
| 437 | SDHA_1579 | GCCTGGCATTTCAGAGACAGCNNNNNNNNNCTTCAGC TTCGATATCCGACGGTAGTGTGGCGTCTAGAGA TGTGGTGTCTC |
| 438 | SDHA_1580 | GCGGCATTCCCACCAACTACAANNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACCACCTAC CTCCAGAGCA |
| 439 | SDHA_1581 | GCCTCGGTACATGGTGCCAANNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTGTCTCCCC ACCGTGCATTA |
| 440 | SDHA_1582 | GCCTGGAGATAAAGTCCCTCCAATTAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTACGC CTGTGGGGAGG |
| 441 | SDHA_1583 | GCTGATGGAAGCATAAGAACATCGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGTTGTC TTTGGTCGGGC |
| 442 | SDHA_1584 | GCGTGTGCAAGAAGGTTGTGGANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGGGAAG AATCTGTCATG |
| 443 | SDHA_1585 | GTCTGGAACACGGACCTGGTGGAGANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGCAGAAG TCAATGCAAAA |
| 444 | SDHA_1586 | CAGAGGCACGGAAGGAGTCACNNNNNNNNNCTTCAGC TTCGATATCCGACGGTAGTGTATCAGCAAGCTCT ATGGAGACCTA |
| 445 | SDHA_1587 | GCCCATCCAGGGGCAACAGAAGAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGCTGCA GAACCTGATGC |
| 446 | SDHA_1588 | GGAAGGTCACTCTGGAATATAGACCCGTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAG ACTACAAGGTG |
| 447 | SDHA_1589 | GTGGTGATGACAGAATCAGCTTTTGNNNNNNNNNCTT |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCTATGT GGACGTTGGCA |
| 448 | SDHB_2193 | CCCAGACAAGGCTGGAGACAAACCTCANNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCCTT GAGGCGCCGGT |
| 449 | SDHB_2195 | TGACTCTACTTTGACCTTCCGAAGATCNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCAT CTATCGATGGG |
| 450 | SDHB_2196 | CACTCTAGCTTGCACCCGAAGATTGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGCC CATGGTATTGG |
| 451 | SDHB_2197 | GATCTTGTTCCCGATTTGAGCAACTTCTANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGT GGCTCTTGTGC |
| 452 | SDHB_2198 | GCAGCAGTATCTGCAGTCCATAGANNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAAAATCTA CCCTCTTCCAC |
| 453 | SDHB_2199 | GCTACTGGTGGAACGGAGACAAATATCTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGA AGAAGGATGAA |
| 454 | SDHB_2200 | AGCGCCTGGCCAAGCTGCANNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTAGTGCATTCTCTGTG CCTGCTGTAGC |
| 455 | SDHB_2201 | GCAGAGATCAAGAAAATGATGGCAACCTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGAT GACTTCACAG |
| 456 | SDHB_2202 | CCAGCTCAGAGCTGAACANNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTATGAACTGCACAAGGA CCTGTCCTAAG |
| 457 | SDHC_2206 | GCTTTGAGTGCAGGGGTCTCTCTTTTTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGAG ATGGAGCGGT |
| 458 | SDHC_2207 | GCACTGATCCACACAGCTAANNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCATCTGCCAC CGTGGCACTGG |

| | | |
|-----|--------------|--|
| 459 | SDHC_2208 | GCCTGAAGATTCCCCAGCTATACNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTGGAACCTG TGAAGTCCCTG |
| 460 | SDHC_2209 | CCCAGCATCATCTTCCTACACANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATCCGACACTTG ATGTGGGACCT |
| 461 | SDHD_2214 | CACTTGTCACCGAGCCACCATTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGTGCCGTT TGCGGTGCCCT |
| 462 | SDHD_2215 | GTCTGCTTCCGGCTGCTTATTTGAATCCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACCGAC CTATCCCAGAA |
| 463 | SDHD_2216 | GTTGTTACTGACTATGTTTCATGGGGATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGAGG GTTGTCAGTGT |
| 464 | SDHD_2217 | GCTATTTCAACTATCACGATGTGGGCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCTCACTC TTCATGGTCAC |
| 465 | SDHD_2218 | GTATGCCTCTTTGCCTCTGCTTTGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCACTTT CAGCTTTAACC |
| 466 | SLC16A1_0891 | CGGCTTCTCTTATGCATTTCCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTGATTGACC TGCATTTTGG |
| 467 | SLC16A1_0894 | CGTCTGTATTGGAGTCATTGGAGGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGAGGTCC TATCAGCAGTA |
| 468 | SLC16A1_0898 | CAGATCTTATTGGAAGACACCCTAAACNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCTG GAGCCCTCAT |
| 469 | SLC16A1_0902 | GTTGGATTCTGTGTCTATGCGGGATTCTTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACCA TCTATGGGACT |
| 470 | SLC16A1_0906 | GGAGGGCCCAAGGAGGAGGAAAGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCAAAGAA |

| | | |
|-----|--------------|---|
| | | CAGAAA |
| 471 | SLC16A3_1117 | GCGGCTTTGTGCTTTACGNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTATCCTGGGCGGCCTGC TGCTCAACTGC |
| 472 | SLC16A3_1120 | GCTCTGCAGTGTGTGCGTGAACNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCTCCTACGC CTTCCCAA |
| 473 | SLC16A3_1124 | CGACACCAAGGCCGCCTTCCTNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCCTGCTAGACCT GAGCGTCTTCC |
| 474 | SLC16A3_1128 | CGACCCACGTCTACATGTACGTGTTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGTTCG AGGTGCTCATG |
| 475 | SLC16A3_1130 | GCATTTCTGAAGGCTGAGCCTGAGAAAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGG CAACTTCTTCT |
| 476 | SLC16A7_1390 | CCTATGCATTTCCCAAAGCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTGGTGCCAACA GAGTTACTCT |
| 477 | SLC16A7_1393 | GCAACCCGCCTTAACCATAATTGGCAAANNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGGT GATAGCAGGAG |
| 478 | SLC16A7_1397 | CCCTTTTTAAGCATAGAGGATTTCTGATANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCA ATCAAACCACT |
| 479 | SLC16A7_1401 | GTGTTAGCAGTGTCTCTTTGNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACCTCGAATTC AGTACTTCTTC |
| 480 | SLC16A7_1404 | CCTTGAGCAAATCTAAACATTCGGANNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCTGTG GGGCTATTGTG |
| 481 | SLC2A1_2721 | GCTCTGGTCCCTCTCAGTGGCCATCTTTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCT GCAGTTTGGCT |
| 482 | SLC2A1_2724 | TCACCCACAGCCCTTCGTNNNNNNNNCTTCAGCTTC |

| | | |
|-----|-------------|--|
| | | CCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCGTGTCCGCCGTG CTCATGGGCTT |
| 483 | SLC2A1_2727 | GCATCTTCGAGAAGGCGGGGGTGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGAAGAAGG TCACCA |
| 484 | SLC2A1_2730 | GCCCCATCCCATGGTTCATCGTGGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGGCATGG CGGGTTGTG |
| 485 | SLC2A1_2733 | TTCCATCCCCTGGGGGCTNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCCTGGTTCTG TTCTTCATCTT |
| 486 | SLC2A3_2804 | CACTGGGGTCATCAATGCTCCTGAGAANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCACCC CTAGATCTTTC |
| 487 | SLC2A3_2808 | GCCCTGCGGGGTGCCTTTGNNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTGCTTTATGGGA CTGTGT |
| 488 | SLC2A3_2812 | CCATTGTGCTCCAGCTCTCTCAGCAGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCAGG ATGTATCCCAA |
| 489 | SLC2A3_2816 | ACTCTTCAGCCAGGGCCNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCATGACTGT TTC TTTGTATTAA |
| 490 | SLC2A3_2819 | GCCTGCTAAGGAGACCACCACCAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGT TACCTTCTT CAAAGTCCCTG |
| 491 | SLC5A1_1305 | CATTTTCACCAAGATCTCGGCNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGT TGTGCTGGGCTG GCTGTTTGTCC |
| 492 | SLC5A1_1309 | CATCTTCCGAGATCCCCTCACNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGT TGTGCTTTTCACGA AGTGGGAGGCT |
| 493 | SLC5A1_1313 | GTCATGCTGGCCTCCCTCATGAGCTNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATTGCCTGT GTCGTCCCTTC |

| | | |
|-----|-------------|---|
| 494 | SLC5A1_1317 | AGCCCAGCAACTGTCCCACNNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTCTTCCTGCTTG CTATTTTCTGG |
| 495 | SLC5A1_1321 | CATCCTGGTGACCGTGGCTGTCTTTTNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTTGTGG GCTAGAGCAGC |
| 496 | SLC5A5_0875 | GCCAGCAAGCAGATCACTGCAGNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTTCAACATG ACAGATGCCGC |
| 497 | SLC5A5_0877 | CCCAGTTTTGGCTCTACTTTGCAGGGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGAGTTC TGCCTTCTGG |
| 498 | SLC5A5_0879 | GCTTTAACGTGTCTGTGCAGGGTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTGATTTTG CCCGTACCCGT |
| 499 | SLC5A5_0881 | GCATGATGATGCAGTCAGGGCGAAAGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACACTG CAAAGGGAA |
| 500 | SLC5A5_0883 | CATAAGTTATTTCTAGGATTTTCCCCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGC GGAAGATTGCT |
| 501 | SLC7A1_2222 | CACTTTTGATCTGGTGGCCCTCNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTCCGCATAT TCCAGCTCTG |
| 502 | SLC7A1_2226 | CCCCGGCGTGCTGGCTGAAAACNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGGCTGGAACCT AATCCTCTCCT |
| 503 | SLC7A1_2232 | GCTGGGAAGGTGCCAAGTACGNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGGGATCGTGG CGTCCCTCTTG |
| 504 | SLC7A1_2236 | GGCAAGCACCAATGATTCCCAGCTNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTCCTGGC TTACTCGTTG |
| 505 | SLC7A1_2240 | CGTGAACGTCTATCTCATGATGCNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTGCTCGC |

| | | |
|-----|-------------|--|
| | | AGGGTCTGCCC |
| 506 | SLC9A1_2249 | TCCCCTCACAGACTCTTCCACCANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGTGACAGCC CCAGCTCCCA |
| 507 | SLC9A1_2255 | GCCTCATGAAGATAGGTTTCCATGTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGCCCTG TTAATCATTC |
| 508 | SLC9A1_2261 | GCGGGGTGCTTGTGGGCGTGGTNNNNNNNNCTTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGAGTCCTTGC TCAATGA |
| 509 | SLC9A1_2267 | GCCCCTGGTAGACCTGTTGGCTGTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGGGCCAT CGCCTTCTCT |
| 510 | SLC9A1_2273 | GCAGCTGGAGCAGAAGATCAACAACACTACCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCCT GAGGAACAAC |
| 511 | SLCA12_1015 | GCCTGTGTGACAAGCTGGGGAAGAATNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGAGGAG AGGTTAGATG |
| 512 | SLCA12_1019 | GCTGGGGCCTGGGAAGAAGAATGATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGCTAG TGGCCGCTTGG |
| 513 | SLCA12_1023 | GCTGATGGTGGATTTCTTCAACATTTTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGGA GACTAAGATGG |
| 514 | SLCA12_1027 | CGTCCTTCTGTGGAGCNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCTCCTTTTTTGC TGGCATTTC |
| 515 | SLCA12_1031 | CGAGTGCATGAAGATATTGAAATGACCAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCT GTGGACTGGCT |
| 516 | SOD_0414 | GGACTGACTGAAGGCCTGCATGGATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGCCTAG CGAGTTATG |
| 517 | SOD_0415 | GTGGGCCAAAGGATGAAGAGAGGCATNNNNNNNNCT |

| | | |
|-----|-----------|---|
| | | TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTGGG GAAGCATT |
| 518 | SOD_0416 | TCTCACTCTCAGGAGACCATTGCNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTCACTTTA ATCCTCTATCC |
| 519 | SOD_0417 | GTACAAAGACAGGAAACGCTGGAAGTCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTGG CCGATGTGTCT |
| 520 | SOD_0418 | CCCTTGGATGTAGTCTGAGGCCCTTANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACACT GGTGGTCCATG |
| 521 | SOD2_0438 | GCCCTGGAACCTCACATCAACGCGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCACCAGC ACTAGCAGCA |
| 522 | SOD2_0439 | GCGTTGGCCAAGGGAGATGTTACAGCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCTGCCC TACGACTAC |
| 523 | SOD2_0441 | GCTCAGGTTGGGGTTGGCTTGGTTTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGACAAACC TCAGCCCTAA |
| 524 | SOD2_0443 | GGGAGAATGTAAGTAAAGATAACATGGCTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTGC AAGGAACAACA |
| 525 | SOD2_0444 | GCTGAGTATGTTAAGCTCTTTATGACTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGCTTA CTACCTTCAGT |
| 526 | TAL_2770 | GAAGATTCCGGGCCGAGTATCCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATGCCCGCTTA CCAGGA |
| 527 | TAL_2772 | TCGAGGAGCAGCACGGCATCCACNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATAAAGATG CGATGGTGGCC |
| 528 | TAL_2774 | GTTTAGCTACAAAACCATTTGTCATGGGCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCATCTC CCCATTTGTT |

| | | |
|-----|-------------|---|
| 529 | TAL_2776 | CCACCTGGATGAGAAGTCTTTCCGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGCACTGGC CGGCTGTGAC |
| 530 | TAL_2778 | GAGGCTGGACTCCAGATCTGCACCGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGGACCAG ATGGCTGTGG |
| 531 | TIGAR_3037 | CATGAGGACAAAGCAGACCATGCATGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGGTAGGAGAA AATAATCCAAG |
| 532 | TIGAR_3039 | CGGAGGAGAGACGCTGGACCAGGTGAAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGACGGT AAAGTATGAC |
| 533 | TIGAR_3041 | GGATTAGCAGCCAGTGTCTTAGTTGTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGGTAGCGGAT CAAAAAGAACA |
| 534 | TIGAR_3043 | GAGGAAGGAAGAGAAGTTAAACCAACGGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGA AGTCTGTTTGA |
| 535 | TP53I3_2466 | GTGAAGTCCTCCTGAAGGTGGCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGCCCTGTCCT GTCCTGCCCT |
| 536 | TP53I3_2467 | GCAACATTTTGGGACTTGAGGCATCTGGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAAGG AGGTGGCCAA |
| 537 | TP53I3_2468 | GCCATGGCTCTGCTCCCCGGTGGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGGTACTTAATGCAG AGACAAGGCCA |
| 538 | TP53I3_2470 | GCTAATCCATGCAGGACTGAGTGGTGTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGGCT CCTCATGCCTA |
| 539 | TP53I3_2471 | GCTTCAAATGGCAGAAAAGCTTGGAGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAAATGT TCAGGCTGGAG |
| 540 | TP53I3_2472 | GCTGGAGTTAATCCTTATTCTAGACTGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTATTCCT |

| | | |
|-----|-------------|--|
| | | CTGGTCACAGC |
| 541 | TP53I3_2473 | GTCGATGGGTTCTCTATGGTCTGATGGGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAA AAGAGGATTC |
| 542 | TP53I3_2474 | GCTGAGGTCTAGGGACAATAAGTACANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAACGT CAACTGCCTGG |
| 543 | TP53I3_2475 | AGGGCCCCAACGTCTGCTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCCCTGTTTTCAA AGCTACTTTTT |
| 544 | TP53I3_2476 | TCGTCCTGGAAGTGCCTCAGTGAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAATCTGC CTCACTTCTCC |
| 545 | TRX_1250 | CTTCTCAGCCACGTGGTGTNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGGATCCATTTCC ATCGGTCCTTA |
| 546 | TRX_1251 | GTTTTTTAAGAAGGGACAAAAGGTGGGTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGG TGATAAACTTG |
| 547 | TRX_1252 | GTTTTCTGAAAATATAACCAGCCATTGGCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGT GTGAAGTCAA |
| 548 | FGFR2_4 | GCCGTGATCAGTTGGACTAAGGATGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTAGTTG AGGATACCACA |
| 549 | FGFR2_6 | CGATGGTGCGGAAGATTTTGTGTCAGTGAGANNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCACG CCTAGAGACTC |
| 550 | FGFR2_8 | GCCGGTGTAAACACCACGGACAAANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACGTAGAGT TTGTCTGCAAG |
| 551 | FGFR2_10 | ACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTTGA GGACGCTGGGG |
| 552 | FGFR2_12 | GCAGTGTTAAAACATGAATGACTGTGTCNNNNNNNN |

| | | |
|-----|--------------------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGAACA GTATTCACCTA |
| 553 | VHL_20 | CGTGCTGCCCCGTATGGCTCAACTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAGTCCGGC CCGGAGGAACT |
| 554 | VHL_21 | GCTCTTCAGAGATGCAGGGACACNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCTGCAAT CGCAGTCCGCG |
| 555 | VHL_22 | GCGCCGAGGAGGAGATGGAGGNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAACTGGGACGA GGCCGAGG |
| 556 | VHL_24 | AGTCGGGCGCCGAGGAGTCCGNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCGTCCGGCCCG GGTGGTCTGG |
| 557 | VHL_25 | CTCAATGTTGACGGACAGCCTATTNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCAACGC TGCCGCCTGG |
| 558 | VHL_26 | GTCCGGAGCCTAGTCAAGCCTGAGAATTANNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGATG GGCTTCTGGTT |
| 559 | VHL_27 | GCGGCTGACACAGGAGCGCATTGCACATNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAG CGATGCCTCCA |
| 560 | VHL_28 | GCTTTTGATGGTACTGATGAGTCTTGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAAGA TCTGGAAGACC |
| 561 | NTRK1 (TRKa)_33 | GATGTGCACGCCCGGCTGCAANNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACACGGAGGCAA TCGACTGCATC |
| 562 | NTRK1 (TRKa)_36 | GATGGTGTACCTGGCGGGTCTGCATTTNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCAAC CGCTTCCCTCC |
| 563 | NTRK1 (TRKa)_50 | CATCGTGAAGAGTGGTCTCCGTTTCGTGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAGC CTCCACCACCT |

| | | |
|-----|---------------------|--|
| 564 | NTRK1 (TRKa)_56 | GCAAAGGCTCTGGGCTCCAAGGCCANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAACAAATG TGGACGGAGAA |
| 565 | NTRK1 (TRKa)_59 | GCAGGGATATCTACAGCACCGACTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTAGCCA GGTCGCTGCGG |
| 566 | PDGFRB_69 | AGTCAACACCTCCTCAACCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCTATACTGCCGTG CAGCCCAATG |
| 567 | PDGFRB_74 | CGGTGGTGTGGGAACGGATGTNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGTTGCTGTC TCTCCTGT |
| 568 | PDGFRB_92 | CGTGGCTTTTCTGGTATCTTTGAGGACAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCT TTCTCACGGAA |
| 569 | PDGFRB_97 | GTCCGAGTGCTGGAGCTAAGTGAGAGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTATG TGTCAGAGCTG |
| 570 | PDGFRB_101 | GCCAATGGCATGGAGTTTCTGGCCTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAATAACA TGGCCCCTTAC |
| 571 | ERBB2 (HER2)_118 | TTCGGCCCCAGCCCCCTNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCCCCACACATGACCC CAGCCCTCTAC |
| 572 | ERBB2 (HER2)_123 | GCCCTGGGACCAGCTCTTTCNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAATGGCGCCTAC TCGCTGACCCT |
| 573 | ERBB2 (HER2)_131 | CACGATTTTGTGGAAGGACATCTTCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACAATACC ACCCCTGTCAC |
| 574 | ERBB2 (HER2)_136 | GCAAGAAGATCTTTGGGAGCCTGGCATNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGAAC ACAGCGGTGTG |
| 575 | ERBB2 (HER2)_157 | GCTGGCTCCGATGTATTTGATGGTGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGGGGCA |

| | | |
|-----|---------------------|--|
| | | TGGTCCA |
| 576 | NTRK2 (TRKb)_172 | GCGAGAGCCCCACATGAGGAAGAACATCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAG CCCTGGTACCA |
| 577 | NTRK2 (TRKb)_179 | GCAACCTGCAGCACATCAATTTTACCCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCAAACCA GAAAAGGTTAG |
| 578 | NTRK2 (TRKb)_184 | GCAGATCTCTTGTGTGGCGGAAAATCTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATAGGTGAT CCGGTTCCTAA |
| 579 | NTRK2 (TRKb)_189 | CGGGGACACCACGAACAGAAGTAATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGTATGGG AAGGATGAGAA |
| 580 | NTRK2 (TRKb)_194 | GCTGAATGCTATAACCTCTGTCTGNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGATCCCCAGT ACTTTGGCATC |
| 581 | PDGFRA_216 | GCACAACCTGATCCCGAGACTCCTGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGGAATGAGCT TGAAGGCAGGC |
| 582 | PDGFRA_226 | GTAATAATGAAACTTCTGGACTATTTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCCAT TCTGGACTTG |
| 583 | PDGFRA_236 | CGACATCCAGAGATCACTCTATGATCGTCNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGC ACACGGAGCTA |
| 584 | PDGFRA_241 | GTGGGTACCGGATGGCCAAGCCTGNNNNNNNNNCTT AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGGTACAACCTCTA CACCACA |
| 585 | PDGFRA_246 | CATCAAGAGAGAGGACGAGACCATNNNNNNNNCTT AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTACATCATT CCTCTGCCTGA |
| 586 | FGFR1_258 | CGTCAATGTTTCAGATGCTCTCCCTCCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGC AACCGCACCC |
| 587 | FGFR1_259 | GCATCACAGGGGAGGAGGTGGANNNNNNNNNCTT CAG |

| | | |
|-----|--------------------|---|
| | | CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTGGAAGTGGAGTCCTTCCTGG |
| 588 | FGFR1_261 | TGGCAAAGAATTCAAACNNNNNNNNCTTCAGCTTCCGATATCCGACGGTAGTGCCCGTAGCTCCATATTGGACATCCCC |
| 589 | FGFR1_264 | CAGATAACACCAAACCAAACNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTATGCTTGCGTAACCAGCAGCC |
| 590 | FGFR1_265 | CATCCCTCTGCGCAGACAGGTAANNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTCATCTATTGACACAGGGGCCTT |
| 591 | VEGFA 121 | TGTGACAAGCCGAGGCGGTGAGCCNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCAACATCACCATGCAGATT |
| 592 | VEGFA 121b | TCTCTCACCAGGAAAGACTGATACNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCAACATCACCATGCAGATT |
| 593 | VEGFA 165 | GAGGCGGTGAGCCGGGCAGGAGANNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGCGGAGAAAGCAT |
| 594 | VEGFA 165_165b | CCTGTGGGCCTTGCTCAGAGCNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGTCCAACATCACCATGCAGATT |
| 595 | VEGFA 165b | CCACGCTGCCGCCACCACACCANNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCGCAGACGTGTAAATGTTCTT |
| 596 | VEGF 189_189b | GTTCGAGGAAAGGGAAAGGGGCAAAAACNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCCATGCAGATTATGCG |
| 597 | VEGFA_ex1_5 (6) | GGCGTGAGCCCTCCCCCTTGGANNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGAGCAAGAGCTCCAGAGAG |
| 598 | VEGFA_ex1_5 (7) | CGAAGTGGTGAAGTTCATGGATGTCTNNNNNNNNCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCTCCGAAACCATGAAC |

| | | |
|-----|---------------------|---|
| 599 | VEGFA_ex1_5 (13) | CGTTTTAATTTATTTTTGCTTGCCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTAGGTGGA CCGGTCAGCGG |
| 600 | VEGFA_ex1_5 (14) | CACTGTGGATTTTGGAAACCAGCNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTCTTCTTT TTTCTTAAACA |
| 601 | VEGFA_ex1_5 (15) | GGCGCTCGGAAGCCGGGCTCATGGANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGCGGGGG AAGCCGAG |
| 602 | VEGFA_ex1_5 (16) | GCCTGGAGTGTGTGCCCACTGAGGAGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCTACTG CCATCCAA |
| 603 | VEGFA_ex1_5 (17) | CCTACAGCACAACAAATGTGAATGCAGACNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATGC GGGGGCTGCTG |
| 604 | VEGFA_ex1_5 (18) | CTGTGGGCCTTGCTCAGAGCGGANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAACATCACC ATGCAGATTA |
| 605 | ADPGK_0002 | GCCAGAGCTGCCAGGCTCGGNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGAAGAGGCGCGG GCTAGG |
| 606 | ADPGK_0004 | CACCAGCCGAGTGTCTCTGAGGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATCCATTTCCAC ACGCTGGTCT |
| 607 | ADPGK_0011 | GTGGGGCCAGTTAAAGCTCCNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTTCTTCTTTGC GGTCCAGTTGG |
| 608 | ADPGK_0015 | TTCTCACCCAGTCAGCCTCNNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGACATCCCCACTGG TATTCCAGTTC |
| 609 | ADPGK_0017 | GCAACTGTGGATGGACACTGGGCCNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTTCCTG ATGTGGG |
| 610 | AR_0041 | AGTCGGCCCTGGAGTGCCACCCCGAGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCAAGA |

| | | |
|-----|--------------------|---|
| | | GACTAGCCCCA |
| 611 | AR_0062 | TGGCGGCGGCGGCGGCGGCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCCTGCATGGCGCG GGTGCAGCGGG |
| 612 | AR_0068 | GCTTGACACGTGGTCAAGTGGGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGCCCATC TTTCTGAATGT |
| 613 | AR_0069 | GCTCATGGTGTGGTCCATGGGCTGGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTAGCCTC AATGAACTGGG |
| 614 | AR_0074 | CATGGTGAGCGTGGACTTCCGAAATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGA AAAAATCCCAC |
| 615 | AR_0075 | CCACACCAGTGAAGCATNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGCATCAGTTCACT TTTGACCTGCT |
| 616 | ARV7_ARV_0009 | GCATCTCAAATGACCAGACCCTGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGCGCCAGC AGAAATGAT |
| 617 | ARV12_ARV_000 2 | GCAGAGATCATCTCTGTGCAAGTGNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGACAGCT TGTACACGTGG |
| 618 | BRAF_0106 | CCCCAATTCTCACCAGTCCNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAACCTTGATTTGC TGTTTGTCTCC |
| 619 | BRAF_0112 | GACATGTGAATATCCTACTCTTCATGGGCNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAC AGTCTACAAGG |
| 620 | BRAF_0115 | GCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAC AGACTGCACAG |
| 621 | BRAF_0116 | CATACAGCTTTTCAGTCAGATGTATATGCANNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAGG TGATTTTGGTC |
| 622 | BRAF_0117 | CAAACATCAACAACAGGGACCAGNNNNNNNNCTTCA |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGATCCATTTT GTGGATGGCAC |
| 623 | CAT_0151 | CGGACATGGTCTGGGACTTCTGGAGCCTANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGA TGGTAACTGGG |
| 624 | CAT_0153 | CCAGGGCATCAAAAACCTNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGGTTTCTTTCTTGTTT AGTGATCGGGG |
| 625 | CAT_0155 | CACCAAGGTTTGGCCTCACAAGGACTANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACTAT GGCATCCGGG |
| 626 | CAT_0159 | CCTGAAGGATGCACAAATTTTCATCCAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGA GAAGTGCGGAG |
| 627 | CAT_0161 | GCGGCAAGGGAGAAGGCAAATCTGTGAGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGA ACTTCACTGAG |
| 628 | CD274_0182 | GAGGGCCCGGCTGTTGAAGGACCAGCTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAGTA GAAAAACAA |
| 629 | CD274_0184 | TGGTTGTGGATCCAGTCACCTCTGNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGATCACAGA TGTGAAATTGC |
| 630 | CD274_0186 | GCACTTTTAGGAGATTAGATCCTGAGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCAG TGACCATCAAG |
| 631 | CD274_0188 | GGCATCCAAGATACAAACTCAAAGAAGCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATC CTCCAAATGAA |
| 632 | CD274_0189 | CTTCTGATCTTCAAGCAGGGATTCTCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGACATT CATCTTCCGTT |
| 633 | CTLA4_0199 | GCAAAGCAATGCACGTGGCCCAGCCTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACACCG CTCCATAAA |

| | | |
|-----|------------|--|
| 634 | CTLA4_0203 | CTTCCTAGATGATTCCATCTGCACGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTTTGTG TGTGAGTATGC |
| 635 | CTLA4_0205 | TTGATCCAGAACCGTGCCAGATTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCAGTGAA CCTCACTATCC |
| 636 | CTLA4_0207 | CCCCAACAGAGCCAGAANNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGACTTCCTCCTCTGGA TCCTTGCAGC |
| 637 | FBP1_0214 | CCCAGCTGCTCAACTCGCTNNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCACCTGCAGCC CCGCGCTCT |
| 638 | FBP1_0222 | GATCCCCTTGATGGATCTTCCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCTCTCCAACG ACCTGGTTATG |
| 639 | FBP1_0224 | GTCCTTGCCATGGACTGTGGGGTNNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGTTGGAACCA TTTTTGGCATC |
| 640 | FBP1_0226 | GTCCTTATGGGGCCCGGTATGTGGGNNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGACAAGG ATGTGAAGATA |
| 641 | FBP1_0228 | CCACTGGGAAGGAGGCCGTGTAGACGTNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGT CTACGGAGGG |
| 642 | FOLH1_0243 | CCACCTCCTCCAGGATATGAANNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCTGGATT CTGTTGAGCT |
| 643 | FOLH1_0247 | CCTCTCACACCAGGTTACCCAGCAANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCATTCTCT ACTCCGACCCT |
| 644 | FOLH1_0251 | GTGGAGCAGCTGTTGTTTCATGAAATTGTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATGA AGTGACAAGAA |
| 645 | FOLH1_0255 | GGGATCTGGAAATGATTTTGAGGTGTNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACAAC |

| | | |
|-----|--------------|--|
| | | CTAACAAAAGA |
| 646 | FOLH1_0259 | G TTCAGTGAGAGACTCCAGGACTTTGACNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAAG TATGCTGACAA |
| 647 | HP16-E7_0296 | GGTTCTAAAACGAAAGTATTTGGGTAGTCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGGT GAAGATTTGGT |
| 648 | HP16-E2_0316 | TATTAACCACCAGGTGGTGCCAACACTGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAAA ATACTAACACA |
| 649 | HP16-E2_0318 | GGATATACAGTGGAAGTGCAGTTTGATGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAC TGCAACTAACG |
| 650 | HP16-E2_0320 | GTAAAAATAAAGTATGGGAAGTTCATGCGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATTTG TGAAGAAGCAT |
| 651 | HP16-E2_0322 | AGCCAGACACCGGAAACCCNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCAGCAACGAAGT ATCCTCTCCTG |
| 652 | HP16-E2_0324 | GCATTGTACATTGTATACTGCAGTGTGCTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTC ACTGCATTTAA |
| 653 | HP16-E6_0369 | GTTACTGCGACGTGAGGTATATGACTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAAAG AGAACTGCAA |
| 654 | HP16-E6_0370 | GTTTTATTCTAAAATTAGTGAGTATAGACNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAA TGTGTGTA CTG |
| 655 | HP16-E6_0371 | CGTTGTGTGATTTGTTAATTAGGTGTATTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGA TGGGAATCCAT |
| 656 | HP16-E6_0372 | GTGGACCGGTCGATGTATGTCTNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAACAGCAATAC AACAAAC |
| 657 | HP16-E7_0375 | CGTAGACATTCGTACTTTGGAAGACCTGNNNNNNNNNN |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGAG GAGGATGAAA |
| 658 | IGF1R_0464 | GCGGGGTGGGGGGGAGAGAGAGTTTTNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGCCT TACGCCACA |
| 659 | IGF1R_0467 | CATTACTCGGGGGCCATCAGGATTGNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGCCTC GGAGACCT |
| 660 | IGF1R_0489 | GCTCAGATGCTCCAAGGATGCACCANNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGAGTGCC CCTCGGGCTT |
| 661 | IGF1R_0505 | TCTCTCTTGGGAATGGGTCTGGACNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAATACG GATCACAAG |
| 662 | IGF1R_0513 | GGTATGACGCGAGATATCTATGAGACAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGATGG CCGGAGAGAT |
| 663 | KDR_0549 | GCCCAATAATCAGAGTGGCAGTGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTGGGTTTG CCTAGTGTTC |
| 664 | KDR_0557 | CCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGATGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAGCA TCAGCATAAGA |
| 665 | KDR_0565 | GCAGGAGAGCGTGTCTTTGTGGTGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCAAATGTG TCAGCTTTG |
| 666 | KDR_0581 | GTGACTTTGGCTTGGCCCGGGATNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGCATCTCAT CTGTTACAGCT |
| 667 | KDR_0589 | GCAGGGAGTCTGTGGCATCTGAAGGCTCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAAGT AATCCCAGATG |
| 668 | KLK3_0638 | CAGTGTGTGGACCTCCATGTTATTTCCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGCTCA CGGATGCTGTG |

| | | |
|-----|------------|---|
| 669 | KLK3_0643 | CCTGAAGAATCGATTCCCTCAGGCCAGGTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTGC ATCAGGAACAA |
| 670 | KLK3_0645 | GCTTCAAGGTATCACGTCATGGGGCAGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACGTG TGTGCGCAAGT |
| 671 | KLK3_0646 | GTGGATCAAGGACACCATCGTGGCCAANNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGTGAT TCTGGGGGC |
| 672 | KLK3_0647 | CTCAAGCCTCCCCAGTTCTACNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCTCCCTGTACA CCAAGGTGGTG |
| 673 | KRAS_0653 | GATCCAACAATAGAGGATTCTACAGGANNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGTGC GGGAGAGAGG |
| 674 | KRAS_0654 | GCAGGTCAAGAGGAGTACAGTGCNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGTGCCTTGA CGATACAG |
| 675 | KRAS_0655 | CATTTGAAGATATTCACCATTATAGAGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAAAC CTGTCTCTTGG |
| 676 | KRAS_0656 | GTGATTTGCCTTCTAGAACAGNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGAGGGCTTTCT TTGTGTATTTG |
| 677 | KRAS_0657 | GTGGAGGATGCTTTTTTATACATTGGTGAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCC TAGTAGGAAAT |
| 678 | KRAS_0658 | GCATTATAATGTAATCTGGGTGTTGATGNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCAAA GACAAGACAGA |
| 679 | KRAS_0659 | GCAAAGATGGTAAAAAGAAGAAAAAGAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAAA GAAGAAAAGAC |
| 680 | PDCD1_0668 | CAAAGAGAGCCTGCGGGCAGANNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGACTGCCGCTTC |

| | | |
|-----|------------|---|
| | | CGTGTC |
| 681 | PDCD1_0670 | GGACACTGCTCTTGGCCCCTCTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCCCTGTGTCC CTGAGCAGAC |
| 682 | PDCD1_0671 | TACCGCATGAGCCCCAGCNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTTTCTTAGACTCCCCAG ACAGGCCCT |
| 683 | PDCD1_0673 | GGAGGACCCCTCAGCCGTGCCTGTGTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGTGGTT GGTGTCTGG |
| 684 | PDCD1_0682 | CCAGCCGGCCAGTTCCAAACCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCACCTACCTCT GTGGGGC |
| 685 | TP53_0689 | TCTGGCCCCTCCTCAGCATCTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGTGGGTTGAT TCCACACCCCC |
| 686 | TP53_0690 | CCCCTGCACCAGCCCCCTNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTTGGATGATTTGATGCT GTCCCCGGACG |
| 687 | TP53_0697 | GCCTGAGGTTGGCTCTGACTGTNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGCGCTGCTCA GATAGCGATGG |
| 688 | TP53_0699 | CGGCGCACAGAGGAAGAGAATCTCNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTAGTTCCCTGCA TGGGCGGCATG |
| 689 | TP53_0703 | TCCCACCCCATCTCTCCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTAGCAGGGCTCACTCC AGCCACCT |
| 690 | CS_2331 | GCTTCTCCACGAATTTGAAAGACNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTCTCCCTT TCTTACCTCCC |
| 691 | CS_2332 | GCAACATGGCAAGACGGTGGTGGGCCAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACCAA GAATGCATCT |
| 692 | CS_2333 | GTTCTTGATCCTGATGAGGGCATCCGTTNNNNNNNN |

| | | |
|-----|---------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGAG CAGGCCAGAA |
| 693 | CS_2334 | GCCTGAGGGCTTATTTTGGCTGCTGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCATGAA GGGATTGGT |
| 694 | CS_2335 | CCCATGTGGTCACCATGCTGGACAACNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCTAAGG GTGGGGAAG |
| 695 | CS_2336 | GCCCGAGCATATGCACAGGGTATNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAGTGGGCA AAGAGGG |
| 696 | CS_2337 | GCTACCTTGTGTTGCAGCAAAGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTCAGCTCAG TGCAGCTGTT |
| 697 | CS_2338 | GGACTGGTCTCACAATTTACCAACATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTACTG GGAGTTGATTT |
| 698 | CS_2339 | GTGACCATGAGGGTGGCAATGTAAGTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTAGAGAAG GCAGCGGTA |
| 699 | CS_2340 | GCCTCTCCATGGACTGGCAAATCAGGAAGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTACCT CACCATCCACA |
| 700 | CS_2341 | GTTACGAGACTACATCTGGAACACACTCANNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTGTC CTTTGCAGCAG |
| 701 | CS_2342 | GCGATATACCTGTCAGCGAGAGTTTGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTAGCTGCA GAAGGAAGTTG |
| 702 | CS_2343 | GTGCCCAATGTCCTCTTAGAGCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTTCCAGGC TATGGCCATGC |
| 703 | CS_2344 | GATGAATTACTACACGGTCCTGTTTGGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGT TGCTCAGCTGT |

| | | |
|-----|-------------|--|
| 704 | CS_2345 | GAAAGGCCCAAGTCCATGAGCACAGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGGGTG CTGCTCCAGT |
| 705 | CS_2346 | GAGACTGGGTGAAAGTGACTACCAGAAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCATT GGGTGTACTGG |
| 706 | D2HGDH_3222 | GTCCCCGTCTTTGACGAGATCATCCTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGTAGC AAGGTGCTGCT |
| 707 | D2HGDH_3223 | GCTGAGCCGGTATGTGGAGGAANNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGCATGGTGGG TGGCAG |
| 708 | D2HGDH_3224 | GCTGGAGGCCTGCGGTTTCTTNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATTCTGGTTTGC CAGGCGGGCTG |
| 709 | D2HGDH_3225 | GGAAGGACAACACGGGCTATGACCTGAAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACG TGGCAACCAAC |
| 710 | D2HGDH_3226 | GCTGTGAACGTGGCTTTCCTCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTGGACTGC CTGACCTCCCT |
| 711 | D2HGDH_3227 | GCATTCGAGTTCATGGATGCTGTGTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGGTGTCC ATCTTGTGTCC |
| 712 | D2HGDH_3228 | GCTCCAACGCAGGCCATGACNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGATGCTGGGTG AGATCCTGTCT |
| 713 | D2HGDH_3229 | GCCACCGACCAGAGGAAAGTCAANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGGTGCAAGAG AGTCCGTTTT |
| 714 | D2HGDH_3230 | TACAAGTACGACCTCTCCCTCCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTGGAGCAC GCGCTGGGCTC |
| 715 | D2HGDH_3231 | GCCAAGCACGTGGTGGGCTATGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGCCCTGAGG |

| | | |
|-----|-------------|--|
| | | GAAAGGATCA |
| 716 | D2HGDH_3218 | GCACGGAGTGGGCTTCAGGAAGAGGGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCTTGG AGATGGTAACC |
| 717 | FH_0120 | GTATTATGGCGCCAGACCGTGNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGGCTCCCGG CTTGGGTG |
| 718 | FH_0121 | GAAGCGAGCGGCCGCTGAAGTAAACNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGAAC AAAGGTGCC |
| 719 | FH_0122 | CATTTTCCTCTCGTGGTATGGCAGACTGGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCT TTTGGCATCTT |
| 720 | FH_0123 | GTGAACTTGGCAGCAAGATACCTGTGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGTAG CTGAAGGTAAA |
| 721 | FH_0124 | GCTGCAATAGAAGTTCATGAAGTACTGTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCAAT AGAGCAATTGA |
| 722 | FH_0125 | CGTACTCATACTCAGGATGCTGTTCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCACACA GCAATGCACAT |
| 723 | FH_0126 | GCCAAGAATCTATGAGCTCGCAGCTGGAGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCACA GATCATCAAGA |
| 724 | FH_0127 | GTGGCTGCACTTACAGGCTTGCCTTTTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATAT GCAATGACAAG |
| 725 | FH_0128 | GCCTGCAGTCTGATGAAGATAGCAAATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAAAG GTTGCTGCAA |
| 726 | FH_0129 | ACCAGGAAGCAGTATCATGCCAGGCAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTTGA GCTCAGTGGAG |
| 727 | FH_0130 | GTTGCTGTCACTGTCGGAGGCAGCAANNNNNNNNCT |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCAGGT CTGGGAGA |
| 728 | FH_0131 | GCTGCTGGGGGATGCTTCAGTTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAATGACCAT GGTTGCAG |
| 729 | FH_0132 | GCTGATGAATGAGTCTCTAATGTTGGTGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTT CAAGCCAATGA |
| 730 | FH_0133 | GCACACAAAATGGATCAACCTTAAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGTG GTGGGAATCC |
| 731 | FH_0134 | GGACATGCTGGGTCCAAAGTGATTTACNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGGTA TGACAAGGCAG |
| 732 | IDH1_2593 | CTACGTGGAATTGGATCTACATAGCTATGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTC AAGGTTTATTG |
| 733 | IDH1_2594 | GCATAATGTTGGCGTCAAATGTGCCACTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATTAA AGAGAAACTCA |
| 734 | IDH1_2595 | ATTCTGGGTGGCACGGTCTTCAGAGAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGAA GCTATAAAGAA |
| 735 | IDH1_2596 | GCTTATGGGGATCAATACAGAGCAACTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATCA CCAAATGGCAC |
| 736 | IDH1_2597 | GAACCCAAAAGGTGACATACCTGGTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTTGTGA GTGGATGGGTA |
| 737 | IDH1_2598 | GTTCTTCCAAATGGCTCTGTCTAAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAACCT ACACACCAAGT |
| 738 | IDH1_2599 | GCGTTTTAAAGACATCTTTCAGGAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGGGAT GTATAATCAAG |

| | | |
|-----|-----------|--|
| 739 | IDH1_2600 | CGACGACATGGTGGCCCAAGCTATGAAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAACCAA AAACACTATTC |
| 740 | IDH1_2601 | GTCGGACTCTGTGGCCCAAGGGTATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGTCCCA GTTTGAAGCTC |
| 741 | IDH1_2602 | GCAGAGGCTGCCACGGGACTGTAANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAGGCTTC ATCTGGGCCTG |
| 742 | IDH1_2603 | GCTTCCATTTTTGCCTGGACCAGAGGGTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGATG ACCAGCGTGCT |
| 743 | IDH1_2604 | GAAGTCTCTATTGAGACAATTGAGGCTGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAAA GGACAGGAGAC |
| 744 | IDH1_2605 | GCAACGTTCTGACTACTTGNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAGCAAAGCTTGA TAACAATAAAG |
| 745 | IDH1_2606 | G TTCATACCTGAGCTAAGAAGGATAATNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGACTTG GCTGCTTGCAT |
| 746 | IDH2_2059 | ACCCCTGATGAGGCCCGTGTGGAAGAGTTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATC CAGCTAAAGTA |
| 747 | IDH2_2060 | GAGCCCATCATCTGCAAAAACATCCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGTGGCT GTCAAGTGTGC |
| 748 | IDH2_2061 | GCGACCAGTACAAGGCCACAGANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGTCCCAATG GAACTATCCGG |
| 749 | IDH2_2062 | GAGTGGGAAGTGTACAACCTCCCGCAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCAAG CCCATCACCAT |
| 750 | IDH2_2063 | GTATGCCATCCAGAAGAAATGGCCGCTGTNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCC |

| | | |
|-----|-----------|---|
| | | AAAAGATGGCA |
| 751 | IDH2_2064 | GCACTATAAGACCGACTTCGACAAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTTGC CAGCTGCTTCC |
| 752 | IDH2_2065 | GCTTTGTGTGGGCCTGCAAGAACTATGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTCAAGG ACATCTTCCAG |
| 753 | IDH2_2066 | GCCCTGATGGGAAGACGATTGANNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGTGGCTCAGG TCCTCAAGTCT |
| 754 | IDH2_2067 | CCACCAGCACCAACCCANNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGATCCTGGCCCAGGGCT TTGGCTCCCTT |
| 755 | IDH2_2068 | GCTGGAGAAGGTGTGCGTGGAGACGGTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGAGCA CCAGAAGGG |
| 756 | IDH2_2069 | GCAATGTGAAGCTGAACGAGCACTTCCTGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGGA AGCTGGATGGG |
| 757 | MDH1_1041 | GTGACTGGAGCAGCTGGTCAAATTGCATNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGGAG AGGAGCGATCT |
| 758 | MDH1_1042 | GCTGTTGGATATCACCCCATGATGGGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTAGGACGA TAAGTCTGAAC |
| 759 | MDH1_1043 | GCAACAGATAAAGAAGACGTTGCCTTNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTCTTT GGTAAAGATCA |
| 760 | MDH1_1044 | GCAAATGTGAAAATCTTCAAATCCAGGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCCTC CTGAAAGATGT |
| 761 | MDH1_1045 | GCCAATACCAACTGCCTGACTGCTTCCAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAAGG GAAGGCATGGA |
| 762 | MDH1_1046 | GATCACAACCGAGCTAAAGCTCAAATTGNNNNNNNN |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAATAC GCCAAGAAGTC |
| 763 | MDH1_1047 | GAAACCATTCCTCGACTCAGTATCCAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTCCAT CCATCCCCAA |
| 764 | MDH1_1048 | GCTCTGAAAGATGACAGCTGGCTCAAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTTGGT GTGACTGCTAA |
| 765 | MDH1_1049 | GCCATGTCTGCTGCAAAAGCCATCTGTGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCAA GGAAAGGAAGT |
| 766 | MDH1_1050 | GCAACTCCTATGGTGTTCCTGATGATCTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCA AGGCTCGAAAA |
| 767 | MDH1_1051 | GATTTCTCACGTGAGAAGATGGATCTTNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTGTG TCCATGGGTGT |
| 768 | MDH1_1052 | GCCTGACTAGACAATGATGTTACTAAATGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGAT AAGACCTGGAA |
| 769 | MDH1_1053 | GCTATACTTAAATTACTTGTGAAAAACAANNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGGAAGA AAAAGAAAGTG |
| 770 | MDH2_1470 | GCCACTTTCCTTCTCCTGAAGAACNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCCGCTCC AGCCATGCTCT |
| 771 | MDH2_1471 | CCACATCGAGACCAAAGCCNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTAAAGTAGCTGTGCT AGGGGCCTCTG |
| 772 | MDH2_1472 | GTGGTAGTTATTCCGGCTGGAGTCCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCTGACCCTC TATGATATCGC |
| 773 | MDH2_1473 | GCTGCCTGTGCCAGCACTGCNNNNNNNNCTTCAGC TTCGATATCCGACGGTAGTGACCTGAACAGCTG CCTGACTGCCT |

| | | |
|-----|----------------------------|---|
| 774 | MDH2_1474 | CATTGGTGGCCATGCTGGGAAGACCATCANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTC CACCAATGCCA |
| 775 | MDH2_1475 | CAGCTGACAGCACTCACTGGNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATCTGCGTCATT GCCAATCCGGG |
| 776 | MDH2_1476 | GCTTTGTCTTCTCCCTTGTGGATGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGGTGGACT TCCCCAGGAC |
| 777 | MDH2_1477 | GCTGCTGCTTGGGAAAAGGGCATCGAGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGC GTATGCCGGCG |
| 778 | MDH2_1478 | GCTGAAGGCCTCCATCAAGAAGGGGGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGAAAC GGAATGTACC |
| 779 | MDH2_1479 | GCATCATGTCACCTGCAAAGCCGTTGCAGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGAG AAGATGATCTC |
| 780 | VHL_3329 | AAAGACCTGGAGCGGCTGACACAGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGAGTGTAT ACTCTGAAAGA |
| 781 | VHL_3330 | GCTTTTGATGGTACTGATGAGTCTTGATNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAAG ATCTGGAAGAC |
| 782 | MET_control_intron_1_0002 | GTGACTTCTGCCACATTACCTGACNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTAGCAA GTATTTTCGCC |
| 783 | MET_control_intron_19_0025 | CACACACACACACACACACACCAGCNNNNNNNNNCTTC CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGATAGCGCT CTCATGGCTTG |
| 784 | MET_control_intron_2_0057 | GCATTTGAAGGATCAAACAATCAACATCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAAG ATACCTGATAA |
| 785 | EGFR_0403 | GCCCTGGGGATCGGCCTTTCATNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCTGTGCCAT |

| | | |
|-----|-----------|---|
| | | CCAAACTGCAC |
| 786 | EGFR_0405 | GCACGGTGTATAAGGGACTCTGGATNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGCAGG AGAGGGAGCTT |
| 787 | EGFR_0406 | GCCAACAAGGAAATCCTCGATGAAGCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAAGATC AAAGTGCTGGG |
| 788 | EGFR_0407 | TCTGCCTCACCTCCACCGTGCANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGTTAAAATTC CCGTCGCTATC |
| 789 | EGFR_0408 | GCTCCCAGTACCTGCTCAACTGGTGTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGACA ACCCCCACGT |
| 790 | EGFR_0410 | GCAGAAGGAGGCAAAGTGCCTATCAANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGACCGT CGCTTGGTGCA |
| 791 | EGFR_0411 | GAGTTGATGACCTTTGGATCCAAGCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCGAAGAG AAAGAATACCA |
| 792 | EGFR_0414 | GCCAAGTCCTACAGACTCCAACNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGTCAAGTG CTGGATGATAG |
| 793 | EGFR_0417 | GACAGCATAGACGACACCTTCTCCAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGTGCA ACCAGCAACAA |
| 794 | EGFR_0420 | GCCACCAAATTAGCCTGGACAACCCTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGACC CACTACCA |
| 795 | EGFR_0383 | GGAAATTACCTATGTGCAGAGGAATTATGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGA GGAAAAGAAAG |
| 796 | EGFR_0385 | GCAAATAAAACCGGACTGAAGGAGCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGCTGGT TATGTCCTCAT |
| 797 | EGFR_0386 | GCCCTGTGCAACGTGGAGAGCATCNNNNNNNNCTTC |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTACGAAAAT TCCTATGCCTT |
| 798 | EGFR_0389 | GCCTGGTCTGCCGCAAATTCGAGACGAANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAGA AACTGACCAAA |
| 799 | ERBB4_0067 | GTCACTGGTATTCATGGGGACCCTTNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCACTGACAT TTGCCCAAAA |
| 800 | ERBB4_0071 | ACAACACTCTTCAGCACAATCAACCAGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTTA TCCTCAAGCAA |
| 801 | ERBB4_0077 | GTGGGCTCTTCATTCTGGTCATTGTGGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCAT GCCATCCAAA |
| 802 | ERBB4_0085 | GCCAATTAATGGATGGCTCTGGAGTGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCAGCCC GTAATGTCTTA |
| 803 | ERBB4_0087 | TGCCTCAGCCTCCCATCTGCACTANNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGTGACGTT TGGAGCTATGG |
| 804 | ERBB4_0088 | GCTGAGTTTTCAAGGATGGCTCGAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGAAAGG AGAACGTT |
| 805 | ERBB4_0089 | GCTTCCCAGTCCAAATGACAGCAAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTGGATGA TTGATGCTGAC |
| 806 | ERBB4_0058 | GGTGCTACTGCTGAGATTTTTGATGACTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCATG TCAGGAAACCA |
| 807 | ERBB4_0094 | CAGTAGCACCCAGAGGTACAGTGCTGACCNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAAC TAGCACAATTC |
| 808 | ERBB4_0060 | GCAAGATATTGTTCCGAACCCATGGCCTTNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGA AAAGATGGAAA |

| | | |
|-----|-------------|--|
| 809 | MERTK_0533 | GCTGAGTAATGGCTCAGTCATGATTTTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCACC AACTGAAGTCA |
| 810 | MERTK_0537 | GTCCACAATGCTACGTGCACAGTGAGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAGCAG CAGGATGGAG |
| 811 | MERTK_0540 | AATCCTTCTGTGCGGCGAGCCATNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGGATTTATTT TGATTGGGTTG |
| 812 | MERTK_0546 | GCGAGATGACATGACTGTCTGTGTTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGGACC AAAGCATA |
| 813 | MERTK_0547 | GCCTGTTAAATGGATCGCCATAGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTCATCGAGA TTTAGCTGCTC |
| 814 | MERTK_0549 | GAAGACTGCCTGGATGAACTGTATGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGATGTG TGGCATTG |
| 815 | MERTK_0550 | CTCTTAGAAAGTTTGCTGACGTTCCGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCAC AGGTTGAAGCA |
| 816 | MERTK_0554 | GCTGACGACTCCTCAGAAGGCTCAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCTGCA GTCACAGCTG |
| 817 | MERTK_0527 | TCGCTTCCTTCAGCATAACCAGTGTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCAATCA GTGTACCTAAT |
| 818 | MERTK_0530 | CGAACAGCCTGAAAAATCCCCNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTCACTTTAC TAAGCAGCCTG |
| 819 | PLXND1_0604 | TTCCGCCCTTCCCCCAACNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGCCTGCCAGCC TCAGTGGCAT |
| 820 | PLXND1_0605 | TCACCATCTACGACTGCAGCCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTGGTCACCAGA |

| | | |
|-----|-------------|---|
| | | TTGCCTACTGC |
| 821 | PLXND1_0589 | CAGACCCCTGCACGGAGCTGANNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCCTACGTGC TGCCCTGGTC |
| 822 | PLXND1_0612 | CCGGGAGCCTCTCACCTCGTTANNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGTGGCTG TGGCTGAGG |
| 823 | PLXND1_0613 | GCTGCGACATCCAGATTGTCTCTGACAGANNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCCA AGAGGGAGAAG |
| 824 | PLXND1_0614 | TTCAACCAGACCATCGCCACACNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCGGGTCAAG ATAGGCCAAGT |
| 825 | PLXND1_0616 | GCAAAGGCTTCGCTGAGCTGCAGANNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCTGCTGC TGCTCTCCGTG |
| 826 | PLXND1_0617 | GGAGTATAAGCACTTCGTGACCCGCACNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGCA GATGGAGGAG |
| 827 | PLXND1_0618 | TCCAGACCCTCAACTCCCAGGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATGACAGAT CTCACCAAGGA |
| 828 | PLXND1_0622 | GTCCATCTGCATGTACAGCTGTCTGCGGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTA CACCAGCATCA |
| 829 | PLXND1_0626 | TTGCCTCCAGCACACAGANNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTATGGACTCGCTGAGC GTGCGGGCCAT |
| 830 | PLXND1_0630 | CTTTTTCGACTTCTGGAGGAGCAGGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTCCC GGAAATCTACC |
| 831 | PLXND1_0632 | TCATCGCGCAGGCCTTCATCGACGCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACCCGACA CCCTACACATC |
| 832 | PLXND1_0634 | CTGGCCGAGGAGTCGAGGAAATACCAGAANNNNNN |

| | | |
|-----|-------------|--|
| | | NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATTTCG CCAACCAACAA |
| 833 | PLXND1_0636 | GGTGGTGGCTTTGATGGAGGACAACATCTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACAC CAATGTGGCCA |
| 834 | RET_0681 | TCTCCCAGCACCAAGACCNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCCCCCTGTCCTGT GCAGTCAGC |
| 835 | RET_0683 | GCTTCCCTGAGGAGGAGAAGTGCTTCTGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCGATG TTGTGGAGAC |
| 836 | RET_0687 | ATTGTATGGGGCCTGCAGCCAGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGGCAGAGC AGGGTA |
| 837 | RET_0690 | CGGCTTGTCCCGAGATGTTTATGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCATCTCATT TGCCTGGCAG |
| 838 | RET_0691 | GATCATATCTACACCACGCAAAGTGATGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGGG CGGAAGATGA |
| 839 | RET_0693 | GGAGATGTACCGCCTGATGCNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCTTTTGGTGT CCTGCTGTGGG |
| 840 | RET_0695 | CACCGCTGGTGGACTGTAATAATGCCNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTGTTTG CGGACATCAG |
| 841 | RET_0697 | GGATGCTTTCACCCTCAGCGGCAAAATNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAAACA AACTCTATGGC |
| 842 | RET_0698 | GTGAAAGGTAATGGACTCACAAGGGGAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACGAGA GCTGATGGCA |
| 843 | RET_0673 | GCTCCTGGGAGAAGCTCAGTNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGGAGGTGCCCA GCTTCCG |

| | | |
|-----|--------------------------------------|--|
| 844 | AXL_0731 | TCGTCGGACCACTGAAGCTACNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGTGTCCTCAT CTTGGCTCTCT |
| 845 | AXL_0735 | TCCTCCTCTATTCCCGGCTNNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCATGAAGGAAT TTGACCATCCC |
| 846 | AXL_0737 | GTCCGTGTGTGTGGCGGACTTCNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGTGTACCTGCC CACTCAGATG |
| 847 | AXL_0738 | GCCATTGAGAGTCTAGCTGACCGTGTCTNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGGAAC TGCATGCTGAA |
| 848 | AXL_0739 | CGGGCGTGGAGAACAGCGAGATTTATGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGATGC CAGTCAAGTGG |
| 849 | AXL_0740 | GGACTGTATGCCTTGATGTCGCGGTGCTNNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGTG ACAATGTGGG |
| 850 | AXL_0742 | AGCTGACCCCCCAACCCANNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTTACAGAGCTGCG GGAAGATTTGG |
| 851 | AXL_0744 | TTCCCACCCACGCCTTATCNNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCAGCCTGCTGATA GGGGCTCCCC |
| 852 | AXL_0727 | GCCCGAAGACAGGACTGTGGCNNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCTCAGAATCAC CTCCCTGCA |
| 853 | AXL_0717 | TCCCCCTGGCCACGGCTCCANNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTGGAGGGCTTGC CTTACTTCCT |
| 854 | EGFR_delta_14 _15_1808nt_00 01 | GCCAGGTCTTGAAGGCTGTCCAANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCTGCCATGC CTTGTGCT |
| 855 | EGFR_delta_14 _15_1808nt_00 | GCCCTGGGGATCGGCCTTTCATGCGAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACAAG |

| | | |
|-----|------------------------------|---|
| | 02 | TGCAACCTTCT |
| 856 | EGFR_delta_2_7_265nt_0006 | GTGGTGACAGATCACGGCTCGTGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGAGCCGGAG CGAGCTCTT |
| 857 | EGFR_delta_2_7_265nt_0007 | GCCGCAAAGTGTGTAACGGAATAGGTANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGAGG AAAAGAAAG |
| 858 | EGFR_delta_12_12_674nt_0011 | GCCAAGGGAGTTTGTGGAGAACTCTGAGTNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATTCT GAAAACCGTAA |
| 859 | EGFR_delta_12_12_674nt_0012 | CGGGGACCAGACAACCTGTATCCAGTGTGNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACTA GAAATCATACG |
| 860 | EGFR_delta_25_27_3123nt_0017 | CACAATCAGCCTCTGAACCCNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAAAGTTCCGTGA GTTGATCATCG |
| 861 | MET_delta_14_3128nt_0025 | GTTTCCTAATTCATCTCAGAACGGTTCANNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATAGT TCAACCAGATC |
| 862 | MET_delta_14_3128nt_0026 | CAGTCCATTACTGCAAATACTGTCCACANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAAA GAGAAAGCAA |
| 863 | MET_delta_4_5_1579nt_0032 | GCAGGTTTTCCCAAATAGTGCACCCCTTGNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTTT GCAGCGCGTTG |
| 864 | MET_delta_4_5_1579nt_0033 | ACTAGAGTTCTCCTTGAAATGAGAGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACATCA GAGGGTCGCTT |
| 865 | MET_delta_7_8_2049nt_0037 | GCACGATGAATACTGTGTCAAACAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTGAAGGAG GGACAAGGCTG |
| 866 | MET_delta_7_8_2049nt_0038 | GCCAACCGAGAGACAAGCATCTTCANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATGAGAGC TGCACCTTGAC |
| 867 | MET_var_1_fus | ATTAGTACTTGGTGGAAAGAACCTCTCAANNNNNNN |

| | | |
|-----|--|--|
| | ion_9_10A_263 8nt_0042 | NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCCAA ACCATTTCAAC |
| 868 | MET_var_1_fus ion_9_10A_263 8nt_0043 | CAGTTAGTGTCCCGAGAATGGTCATAAANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAATTC ATCCAACCAAA |
| 869 | MET_var_2_fus ion_9_10B_266 4nt_0047 | GTGGTGGGAGCACAATAACAGGTGTTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAACCA TTTCAACTGAG |
| 870 | MET_var_2_fus ion_9_10B_266 4nt_0048 | GCATGTCAACATCGCTCTAATTCAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATTCATCCA ACCAAATCTTT |
| 871 | MET_var_2_fus ion_9_11_2464 nt_0052 | GCATGTCAACATCGCTCTAATTCAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAACCAT TTCAACTGAGT |
| 872 | MET_var_2_fus ion_9_11_2464 nt_0053 | GCCTTTTTTCATGTTAGATGGGATCCTTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTATGA AATTCATCCAA |
| 873 | KIT_0066 | GTCACAACAACCTTGGAAGTAGTAGANNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTATAATAGC TGGCATCACGG |
| 874 | KIT_0069 | CCGAAGGAGGCACTTACACATTCCTAGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAACACC AGCAGTGGATC |
| 875 | KIT_0072 | GCACAATGGCACGGTTGAATGTAAGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCAGG AACTGAGCAGA |
| 876 | KIT_0075 | CAAATGGGAGTTTCCCAGAAACAGGCTGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGAT GATTCTGACCT |
| 877 | KIT_0078 | GCTATGGTGATCTTTTGAATTTTTTGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACGGG AAGCCCTCATG |
| 878 | KIT_0080 | GCCGACAAAAGGAGATCTGTGAGAATAGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGAT CATGCAGAAGC |

| | | |
|-----|-----------|---|
| 879 | KIT_0083 | GTGAAGTGGATGGCACCTGAAAGCANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGAGACTTG GCAGCCAGAAA |
| 880 | KIT_0058 | GCTGTTATGCACTGATCCGGGCTTNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGCTCCT ACTGCTTCGCG |
| 881 | KIT_0060 | TGCCAAGCTTTTTCCTTGTTGACCGCTCCNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACGAA TGAGAATAAGC |
| 882 | KIT_0063 | GCTGTGCCTGTTGTGTCTGTGTNNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAGCGGGCATC ATGATCAAAAG |
| 883 | PTEN_0098 | GGATTCAAAGCATAAAAACCATTACAAGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCAAGA GGATGGATTCG |
| 884 | PTEN_0100 | CATGTTGCAGCAATTCCTGTAAAGCTGGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACACC GCCAAATTTAA |
| 885 | PTEN_0101 | GCCCTAGATTTCTATGGGGAAGTAAGNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCAATGG CTAAGTGAAGA |
| 886 | PTEN_0102 | GGATTATAGACCAGTGGCACTGTTGTTNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTAAA GGCACAAGAG |
| 887 | PTEN_0103 | CCTCAGTTTGTGGTCTGCCAGCTNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGAGGCGC TATGTGTATT |
| 888 | PTEN_0104 | GCCGTTACCTGTGTGTGGTGATATNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCGAATGTT CAGTGGCGG |
| 889 | PTEN_0105 | ACCAGGACCAGAGGAAACCTCANNNNNNNNNCTTCAG CTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTTTCATGTACTT TGAGTTCCCTC |
| 890 | PTEN_0107 | AGCCAACCGATACTTTTCTCCAANNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTAGAAAATGG |

| | | |
|-----|--------------------|--|
| | | AAGTCTATGTG |
| 891 | PTEN_0109 | GATCAGCATAACAAATTACAAAAGTCTGNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCGTC AATCCAGAGGC |
| 892 | PTEN_0110 | GGACCTTTTTTTTTTAAATGGCAATAGNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGACTC TGATCCAGAGA |
| 893 | ACTB_0129 | TTGCTCCTCCTGAGCGCAAGTACTCNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATCCGCA AAGACCTGTAC |
| 894 | ACTB_0123 | TCTGGCACCACACCTTCTACAATGNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGATGGTGG GCATGGGTC |
| 895 | ACTB_0124 | AACCCCAAGGCCAACCGCGANNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGTACCCCATC GAGCACGGCAT |
| 896 | ACTB_0126 | GGTCATCACCATTGGCAATGAGCGGTNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAGCGGGA AATCGTGCGTG |
| 897 | ACTB_0127 | GGCATCCACGAACTACCTTCAACNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTTCCAGC TCCTCCCTGG |
| 898 | ACTB_0128 | CCACCATGTACCCTGGCATTGCCNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTCTTCCAGC CTTCCTTCCT |
| 899 | MET_var_1_014 7 | GTTCCATAAACTCTGGATTGCATTCTACNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCAGAG ATTCTTACCCC |
| 900 | MET_var_1_015 0 | GTGAGATGTCTCCAGCATTTTTACGGNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTTCTTTTC GGGGTGTTCGC |
| 901 | MET_var_1_015 3 | ACTCCCATCCAGTGTCTCNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCTTAAACATCTATAT CCACCTTCATT |
| 902 | MET_var_1_015 | GCTGACCATATGTGGCTGGGACTTTGGATNNNNNNN |

| | | |
|-----|--------------------|---|
| | 6 | NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTG CCACGACAAAT |
| 903 | MET_var_1_015 9 | GCTGGTGGCACTTTACTTACTTTNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCTGCCATG AATAAGCATTT |
| 904 | MET_var_1_016 2 | GCTTTGCCAGTGGTGGGAGCACAATANNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCCAACC GAGAGACAA |
| 905 | MET_var_1_016 5 | GCCTTTTGAAAAGCCAGTGATGATCNNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTACCAC TCCTTCCCTGC |
| 906 | MET_var_1_016 9 | GCAAATTAAGATCTGGGCAGTGAATTAGNNNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTCCT TGGAAAAGTAA |
| 907 | MET_var_1_017 0 | CCCAACTACAGAAATGGTTTCAAATGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTTGGGTT TTTCCTGTGGC |
| 908 | MET_var_1_017 1 | GCAGTATCCTCTGACAGACATGTCCNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCTTGTAAG TGCCCGAAGTG |
| 909 | MET_var_1_017 4 | CAATTTCTGACCGAGGGAATCATCATGANNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGAAGTC ATAGGAAGAGG |
| 910 | MET_var_1_017 8 | GCAAACCTCAAAGTTTACCACCAAGTCNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAAAATT CACAGTCAAGG |
| 911 | MET_var_1_018 1 | ACTTTCATTGGGGAGCACTATGTCCATNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACTCCTA CAACCCGAATA |
| 912 | MET_var_1_018 4 | GTATTGTTATTTAAATTACTGGATTCTANNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGCATAGT GCTAGTACTAT |
| 913 | MET_var_1_014 4 | CGGTTTCATCAACTTCTTTGTAGNNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAATCATACT GCTGACATACA |

| | | |
|-----|------------|---|
| 914 | TUBB_0211 | TCCGCCGGAAGGCCTTCCTCCACTNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAATGTCA AGACAGCCGTC |
| 915 | TUBB_0202 | CAGCTGACCCACTCACTGGNNNNNNNNCTTCAGCTT CCCGATATCCGACGGTAGTGTTTTGTATTTGGTCAG TCTGGGGCAGG |
| 916 | TUBB_0205 | CCACCTTGTCTCAGCCACCANNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTTACAATGCCACCCT CTCCGTCCATC |
| 917 | TUBB_0208 | TACCTCACCGTGGCTGCTNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGCTTTATGCCTGGCTTT GCCCCTCTCAC |
| 918 | ERBB3_0013 | CCACCACTCTTTGAACTGGACCAAGNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCGGGGCTTC TCATTGTTGAT |
| 919 | ERBB3_0015 | GCCGAGGAGGTGTCTGTGTGANNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGACATCAAGCAT AATCGGCCG |
| 920 | ERBB3_0019 | CCCATCTGACAATGGCTTTGACAGTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGCCCAATCT ACAAGTACCCA |
| 921 | ERBB3_0025 | GCCAAGGGAATGTACTACCTTGAGGANNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCATCTC TGCAGCTTG |
| 922 | ERBB3_0027 | GTGGATGGCCCTTGAGAGTATCCACTNNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACGTG CTACTCAAGTC |
| 923 | ERBB3_0034 | GCAGTTTCTGGGAGCAGTGAACGGTGCNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCCTAC CAGTTGGAA |
| 924 | ERBB3_0037 | TACTCCCTCCTCCCGGAAGGCANNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCGGAGATAGCG CCTACCA |
| 925 | ERBB3_0043 | CTCCTGCTCCCTGTGGCACTCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCCTCCCATGTCCA |

| | | |
|-----|------------|--|
| | | TTATGCCC |
| 926 | ERBB3_0002 | GCTTTGTCACATGGACACAATTGACTGNNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGAAGTT TGCCATCTTC |
| 927 | ERBB3_0005 | GCCTGCCGGCACTTCAATGACAGTGGAGNNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACATTG ACCAAGACCA |
| 928 | RON_0255 | TTTTGCCCCAACCCGCCTNNNNNNNNNCTTCAGCTTC CCGATATCCGACGGTAGTGTCCCAACTCTGTCGTC TGTGCCTTCCC |
| 929 | RON_0263 | AACTGGAGCCCTTGGGCACCCAGNNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTGGTCTGG TGCCTGAGGG |
| 930 | RON_0265 | GGCACCTGTCTCACTCTTGAAGGCNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTCTCACCGTG ACTAACATGCC |
| 931 | RON_0270 | GGAGCTGCTGGCTTTACTACTGCCTGGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGCTTAGG GCAGTGGAAAG |
| 932 | RON_0274 | GCACTGGTCTTCAGCTACTGGTGGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGTCTGCGTA GATGGTG |
| 933 | RON_0279 | GTGGAGGCCTTCTGCGAGAGGGGCTNNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTACAGTGAC CGAGTCATTGG |
| 934 | RON_0281 | CCTCATCAGCTTTGGCCTGCAGGTANNNNNNNNNCTT CAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGTGCTGGC TCTCATTGGT |
| 935 | RON_0282 | CAGTCAAGGTGGCTGACTTTGGTTNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAAACCCACCG TGAAGGA |
| 936 | RON_0287 | CTCACCCATGCCAGGGAATGTACGNNNNNNNNNCTTC AGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTGGGGGAGGT GGAGCAG |
| 937 | RON_0252 | CCACACGGGAGCCTTCGTATACTNNNNNNNNNCTTCA |

| | | |
|-----|-----------|--|
| | | GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTCAGCCCACG CTCAGTGTCT |
| 938 | ALK_0320 | TGCCCAGAGGCTCCTTTCTCCNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGTGAGCTGGAGT ATTCCCCTCC |
| 939 | ALK_0323 | GTGGAAACCGCAGCTTGTCTGCAGTGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAACG AGGCTGCAAGA |
| 940 | ALK_0328 | CGTGTCCCTGGTGCTAGTGGNNNNNNNNCTTCAGCT TCCCGATATCCGACGGTAGTGTTTGCTCAGTACCAC TGATGTCCC |
| 941 | ALK_0329 | GCCTGTGGCAGTGGATGGTGTGNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGAGCTCCGAA TGTCCCTGG |
| 942 | ALK_0334 | GCGGGAAAGGCGGGAAGAACACCATGANNNNNNNNC TTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACAACG CCTACCAGAA |
| 943 | ALK_0335 | GCTGTACATCCTGGTTGGGCAGCAGGGANNNNNNNN CTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAGCCAC CGACACCTACA |
| 944 | ALK_0347 | CTGCCCCGGTTCATCCTGCTGGANNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGCTGTGAAG ACGCTGCCTG |
| 945 | ALK_0349 | CAGACACATGGTCCTTTGGAGTGCTGNNNNNNNNCT TCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGGAGACT TCGGGATG |
| 946 | ALK_0355 | CCCAACGTACGGCTCCTGGTTNNNNNNNNCTTCAGC TTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTCTGTTTCAGT CCCTAGAGGGC |
| 947 | ALK_0358 | GCCCCTGGAGCTGGTCATTACGANNNNNNNNNCTTCA GCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTGCTCCTAGAG CCCTCTTCGCT |
| 948 | EGFR_0391 | GCCTGTGGGGCCGACAGCTATGAGATGGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTTCTAC AACCCACCAC |

| | | |
|-----|--------------------------|---|
| 949 | EGFR_0394 | CGTAAAGGAAATCACAGGGTTTTTGGCTGANNNNNNN NCTTCAGCTTCCCGATATCCGACGGTAGTGTAACA CTTCAAAAАСТ |
| 950 | forward primer HMBSFw | CTGGTAACGGCAATGCGGCT |
| 951 | reverse primer HMBSRv | TTCTTCTCCAGGGCATGTTC |

Последовательности 1–949 представляют собой smMIP

Примеры

Пример 1–направленное РНК–секвенирование на основе smMIP дает релевантную информацию о метаболизме

За последние четыре десятилетия стало доступно огромное количество данных о молекулярных событиях, лежащих в основе канцерогенеза. Исследования были в основном сосредоточены на молекулярных изменениях и их последствиях, помимо прочего, для пути PI3K/pAKT/mTOR (19–22) и контроля клеточного цикла, апоптоза (23, 24) и путей восстановления ДНК (25, 26). В настоящее время доступны многочисленные одобренные FDA лекарственные средства, которые нацеливаются на раковые клетки на основе этих генетических дефектов с уровнем специфичности, который не достигается с помощью обычной химиотерапии (27, 28), что позволяет достигнуть персонализированной медицины. Хотя нацеленная терапия рака может продлить выживаемость, в настоящее время широко признано, что врожденная генетическая нестабильность в конечном итоге приводит к устойчивости к большинству видов рака (11–14).

Для пролиферации раковые клетки должны генерировать АТФ для поддержания энергетического баланса и ионного гомеостаза, импортировать источники углерода и азота для синтеза аминокислот, нуклеотидов и липидов (29, 30) и поддерживать окислительно–восстановительный потенциал для защиты клеток от окислительного стресса (31). Блокирование одного или более из этих процессов может препятствовать пролиферации и/или повышать чувствительность клеток к токсической терапии с применением подхода синтетической летальности. Например, увеличение окислительного стресса при раке с помощью ингибиторов метаболизма может повысить эффективность лучевой терапии (32) или химиотерапии (33). С ростом объема знаний о нарушенных метаболических путях при раке (34–37), (адъювантное) нацеливание

на специфичные для рака метаболические пути может являться весьма интересным дополнением к современным протоколам лечения. Наиболее известным примером специфичной метаболической адаптации при раке является аэробный гликолиз, также известный как эффект Варбурга (38). Поскольку гликолиз является неэффективным с точки зрения производства АТФ, то раковые клетки, как правило, активируют транспортеры глюкозы GLUT1 и/или GLUT3. Помимо глюкозы, глутамин и жирные кислоты считаются важными видами топлива для раковых клеток (39, 40), (41, 42).

Хотя метаболические адаптации в основном рассматривают как следствие канцерогенеза, было однозначно установлено, что метаболические изменения могут также вызывать рак, например мутации в генах, кодирующих митохондриальные (например, IDH2, FH, SDH) и цитозольные (например, IDH1) метаболические ферменты (43, 44) (45, 46) (1, 47, 48), причем последние выделяются среди других глиом низкой степени злокачественности и вторичных глиобластом (1, 48). Светлоклеточную карциному почки (ccRCC) в настоящее время считают метаболическим заболеванием, при котором метаболические изменения возникают косвенным образом в результате инактивирующих мутаций или эпигенетического сайленсинга VHL, обнаруживаемых в ~80% клеток светлоклеточного рака почки (ccRCC) (49). pVHL является основным регулятором убиквитинирования и расщепления факторов транскрипции, индуцируемых гипоксией факторов HIF-1 α и HIF-2 α (49). Мутации в вышеупомянутых метаболических ферментах и в VHL, как было показано, вызывают эпигенетические изменения, которые влияют на экспрессию других метаболических ферментов непредсказуемым образом (17, 50–52).

Для применения ингибиторов метаболизма в качестве потенциальных добавок к существующему набору противоопухолевых средств очень важно определить, какие метаболические пути являются активными при конкретном раке, персонализированным образом. В настоящем описании мы применили новый способ, основанный на секвенировании следующего поколения, с использованием одномолекулярных обратных зондов (smMIP (15)), чтобы детектировать уровни экспрессии 104 генов, участвующих в метаболизме, и одновременно идентифицировать варианты в них. В качестве подтверждения концепции мы применили smMIP для картирования части метаболического транскриптома VHL-дефектной клеточной линии ccRCC и соответствующей изогенной производной,

восстановленной VHL, а также в моделях ксенотрансплантатов глиомы, полученных от пациентов. Мы подтвердили правильность способа, сопоставив результаты с данными РНК-секвенирования полного транскриптома (как золотого стандарта для анализа транскриптома) и экспрессией белков. Мы также проверили способность анализа обнаруживать онкогенные мутации в клеточных линиях и опухолевой ткани пациента.

Наши данные показывают, что направленное РНК-секвенирование транскриптов, кодирующих метаболические ферменты, с использованием smMIP, предсказывает преобладающие метаболические пути, действующие при раке (53) и одновременно позволяет обнаруживать варианты в целевых транскриптах.

Материалы и методы

Клеточные линии

Клеточная линия SKRC7 происходит из первичной человеческой ccRCC и была описана ранее (54). Клетки культивировали в RPMI 1640 (Lonza Group, Швейцария) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) и 40 мкг/мл гентамицина (Centrafarm, Etten-Leur, Нидерланды). Изогенную клеточную линию SKRC7, экспрессирующую функциональный VHL, меченный гемагглютинином (HA) (SKRC7-VHL^{HA}), получали путем трансфекции pcDNA3.1-VHL^{HA} с последующим отбором стабильных трансфектантов в той же среде с 400 мкг/мл гентамицина (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США). Ксенотрансплантатные модели глиомы, полученной от пациента, E478 и E98 были описаны ранее (55, 56).

Материал пациента

Использование материала пациента осуществлялось в соответствии с рекомендациями местного этического комитета по использованию материалов пациентов и проводилось с получением информированного согласия. Хирургически полученную ткань от пациента мужского пола с астроцитомой III степени быстро замораживали в жидком азоте.

Подготовка РНК и кДНК

Тотальную РНК выделяли из срезов быстрозамороженной ксенотрансплантатной ткани E478, опухолевой ткани человека и из 80% слитых клеток SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA} с использованием реагента TRIzol (Life Technologies, ThermoFisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) в соответствии с инструкциями

производителей. Качество РНК оценивали на основании относительных уровней полос 28S, 18S и 5S рРНК на агарозном геле и с помощью анализов на Bioanalyzer (Agilent Technologies, Амстелвееен, Нидерланды). РНК подвергали обратной транскрипции в кДНК с использованием обратной транскриптазы Superscript II (Invitrogen, ThermoFisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) и случайных гексамерных праймеров (Promega, Madison, WI, США) в соответствии со стандартными протоколами. Затем кДНК очищали с использованием набора NucleoSpin для очистки геля и ПЦР (Macherey-Nagel, Дюрен, Германия). Для контроля качества кДНК подвергали ПЦР на референсный ген гидроксиметилбилан-синтазы (HMBS) с прямым праймером HMBSFw (5'-CTGGTAACGGCAATGCGGCT-3') и обратным праймером HMBSRv (5'-TTCTTCTCCAGGGCATGTTC-3') с использованием смеси AmpliTaq Gold 360 (Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США).

Анализ РНК-секвенирования полного транскриптома

Высококачественную РНК с оценками RIN>8 подвергали РНК-секвенированию полного транскриптома в соответствии со стандартными протоколами. Секвенирование было выполнено на Illumina HiSeq и дало 30-50 миллионов прочтений на образец (протокол секвенирования с парными концевыми прочтениями). Набор данных был проанализирован с использованием протокола «Tuxedo»; прочтения были картированы на геном человека из базы данных RefSeq (hg19) с помощью TopHat, и окончательная сборка транскриптов была выполнена с помощью пакета Cufflinks (57). Нормализация была выполнена с использованием как Cuffquant, так и расчета фрагментов как число транскриптов на миллион откартированных прочтений (TPM) для получения относительных значений экспрессии. Наличие однонуклеотидных вариантов было визуализировано в браузере Integrated Genomics Viewer (IGV, Broadinstitute).

Конструирование smMIP

Методика направленного РНК-секвенирования с использованием smMIP показана на фигуре 1. Она основана на гибридизации зондов удлинения и лигирования, соединенных «константной» последовательностью остова, инвертированным образом относительно представляющей интерес кДНК с последующим заполнением разрыва/лигированием и ПЦР. SmMIP для антисмысловой цепи 104 предсказанных транскриптов (сборка генома человека UCSC hg19)

были разработаны на основе алгоритма MIPgen, как описано Бойлом и соавт. (18). Когда это было возможно, smMIP создавали с помощью зондов лигирования и удлинения, расположенных на соседних экзонах, чтобы предотвратить вклад зондов smMIP, подвергающихся гибридизации, в потенциальные загрязнения геномной ДНК. Представляющими интерес являлись транскрипты, кодирующие ферменты и транспортеры, функционирующие в различных метаболических путях, включая липидный обмен, гликолиз, окислительное фосфорилирование (OXPHOS), цикл трикарбоновых кислот (ТСА), пентозофосфатный путь (PPP), глутаминолиз и контроль восстановительного потенциала (см. таблицу I). Набор smMIP также содержал зонды для обнаружения β -актина и β -тубулина в качестве генов домашнего хозяйства и ряда тирозинкиназ, имеющих отношение к раку. SmMIP были сконструированы с зондами удлинения, имеющими длину от 16 до 20 нуклеотидов, и зондами лигирования, имеющими длину 20–24 нуклеотида, соединенными последовательностью остова (40 нуклеотидов) с участком из 8 случайных нуклеотидов, вставленных смежно с зондом лигирования. Случайную 8N-последовательность вставляют в целях сокращения всех ампликонов, происходящих из одного отдельного smMIP, до одного уникального MIP (см. ниже). Длина заполнения разрыва была установлена равной 112 нуклеотидам. Принимая во внимание, что конструирование было основано на полном покрытии, для большинства транскриптов 5–10 smMIP на транскрипт были включены в панель, при этом целевые области были равномерно распределены по рамке считывания. Для 18 транскриптов (CS, D-2HGDH, L-2HGDH, FH, IDH1-3A-G, MDH1-2, MYC, OGDH, SDHA-D, VHL) были выбраны наборы smMIP, которые покрывали полные кодирующие последовательности.

Захват и подготовка библиотеки

642 smMIP (IDT, Левен, Бельгия) были объединены при концентрации 100 мкМ/smMIP. Пул smMIP фосфорилировали с использованием полинуклеотидкиназы T4 (New England Biolabs, NEB, Ипсвич, штат Массачусетс, США) в ДНК-лигазном буфере T4 (NEB) при 37°C в течение 45 минут с последующей инактивацией в течение 20 минут при 65°C. Реакцию захвата проводили с 50 нг кДНК и предполагаемым 8000-кратным молярным избытком фосфорилированного пула smMIP (16) в 25 мкл реакционной смеси, содержащей амплигазный буфер (Epicenter, Мэдисон, штат Висконсин, США), dNTP, фермент Немо KlenTaq (New England Biolabs, NEB, Ипсвич,

штат Массачусетс, США) и термостабильную ДНК-лигазу (Ampligase, Epicenter). Смесь для захвата инкубировали в течение 10 минут при 95°C (денатурация) с последующей инкубацией в течение 18 часов при 60°C, в течение которых происходили гибридизация и сопутствующее удлинение и лигирование праймера. Непосредственно после этого этапа нециклизованные smMIP, РНК и кДНК удаляли посредством обработки 10 ед экзонуклеазы I и 50 ед экзонуклеазы III (обе производства NEB) в течение 45 минут при 37°C с последующей тепловой инактивацией (95°C, 2 мин). Циркуляризованную библиотеку smMIP подвергали стандартной ПЦР с использованием 2х мастер-микса с высокоточными ДНК-полимеразами iProof (Bio-Rad, Геркулес, Калифорния) с набором праймеров, содержащим уникальный обратный праймер с баркодом для каждого образца. Получение продуктов ПЦР правильного размера (266 п.н.) было подтверждено с помощью электрофореза в агарозном геле, а библиотеки ПЦР из разных образцов были объединены на основе относительной интенсивности полос. Затем пул очищали с использованием гранул AMPureXP (Beckman Coulter Genomics, High Wycombe, Великобритания) в соответствии с инструкциями производителей. Очищенную библиотеку запускали на TapeStation 2200 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США) и проводили количественное определение с помощью Qubit (Life Technologies, ThermoFisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) для оценки качества библиотеки.

Воспроизводимость методики была проверена путем подготовки биологических реплик библиотек с использованием различных препаратов РНК из одних и тех же клеточных линий.

Секвенирование и аннотация

Библиотеки секвенировали на платформе Illumina NextSeq (Illumina, Сан-Диего, Калифорния) в центре секвенирования Radboudumc с получением 2х 150-нуклеотидных парных концевых прочтений. Прочтения картировали на референсный транскриптом (hg19) с использованием модуля SeqNext из JSI SequencePilot версии 4.2.2, сборка 502 (JSI Medical Systems, Эттенхайм, Германия). Случайную 8-нуклеотидную последовательность, фланкирующую зонд лигирования, использовали для сокращения результатов амплификации ПЦР до одного smMIP (уникальных прочтений).

Поиск однонуклеотидных вариантов (SNV) и анализ экспрессии

Все однонуклеотидные варианты (SNV), найденные с

минимальным процентным соотношением 5%, обнаруженные по меньшей мере в 5 уникальных прочтениях (прямых и обратных), были отобраны для дальнейшего анализа. Варианты были аннотированы и классифицированы как синонимичные или несинонимичные. Затем они были проверены на данных РНК-секвенирования транскриптома, полученных для разных выделений РНК из одних и тех же клеточных линий.

Индивидуальное число прочтений для каждого smMIP было разделено на общее число прочтений в образце и умножено на 10^6 , что дало число фрагментов на миллион (FPM) для каждого smMIP в образце. Мы выбрали эту процедуру нормализации вместо нормализации по генам домашнего хозяйства, поскольку идеальных генов домашнего хозяйства не существует. Например, экспрессия метаболических генов подвержена изменениям, зависящим от клеточного цикла, и то же самое верно для экспрессии таких генов, как актин и тубулин.

Вестерн-блоттинг

Клеточные экстракты получали из клеток SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA} путем разведения в буфере RIPA (Cell Signaling), и концентрации белка определяли с использованием анализов BCA. 20 мкг белка разделяли на 12% гелях SDS-PAGE и подвергали электроблоттингу на нитроцеллюлозе. После блокирования в блокирующем буфере Odyssey (1:1 в PBS) мембраны инкубировали в течение ночи в блокирующем буфере Odyssey, содержащем антитела против НК-2 (2867S, технология клеточной сигнализации), CA9 (M75, Dr. Oosterwijk) или γ -тубулин (C20, Santa Cruz Biotechnology, Даллас, Техас) в качестве контроля загрузки. Антитела были обнаружены с помощью вторичных антител, конъюгированных с Alexa680 или DyLight800, и сигнал был визуализирован с помощью сканера Odyssey (LI-COR).

Статистика

Значения FPM для каждого транскрипта (средние значения FPM для всех smMIP, нацеленных на один транскрипт) коррелировали со значениями TPM (значений транскриптов на миллион для одного и того же транскрипта, полученных для данных полного РНК-секвенирования для одних и тех же клеточных линий). Для трех образцов были проведены анализы с повторностями. Анализ корреляции проводили с использованием GraphPad Prism v.5.03 (GraphPad, Сан-Диего, Калифорния, США).

Результаты

Секвенирование следующего поколения геномной ДНК на основе

SmMIP было недавно внедрено в рутинную диагностику в нашем институте для выявления мутаций в ДНК, ассоциированных с опухолями (16). Для того, чтобы выяснить, можно ли также использовать smMIP для мультиплексного определения уровней экспрессии генов одновременно с обнаружением вариантов, мы разработали набор smMIP для направленного обнаружения и секвенирования транскриптов, кодирующих метаболические ферменты. Для того, чтобы установить эффективность данной методики, мы использовали пару изогенных клеточных линий SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA} в качестве прототипных клеточных линий, в которых преобладают различные метаболические пути. Как и 80% ccRCC, клеточная линия SKRC7 несет дефектный ген VHL, что приводит к конститутивной стабилизации HIF-1 α и HIF-2 α и псевдогипоксическому ответу (53, 54, 58). Ожидалось, что повторное введение VHL приведет к быстрому распаду HIF1/2 и исправлению этой метаболической аберрации.

Данные по экспрессии генов клеток SKRC7, полученные из полного РНК-секвенирования, подтвердили наличие нонсенс- и функционально инактивирующей Q132-стоп мутации в 100% транскриптов VHL (фигура 2A), тогда как только последовательность wtVHL была обнаружена в SKRC7VHL^{HA} (фигура 2B), и это было легко воспроизведено в анализе smMIP (фигура 2C, D). Введение функциональной VHL^{HA} в клетки SKRC7 приводило к 100-кратному повышению экспрессии VHL (фигура 2E, см. также вестерн-блот на фигуре 2F).

Оптимизация подготовки библиотеки

Используя начальный набор из 642 smMIP, покрывающих 104 транскрипта, представляющих интерес для данного исследования (см. таблицу I), мы проверили наш протокол подготовки библиотек с 50 нг кДНК с примесью гексамера, сгенерированной из 13 различных образцов РНК (полученных из клеточных линий и ксенотрансплантата), для которых также были доступны наборы данных полного РНК-секвенирования. ПЦР с 25 циклами с баркодированными праймерами в циркуляризованной библиотеке smMIP давала фрагменты ПЦР ожидаемого размера 266 п.н. (не показано).

На основании исходных экспериментов мы также проверили процедуру на 10 и 25 нг кДНК. Оба варианта дали меньше фрагментов ПЦР и меньше уникальных прочтений по сравнению с 50 нг. Поэтому мы продолжили использование 50 нг кДНК на входе в последующих экспериментах. Секвенирование на платформе Illumina

NextSeq библиотек, сгенерированных из клеток SKRC7 и SKRC7-VHL, дало 286000 и 69000 аннотированных уникальных прочтений, соответственно (с поправкой на ПЦР-ампликаты на основе случайной последовательности 8N в smMIP), что находится в диапазоне других образцов, запущенных с той же самой панелью smMIP (не показано). Для большинства транскриптов производительность отдельных smMIP была переменной (см. пример в таблице II, где показаны значения FPM для 10 различных smMIP, разработанных для транскрипта VHL в обеих клеточных линиях), что представляет собой известное явление также в NGS ДНК с smMIP (16). Это являлось априорной причиной включения в нашу панель не менее 5 smMIP на транскрипт гена, что позволило провести анализ транскриптома с использованием средних нормированных значений smMIP для каждого транскрипта. Это количество представляло собой компромисс между созданием дорогих больших панелей, которые будут давать частично бесполезные и не относящиеся к делу данные, и слишком маленьких панелей, которые приводили бы к недооценке или переоценке уровней транскриптов.

Сначала мы сравнили набор данных направленного РНК-секвенирования с smMIP, сгенерированный с использованием панели из 864 smMIP, с набором данных РНК-секвенирования полного транскриптома (рассматриваемым как золотой стандарт), выполненным на разных изолятах РНК из одних и тех же клеточных линий. Весь набор данных РНК-секвенирования состоял из $3,2 \times 10^7$ и $3,4 \times 10^7$ прочтений, отнесенных к 44503 различным транскриптам для SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA}, соответственно. Для каждого представляющего интерес транскрипта значения TPM (число транскриптов на миллион) из набора данных полного РНК-секвенирования были нанесены на график против средних значений FPM из анализов smMIP. Такой анализ для метаболических транскриптов и транскриптов тирозинкиназы отдельно дал коэффициенты корреляции 0,903 и 0,974, соответственно, для SKRC7 (фигура 3А, В), и 0,784 и 0,903, соответственно, для SKRC7-VHL^{HA} (фигура 3С, D), что позволяет предположить, что, как и ожидалось, экспрессия метаболических генов подвержена большей вариабельности, чем у тирозинкиназ. Нанесение на график данных РНК-секвенирования полного транскриптома по уникальным прочтениям, полученным с наилучшим smMIP для каждого транскрипта, или по медианному числу уникальных прочтений для каждого транскрипта (для предотвращения смещения из-за нерабочих или неэффективных smMIP) не улучшило

эту корреляцию (не показано).

Одной из привлекательных характеристик направленного РНК-секвенирования с использованием smMIP является то, что панели могут быть расширены для обнаружения новых представляющих интерес транскриптов. Для того, чтобы протестировать, как это влияет на результат анализа, мы добавили 222 smMIP для детектирования и направленного секвенирования других представляющих интерес транскриптов к нашей первоначальной панели, и повторно провели анализ, используя заново выделенную РНК из той же клеточной линии. Относительные уровни транскриптов в образцах хорошо коррелировали между анализами с исходным и расширенным набором smMIP (SKRC7: $r=0,903$, SKRC7-VHL^{HA}: $r=0,876$).

Функциональная проверка данных направленных smMIP

Подтвердив достоверность набора данных smMIP, мы проанализировали уровни экспрессии генов, участвующих в метаболизме, в клетках SKRC7 и SKRC7-VHL^{HA}. На фигурах 4А и 4В показаны две биологических повторности средних значений FPM на основе smMIP для ряда транскриптов, участвующих в гликолизе. Экспрессия генов-мишеней HIF: переносчиков глюкозы 1 и 3 (SLC2A1 и SLC2A3), переносчика монокарбоксилатов MCT4 (SLC16A3), карбоангидразы 9 и 12 (CA9, CA12), гексокиназы 2 (HK2), лактатдегидрогеназы А (LDH-A) и фосфоглицидкиназы (PGK1) была значимо и воспроизводимо снижена в клетках SKRC7-VHL^{HA} по сравнению с клетками SKRC7 (фигура 4А, В), в соответствии с данными, полученными из данных РНК-секвенирования полного транскриптома (фигура 4С). Относительные уровни экспрессии уровней транскриптов CA9 и HK2 были дополнительно подтверждены на уровне белка (фигура 4D). Сильное снижение для CA9, HK2 и LDHA, все из которых являются генами-мишенями HIF, соответствовало ожиданиям в отношении VHL-дефектной клеточной линии.

Детектирование вариантов

Для того, чтобы выяснить, позволяет ли РНК-секвенирование на основе smMIP эффективно детектировать однонуклеотидные варианты (SNV), мы выполнили поиск вариантов для библиотеки smMIP в SeqNext. Было обнаружено несколько гетерозиготных и гомозиготных вариантов, которые можно было проверить в наборе данных полного РНК-секвенирования (см. пример VHL на фигурах 2С и D). Затем мы дополнительно подтвердили чувствительность анализа в отношении обнаружения SNV (найденных вариантов по

отношению к референсному геному hg19) и проводили анализ smMIP на РНК, выделенной из линии E478 мутантной олигодендроглиомы IDH1^{R132H} (56) и клеточной линии E98 астроцитомы, в которой мы ранее идентифицировали новую мутацию в IDH1 (IDH1^{R314C}) (1). Обе мутации были идентифицированы (фигура 5A, B).

Обсуждение

В настоящем описании мы представляем новый подход к генерации библиотеки для направленного РНК-секвенирования следующего поколения с использованием smMIP и показываем, что данная методика дает воспроизводимую и биологически релевантную информацию, которая является качественно сопоставимой с РНК-секвенированием полного транскриптома. В частности, для оценки относительного вклада в рак метаболических путей, которые являются восприимчивыми к эпигенетической регуляции и регуляции на основе факторов транскрипции, секвенирование ДНК не всегда может дать соответствующую информацию. Используя изогенную пару клеточных линий, различающихся только по экспрессии VHL, в качестве тестового примера, в настоящем описании мы показываем, что направленное РНК-секвенирование транскриптов, участвующих в метаболизме, с помощью нашей панели smMIP, дает соответствующую информацию о метаболических путях с относительной избыточностью, которая является аналогичной таковой для РНК-секвенирования полного транскриптома.

Хотя генерация библиотек smMIP для направленного РНК-секвенирования, очевидно, дает только часть данных по сравнению с РНК-секвенированием полного транскриптома, она обладает явными преимуществами: 1) затраты на методику составляют приблизительно 5–10% от стоимости РНК-секвенирования полного транскриптома; 2) в результате конструирования smMIP с зондами лигирования и удлинения, локализованными на соседних экзонах, ожидается, что библиотека не будет загрязнена гетероядерной РНК, транспортной РНК и рибосомной РНК, которые могут составлять большое количество прочтений в РНК-секвенировании полного транскриптома, в зависимости от предварительной обработки; 3) выбор целевых последовательностей удлинения и лигирования позволяет создавать smMIP, которые специфично обнаруживают варианты сплайсинга; 4) методика позволяет обнаруживать SNV и вставки-делеции с высокой эффективностью после выбора smMIP для покрытия мутированной области; 5) покрытие одной целевой последовательности транскрипта, представляющего интерес, выше, чем при РНК-

секвенировании полного транскриптома; 6) наборы smMIP могут быть дополнены новыми представляющими интерес smMIP без снижения производительности; 7) наборы данных намного меньше и проще в обработке.

Методика была проверена с использованием изогенной пары клеточных линий ccRCC, отличающихся только по экспрессии VHL. Наш направленный анализ smMIP показал, что, как и ожидалось, уровни экспрессии генов-мишеней HIF HK-2, CA9, CA12 и LDH-A были снижены после восстановления VHL, известного регулятора протеолиза HIF. Это говорит о том, что восстановление функции VHL снижает приток глюкозы в гликолитический путь.

Поскольку измененная метаболическая активность при раке может являться следствием общего онкогенного стресса, а также мутаций в генах, кодирующих метаболические ферменты, и состояний, связанных с микроокружением (давление кислорода, доступ к метаболитам, происходящим из стромальных клеток (59)), метаболизм при раке находится в чрезвычайно сложном ландшафте (60). Тем не менее, нацеливание на специфичные для рака метаболические пути приобретает все большее значение в исследованиях рака. На протяжении десятилетий гликолиз считался преобладающим метаболическим путем при раке, но становится все более очевидным, что опухоли также могут развиваться, используя глутамин в качестве донора углерода и азота. Идентификация путей переработки топлива, которые представляют метаболическую ахиллесову пяту при раке, является важной для индивидуализированного применения ингибирования метаболизма. Подходы для определения метаболических путей при клиническом раке в настоящее время включают отслеживание углерода с применением масс-спектропии *ex vivo* (59, 61, 62) и магнитно-резонансной спектроскопической визуализации *in vivo* на основе ^1H -, ^{13}C -углерода или ^{31}P (40, 63), но эти подходы не являются подходящими для применения в повседневной помощи пациентам. Профилирование транскриптов на основе smMIP может представлять собой весьма уместную альтернативу с добавленной ценностью в области диагностики рака, поскольку оно может идентифицировать метаболическую ахиллесову пяту, одновременно измеряя разумные комбинации относительных уровней экспрессии генов и вариантов. В сочетании с наборами smMIP, которые детектируют действующие мутации в онкогенах или генах-супрессорах опухоли, персонализированные протоколы лечения могут быть дополнительно

оптимизированы путем включения ингибиторов наиболее преобладающих метаболических путей, таких как гликолиз (например, 3-бромпируват, дихлорацетат (64–66)), пентозофосфатный путь (например, 6-аминоникотинамид (33)), глутаминолиз (например, эпигаллокатехин-3-галлат (67, 68)), митохондриальное окислительное фосфорилирование (например, метформин (69–71)), окисление жирных кислот и синтез липидов (например, церуленин (72)).

Пример 2-глутаминолиз при раке предсказывает повышенную чувствительность к комбинации эпигаллокатехин-3-галлата (EGCG) и лучевой терапии по сравнению только с одной лучевой терапией.

Светлоклеточная карцинома почки (ccRCC) является относительно устойчивой к лучевой терапии и химиотерапии. Из-за дисфункционального белка фон Гиппеля-Линдау (VHL) эти опухоли накапливают индуцируемые гипоксией факторы HIF-1 α и HIF-2 α , что приводит к псевдогипоксическим реакциям, сопровождающим aberrантный метаболизм (49, 73). Это выражается в экспрессии набора переносчиков и ферментов, которые увеличивают поглощение глюкозы для использования в аэробном гликолизе и продуцирования лактата вместо окислительного фосфорилирования (73). Повышенное поглощение глюкозы и ее превращение в глюкозо-6-фосфат ферментами семейства гексокиназ приводит к увеличению потока через пентозофосфатный путь (PPP), обеспечивая клетку NADPH, наиболее важной формой восстановительной способности в клетках, и рибозо-5-фосфатом (R5P), предшественником синтеза нуклеотидов (33). В то время как в нормальных клетках окислительный метаболизм глюкозы дает митохондриальный цитрат в качестве основного источника углерода для биосинтеза липидов, этот путь блокируется в VHL-дефицитных клетках, которые перерабатывают пируват в направлении лактата вместо ацетил-КоА для питания цикла ТСА (74). Поэтому клетки с дефектом VHL используют глутамин в качестве метаболического пути «спасения». В течение глутаминолиза глутамин превращается в глутамат и α -KG посредством последовательной активности глутаминазы и глутаматдегидрогеназы. Впоследствии клетки используют восстановительное карбоксилирование α -кетоглутарата (α -KG) в цитоплазме с образованием изоцитрата (обратная реакция IDH1), который превращается в цитрат (аконитаза) и ацетил-КоА (АТФ-цитрат лиаза), которые вместе с NADPH перерабатываются в жирные кислоты (75). При VHL-мутированном раке высокий уровень

экспрессии ферментов пентозофосфатного пути (PPP) в сочетании с низким уровнем ферментов TCA коррелирует с плохой выживаемостью (76).

В ссRCC наблюдается дифференциальная экспрессия HIF-1 α и HIF-2 α , при этом опухоли экспрессируют либо оба подтипа, либо исключительно HIF-2 α . Часть эффектов HIF-1 α и HIF-2 α частично совпадают, но они также оказывают различное влияние на метаболизм клеток. HIF-1 α вызывает экспрессию гликолитического фермента (77) и ограничивает потребление митохондриального пирувата (78, 79), блокируя тем самым анаболический биосинтез по этому пути. Кроме того, HIF-1 α ингибирует прогрессирование клеточного цикла посредством ингибирования c-мус (80). Однако HIF-2 α не регулирует гликолиз и стимулирует прогрессирование клеточного цикла (81). Точные метаболические пути могут, следовательно, различаться между различными VHL-мутированными раками. Расшифровка метаболических путей раковых клеток, которые способствуют злокачественному поведению, имеет большое значение, так как они могут являться подходящими для нацеливания с целью подавления роста клеток и прогрессирования опухоли или индуцирования сенсibiliзирующих к окислительному стрессу клеток для радиотерапии или химиотерапии.

В настоящем описании мы исследовали метаболические пути в двух клеточных линиях ссRCC с нарушением VHL, SKRC-17 (экспрессирующих только HIF-2) и SKRC-7 (экспрессирующих HIF-1 и HIF2) (54, 58). Экспрессия метаболических ферментов была исследована с помощью секвенирования smMIP, и были идентифицированы источники углерода, которые являются необходимыми для пролиферации этих клеток. Результаты показывают, что клетки SKRC-7 используют глюкозу для продуцирования лактата (высокий уровень ферментов для глюкозы-в пируват-в лактат). Профили экспрессии генов SKRC-17 позволяют предположить, что клетки используют глюкозу главным образом для пентозофосфатного пути. Оба типа клеток имеют высокий уровень глутаминазы и глутаматдегидрогеназы, что свидетельствует о чувствительности к ингибитору глутаматдегидрогеназы EGCG. Высокие уровни PPP в SKRC17 предполагают дополнительную активность 6-аминоникотинамида (6-AN).

Материалы и методы

Культура клеток

SKRC-7, полученные из первичной RCC человека, и SKRC-17,

полученные из метастатического поражения мягких тканей человеческой RCC (82), несут нонсенс-мутацию в VHL (Q132X в SKRC-7 и S65X в SKRC-17) и, следовательно, не имеют функциональных pVHL. В SKRC-7 это приводит к высоким уровням HIF-1 α и HIF-2 α , тогда как в SKRC-17 присутствуют только высокие уровни HIF-2 α (54, 58). Если не указано иное, клетки культивировали в RPMI 1640 (Lonza Group, Швейцария) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FCS) (Gibco, Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, USA) и 40 мкг/мл гентамицина (Centrafarm, Эттен-Леур, Нидерланды).

Секвенирование smMIP

642 smMIP (IDT, Левен, Бельгия) были объединены в концентрации 100 мкМ/смMIP. Пул smMIP фосфорилировали с использованием полинуклеотидкиназы T4 (New England Biolabs, NEB, Ипсвич, штат Массачусетс, США) в ДНК-лигазном буфере T4 (NEB) при 37°C в течение 45 минут с последующей инактивацией в течение 20 минут при 65°C. Реакцию захвата проводили с 50 нг кДНК и предполагаемым 8000-кратным молярным избытком фосфорилированного пула smMIP (16) в 25 мкл реакционной смеси, содержащей амплигазный буфер (Epicenter, Madison, штат Висконсин, США), dNTP, фермент Немо KlenTaq (New England Biolabs, NEB, Ипсвич, штат Массачусетс, США) и термостабильную ДНК-лигазу (Ampligase, Epicenter). Смесь для захвата инкубировали в течение 10 минут при 95°C (денатурация) с последующей инкубацией в течение 18 часов при 60°C, в течение которых происходила гибридизация и сопутствующее удлинение и лигирование праймера. Непосредственно после этого этапа нециклизованные smMIP, РНК и кДНК удаляли посредством обработки 10 ед. экзонуклеазы I и 50 ед. экзонуклеазы III (обе производства NEB) в течение 45 минут при 37°C с последующей тепловой инактивацией (95°C, 2 мин). Циркуляризованную библиотеку smMIP подвергали стандартной ПЦР с использованием 2х мастер-микса с высокоточными ДНК-полимеразами iProof (Bio-Rad, Hercules, CA) с набором праймеров, содержащим уникальный обратный праймер с баркодом для каждого образца. Получение продуктов ПЦР правильного размера (266 п.н.) было подтверждено с помощью электрофореза в агарозном геле, и библиотеки ПЦР из разных образцов были объединены на основе относительной интенсивности полос. Затем пул очищали с использованием гранул AMPureXP (Beckman Coulter Genomics, High Wycombe, Великобритания) в соответствии с инструкциями

производителей. Очищенную библиотеку запускали на TapeStation 2200 (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США) и проводили количественное определение с помощью Qubit (Life Technologies, ThermoFisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) для оценки качества библиотеки.

Воспроизводимость методики была проверена путем подготовки биологических реплик библиотек с использованием различных препаратов РНК из одних и тех же клеточных линий.

Вестерн-блоттинг

Для того, чтобы проверить уровни транскриптов, наблюдаемые в данных секвенирования smMIP на уровне белков, были получены вестерн-блоты для некоторых интересных ферментов, являющихся активными в гликолизе (HK2, PKM2, GAPDH), глутаминолизе (GLUD) и обратном карбоксилировании (IDH1). Клетки культивировали в 6-луночных планшетах до 80% конфлюентности, затем клетки собирали и обрабатывали с получением лизатов клеток путем соскабливания в 100 мкл 10 mM Трис-HCl с pH 7,5 и 0,32 M сахарозы и обработки ультразвуком на льду (3 цикла по 30 сек с максимальной мощностью 30 с и 30 сек выключением, Bioruptor, Diagenod). Лизаты центрифугировали (14000 об/мин, 10 минут, 4°C) и супернатанты подвергали анализам BCA (Pierce, Thermo Fisher Scientific, Уолтхэм, штат Массачусетс, США) для измерения концентрации белка. 20 мкг тотального цитозольного белка подвергали SDS-PAGE и электроблоттингу на нитроцеллюлозной мембране (Whatman Optitran BA-S85, GE Health, Little Chalfont, Великобритания). После блокирования в блокирующем буфере Odyssey (LI-COR biosciences, Линкольн, штат Небраска, США) в PBS (1:1) мембрану инкубировали с мышинным анти-НА (1:500, Sc-7932, Санта-Круз, Даллас, Техас, США), анти-GLUD кролика (1: 400, GTX105765, GeneTex Inc, Сан-Антонио, Техас, США), анти-IDH1 кролика (1:1000, HPA035248, Sigma Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США), анти-GAPDH мыши (1:10000, ab8245, Abcam, Кэмбридж, США), анти-HK2 кролика (1:1000, 2867S, Cell Signaling Technology, Дэнверс, штат Массачусетс, США), анти-PKM2 кролика (1:1000, D78A4, Cell Signaling Technology, Дэнверс, штат Массачусетс, США) и анти-γ тубулин козы (1:5000, sc-7396, Santa Cruz, Даллас, штат Техас, США) в блокирующем буфере с последующей инкубацией с козьим антителом против мышинового DyLight800 (1:10000, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США), козьим антителом против кроличьего Alexa680 (1:10000, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс,

США) или ослиным антителом против козьего Alexa680 (1:10000, Invitrogen, Уолтем, Массачусетс, США) в блокирующем буфере. После промывки блоты анализировали на сканере Odyssey (LI-COR biotechnology, Линкольн, штат Небраска, США). Сигналы были скорректированы для γ -тубулина, и среднее значение для 3 независимых экспериментов было нанесено на график. Статистическую значимость определяли с помощью непарного критерия Стьюдента.

Анализы пролиферации клеток

Содержание клеточного белка определяли как меру пролиферации клеток с использованием анализов суфородамина В (SRB), как описано в (83). Чувствительность к EGCG определяли путем добавления концентраций растворителя EGCG в диапазоне 0–50 мкМ или DMSO через один день после посева 1000 клеток на лунку в 96-луночных планшетах (Nunc, Роскильде, Дания). Анализ SRB проводили через 3 дня, и значения IC₅₀ определяли в GraphPad Prism, используя сигмоидальную дозовую характеристику с нелинейным регрессионным анализом с переменным наклоном.

Кроме того, определяли пролиферацию клеток в течение 8 дней в присутствии или в отсутствие EGCG. Клетки высевали по 1000 клеток на лунку, и в день 1 и день 5 после посева среду заменяли на среду с/без 10 мкМ EGCG. Контроли инкубировали с DMSO. Содержание белка определяли каждые 2 дня. Эксперименты проводили в трех повторностях, и статистическую значимость определяли с применением одностороннего анализа ANOVA с поправкой Бонферрони.

Для того, чтобы определить чувствительность клеток недостаточности глутамин или глюкозы, обычную среду заменяли на обедненную D-глюкозой (0 г/л D-глюкозы и 4 г/л L-глутамин), на обедненную L-глутамином (1 г/л L-глутамин и 5 г/л D-глюкозы) или обычную среду RPMI, дополненную 10% FCS и антибиотиками с/без 10 мкМ EGCG через один день после посева клеток. Снова содержание белка определяли каждые 2 дня. Эксперименты проводили в трех повторностях, и статистическую значимость определяли с применением одностороннего анализа ANOVA с поправкой Бонферрони.

Клеточное и митохондриальное дыхание

Клетки выращивали до 80% конfluence в культуральных колбах, и после трипсинизации $1,5 \times 10^6$ клеток ресуспендировали в культуральной среде и переносили в термостатированную (37°C) камеру Oxygraph-2k, снабженную программным обеспечением для регистрации и анализа данных Datlab (Oroboros Instruments,

Инсбрук, Австрия). Измеряли основное дыхание и затем ингибировали оставшееся митохондриальное дыхание с помощью 2,5 мкМ комплекса V ингибитора олигомицина. Затем измеряли максимальное дыхание путем последовательного добавления 0,5 мкМ митохондриального разобщителя FCCP. Затем добавляли 0,5 мкМ ингибитора комплекса I ротенона и 2,5 мкМ ингибитора комплекса III антимицина А, чтобы полностью отключить цепь переноса электронов. Оставшееся потребление кислорода связано с немитохондриальным дыханием. Были проведены два отдельных эксперимента, и значимость определяли с помощью непарного критерия Стьюдента.

Радиотерапевтические эксперименты

Поскольку клетки SKRC-7 и SKRC-17 не могут расти как колонии, чувствительность к лучевой терапии анализировали путем мониторинга пролиферации клеток с помощью xCELLigence. Этот метод, как было показано, измеряет эффекты лучевой терапии, которые коррелируют с традиционными клоногенными анализами (84). Клетки высевали по 1000 клеток на лунку и оставляли прилипать в течение ночи. Затем клетки обрабатывали 10 мкМ EGCG в течение 24 часов, после чего их облучали 4 Гр (ИК, 3,1 Гр/мин; XRAD 320 ix, Precision XRT; Н. Брандфорд, Коннектикут, США). Клеточный индекс измеряли с момента посева в течение 200 часов в режиме реального времени с интервалами в 15 минут, каждые 72 часа добавляли свежую среду с добавлением 10 мкМ EGCG. Клеточный индекс был нормализован к моменту применения лучевой терапии, и рост клеток рассчитывали путем выполнения линейной регрессии в GraphPad Prism. Эксперимент проводили с двумя внутренними повторностями, и статистическую значимость определяли с помощью непарного критерия Стьюдента.

Результаты

Восстановление VHL вызывает дифференциальные изменения в метаболизме SKRC-7 и SKRC-17

SKRC7 и SKRC17 представлены с различными профилями экспрессии (фигура 6A). Уровни транскриптов PGK1 и PDK1 были в 3 раза ниже в SKRC17, чем в SKRC7, что указывает на относительно неэффективную переработку глюкозы в пируват в SKRC17. С другой стороны, в этой клеточной линии ферменты PPP (G6PD и RPIA) имели повышенную регуляцию по сравнению с SKRC7. Для того, чтобы проверить, отражается ли это различие в измененной чувствительности к ингибитору PPP 6-AN, мы проверили это

соединение в анализах пролиферации. Следует отметить, что в то время как клетки SKRC-7 неожиданно реагировали увеличением клеточной пролиферации, клетки SKRC-17 реагировали значимым снижением пролиферации клеток. Высокие уровни глутамин- и глутамат-перерабатывающих ферментов предполагают чувствительность к ингибитору GLUT1 EGCG. Комбинация EGCG и 6-AN была способна полностью блокировать рост клеток (фигура 6B).

Пример 3-секвенирование на основе smMIP позволяет различать варианты сплайсинга

Клеточная линия меланомы Mel57 экспрессирует низкие уровни фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A). VEGF-A состоит из различных вариантов сплайсинга, состоящих из экзонов 1-5,8 (VEGF-A121), экзонов 1-5,7,8 (VEGF-165) и экзонов 1-8 (VEGF-189). Эти варианты обладают различной активностью, от расширения сосудов до полного неоангиогенеза (85). Мы разработали smMIP165, который имеет свои зонды лигирования и удлинения в экзонах 5 и 7, smMIP121, который имеет свои зонды лигирования и удлинения в экзонах 5 и 8, и smMIP189, который имеет свои зонды лигирования и удлинения в экзонах 5 и 6. Мы выполнили анализ smMIP с помощью панели, включавшей smMIP121, smMIP165, smMIP189 и 5 smMIPs, расположенных в экзонах 1-5, распознающей все изоформы VEGF на РНК, выделенной из клеточной линии Mel57 и из клеточных линий, экспрессирующих различные изоформы VEGF, как описано в (85). На фигуре 7 и в прилагаемой таблице показано, что разные изоформы smMIP специфично распознают варианты сплайсинга.

Раковые клетки могут вызывать изменения в событиях сплайсинга РНК, если они дают клеткам преимущество в росте. Эти изменения могут являться неотъемлемой характеристикой рака, но также могут быть отобраны под давлением лечения. Примером является вариант III EGFR, который является результатом внутригенной делеции в гене EGFR, что приводит к потере экзонов 2-7 в зрелом транскрипте. В то время как 50% глиобластом характеризуются амплификацией онкогена EGFR, в 50% этой популяции обнаружена экспрессия EGFRvIII. При размещении зондов удлинения и лигирования отдельного smMIP в экзонах 1 и 8, соответственно, обнаруживается только продукт слияния экзона 1-8, поскольку последовательность из 40 нуклеотидов физически не способна соединять экзоны 2-7 в транскрипте дикого типа (фигура 9 показывает, что в группе глиом наблюдается повышенная экспрессия EGFR в 39 из 75 опухолей головного мозга (52%; среднее значение

FPM составляло 738 у положительных опухолей по сравнению со средним FPM, равным 35, у отрицательных опухолей, при использовании произвольного порогового значения FPM, равного 100) и экспрессия EGFRvIII в 12 из 75 опухолей головного мозга (16%; среднее значение FPM составляло 642 у положительных опухолей по сравнению со средним FPM, равным 0,27, у отрицательных опухолей, при использовании произвольного порогового значения FPM, равного 6). Таким образом, обнаружение EGFRvIII на основе smMIP является высокоспецифичным и высокочувствительным,

Другим примером является андрогенный рецептор при раке предстательной железы. Пациентов с кастрационно-устойчивым раком предстательной железы лечат энзалутамидом. Однако изменение сплайсинга, которое приводит к потере экзона 7 (ARv7), приводит к устойчивости к энзалутамиду. При разработке smMIP с плечами зонда удлинения и лигирования в экзонах 6 и 8, соответственно, Arv7 легко обнаруживается в клеточных линиях, происходящих из устойчивых к энзалутамиду раков, в то время как он не обнаруживается при любом другом типе рака (FPM=277 и 640 в VCAP и линии рака простаты DuCAP, соответственно, против среднего значения FPM=0,01 в 130 случаях другого рака).

Пример 4-направленное секвенирование на основе smMIP можно использовать для постановки точного диагноза

Образец ткани опухоли головного мозга, полученный от пациента N16-10, который подписал информированное согласие на исследование, был подвергнут быстрой заморозке непосредственно после операции. РНК выделяли из ткани по протоколу Trizol с последующим синтезом кДНК и приготовлением библиотеки smMIP. После секвенирования следующего поколения на платформе Illumina была идентифицирована мутация в гене IDH1, которая соответствует мутации горячей точки IDH1R132H. Тот же анализ выявил низкие уровни карбоангидразы 9 и гексокиназы 2, что указывает на отсутствие гипоксических реакций. Кроме того, образец демонстрирует низкое соотношение глутаминаза/глутаматдегидрогеназа, что свидетельствует о том, что опухоль использовала глутамат для метаболизма, и, следовательно, указывает на чувствительность к ингибиторам глутаматдегидрогеназы, таким как EGCG и хлорохин. Кроме того, данные показывают высокие уровни экспрессии TrkB и, в меньшей степени, PDGFR α . Отсутствие гипоксии позволяет предположить, что

опухоль не относится к классу IV, определенному в рекомендациях Всемирной организации здравоохранения. Наличие высоких уровней тирозинкиназ свидетельствует об астроцитоме, и на основании этих данных был поставлен диагноз мутировавшей в отношении IDH1 астроцитомы III степени в соответствии с первоначальным диагнозом, установленным по гистопатологии.

Пример 5–направленное секвенирование на основе smMIP можно применять для постановки точного диагноза и прогноза

Данные примера 4 были дополнены 74 дополнительными образцами тканей опухоли головного мозга, полученными от пациентов, все из которых подписали информированное согласие на исследование. Образцы подвергали быстрой заморозке непосредственно после операции и обрабатывали аналогично тому, что было описано в примере 4. РНК выделяли из тканей по протоколу Trizol с последующим синтезом кДНК, приготовлением библиотек smMIP и ПЦР с баркодированием. После секвенирования следующего поколения на платформе Illumina файлы FASTQ были обработаны программным обеспечением SeqNext (JSI SequencePilot версии 4.2.2, сборка 502 [JSI Medical Systems, Эттенхайм, Германия]). Все прочтения были картированы на геном человека (версия hg19) и на добавленные вручную варианты транскриптов (например, EGFRvIII, Arv7, METd7/8, METd14). Таким образом, для каждого образца опухоли был сгенерирован список целевых уровней транскриптов и список всех обнаруженных мутаций/вариаций. Для всех 75 пациентов была полностью доступна документация последующего врачебного наблюдения.

На первом этапе мы провели неконтролируемую агломерационную кластеризацию подвергнутых логарифмическому преобразованию уровней экспрессии целевых генов, представляющих интерес. Агломерационную кластеризацию проводили в соответствии с методом Уорда путем расчета манхэттенского расстояния между отдельными профилями с использованием биоинформатических скриптов программного обеспечения R. Профили были переведены в тепловую карту, которая представлена на фигуре 10а. Как показано, компьютер генерирует две основные группы А и В, которые подразделяются на несколько подгрупп.

На следующем этапе были исследованы потенциальные ассоциации кластеров с общей выживаемостью путем включения в анализ данных о выживаемости пациентов (общая выживаемость, подсчитанная с момента первого диагноза) и генерации кривой

Каплана–Мейера. Результаты на фиг. 10b показывают, что сгенерированные компьютером группы имеют различную выживаемость с высокой значимостью (точный критерий Фишера; $p < 0,0001$). Это показывает, что для глиом данный анализ обладает высокой прогностической ценностью.

На третьем этапе анализировали связи между группами и мутациями путем включения в список всех обнаруженных мутаций в образце. Группы А и В отличались мутациями в генах изоцитратдегидрогеназы (IDH1R132 и IDH2R172) с высокой значимостью ($p < 10E-11$). На фиг. 10c показан пример обнаружения гетерозиготной IDH1R132H в одном из образцов, причем в этом случае 38% транскриптов происходят из мутантного аллеля, а 62% транскриптов происходят из аллеля дикого типа. Различие в частоте транскриптов обусловлено генетически нормальными стромальными клетками, имеющими только транскрипты IDH дикого типа.

На четвертом этапе мы выполнили анализ подгрупп для дальнейшего уточнения прогноза. Анализ пациентов с IDH дикого типа с очень низкой выживаемостью (OS < 12 месяцев) по сравнению с пациентами с IDH дикого типа с лучшим прогнозом (группа В на кривых Каплана–Мейера) в таком анализе подгрупп показал, что высокие уровни экспрессии карбоангидразы 12 ассоциированы с крайне плохим прогнозом ($p < 0,001$; точный критерий Фишера, фиг. 10d).

На пятом этапе мы ретроспективно проанализировали все данные в отношении молекулярной информации, которая была получена во время обычного ухода за пациентами. Все мутации, которые мы наблюдали на уровне РНК и на которые регулярно тестируют при лечении пациентов с глиомой, были подтверждены с помощью технологии секвенирования ДНК (таблица III).

Профили также показывают экспрессию в опухолях головного мозга генов, которые ассоциированы с другими видами рака. Примером является андрогенный рецептор, который часто экспрессируется на высоком уровне при раке предстательной железы, и простатический специфический мембранный белок (PSMA). Другие группы описали экспрессию этой мишени на кровеносных сосудах при злокачественных опухолях, включая глиому (87). В качестве дальнейшего исследования, мы проанализировали опухоли с высоким и низким уровнями транскриптов PSMA, используя иммуногистохимию. Результаты действительно выявили экспрессию

белка PSMA в кровеносных сосудах для кровеносных сосудов из опухолей с высоким уровнем транскрипта, но не в опухолях с низким уровнем транскрипта (см. три примера на фигуре 11).

Таблица III: Клинические характеристики. Диагноз, гистологический тип и процент опухолевых клеток были подтверждены квалифицированным патологом (ВК). Аннотации, отмеченные в этой таблице, используются в тепловой карте на фиг. 10а.

Аббревиатуры М, мужской; F, женский; IDH, изоцитратдегидрогеназа; WT, IDH-дикий тип.

*данные недоступны

| Номер образца | Пол | Возраст (на момент операции) | Гистологический тип | Мутация IDH | % опухолевых клеток |
|---------------|-----|------------------------------|---------------------|-------------|---------------------|
| 13-02 | М | 40 | астроцитома | IDH1-R132H | 70 |
| 13-03 | М | 58 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 70 |
| 13-04 | Ж | 62 | глиобластома | WT | 60 |
| 13-06 | М | 53 | Олигодендроглиома | IDH2-R172K | 60 |
| 13-08 | М | 67 | глиобластома | WT | 70 |
| 13-09 | Ж | 58 | глиобластома | WT | 70 |
| 13-10 | М | 45 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 65 |
| 13-11 | Ж | 67 | глиобластома | WT | 70 |
| 13-13 | М | 52 | глиобластома | IDH1-V178I | 70 |
| 13-14 | Ж | 64 | глиобластома | WT | 70 |
| 13-15 | Ж | 44 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 13-16 | М | 60 | глиобластома | WT | 70 |
| 13-17 | М | 45 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 13-18 | Ж | 49 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 14-01 | Ж | 52 | глиобластома | WT | 80 |
| 14-02 | М | 43 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 14-03 | Ж | 62 | глиобластома | WT | 70 |
| 14-04 | М | 72 | глиобластома | WT | 60 |
| 14-05 | М | 21 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 70 |
| 14-06 | М | 43 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |

| | | | | | |
|-------|---|----|-------------------|------------------|----|
| 14-07 | М | 65 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 14-08 | М | 50 | астроцитомы | IDH1-R132H | 50 |
| 14-09 | Ж | 43 | астроцитомы | IDH1-R132H | 60 |
| 14-10 | Ж | 45 | глиобластома | IDH1-R132H | 50 |
| 14-11 | М | 50 | глиобластома | WT | 60 |
| 14-12 | М | 59 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 15-01 | М | 66 | глиобластома | WT | 50 |
| 15-02 | Ж | 61 | глиобластома | WT | 70 |
| 15-03 | Ж | 76 | глиобластома | WT | 40 |
| 15-04 | Ж | 59 | глиобластома | WT | 40 |
| 15-05 | М | 31 | астроцитомы | IDH1-R132H | 70 |
| 15-06 | Ж | 49 | астроцитомы | IDH1-R132H/V178I | 70 |
| 15-07 | М | 63 | глиобластома | IDH1-V178I | 65 |
| 15-08 | М | 55 | астроцитомы | IDH1-R132H | 60 |
| 15-09 | М | 70 | глиобластома | WT | 70 |
| 15-10 | Ж | 68 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 70 |
| 15-12 | М | 46 | глиобластома | WT | 70 |
| 15-13 | Ж | 78 | глиобластома | WT | 80 |
| 15-14 | М | 79 | глиобластома | WT | 70 |
| 15-15 | Ж | 58 | глиобластома | WT | 70 |
| 15-16 | М | 25 | астроцитомы | IDH1-R132H/V178I | 50 |
| 15-17 | М | 68 | глиобластома | WT | 60 |
| 15-18 | Ж | 64 | глиобластома | WT | 70 |
| 16-01 | М | 61 | глиобластома | WT | 70 |
| 16-02 | М | 47 | глиобластома | WT | 70 |
| 16-03 | Ж | 46 | астроцитомы | IDH1-R132H | 25 |
| 16-04 | М | 59 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 60 |
| 16-05 | М | 51 | глиобластома | WT | 50 |
| 16-06 | Ж | * | астроцитомы | IDH1-R132H | 50 |
| 16-07 | М | 74 | глиобластома | IDH1-Y183C | 60 |
| 16-08 | Ж | 69 | глиобластома | WT | 50 |
| 16-09 | Ж | 49 | глиобластома | WT | 70 |

| | | | | | |
|-------|---|----|-------------------|----------------------|----|
| 16-10 | М | * | астроцитомы | IDH1-R132H | 60 |
| 16-11 | М | 67 | глиобластома | WT | 50 |
| 16-12 | М | 23 | астроцитомы | IDH1-R132H | 60 |
| 16-13 | М | 60 | глиобластома | WT | 70 |
| 16-14 | Ж | 60 | Олигодендроглиома | IDH2-R172M | 70 |
| 16-15 | Ж | 61 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 70 |
| 16-16 | М | 58 | глиобластома | IDH1-V178I | 40 |
| 16-17 | Ж | 18 | Олигодендроглиома | IDH2-R172K | 40 |
| 16-18 | * | 30 | Олигодендроглиома | IDH2-R172W | 70 |
| 16-19 | М | 48 | глиобластома | WT | 70 |
| 17-01 | М | 58 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 50 |
| 17-02 | М | 40 | астроцитомы | IDH1- R132H/V178I | 70 |
| 17-03 | Ж | 76 | глиобластома | WT | 65 |
| 17-04 | М | 42 | Олигодендроглиома | IDH1-R132H | 70 |
| 17-05 | М | 59 | астроцитомы | WT | 70 |
| 17-06 | М | 65 | глиобластома | WT | 70 |
| 17-07 | М | 63 | глиобластома | WT | 70 |

Пример 6–метаболизм при IDH–мутированной глиоме

Детальный анализ экспрессии метаболических генов показал, что в группе с высокой выживаемостью были экспрессированы низкие уровни импортеров глюкозы, карбоангидразы и гексокиназы 2, что указывает на отсутствие гипоксии. Кроме того, в этой группе наблюдался высокий уровень глутаматдегидрогеназы и аминотрансферазы аминокислотной кислоты (АВАТ), что позволяет предположить, что в этих опухолях используются нейротрансмиттеры (глутамат и ГАВА) для их катаболизма, что индуцирует чувствительность к ингибиторам глутаматдегидрогеназы и АВАТ (эпигаллокатехин-3-галлат, вигабатрин).

Пример 7–тирозинкиназы при глиоме

В группе IDH–мутированных глиом были обнаружены высокие уровни экспрессии TrkB (среднее значение FPM составляло 15833 в IDH с мутацией (IDHmut) против 4708 в IDH дикого типа (IDHwt), $p=2 \times 10^{-11}$), что указывает на чувствительность к ингибитору TrkB энтрактинибу. Экспрессия EGFR была выше в опухоли IDHwt (609 против 116 в раке с IDHwt против рака с IDHmut, $p=0,004$), тогда как EGFRvIII был экспрессирован исключительно в этой группе (201

против 0,16 в IDHwt против IDHmut, $p=0,0005$, см. также фигуру 9).

В группе рака с IDH дикого типа экспрессия EGFR/EGFRvIII наблюдалась в 52% образцов, тогда как тирозинкиназа MET наблюдалась в 9 из 75 опухолей головного мозга (12%). Интересно, что профили показали, что опухоли, которые экспрессировали относительно высокие уровни MET, имели низкий уровень EGFR, и наоборот (коэффициент корреляции $r=-0,95$). Еще одним интересным открытием было появление мутации в BRAF (BRAF-V600E) в одной глиоме. BRAF дикого типа является важнейшим медиатором сигналов, который обрабатывает сигналы от активированных мембранных тирозинкиназ (например, EGFR, MET) к ядру, вызывая тем самым пролиферацию клеток. BRAF-V600E представляет собой аутоактивную молекулу, которая сигнализирует ядру без входных сигналов от рецепторных тирозинкиназ неконтролируемым образом. Эта мутация BRAF возникает в 50% случаев рака меланомы и может быть ингибирована адресным лекарственным препаратом вемурафенибом. Глиома, содержащая эту мутацию, не экспрессировала ни MET, ни EGFR. Хотя это только отдельный случай, он предполагает чувствительность к вемурафенибу и нечувствительность к ингибиторам EGFR или MET.

Пример 7-профили тирозинкиназ предсказывают чувствительность и нечувствительность к направленной терапии *in vitro*.

Клеточная линия астроцитомы E98 несет аутоактивирующую мутацию в с-MET (22) и является высокочувствительной к мультиспецифичному ингибитору киназы VEGFR2/MET козантинибу (86) и к селективному ингибитору MET соединению А (88). Эта чувствительность отражается в снижении фосфорилирования MET на вестерн-блоте и снижении скорости пролиферации *in vitro* и замедлении развития опухоли *in vivo*.

Клеточная линия почечного рака SKRC17 экспрессирует аналогичные уровни MET, фосфорилирование которого эффективно ингибируется соединением А (фигура 12). Тем не менее, клетки SKRC17 не реагируют на соединение А пониженной скоростью пролиферации. Профилирование мембранных тирозинкиназ показывает, что в выбранной группе мембранных тирозинкиназ, которые измеряются в анализе, только MET экспрессируется E98, тогда как клетки SKRC17 экспрессируют дополнительное количество других ингибиторов тирозинкиназы, включая AXL, EGFR, FGFR. Эти

результаты предполагают, что направленное ингибирование одной рецепторной тирозинкиназы является эффективным только в отсутствие «спасательных» киназ, и что эффективное лечение рака требует сопутствующей блокады всех мембранных рецепторных тирозинкиназ в клетке.

Пример 8—профилирование РНК ВПЧ снижает количество ложноположительных результатов для популяции по сравнению со скринингом ВПЧ на основе ДНК

Нидерланды являются одной из первых стран, внедривших обнаружение вирусов папилломы человека высокого риска (hrHPV) в мазках из шейки матки в рамках программы скрининга среди всего населения, чтобы обеспечить раннее выявление и профилактическое лечение рака шейки матки. Риск инфицирования ВПЧ на протяжении жизни составляет 80%, и в группе участвующих женщин 8% будет иметь положительный результат в этом тесте. Заранее известно, что 90% этих женщин подвергается чрезмерному лечению, поскольку инфекция ВПЧ может исчезнуть спонтанно. Кроме того, секс с ВПЧ-положительным партнером приведет к положительному результату в чувствительных тестах на обнаружение ДНК ВПЧ на основе ПЦР, но это не означает, что вирус на самом деле инфицировал клетки эпителия шейки матки.

Для того, чтобы отличить загрязнение от фактической клеточной инфекции, мы разработали smMIP для обнаружения транскриптов hrHPV E2, E6 и E7, основываясь на имеющихся данных о том, что потеря экспрессии гена E2 связана с хромосомной интеграцией в инфицированных клетках и сверхэкспрессией онкопротеинов HPV-E6 и E7. С помощью всей панели smMIP зондов, дополненной hrHPV-детектирующими зондами smMIP, мы определяли профиль множества из 29 гинекологических тканей, от здоровых маточных иссечений до рака яичников, рака эндометрия и карцином шейки матки (фигура 13). Профиль образцов определяли без наличия информации о патологии. Экспрессия РНК HPV16 E6/E7 наблюдалась в 12 образцах. В ретроспективе, все они представляли собой плоскоклеточные карциномы шейки матки. На следующем этапе мы проанализировали все образцы с помощью теста ПЦР на ДНК ВПЧ. Все HPV16-положительные образцы были подтверждены на уровне ДНК, но 5 тканей, которые были отрицательными в тесте ВПЧ-РНК, были положительными в тесте ВПЧ-ДНК (стрелки). В ретроспективе, эти образцы состояли из двух здоровых маток и двух карцином эндометрия (которые, как известно, действительно не вызываются

ВПЧ). Эти данные ясно показывают, что скрининг ВПЧ-РНК способен снизить количество ложноположительных результатов скрининга ВПЧ-ДНК.

На втором этапе мы исследовали чувствительность тестирования на ВПЧ путем профилирования 1, 10, 100, 1000 и 10000 клеток Hela, полученных 490 лет назад от женщины с HPV-18-позитивной карциномой шейки матки. Профилирование только 1 клетки уже позволило обнаружить 69 уникальных прочтений HPV18, и это число увеличилось до 168, 1419, 36767 прочтений для 10, 100 и 1000 клеток, соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. van Lith SA, Navis AC, Lenting K, Verrijp K, Schepens JT, Hendriks WJ, et al. Identification of a novel inactivating mutation in Isocitrate Dehydrogenase 1 (IDH1-R314C) in a high grade astrocytoma. *Sci Rep.* 2016;6:30486.
2. Bardella C, Pollard PJ, Tomlinson I. SDH mutations in cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1807(11):1432-43.
3. Linehan WM, Rouault TA. Molecular pathways: Fumarate hydratase-deficient kidney cancer--targeting the Warburg effect in cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;19(13):3345-52.
4. Chuang JH, Chou MH, Tai MH, Lin TK, Liou CW, Chen T, et al. 2-Deoxyglucose treatment complements the cisplatin- or BH3-only mimetic-induced suppression of neuroblastoma cell growth. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(5):944-51.
5. Lis P, Dylag M, Niedzwiecka K, Ko YH, Pedersen PL, Goffeau A, et al. The HK2 Dependent "Warburg Effect" and Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in Cancer: Targets for Effective Therapy with 3-Bromopyruvate. *Molecules.* 2016;21(12).
6. Pedersen PL. 3-Bromopyruvate (3BP) a fast acting, promising, powerful, specific, and effective "small molecule" anti-cancer agent taken from labside to bedside: introduction to a special issue. *J Bioenerg Biomembr.* 2012;44(1):1-6.
7. Haghghat N, McCandless DW. Effect of 6-aminonicotinamide on metabolism of astrocytes and C6-glioma cells. *Metab Brain Dis.* 1997;12(1):29-45.
8. Song IS, Han J, Lee HK. Metformin as an anticancer drug: A Commentary on the metabolic determinants of cancer cell sensitivity to glucose limitation and biguanides. *J Diabetes Investig.* 2015;6(5):516-8.
9. Flavin R, Peluso S, Nguyen PL, Loda M. Fatty acid

synthase as a potential therapeutic target in cancer. *Future Oncol.* 2010;6(4):551-62.

10. Burchardt P, Rzezniczak J, Dudziak J, Dzumak A, Marchlewski T, Ganowicz-Kaatz T, et al. Evaluation of plasma PCSK9 concentrations, transcript of LDL receptor, as well as the total number of monocyte LDL receptors in acute coronary syndrome patients. *Cardiol J.* 2016;23(6):604-9.

11. Lord CJ, Ashworth A. Mechanisms of resistance to therapies targeting BRCA-mutant cancers. *Nat Med.* 2013;19(11):1381-8.

12. Hata AN, Niederst MJ, Archibald HL, Gomez-Caraballo M, Siddiqui FM, Mulvey HE, et al. Tumor cells can follow distinct evolutionary paths to become resistant to epidermal growth factor receptor inhibition. *Nat Med.* 2016;22(3):262-9.

13. Chong CR, Janne PA. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer. *Nat Med.* 2013;19(11):1389-400.

14. Bouwman P, Jonkers J. Molecular pathways: how can BRCA-mutated tumors become resistant to PARP inhibitors? *Clin Cancer Res.* 2014;20(3):540-7.

15. Hiatt JB, Pritchard CC, Salipante SJ, O'Roak BJ, Shendure J. Single molecule molecular inversion probes for targeted, high-accuracy detection of low-frequency variation. *Genome Res.* 2013;23(5):843-54.

16. Eijkelenboom A, Kamping EJ, Kastner-van Raaij AW, Hendriks-Cornelissen SJ, Neveling K, Kuiper RP, et al. Reliable Next-Generation Sequencing of Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue Using Single Molecule Tags. *J Mol Diagn.* 2016;18(6):851-63.

17. Tonjes M, Barbus S, Park YJ, Wang W, Schlotter M, Lindroth AM, et al. BCAT1 promotes cell proliferation through amino acid catabolism in gliomas carrying wild-type IDH1. *Nat Med.* 2013;19(7):901-8.

18. Boyle EA, O'Roak BJ, Martin BK, Kumar A, Shendure J. MIPgen: optimized modeling and design of molecular inversion probes for targeted resequencing. *Bioinformatics.* 2014;30(18):2670-2.

19. Luo J, Manning BD, Cantley LC. Targeting the PI3K-Akt pathway in human cancer: rationale and promise. *Cancer Cell.* 2003;4(4):257-62.

20. Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks. *Oncogene*. 2008;27(41):5527-41.
21. Yin Y, Shen WH. PTEN: a new guardian of the genome. *Oncogene*. 2008;27(41):5443-53.
22. Navis AC, van Lith SA, van Duijnhoven SM, de Pooter M, Yetkin-Arik B, Wesseling P, et al. Identification of a novel MET mutation in high-grade glioma resulting in an auto-active intracellular protein. *Acta Neuropathol*. 2015;130(1):131-44.
23. Soussi T, Wiman KG. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell*. 2007;12(4):303-12.
24. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*. 2002;2(2):103-12.
25. Boulton SJ. Cellular functions of the BRCA tumour-suppressor proteins. *Biochem Soc Trans*. 2006;34(Pt 5):633-45.
26. Burgess DJ. Chromosome instability: Tumorigenesis via satellite link. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(3):158.
27. Casaletto JB, McClatchey AI. Spatial regulation of receptor tyrosine kinases in development and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(6):387-400.
28. Rocca A, Farolfi A, Bravaccini S, Schirone A, Amadori D. Palbociclib (PD 0332991) : targeting the cell cycle machinery in breast cancer. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(3):407-20.
29. Payen VL, Porporato PE, Baselet B, Sonveaux P. Metabolic changes associated with tumor metastasis, part 1: tumor pH, glycolysis and the pentose phosphate pathway. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(7):1333-48.
30. Patra KC, Hay N. The pentose phosphate pathway and cancer. *Trends Biochem Sci*. 2014;39(8):347-54.
31. Acharya A, Das I, Chandhok D, Saha T. Redox regulation in cancer: a double-edged sword with therapeutic potential. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;3(1):23-34.
32. Hao J, Graham P, Chang L, Ni J, Wasinger V, Beretov J, et al. Proteomic identification of the lactate dehydrogenase A in a radioresistant prostate cancer xenograft mouse model for improving radiotherapy. *Oncotarget*. 2016.
33. Lucarelli G, Galleggiante V, Rutigliano M, Sanguedolce F, Cagiano S, Bufo P, et al. Metabolomic profile of glycolysis and the pentose phosphate pathway identifies the central role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in clear cell-renal cell

carcinoma. *Oncotarget*. 2015;6(15):13371-86.

34. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(2):85-95.

35. Yang C, Ko B, Hensley CT, Jiang L, Wasti AT, Kim J, et al. Glutamine oxidation maintains the TCA cycle and cell survival during impaired mitochondrial pyruvate transport. *Mol Cell*. 2014;56(3):414-24.

36. Shanware NP, Mullen AR, DeBerardinis RJ, Abraham RT. Glutamine: pleiotropic roles in tumor growth and stress resistance. *J Mol Med (Berl)*. 2011;89(3):229-36.

37. Wise DR, DeBerardinis RJ, Mancuso A, Sayed N, Zhang XY, Pfeiffer HK, et al. Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(48):18782-7.

38. Lunt SY, Vander Heiden MG. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2011;27:441-64.

39. Roodink I, van der Laak J, Kusters B, Wesseling P, Verrijp K, de Waal R, et al. Development of the tumor vascular bed in response to hypoxia-induced VEGF-A differs from that in tumors with constitutive VEGF-A expression. *Int J Cancer*. 2006;119(9):2054-62.

40. Hamans B, Navis AC, Wright A, Wesseling P, Heerschap A, Leenders W. Multivoxel (1)H MR spectroscopy is superior to contrast-enhanced MRI for response assessment after anti-angiogenic treatment of orthotopic human glioma xenografts and provides handles for metabolic targeting. *Neuro Oncol*. 2013;15(12):1615-24.

41. Altman BJ, Stine ZE, Dang CV. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2016.

42. Bensaad K, Favaro E, Lewis CA, Peck B, Lord S, Collins JM, et al. Fatty acid uptake and lipid storage induced by HIF-1 α contribute to cell growth and survival after hypoxia-reoxygenation. *Cell Rep*. 2014;9(1):349-65.

43. Saxena N, Maio N, Crooks DR, Ricketts CJ, Yang Y, Wei MH, et al. SDHB-Deficient Cancers: The Role of Mutations That Impair Iron Sulfur Cluster Delivery. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108(1).

44. Lussey-Lepoutre C, Hollinshead KE, Ludwig C, Menara M, Morin A, Castro-Vega LJ, et al. Loss of succinate dehydrogenase

activity results in dependency on pyruvate carboxylation for cellular anabolism. *Nat Commun.* 2015;6:8784.

45. Cancer Genome Atlas Research N, Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2016;374(2):135-45.

46. Kampjarvi K, Makinen N, Mehine M, Valipakka S, Uimari O, Pitkanen E, et al. MED12 mutations and FH inactivation are mutually exclusive in uterine leiomyomas. *Br J Cancer.* 2016;114(12):1405-11.

47. Molenaar RJ, Botman D, Smits MA, Hira VV, van Lith SA, Stap J, et al. Radioprotection of IDH1-Mutated Cancer Cells by the IDH1-Mutant Inhibitor AGI-5198. *Cancer Res.* 2015;75(22):4790-802.

48. van Lith SA, Navis AC, Verrijp K, Niclou SP, Bjerkvig R, Wesseling P, et al. Glutamate as chemotactic fuel for diffuse glioma cells: are they glutamate suckers? *Biochim Biophys Acta.* 2014;1846(1):66-74.

49. Kim WY, Kaelin WG. Role of VHL gene mutation in human cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(24):4991-5004.

50. Laukka T, Mariani CJ, Ihantola T, Cao JZ, Hokkanen J, Kaelin WG, Jr., et al. Fumarate and Succinate Regulate Expression of Hypoxia-inducible Genes via TET Enzymes. *J Biol Chem.* 2016;291(8):4256-65.

51. Losman JA, Kaelin WG, Jr. What a difference a hydroxyl makes: mutant IDH, (R)-2-hydroxyglutarate, and cancer. *Genes Dev.* 2013;27(8):836-52.

52. Robinson CM, Ohh M. The multifaceted von Hippel-Lindau tumour suppressor protein. *FEBS Lett.* 2014;588(16):2704-11.

53. Hakimi AA, Reznik E, Lee CH, Creighton CJ, Brannon AR, Luna A, et al. An Integrated Metabolic Atlas of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Cell.* 2016;29(1):104-16.

54. Grabmaier K, MC AdW, Verhaegh GW, Schalken JA, Oosterwijk E. Strict regulation of CAIX(G250/MN) by HIF-1alpha in clear cell renal cell carcinoma. *Oncogene.* 2004;23(33):5624-31.

55. Claes A, Schuurin J, Boots-Sprenger S, Hendriks-Cornelissen S, Dekkers M, van der Kogel AJ, et al. Phenotypic and genotypic characterization of orthotopic human glioma models and its relevance for the study of anti-glioma therapy. *Brain*

Pathol. 2008;18(3):423-33.

56. Navis AC, Niclou SP, Fack F, Stieber D, van Lith S, Verrijp K, et al. Increased mitochondrial activity in a novel IDH1-R132H mutant human oligodendroglioma xenograft model: in situ detection of 2-HG and alpha-KG. *Acta Neuropathol Commun.* 2013;1:18.

57. Trapnell C, Roberts A, Goff L, Pertea G, Kim D, Kelley DR, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. *Nat Protoc.* 2012;7(3):562-78.

58. Sjolund J, Johansson M, Manna S, Norin C, Pietras A, Beckman S, et al. Suppression of renal cell carcinoma growth by inhibition of Notch signaling in vitro and in vivo. *The Journal of clinical investigation.* 2008;118(1):217-28.

59. Tardito S, Oudin A, Ahmed SU, Fack F, Keunen O, Zheng L, et al. Glutamine synthetase activity fuels nucleotide biosynthesis and supports growth of glutamine-restricted glioblastoma. *Nat Cell Biol.* 2015;17(12):1556-68.

60. Martinez-Outschoorn UE, Peiris-Pages M, Pestell RG, Sotgia F, Lisanti MP. Cancer metabolism: a therapeutic perspective. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016.

61. Chaumeil MM, Radoul M, Najac C, Eriksson P, Viswanath P, Blough MD, et al. Hyperpolarized (13)C MR imaging detects no lactate production in mutant IDH1 gliomas: Implications for diagnosis and response monitoring. *Neuroimage Clin.* 2016;12:180-9.

62. Yizhak K, Chaneton B, Gottlieb E, Ruppin E. Modeling cancer metabolism on a genome scale. *Mol Syst Biol.* 2015;11(6):817.

63. Esmaeili M, Hamans BC, Navis AC, van Horssen R, Bathen TF, Gribbestad IS, et al. IDH1 R132H mutation generates a distinct phospholipid metabolite profile in glioma. *Cancer Res.* 2014;74(17):4898-907.

64. Ganapathy-Kanniappan S, Vali M, Kunjithapatham R, Buijs M, Syed LH, Rao PP, et al. 3-bromopyruvate: a new targeted antiglycolytic agent and a promise for cancer therapy. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010;11(5):510-7.

65. Ganapathy-Kanniappan S, Kunjithapatham R, Geschwind JF. Anticancer efficacy of the metabolic blocker 3-bromopyruvate: specific molecular targeting. *Anticancer Res.* 2013;33(1):13-20.

66. Kankotia S, Stacpoole PW. Dichloroacetate and cancer: new home for an orphan drug? *Biochim Biophys Acta*. 2014;1846(2):617-29.
67. Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*. 2011;82(12):1807-21.
68. Altman BJ, Stine ZE, Dang CV. From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(10):619-34.
69. Sosnicki S, Kapral M, Weglarz L. Molecular targets of metformin antitumor action. *Pharmacol Rep*. 2016;68(5):918-25.
70. Zhang HH, Guo XL. Combinational strategies of metformin and chemotherapy in cancers. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016;78(1):13-26.
71. Gong J, Kelekar G, Shen J, Shen J, Kaur S, Mita M. The expanding role of metformin in cancer: an update on antitumor mechanisms and clinical development. *Target Oncol*. 2016;11(4):447-67.
72. Thupari JN, Pinn ML, Kuhajda FP. Fatty acid synthase inhibition in human breast cancer cells leads to malonyl-CoA-induced inhibition of fatty acid oxidation and cytotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;285(2):217-23.
73. Baldewijns MM, van Vlodrop IJ, Vermeulen PB, Soetekouw PM, van Engeland M, de Bruine AP. VHL and HIF signalling in renal cell carcinogenesis. *J Pathol*. 2010;221(2):125-38.
74. Metallo CM, Gameiro PA, Bell EL, Mattaini KR, Yang J, Hiller K, et al. Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature*. 2012;481(7381):380-4.
75. Gameiro PA, Yang J, Metelo AM, Perez-Carro R, Baker R, Wang Z, et al. In vivo HIF-mediated reductive carboxylation is regulated by citrate levels and sensitizes VHL-deficient cells to glutamine deprivation. *Cell metabolism*. 2013;17(3):372-85.
76. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. *Nature*. 2013;499(7456):43-9.
77. Hu CJ, Wang LY, Chodosh LA, Keith B, Simon MC. Differential roles of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) and HIF-2alpha in hypoxic gene regulation. *Molecular and cellular biology*. 2003;23(24):9361-74.
78. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-

mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell metabolism*. 2006;3(3):177-85.

79. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L, Lim AL, Denko NC. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. *Cell metabolism*. 2006;3(3):187-97.

80. Koshiji M, Kageyama Y, Pete EA, Horikawa I, Barrett JC, Huang LE. HIF-1 α induces cell cycle arrest by functionally counteracting Myc. *EMBO J*. 2004;23(9):1949-56.

81. Gordan JD, Bertout JA, Hu CJ, Diehl JA, Simon MC. HIF-2 α promotes hypoxic cell proliferation by enhancing c-myc transcriptional activity. *Cancer Cell*. 2007;11(4):335-47.

82. Ebert T, Bander NH, Finstad CL, Ramsawak RD, Old LJ. Establishment and characterization of human renal cancer and normal kidney cell lines. *Cancer Res*. 1990;50(17):5531-6.

83. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*. 1990;82(13):1107-12.

84. Ibahim MJ, Crosbie JC, Paiva P, Yang Y, Zaitseva M, Rogers PA. An evaluation of novel real-time technology as a tool for measurement of radiobiological and radiation-induced bystander effects. *Radiation and environmental biophysics*. 2016;55(2):185-94.

85. Kusters B, de Waal R, Wesseling P, Verrijp K, Maass C, Heerschap A, et al. Differential effects of vascular endothelial growth factor isoforms in a mouse brain metastasis model of human melanoma. *Cancer Research*. 2003;63(17):5408-13.

86. Navis, A.C., Bourgonje, A., Wesseling, P., Wright, A., Hendriks, W., Verrijp, K., van der Laak, J.A., Heerschap, A., and Leenders, W.P. (2013). Effects of dual targeting of tumor cells and stroma in human glioblastoma xenografts with a tyrosine kinase inhibitor against c-MET and VEGFR2. *PLoS One* 8, e58262.

87. Nomura, N., Pastorino, S., Jiang, P., Lambert, G., Crawford, J.R., Gymnopoulos, M., Piccioni, D., Juarez, T., Pingle, S.C., Makale, M., et al. (2014). Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in primary gliomas and breast cancer brain metastases. *Cancer Cell Int* 14, 26.

88. Van den Heuvel, C., Navis, A.C., de Bitter, T., Amiri, H., Verrijp, K., Heerschap, A., Rex, K., Dussault, I., Caenepeel, S., Coxon, A., et al. (2017). Selective MET Kinase Inhibition in MET-Dependent Glioma Models Alters Gene Expression and Induces Tumor Plasticity. *Mol Cancer Res* 15, 1587-1597.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ для определения *in vitro* чувствительности и/или устойчивости субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения указанных заболевания или состояния, включающий:

- предоставление образца от субъекта,
- выполнение профилирования РНК на образце,

где наличие aberrантного уровня транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации является показателем чувствительности и/или устойчивости.

2. Способ по п. 1, где профилирование РНК выполняют путем мультиплексного секвенирования мРНК, направленного на несколько областей, представляющих интерес.

3. Способ по п. 1 или 2, где мультиплексное секвенирование мРНК выполняют с использованием молекулярных обратных зондов (MIP), предпочтительно содержащих детектируемый фрагмент, предпочтительно, уникальную последовательность идентификатора из случайных нуклеотидов (N), смежную с частью лигирования MIP или частью удлинения последовательности MIP (smMIP).

4. Способ по любому из пп. 1-3, где aberrантный уровень транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации связан с aberrацией в метаболическом пути, которая, в свою очередь, связана с чувствительностью и/или устойчивостью субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства.

5. Способ по любому из пп. 1-4, где заболевание или состояние представляет собой, по меньшей мере, одно заболевание или состояние, выбранное из группы, состоящей из рака, вирусной инфекции, бактериальной инфекции, аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где образец выбирают из группы, состоящей из ткани, опухолевой ткани, мочи, спермы, слюны, крови, плазмы крови, спинномозговой жидкости, тромбоцитов крови и/или экзосом, при этом, предпочтительно, выбирают из опухолевой ткани и тромбоцитов крови.

7. Способ по любому из пп. 4-6, где метаболический путь представляет собой путь переработки глюкозы, путь переработки глутамина и/или путь жирных кислот.

8. Способ по любому из пп. 1-7, где множество представляющих интерес областей находятся в пределах мРНК:

- генов переработки глюкозы: ABAT, ACACA, ACACB, ACLY, ACO2, ACSS2, ADPGK, ALDOA, ARHGAP26, ATG4A, ATP5A1, CBR1, CBS, CHKA, CKB, CPT1A, CYCS, EGLN1, ENO1, G6PC, GAD1, GCLC, GCLM, GFPT1, GLDC, GSS, HK1, HK2, HK3, GLY1, G6PD, RP-глюконолактоназа, PG TKT, PGI, ALDOA, GAPDH, PGAM1/2, ENO, PKM1/2, PDHA1, PDK1, PFKB1, PFKMb, PGAM1, PGD, PGK1, PKM, PRDX1, PRKAA1, RPIA, PC, CS, ACO1, IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B, IDH3G, OGDH, SUCLA2, SDHA/B/C/D, FH, MDH1, MDH2, PDK, LDHA, LDHB, SLC16A1, SLC16A3, CA9, CA12, SLC4A10, VHL, SDH, SDHAF2, HPG/HPL FH, CS, D-2HGDH, L-2HGDH, FH, IDH1-3A-G, MDH1-2, MYC, OGDH, SDHA-D, VHL, PHD, HIF1a, EPAS2 и/или PDCD1;

- генов переработки глутамина: SLC1A5, ASCT2, GLS, GLUD1/2, GOT, GPI, GS, BCAT1, BCAT2, SLC1A2 и/или SLC7A11;

- генов анаболизма жирных кислот: SLC25A1, ACLY, ACACA, ACACB, FASN, CPT1, SLC5A7, CHKA, CPT2, VLCAD, HADHA/B, SCAD, MCAD, LCAD, SCHAD, 2-еноил-CoA гидратаза и/или MCKAT;

- транспортерных генов: SLC16A1, SLC16A7, SLC2A1, SLC2A3, SLC5A1, SLC5A5, SLC7A1, SLC9A1 и/или SLC12A1;

- генов окислительно-восстановительного гомеостаза: NAMPT, NAPRT1, NOX1, NOX3, NOX4A, NQO1, SOD, SOD2, CAT, TAL, TIGAR и/или TRX;

- генов репарации ДНК: PARP1; MGMT, XRCC2, XRCC3, RAD54, H2AX, MSH2, MLH1, PMS2, MSH6.

- генов с потенциальным вовлечением в рак: ALK, AXL, BRAF, KRAS, TP53, MAPK8, MYC, TP53I3, FGFR1, FGFR2, IGF1-R, KDR, NTRK1, NTRK2, PDGFRA, PDGFRB, EGFR, EGFRvIII, ERB3, ERB ERBB4, MERTK, PLXND1, RET, андрогенный рецептор (AR), вариант AR 7, вариант 12 AR, FOLH1, KLK3, MET, METdelta14, METdelat7-8, KIT, RON и/или PTEN;

- генов, вовлеченных в ангиогенез: VEGF-A121, VEGF-A144, VEGF-A165 и/или VEGF-A189

- гены, вовлеченных в иммуносупрессию: CD274 и/или CTLA4; и/или,

- вирусных генов: HPV-E2, HPV/E6 и/или HPV-E7.

9. Способ по любому из пп. 1-8, где наличие aberrантного уровня транскрипта, альтернативного варианта сплайсинга и/или мутации также обеспечивает показание для лечения диетическими соединениями или фитохимическими веществами, необязательно, в

комбинации с лекарственным средством.

10. Способ лечения субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, включающий:

- запрос выполнения или выполнение способа по любому из пп. 1-8, посредством чего определяют чувствительность и/или устойчивость субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, и

- лечение заболевания или состояния субъекта лекарственным средством, к которому заболевание или состояние субъекта является чувствительным.

11. Лекарственное средство для применения в лечении субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, где:

- способ по любому из пп. 1-8 выполняют, или запрашивают его выполнение, посредством чего определяют чувствительность и/или устойчивость субъекта, страдающего заболеванием или состоянием или подверженного риску заболевания или состояния, в отношении лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, и

- субъекту, страдающему заболеванием или состоянием или подверженному риску заболевания или состояния, вводят лекарственное средство, к которому заболевание или состояние субъекта является чувствительным.

12. Способ по п. 10 или лекарственное средство для применения по п. 11, где заболевание или состояние представляет собой, по меньшей мере, одно заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака, предпочтительно, глиомы, менингиомы, эпендимомы, пилоцитарной астроцитомы, аденокарциномы, саркомы, гемангиомы, рака головы и шеи, рака молочной железы, рака легких, рака простаты, рака почки, рака яичников, рака эндометрия, рака шейки матки, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака поджелудочной железы, рака пищевода, рака базальных клеток, рака полового члена, рака вульвы, меланомы, увеальной меланомы, лимфомы, острой миелоидной лейкемии, острой лимфобластной лейкемии, холангиокарциномы, гепатоцеллюлярной карциномы, саркомы мягких тканей или остеосаркомы;

вирусной инфекции; бактериальной инфекции; аутоиммунного заболевания и генетического заболевания.

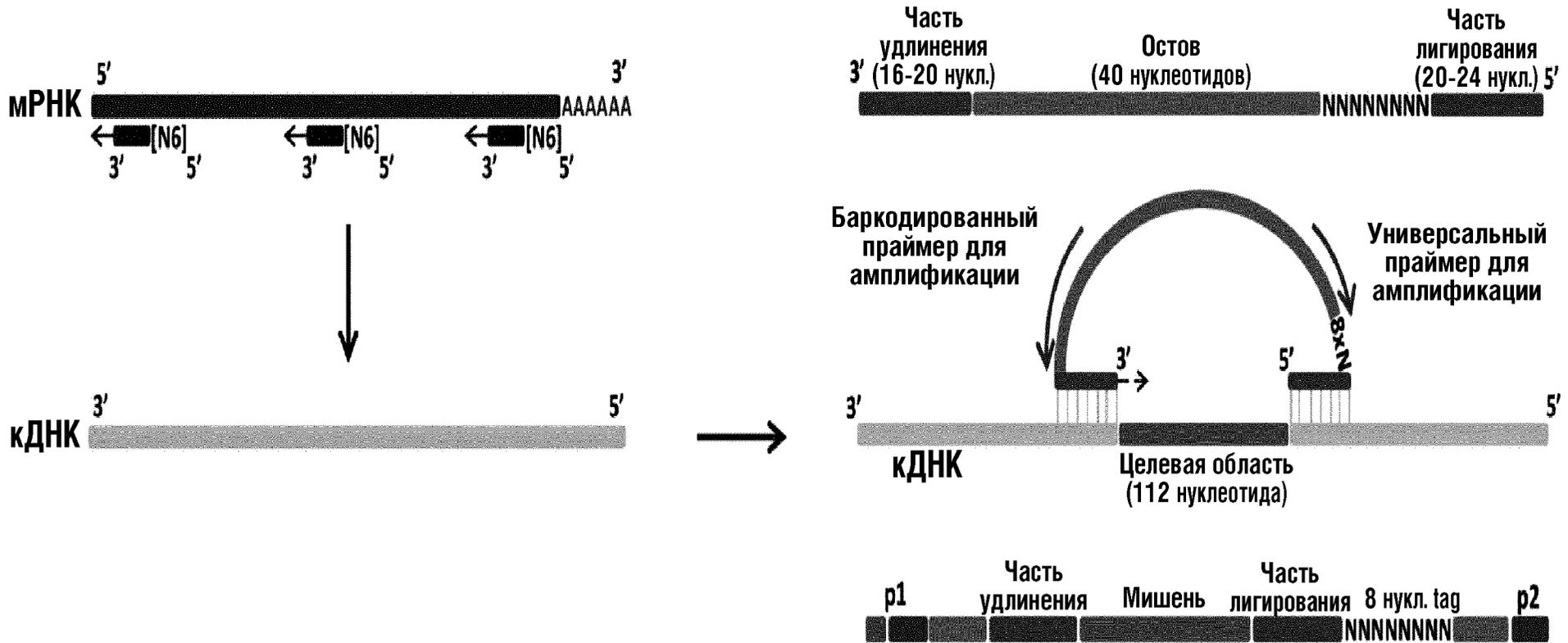
13. Способ по п. 10 или 12 или лекарственное средство для применения по п. 11 или 12, где лечение лекарственным средством дополняют лечением диетическими соединениями или фитохимическими веществами.

14. Обратный молекулярный зонд, выбранный из группы, изложенной в таблице II.

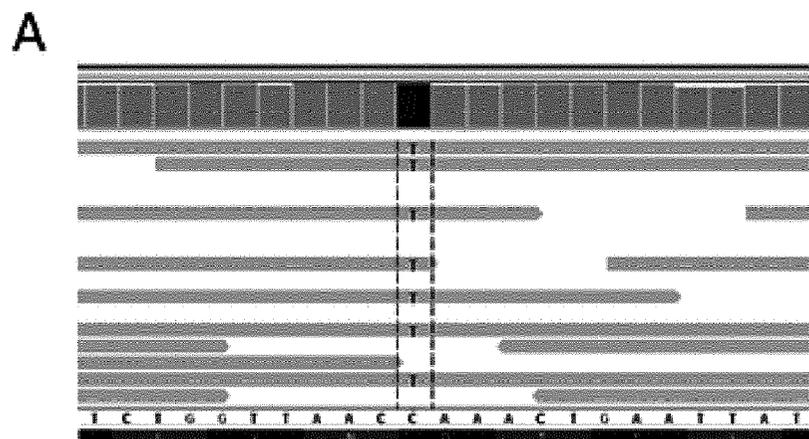
15. Библиотека кольцевых молекулярных обратных зондов, получаемых посредством способа по любому из пп. 1-9.

По доверенности

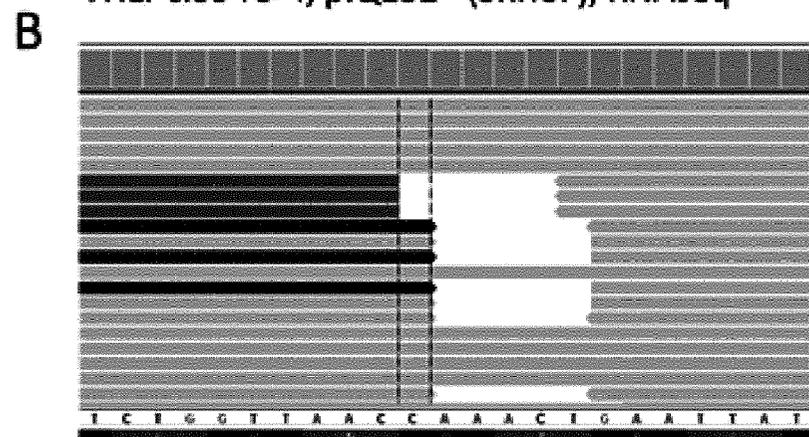
ФИГ.1



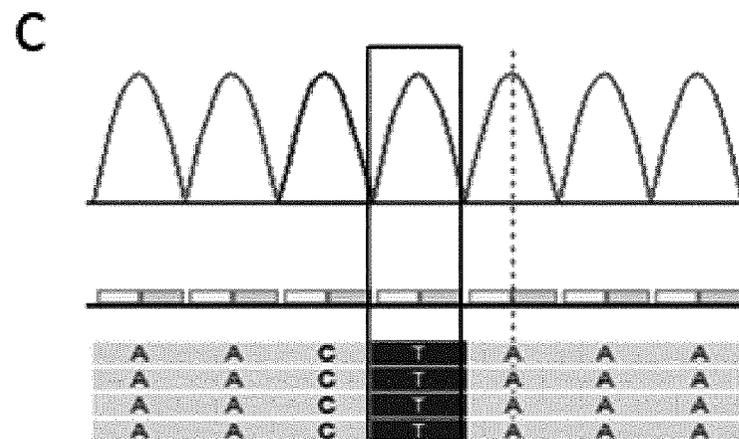
ФИГ.2



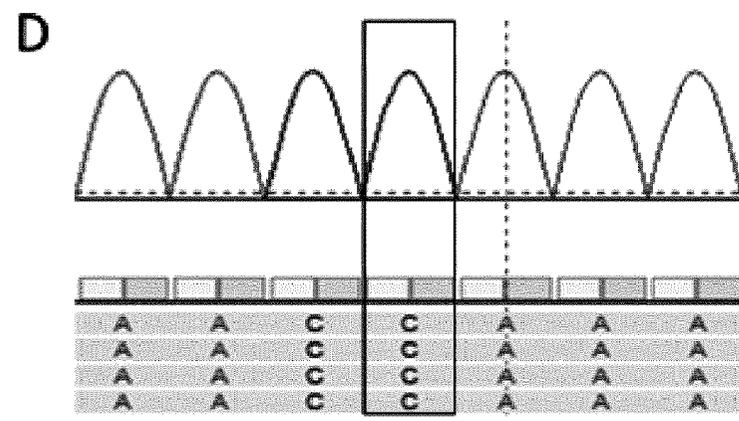
VHL: c.394C>T, p.Q132* (SKRC7), RNAseq



VHL: c.394C, wt (SKRC7+VHL), RNAseq

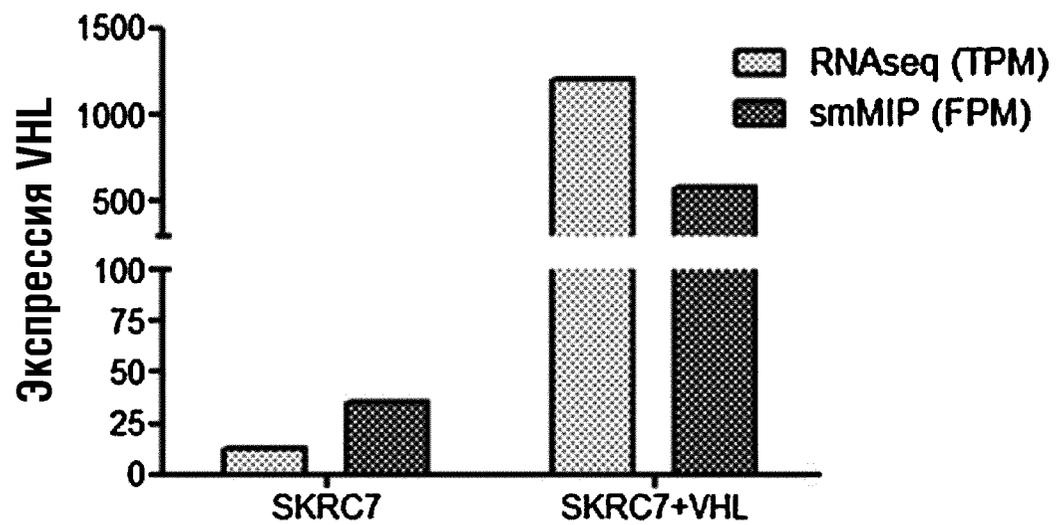


VHL: c.394C>T, p.Q132* (SKRC7), smMIP

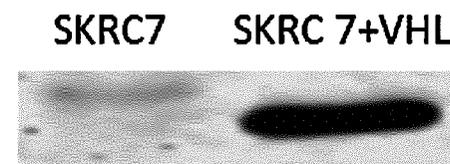


VHL: c.394C, wt (SKRC7+VHL), smMIP

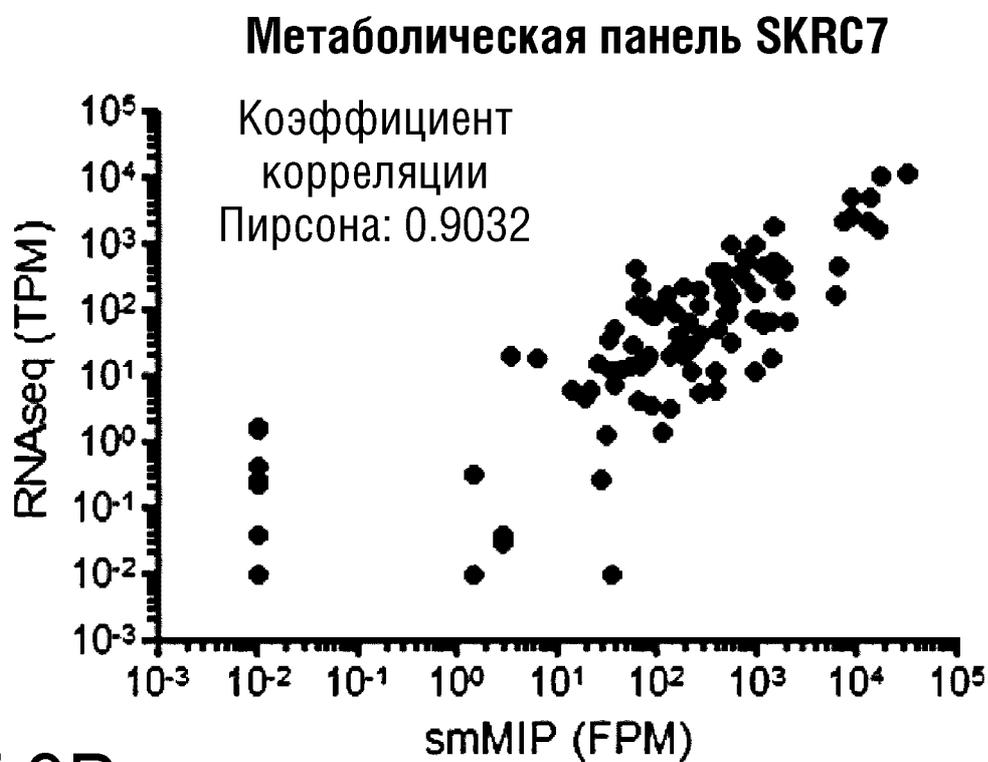
ФИГ.2Е



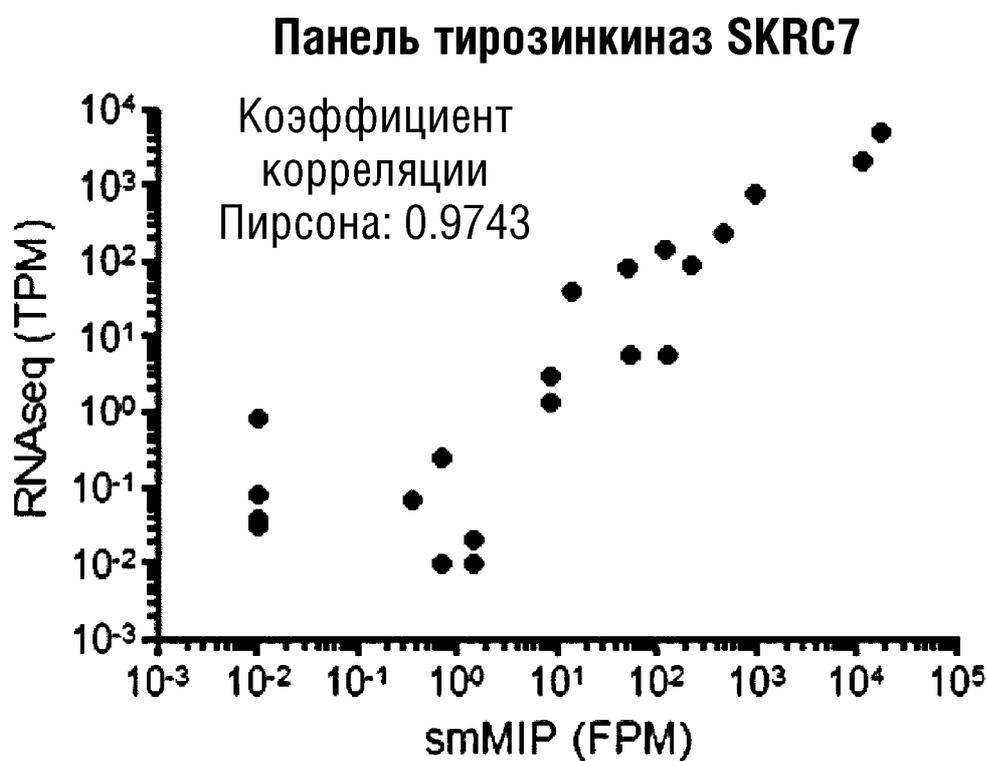
ФИГ.2F



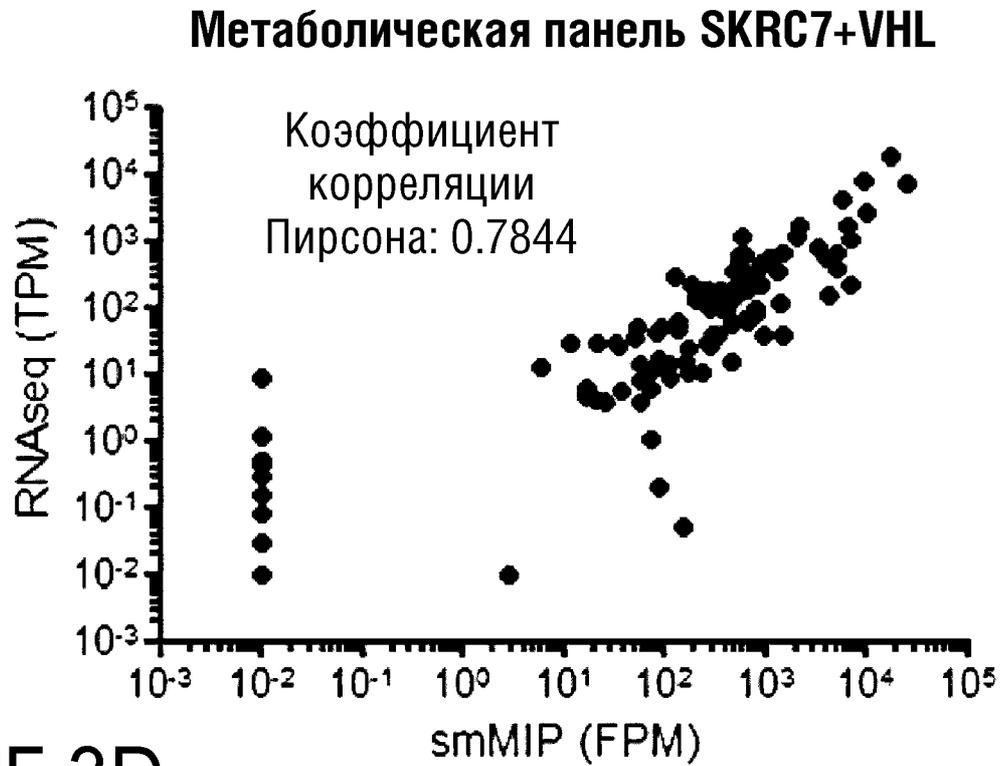
ФИГ.3А



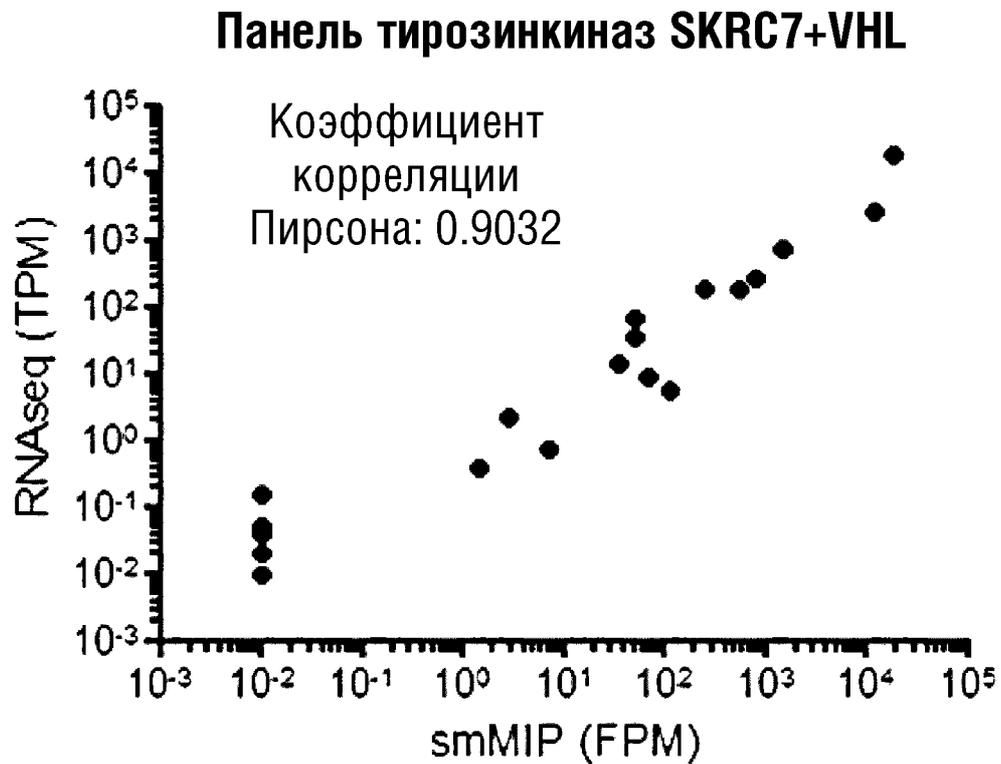
ФИГ.3В



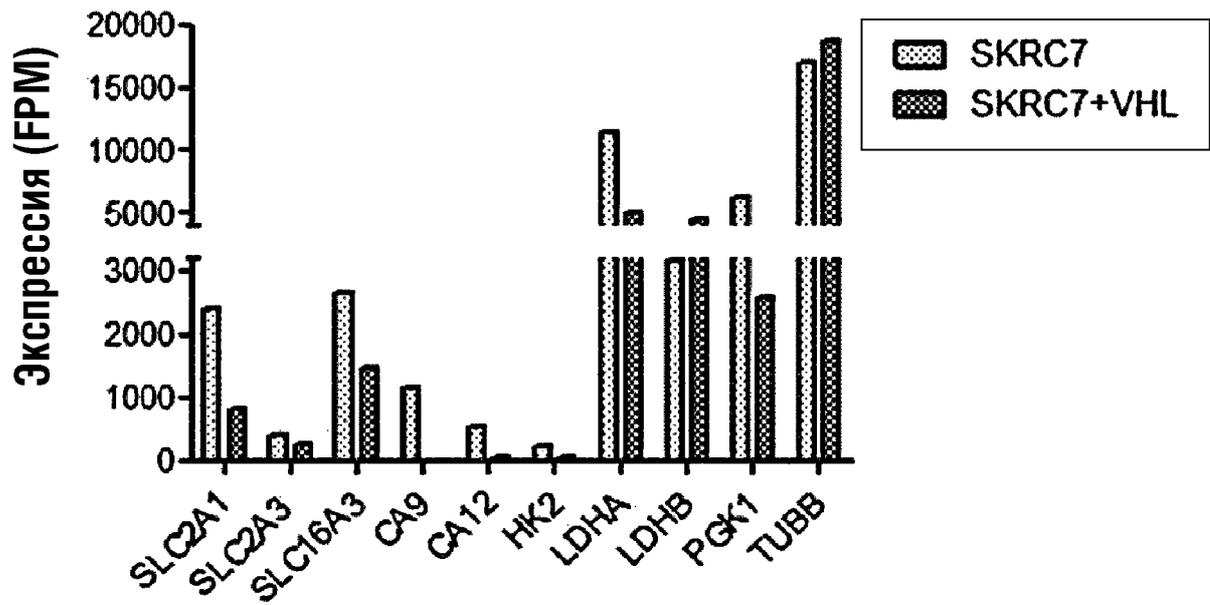
ФИГ.3С



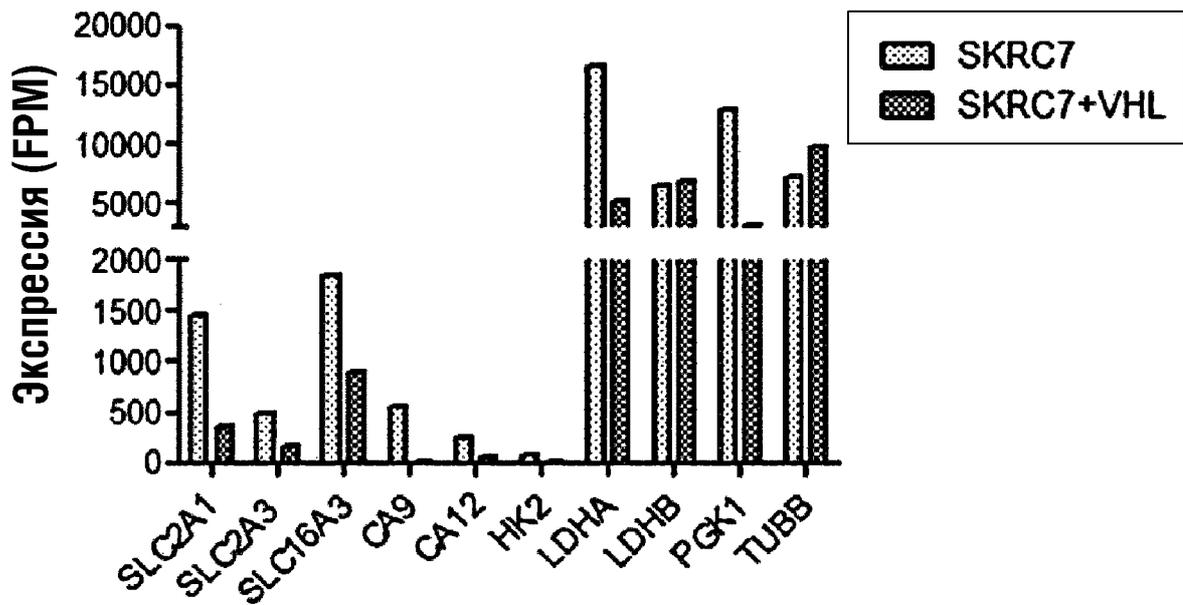
ФИГ.3D



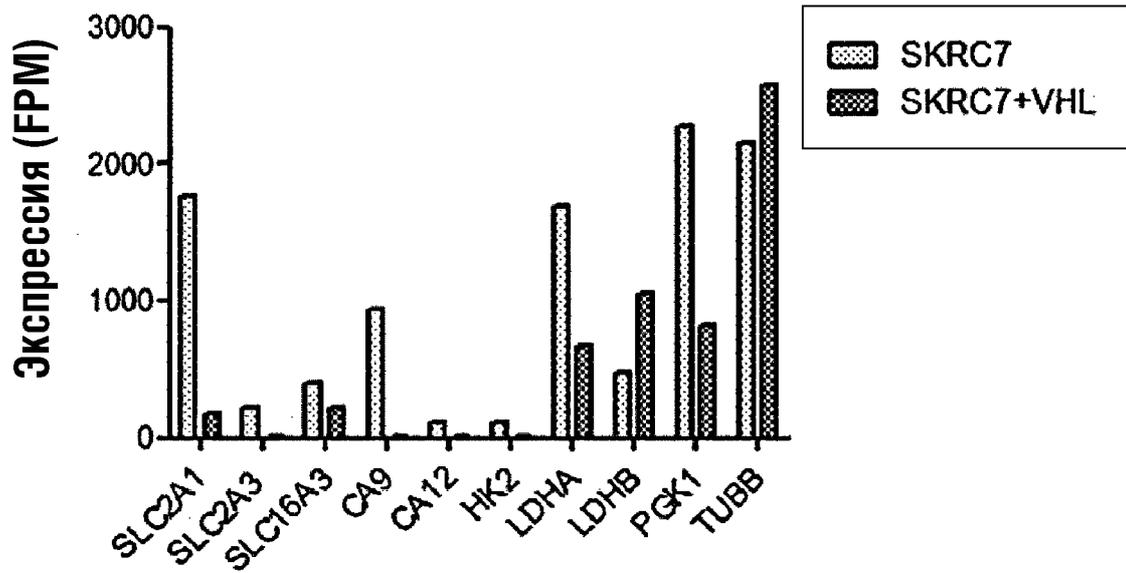
ФИГ.4А



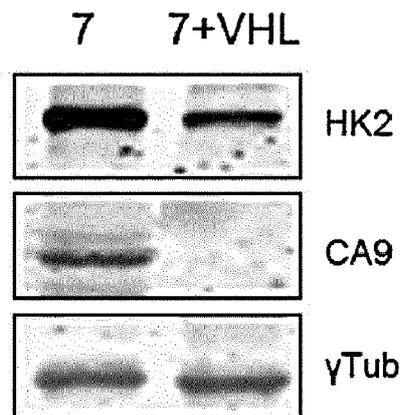
ФИГ.4В



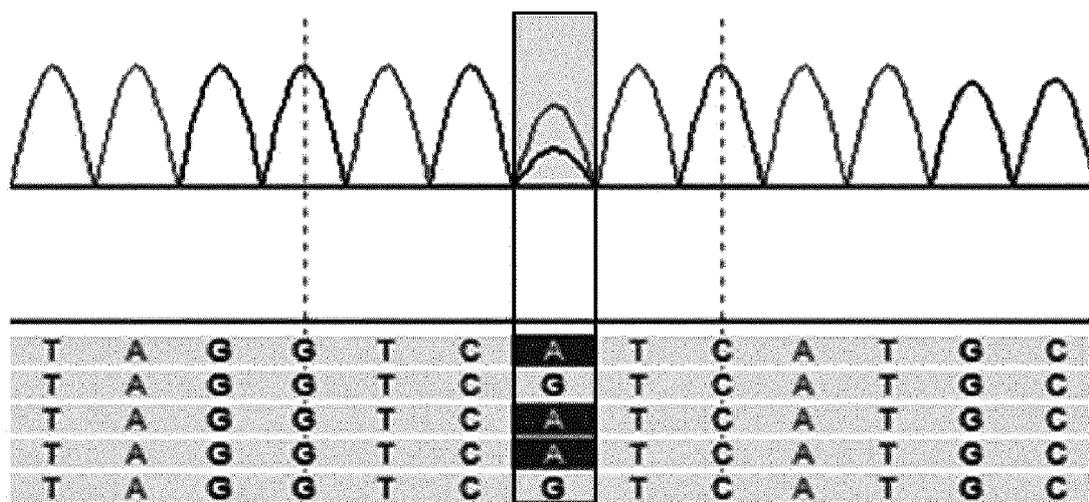
ФИГ.4С



ФИГ.4D

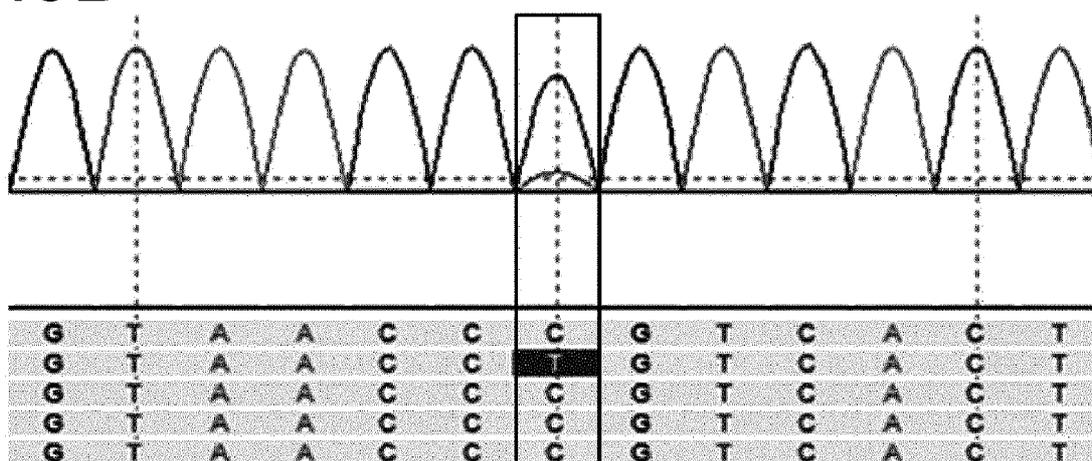


ФИГ.5А



IDH1: c.395G>A, p.R132H (E478)

ФИГ.5В



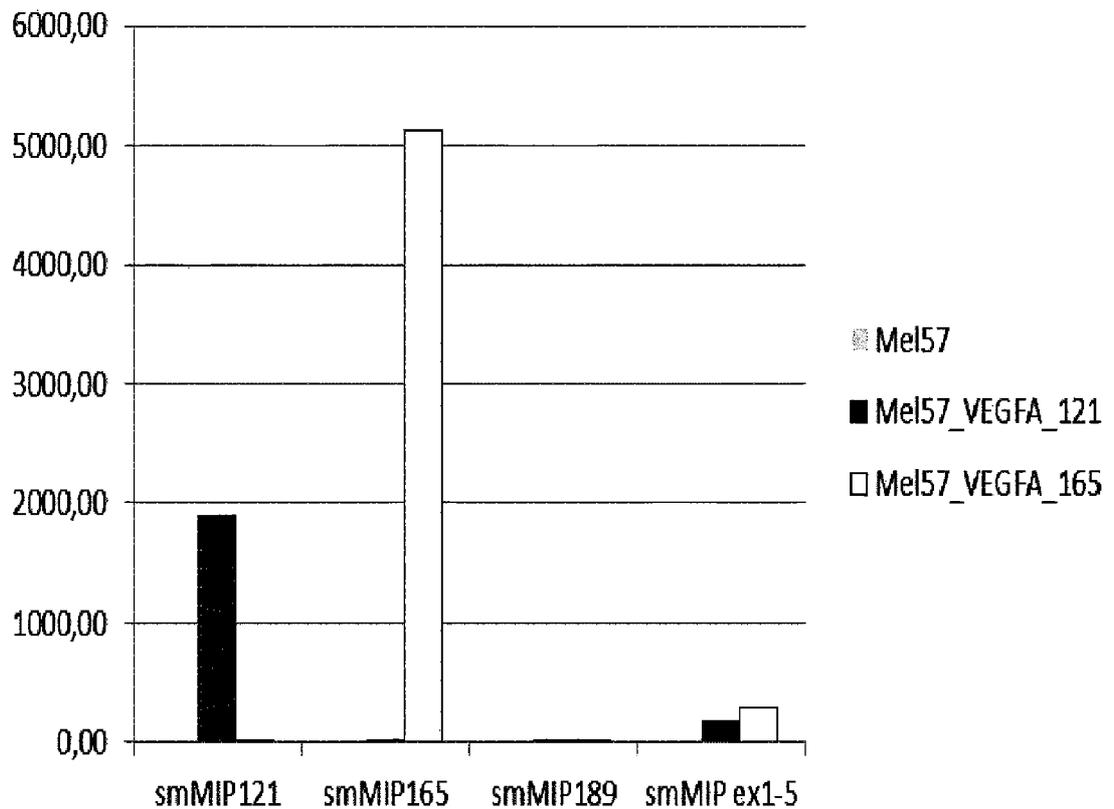
IDH1: c.940C>T, p.R314C (E98)

ФИГ.6

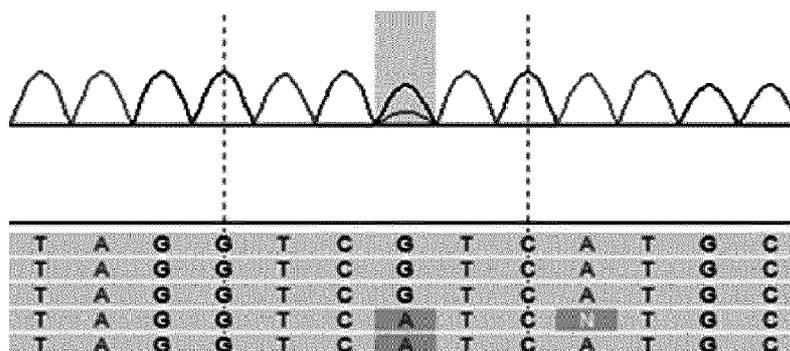
| | SKRC7 | SKRC17 |
|-------------------|----------|----------------|
| GLUT1 | 1452,48 | 1734,61 |
| GLUT3 | 496,96 | 22,96 |
| HK1 | 515 | 609 |
| HK2 | 76 | 30 |
| HK3 | 0 | 0 |
| G6PD | 945 | 1241 |
| RPIA | 219 | 713 |
| PFKM | 145 | 190 |
| ALDOA | 8763 | 8675 |
| GAPDH | 32431 | <u>22267</u> |
| PGK1 | 12865,39 | <u>4465,70</u> |
| PGAM1 | 1579,51 | 1381,33 |
| ENO | 17780,17 | 18192,66 |
| PKM | 8835,47 | 11811,74 |
| PDHA1 | 2018,54 | 1233,83 |
| PDK1 | 384,58 | 100,69 |
| LDHA | 16604,08 | 10499,08 |
| LDHB | 6496,04 | 4674,35 |
| CA9 | 545 | 1 |
| CA12 | 259 | 871 |
| SLC16A1 (MCT1) | 205,20 | 402,74 |
| SLC16A3 (MCT4) | 1844,04 | 1402,53 |
| GLS | 6234,99 | 4128,53 |
| GLUD1 | 500,21 | 878,79 |
| GLUD2 | 36,29 | 60,06 |
| ACLY | 1133,51 | 1677,64 |

ФИГ.7

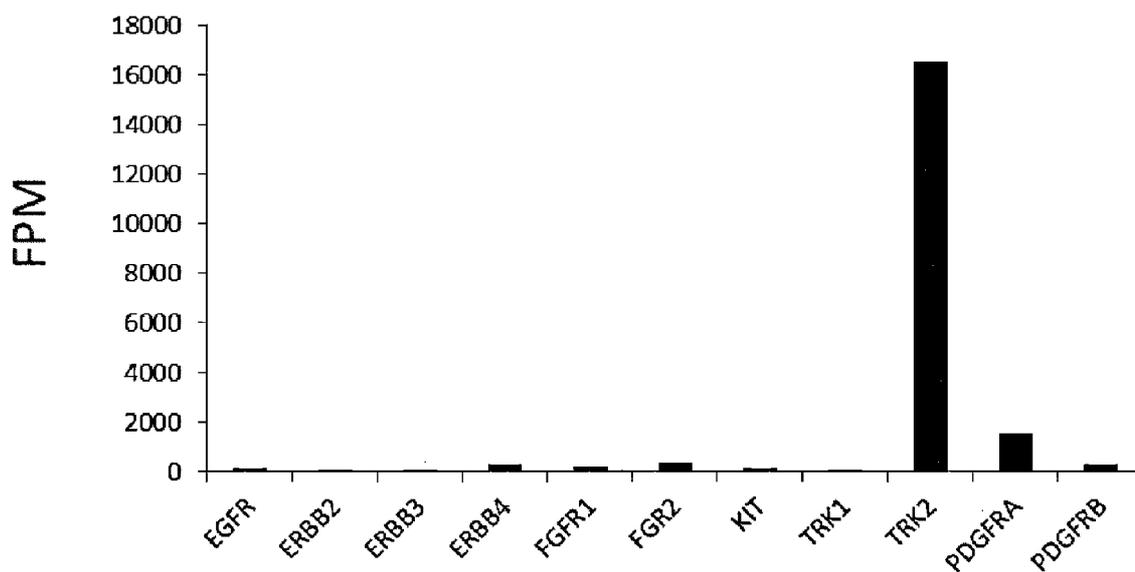
| | Mel57 | Mel57_VEGFA_121 | Mel57_VEGFA_165 |
|-------------|--------------|------------------------|------------------------|
| smMIP121 | 9,93 | 1898,20 | 28,98 |
| smMIP165 | 4,96 | 11,72 | 5126,94 |
| smMIP189 | 0,00 | 3,91 | 7,73 |
| smMIP ex1-5 | 4,25 | 175,76 | 298,74 |



ФИГ.8



IDH1: c.395G>A, p.R132H (N16-10)



ФИГ.9

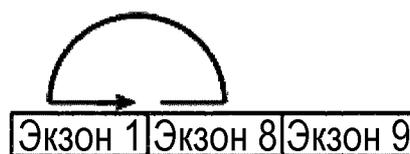
EGFR^{wt}



среднее значение для положительных

| | |
|----------------------|-----|
| EGFR | 738 |
| EGFR ^{vIII} | 642 |

EGFR-vIII



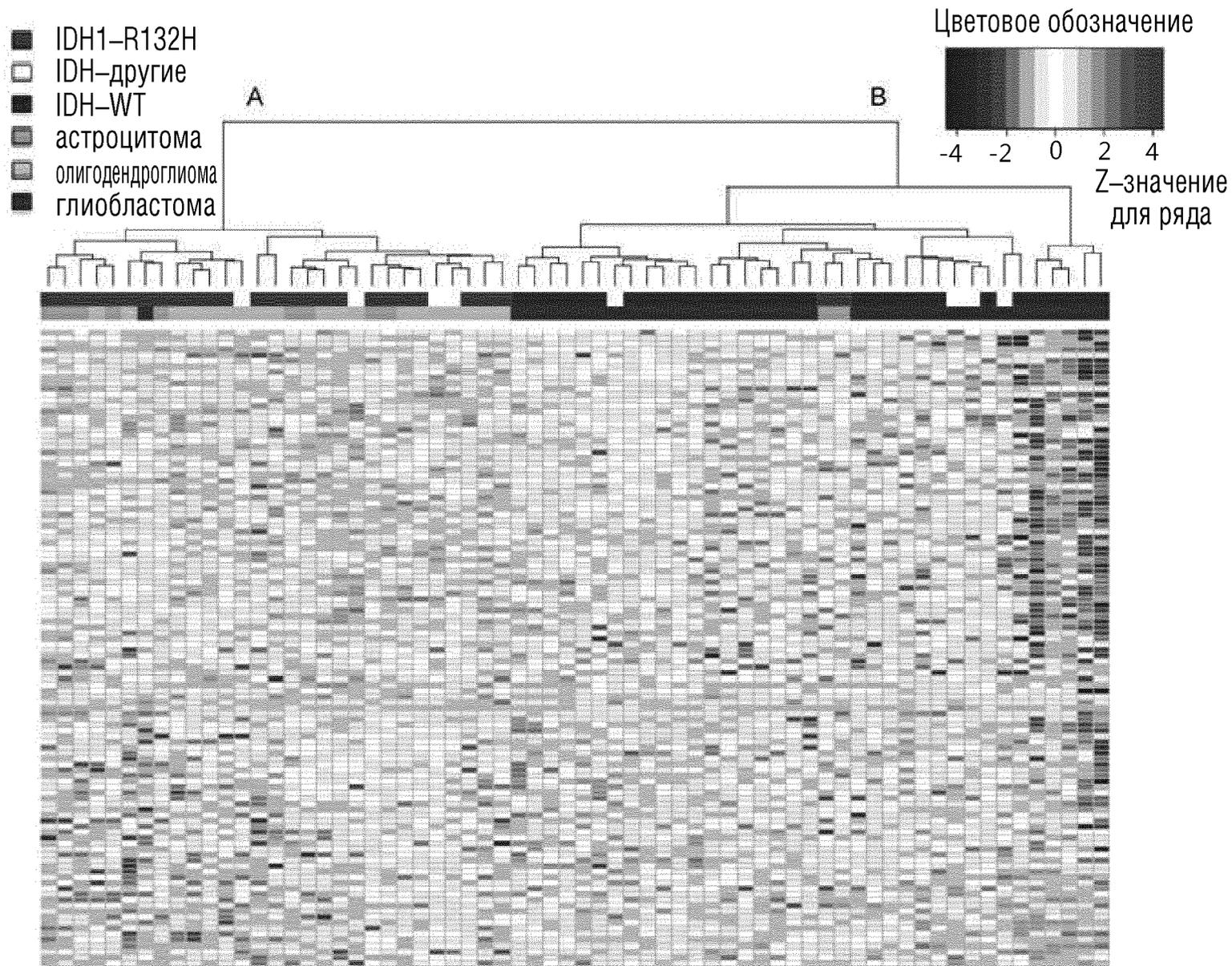
среднее значение для отрицательных

| | |
|----------------------|------|
| EGFR | 35 |
| EGFR ^{vIII} | 0.27 |

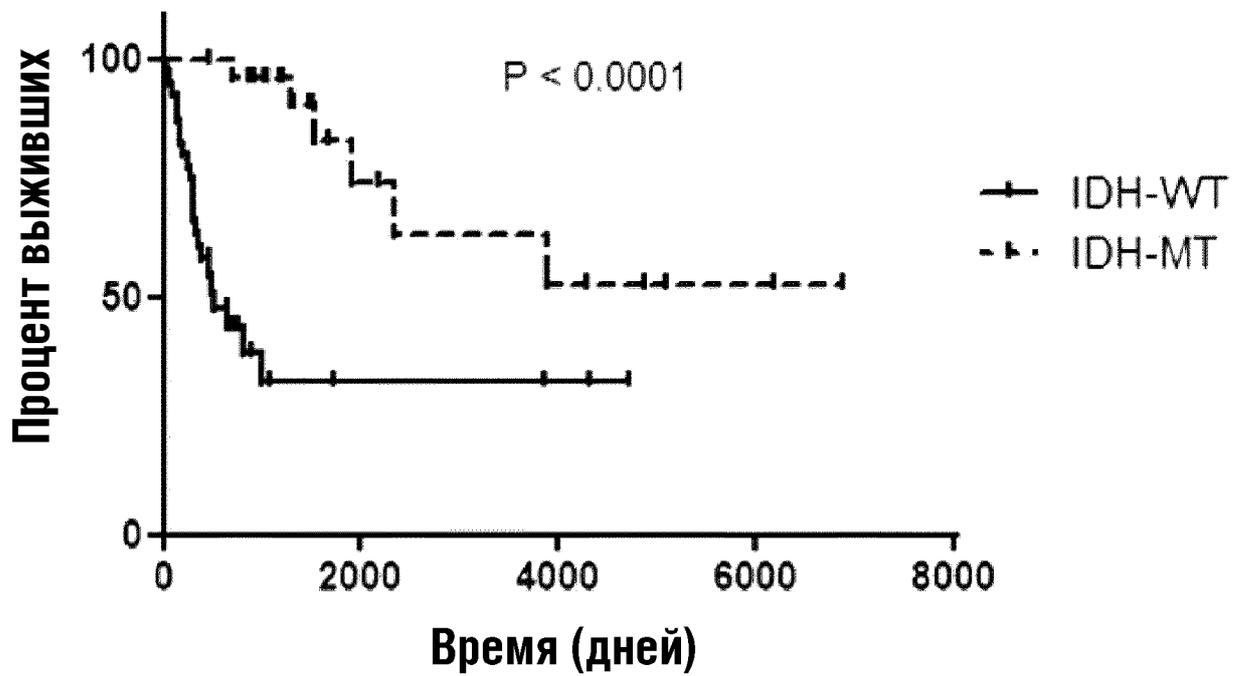
р-значение

| | |
|----------------------|-------|
| EGFR | 0.005 |
| EGFR ^{vIII} | 0.006 |

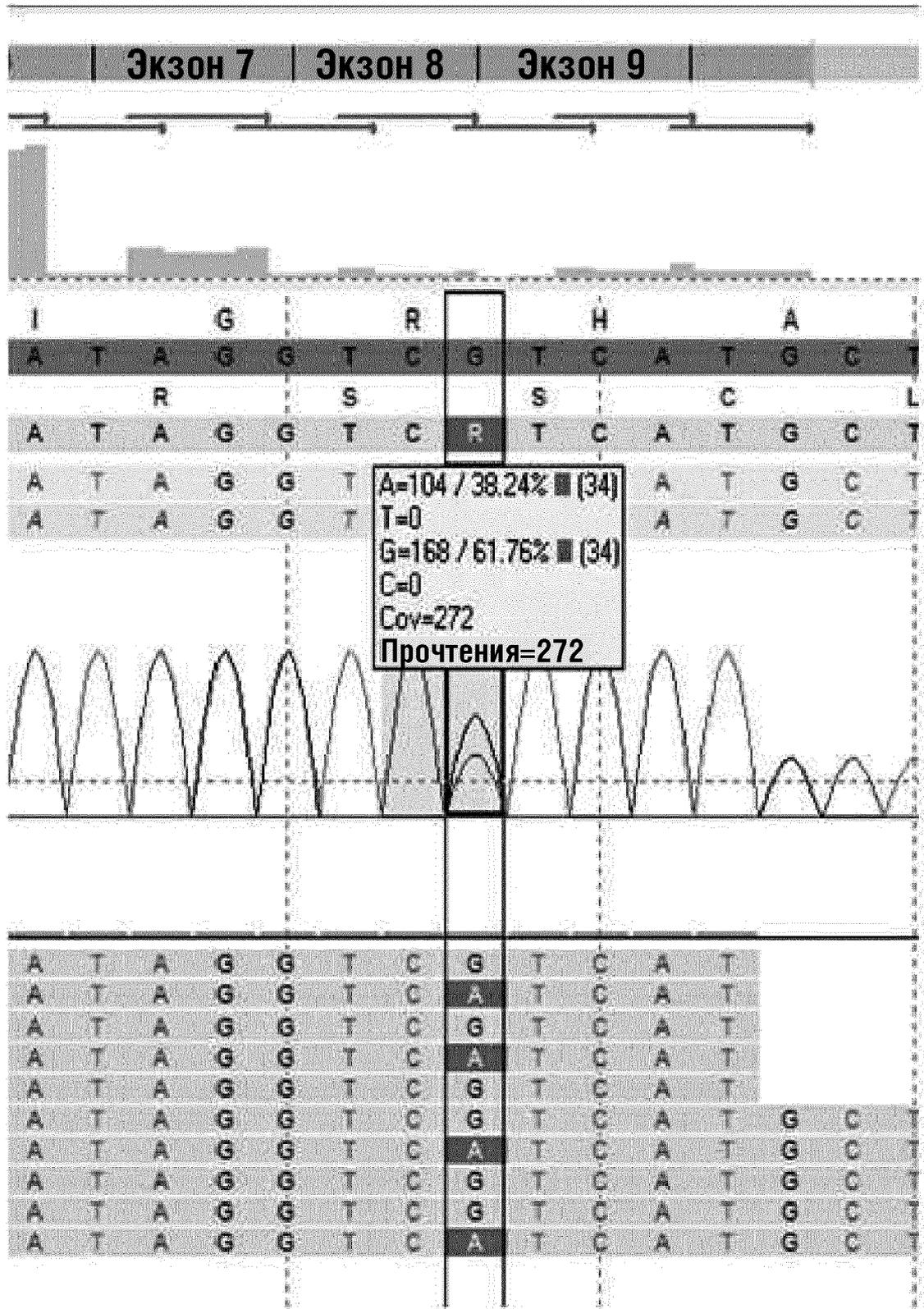
ФИГ.10А



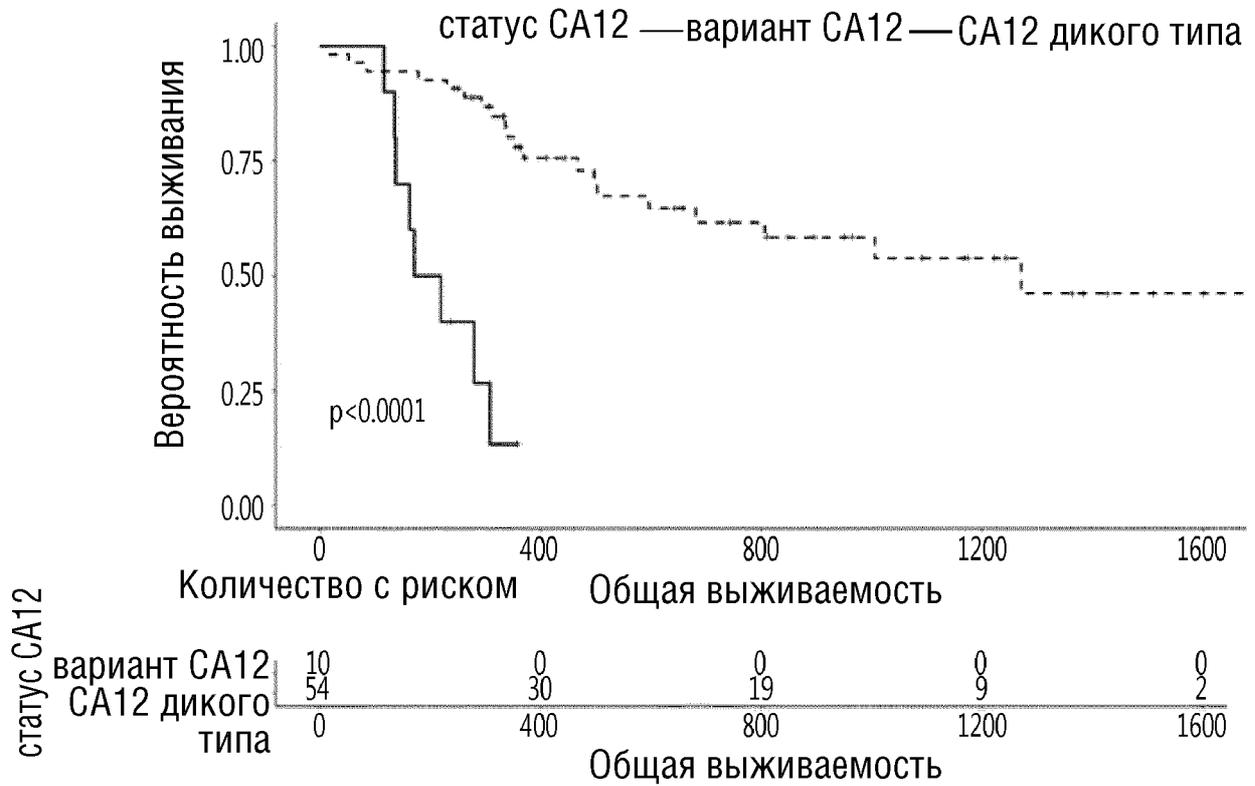
ФИГ.10В

Общая выживаемость после
клинического проявления

ФИГ.10С

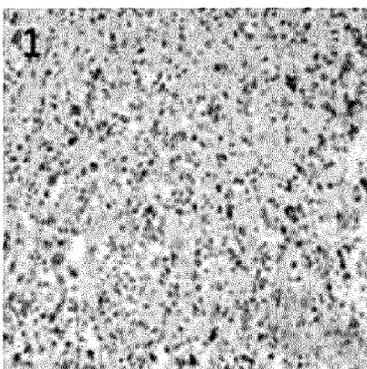


ФИГ.10D

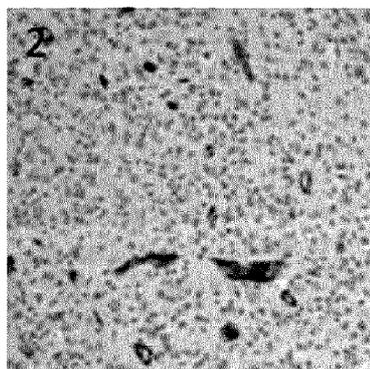


ФИГ.11

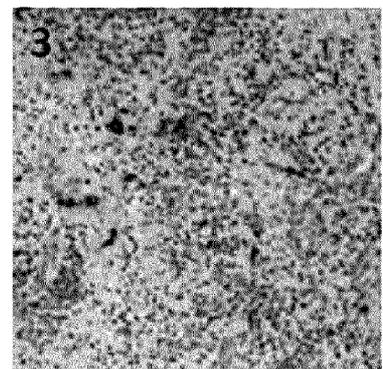
Иммуногистохимия для PSMA



значение FPM: 2

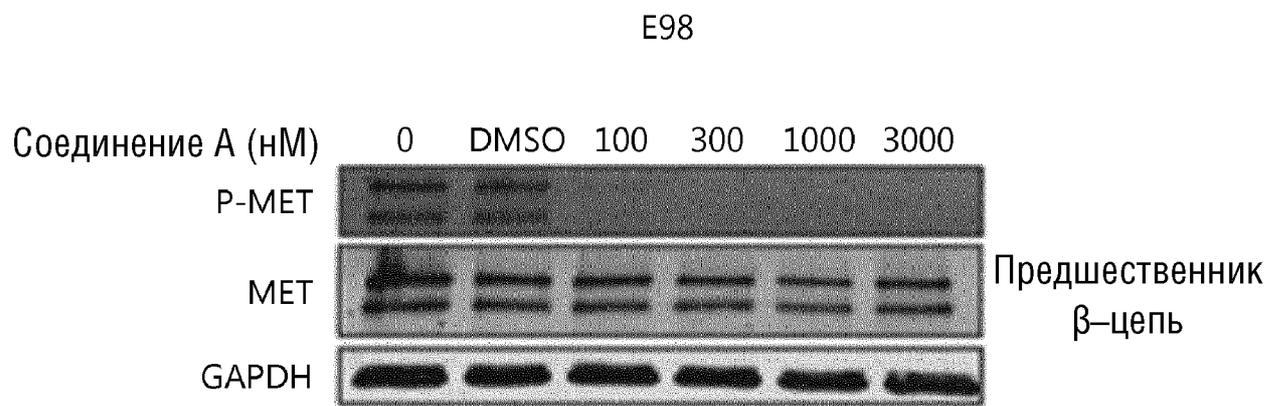


значение FPM: 2644

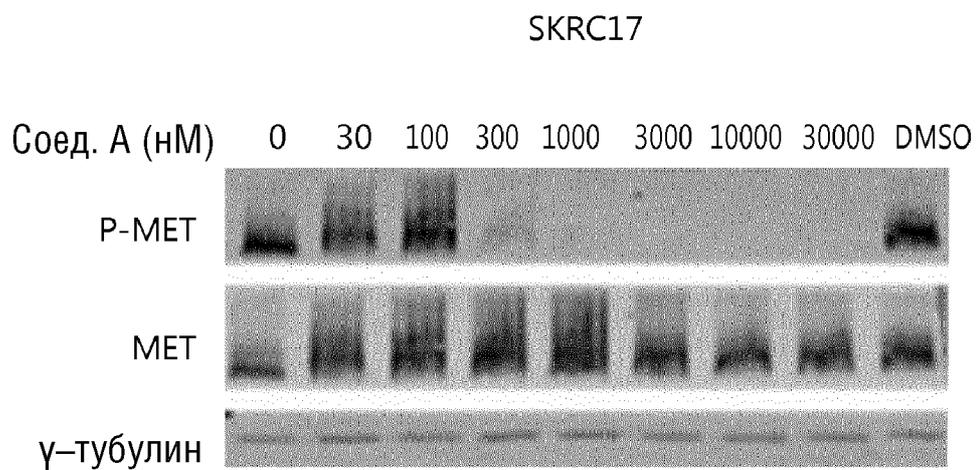


значение FPM: 4583

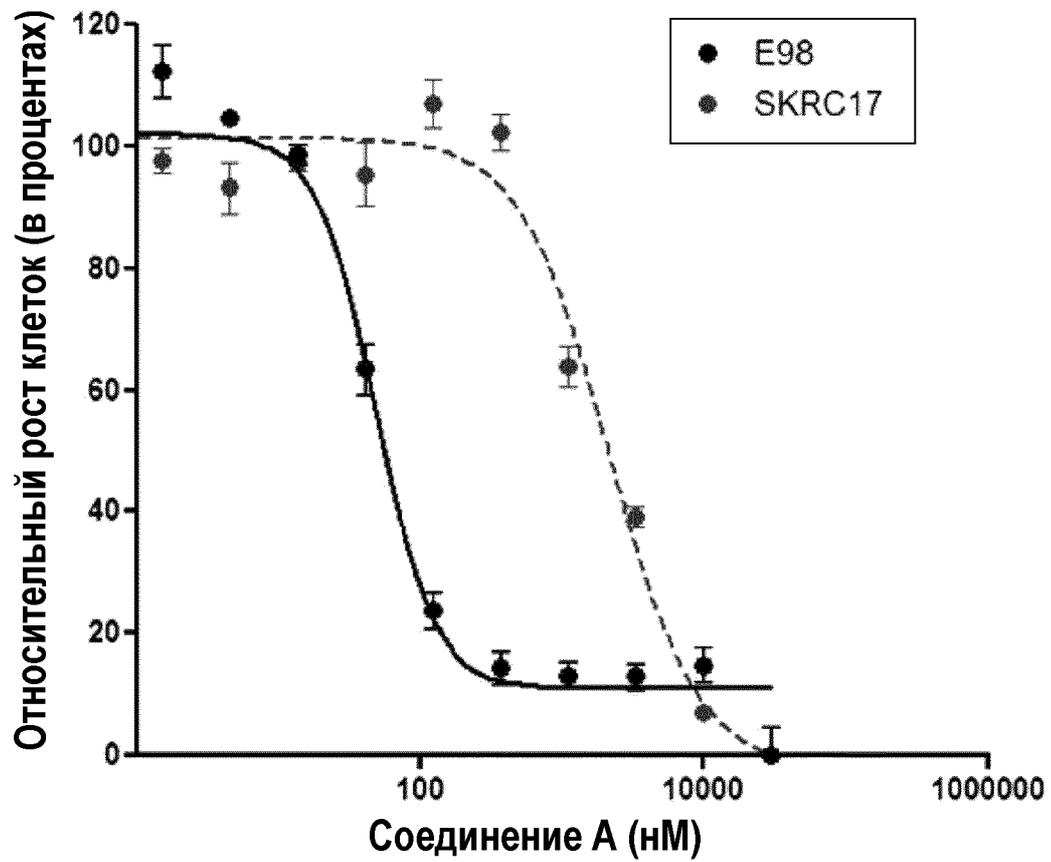
ФИГ.12А



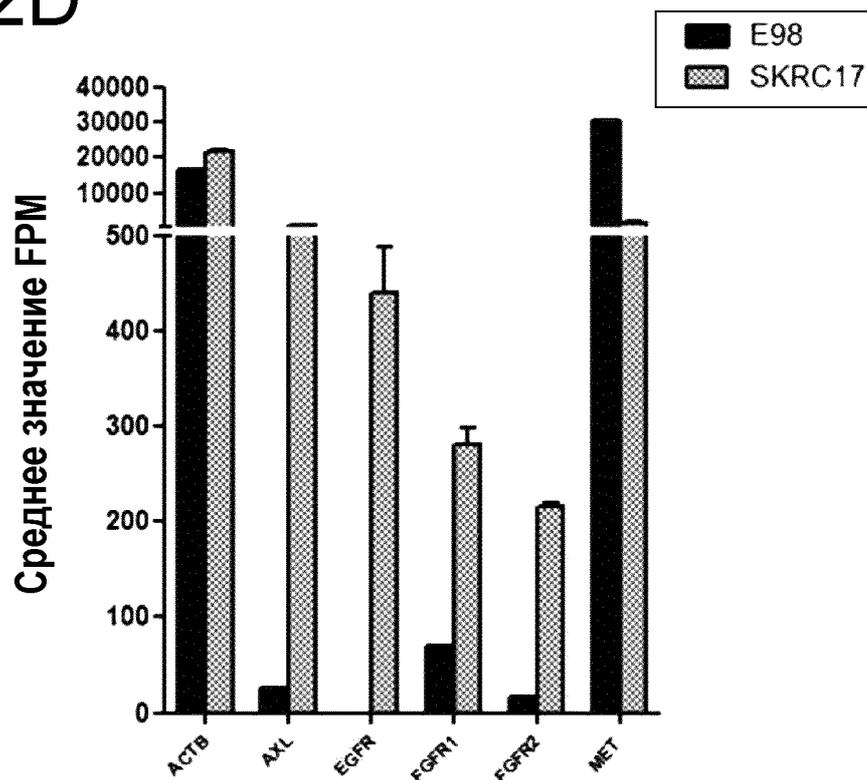
ФИГ.12В



ФИГ.12С



ФИГ.12D



ФИГ.13

