



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0036729
(43) 공개일자 2016년04월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) 출원번호 **10-2014-0128298**

(22) 출원일자 **2014년09월25일**
심사청구일자 **2014년09월25일**

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93

(72) 발명자
정진용
경기 성남시 분당구 중앙공원로 54, 225동 1402호
(서현동, 시범단지우성아파트)

김양수
서울특별시 성동구 독서당로 218, 104동 901호(옥수삼성아파트)
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **반코마이신 불균질 내성 황색포도알균 ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 판별용 키트**

(57) 요약

본 발명은 spa 및 lp16로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상 유전자 변이를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 판별용 키트에 관한 것으로, 상세하게는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입에서 특이적으로 나타나는 유전자 변이를 선별하고, 이렇게 확보된 유전자 변이를 hVISA ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물로 사용하여 정확하고 신속하게 hVISA ST5 클론타입을 판별함으로써, 환자에게 신속하고 정확한 치료를 가능하게 할 수 있다. 또한, hVISA ST5 클론타입 판별용 키트를 개발할 수 있어 매우 유용하게 사용될 수 있다.

(72) 발명자

정용필

서울특별시 강동구 풍성로 114-1, 101동 1507호(성내동, 성안마을 청구아파트)

박수진

서울특별시 양천구 목동서로2길 22, 101동 206호(목동, 한신청구아파트)

김희승

서울특별시 광진구 구의로4길 12-4 (구의동)

김소영

서울특별시 강동구 양재대로 1656, 206동 803호 (명일동, 삼익그린맨션)

김은실

서울특별시 서초구 청계산로 7길 43, 501동 706호 (신원동, 서초포레스타5단지)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI12C0872(A120964)

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 보건의료기술연구개발사업

연구과제명 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균의 특성

기 여 율 1/1

주관기관 서울아산병원

연구기간 2012.11.01 ~ 2015.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(heteroresistant vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*; hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자는 비변이 spa 유전자와 비교시 상기 서열의 870번째 염기가 A인 것을 특징으로 하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 3

서열번호 2로 기재되는 spa 단백질의 아미노산 서열을 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 서열번호 2로 기재되는 spa 단백질의 아미노산 서열은 비변이 spa 단백질의 아미노산 서열과 비교시 상기 서열의 290번째 아미노산이 라이신(lysine)인 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 5

서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자는 서열번호 4로 기재되는 비변이 lp16 유전자의 183번째 T 염기가 결실 변이된 것을 특징으로 하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물.

청구항 7

시료로부터 DNA를 추출하는 단계;

시료로부터 추출한 DNA로부터 서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자 또는 서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자를 검출하는 단계; 및

상기 검출된 변이 유전자를 확인하는 단계를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별방법.

청구항 8

제1항 또는 제5항의 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균 ST5 클론타입 판별용 바이오마커를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 키트.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균의 전체 게놈의 서열 분석을 통하여 얻어진 유전자 변이를 이용한 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*;

[0001]

이하 hVISA)의 ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 판별용 키트에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 메티실린 내성 황색포도알균은 전 세계 각지의 병원에서 가장 중요한 병원 감염균으로 자리 잡고 있다. 범세계적으로 MRSA에 의한 병원 감염이 확산되어 반코마이신(vancomycin)이 임상에서 광범위하게 사용되고 있으나, 반코마이신에 감수성이 저하된 MRSA가 증가되어 환자 치료에 어려움을 겪고 있다.
- [0003] 불균질 내성 반코마이신 황색포도알균(heteroresistant vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*; 이하 hVISA)은 일반적인 반코마이신 MIC는 감수성 범주에 속하는 것으로 나오지만, 반코마이신에 내성을 가지는 개체가 존재하기 때문에 균주군 분석을 하면 $MIC \geq 4$ mg/L인 균주군이 포함되어 있는 경우를 의미한다.
- [0004] 현재 hVISA를 검출하기 위해서는 population analysis profiling(PAP)라는 표준진단법을 시행해야 하는데, 이 방법은 많은 시간이 소요되는 반면, 특이도가 높지 않은 것으로 밝혀져 병원에서 통상적으로 시행하기에는 무리가 있다. 따라서 hVISA를 정확하게 빠르게 검출할 수 있는 적절한 진단방법의 개발이 요구되고 있다.
- [0005] 23개국의 연구기관, 지역, 국가 및 시기별로 다양한 hVISA의 빈도 및 클론 타입이 보고된 바 있으며, hVISA는 지역별, 국가별 차이를 반영한 연구가 이루어져야 함을 나타낸다. 따라서, 본 연구자들의 연구결과, 국내에서 분리된 hVISA의 균주는 의료기관 감염에서 흔히 볼 수 있는 ST5 클론타입이 80% 이상이었고, 그 다음으로 지역사회 감염에서 나타나는 ST72 클론타입으로 나타났다.
- [0006] 이에, 본 발명자들은 hVISA 균주들을 선별하여 전체 게놈의 염기서열 분석을 통해서 hVISA화 되는 타겟 유전자의 변이를 확인하고, 유전자 변이의 조합을 이용하여 hVISA를 진단할 수 있음을 밝혀 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 한편, 한국공개특허 10-2001-0022777호는 반코마이신 내성균 선별을 위한 유전형 분석키트에 관한 것으로서, 반코마이신에 대한 내성을 가지는 균주를 선별하기 위한 유전형 분석키트 및 전기 분석키트를 사용하여 반코마이신에 대한 내성을 가지는 균주를 선별하는 방법에 관해 개시되어 있지만, 본 발명의 황색포도알균에서 반코마이신 내성에 의하여 발현 차이를 보이는 유전자군에 대한 언급은 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 앞서 전술한 바와 같이, 본 발명은 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균의 전체 게놈의 서열 분석을 통하여 얻어진 유전자 변이를 발굴하여, 특이적으로 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균 중 ST5 클론타입을 판별하는 바이오마커 조성물 및 이를 이용한 판별용 키트를 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 spa 또는 lp16 유전자 변이를 이용한 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균 ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0010] 본 발명은 spa 또는 lp16 유전자 변이를 이용한 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균의 ST5 클론타입 판별방법을 제공한다.
- [0011] 또한 본 발명은 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균 ST5 클론타입 판별용 바이오마커를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 키트를 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명은 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) 중 ST5 클론타입에서 특이적으로 나타나는 유전자 변이를 선별하고, 이렇게 확보된 유전자 변이를 hVISA ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물로 사용하여 정확하고 신속하게 hVISA ST5 클론타입을 판별함으로써, 환자에게 신속하고 정확한 치료를 가능하게 할 수 있다. 또한, hVISA ST5 클론타입 판별용 키트를 개발할 수 있어 매우 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 본 발명은 서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(heteroresistant vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*; hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커

조성물을 제공한다.

- [0014] 상세하게는, 서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자는 비변이 spa 유전자와 비교시 상기 서열의 870번째 염기가 A일 수 있다.
- [0015] 또한, 본 발명은 서열번호 2로 기재되는 spa 단백질의 아미노산 서열을 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0016] 상세하게는, 상기 서열번호 2로 기재되는 spa 단백질의 아미노산 서열은 비변이 spa 단백질의 아미노산 서열과 비교시 상기 서열의 290번째 아미노산이 라이신(lysine)일 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명은 서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커 조성물을 제공한다.
- [0018] 상세하게는, 상기 서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자는 서열번호 4로 기재되는 비변이 lp16 유전자의 183번째 T 염기가 결실 변이된 것일 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명은 시료로부터 DNA를 추출하는 단계; 시료로부터 추출한 DNA로부터 서열번호 1로 기재되는 변이 spa 유전자 또는 서열번호 3으로 기재되는 변이 lp16 유전자를 검출하는 단계; 및 상기 검출된 변이 유전자를 확인하는 단계를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별방법을 제공한다.
- [0020] 상기 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) 마커를 검출하는 단계는 DNA 시퀀싱 분석, 마이크로어레이에 의한 혼성화, 대립유전자 특이적 PCR(allele specific PCR), 다이내믹 대립유전자 혼성화, PCR-SSCP 분석, RELP 분석, TaqMan 분석 또는 DNA칩 분석에서 선택된 어느 하나의 분석법을 이용하여 수행될 수 있다.
- [0021] 또한, 본 발명은 상기 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 바이오마커를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트를 포함하는 반코마이신 불균질 내성 황색포도알균(hVISA) ST5 클론타입 판별용 키트를 제공한다.
- [0022] 상기 판별용 키트에는 본 발명의 판별용 마커를 증폭시킬 수 있는 프라이머 세트 뿐만 아니라, 증합 반응에 필요한 시약, 예를 들면 dNTP, 각 종의 증합효소 및 발색제 등을 포함할 수 있다.
- [0023] 상기 “증폭할 수 있는 프라이머”란 적절한 버퍼 중의 적절한 조건 (예를 들면, 4개의 다른 뉴클레오타이드 트리포스페이트 및 DNA, RNA 폴리머라제 또는 역전사 효소와 같은 증합제) 및 적당한 온도 하에서 주형-지시 DNA 합성의 시작점으로서 작용할 수 있는 단일가닥 올리고뉴클레오타이드를 말한다. 상기 프라이머의 적절한 길이는 사용 목적에 따라 달라질 수 있으나, 통상 15 내지 30 뉴클레오타이드이다. 짧은 프라이머 분자는 일반적으로 주형과 안정한 혼성체를 형성하기 위해서는 더 낮은 온도를 필요로 한다. 프라이머 서열은 주형과 완전하게 상보적일 필요는 없으나, 주형과 혼성화 할 정도로 충분히 상보적이어야 한다.
- [0024] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0025] <실시예 1> 연구 대상 선정
- [0026] 동일한 환자에서 분리된 반코마이신 감수성 균주 및 반코마이신 불균질 내성을 나타내는 hVISA 균주의 전체 게놈 염기서열 분석을 수행하여, 국내에서 hVISA 균주의 대표적인 클론 타입인 ST5와 ST72 균주를 비교하여 타겟 유전자의 변이를 선별하였다.
- [0027] <실시예 2> 반코마이신 내성에 의한 유전자 변이를 나타내는 유전자군
- [0028] 1. hVISA ST5 클론타입 균주에서 반코마이신 내성에 의한 유전자 변이를 나타내는 유전자군
- [0029] ST5 균주 2쌍을 비교하여 유전자 타겟 변이가 표 1과 같이 나타났다.

표 1

[0030]

ST5 균주에서 hVISA화 되었을 때 나타나는 유전자 변이

ST	Isogenic paired strain	Gene	VSSA	hVISA	Mutation	description
ST5	407(VSSA) 437(hVISA)	SA0020	CAAT	-	Del	hypothetical protein
		kdpC	T	-	Del	hypothetical protein
		spa	C	A	N290K	immunoglobulin G binding protein A
			G	A	G289D	
			G	A	G289S	
		lp16	T	-	Del	hypothetical protein
		SA1787	T	C	L69L	hypothetical protein
			A	T	L69I	
		SA1789	G	A	R55R	hypothetical protein
			C	T	R55H	
			G	T	R55S	
			C	T	E54E	
		SA1791	T	C	T162A	hypothetical protein
		SA1794	T	C	Q100Q	hypothetical protein
			C	T	D97N	
		SAS063	T	G	K3N	hypothetical protein
	2030(VSSA) 2039(hVISA)	SA0020	T	A	S171T	hypothetical protein
		spa	C	A	N290K	immunoglobulin G binding protein A
		lp16	T	-	Del	hypothetical protein
		sdrE	C	T	S1052S	Ser-Asp rich fibinogen-binding, bone sialoprotein-binding protein
		clfA	C	T	S757S	fibrinogen-binding protein A, clumping factor
			T	C	D758D	
			A	C	S761S	
			C	T	D762D	
		SA1247	-	TTATCAATT GTAATAC	In	truncated(response regulator ArlR)
		SA1269	A	G	I343I	major facilitator superfamily transporter
		SA1317	G	A	G100G	hypothetical protein
		SA1787	G	A	A79V	hypothetical protein
		SA1794	C	T	E4K	hypothetical protein
		crtM	T	A	Q102H	squalene synthase

[0031]

그 결과, 다수의 유전자가 기능이 알려지지 않은 가설 단백질(hypothetical protein)이었으며, ST5 두 쌍에서 hVISA화 되었을 때 공통적으로 변이가 일어난 유전자로 spa 및 lp16로 확인되었다.

[0032]

spa의 경우, 290번째 아미노산이 아스파라진(asparagin, N)에서 라이신(Lysin, K)으로 치환되었으며 lp16 유전자의 경우, 61번째 아미노산인 아스파라진(asparagin, N)에서 결실 변이가 나타났다.

[0033]

또한, spa, SA1787 및 SA1789의 경우, 특정 위치의 아미노산의 치환이 빈번하게 일어나는 것으로 보아 hVISA의 진단을 위한 유전자 타겟의 주요 부위로 예상된다.

[0034]

2. hVISA ST72 클론타입 균주에서 반코마이신 내성에 의한 유전자 변이를 나타내는 유전자군

[0035]

ST72 균주 2쌍을 비교하여 유전자 타겟 변이가 표 2와 같이 나타났다.

표 2

[0036]

ST72 균주에서 hVISA화 되었을 때 나타나는 유전자 변이

ST	Isogenic paired strain	Gene	VSSA	hVISA	Mutation	description
ST 72	407(VSSA) 437(hVISA)	SAKOR_01962	GTGATGTT TGACTGATG TTGTTTGA TGTGG	-	Del	Phage protein
		SAKOR_01989	-	T	In	Tetracenomycin polyketide synthesis O-methyltransferase tcmP
	1577(VSSA) 1599(hVISA)	SAKOR_00550	T	C	S1226S	Fibronectin-binding protein SdrD
			T	C	S1228S	
		SAKOR_00575	GC	-	Del	Threonine/Serine Exporter
		SAKOR_00786	T	-	Del	hypothetical protein
		SAKOR_00918	T	-	Del	Putative cytosolic protein
		SAKOR_01022	GGG	-	Del	Spermidine/putrescine transport system permease protein pot8
		SAKOR_01891	A	-	Del	Transposase
		SAKOR_02393	GGAC	-	Del	Multidrug resistance protein B

[0037]

그 결과, ST72 균주의 경우 ST5와 비교하여, 유전자의 변이 빈도가 낮았으며, 대다수가 타겟 유전자의 결실 변이 현상이 많았으나, 두 쌍의 ST72 균주가 hVISA 화 되었을 때 공통적으로 나타나는 유전자의 타겟은 발견되지 않았으며, ST5 균주에서 확인되었던 spa 및 lp16 유전자 변이는 확인되지 않았다.

[0038]

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

서열 목록

<110> University of Ulsan Foundation For Industry Cooperation

<120> Biomarker composition for discrimination of vancomycin
heteroresistant Staphylococcus aureus ST5 clone type and
discriminative kit using the same

<130> ADP-2014-0414

<160> 4

<170> Kopatent In 2.0

<210> 1

<211> 1353

<212> DNA

<213> SPA

<400> 1

ttgaaaaaga aaaacattta ttcaattcgt aaactagggtg taggtattgc atctgtaact	60
ttaggtacat tacttatatc tggtagcgta acacctgctg caaatgctgc gcaacacgat	120
gaagctcaac aaaatgcttt ttatcaagtg ttaaatatgc ctaacttaa cgctgatcaa	180
cgtaatgggt ttatccaaag ccttaaagat gatccaagcc aaagtgctaa cgtttttaggt	240
gaagctcaaa aacttaatga ctctcaagct ccaaaagctg atgcgcaaca aaataacttc	300
aacaaagatc aacaaagcgc cttctatgaa atcttgaaca tgcctaactt aaacgaagcg	360
caacgtaacg gcttcattca aagctttaa gacgaccaa gccaaagcac taatgtttta	420
ggtgaagcta aaaaattaaa cgaatctcaa gcaccgaaag ctgataacaa tttcaacaaa	480
gaacaacaaa atgcttttcta tgaatcttg aatatgccta acttaaacga agaacaacgc	540
aatggtttca tccaaagctt aaaagatgac ccaagccaaa gtgctaacct attgtcagaa	600
gctaaaaagt taaatgaatc tcaagcaccg aaagcggata acaaattcaa caaagaacaa	660
caaaatgctt tctatgaaat cttacattta cctaacttaa acgaagaaca acgtaacggc	720
ttcatccaaa gccttaaaga cgatccttca gtgagcaaag aaattttagc agaagctaaa	780
aagctaaacg atgctcaagc accaaaagag gaagacaaca aaaaacctgg taaagaagac	840
ggcaacaacac ctggcaaaga agacggcaaa aagcctggta aagaagacaa caaaaaacct	900
ggtaaagaag acggcaacaa gcctggtaaa gaagacaaca aaaaacctgg caaagaagac	960
ggcaacaagc ctggtaaaga agacaacaac aagcctggta aagaagacgg caacaagcct	1020
ggtaaagaag acggcaacaa acctggtaaa gaagacggca acggagtaca tgtcgttaaa	1080
cctggtgata cagtaaatga cattgcaaaa gcaaacggca ctactgctga caaaattgct	1140
gcagataaca aattagctga taaaaacatg atcaaacctg gtcaagaact tgttgttgat	1200
aagaagcaac cagcaacca tgcagatgct aacaaagctc aagcattacc agaaactggt	1260
gaagaaaatc cattcatcgg tacaactgta tttgggtgat tatcattagc cttaggtgca	1320
gcgttatttag ctggacgtcg tcgcgaacta taa	1353

<210> 2

<211> 450

<212> PRT

<213> SPA

<400> 2

Met Lys Lys Lys Asn Ile Tyr Ser Ile Arg Lys Leu Gly Val Gly Ile

1	5	10	15
---	---	----	----

Ala Ser Val Thr Leu Gly Thr Leu Leu Ile Ser Gly Gly Val Thr Pro
20 25 30

Ala Ala Asn Ala Ala Gln His Asp Glu Ala Gln Gln Asn Ala Phe Tyr
35 40 45

Gln Val Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe
50 55 60

Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Val Leu Gly
65 70 75 80

Glu Ala Gln Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Gln
85 90 95

Gln Asn Asn Phe Asn Lys Asp Gln Gln Ser Ala Phe Tyr Glu Ile Leu
100 105 110

Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Ala Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
115 120 125

Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Thr Asn Val Leu Gly Glu Ala Lys
130 135 140

Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys
145 150 155 160

Glu Gln Gln Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn
165 170 175

Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser
180 185 190

Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln
195 200 205

Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Gln Gln Asn Ala Phe
210 215 220

Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly
225 230 235 240

Phe Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser Val Ser Lys Glu Ile Leu
245 250 255

Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Glu Glu Asp
260 265 270

Asn Lys Lys Pro Gly Lys Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp

275 280 285
Gly Lys Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Lys Lys Pro Gly Lys Glu Asp
290 295 300
Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp
305 310 315 320
Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp
325 330 335
Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp
340 345 350

Gly Asn Gly Val His Val Val Lys Pro Gly Asp Thr Val Asn Asp Ile
355 360 365
Ala Lys Ala Asn Gly Thr Thr Ala Asp Lys Ile Ala Ala Asp Asn Lys
370 375 380
Leu Ala Asp Lys Asn Met Ile Lys Pro Gly Gln Glu Leu Val Val Asp
385 390 395 400
Lys Lys Gln Pro Ala Asn His Ala Asp Ala Asn Lys Ala Gln Ala Leu
405 410 415
Pro Glu Thr Gly Glu Glu Asn Pro Phe Ile Gly Thr Thr Val Phe Gly

420 425 430
Gly Leu Ser Leu Ala Leu Gly Ala Ala Leu Leu Ala Gly Arg Arg Arg
435 440 445
Glu Leu
450

<210> 3
<211> 288
<212> DNA
<213> lp16
<400> 3

atgatgggtt atttaaaag acttgatttg tacatagtta ttatgggttat gagtgttttt 60
ataataggtt gtgataaatc aagcgatact gcagaaaaatc caaaagaagg ttcaaaagaa 120
gcacaaatta aaaagagttt ttcgaaaacg ttagatatgt atccaattaa gaatctcgag 180

aactatatga caaagaagga tatcgtgatg gcgaatttaa aaaaggtgat aaagggactt	240
ggacaatatc aacagatttt gctaaaagca acaagcaagg tgaaatga	288
<210> 4	
<211> 795	
<212> DNA	
<213> lp16	
<400> 4	
atgatgggtt atttaaaag acttgatttg tacatagtta ttatggttat gagtgttttt	60
ataataggtt gtgataaatc aagcgatact gcagaaaatc caaagaagg ttcaaaagaa	120
gcacaaatta aaaagagttt ttcgaaaacg ttagatatgt atccaattaa gaatctcgag	180
aatctatatg acaagaagg atatcgtgat ggcgaaattta aaaaggtga taaagggact	240
tggacaatat caacagattt tgctaaaagc aacaagcaag tggaatgaa tagcgaaggt	300
atggtactac attttaatag aaatacagg acagcaacag gatattatac tgtaagaaca	360
acttatgatg aagtggataa gttggcacgc gaaaaaaaa atcgtgttga atttaaaac	420
aataagatag ttctattgga caaagtagaa gatgaaaatc ttaacaaaa aatagaaat	480
tttaaatatt tcgggcaata tgccgatttt aaagacttga aaaattataa aaatggaaga	540
atatctagca atgaaaatgt tccttattat gaagcagagt acaaaaggaa taatagtgat	600
ggaaatgtaa aaaaacttag agaaaagtac ccaattacaa ccaagcagtc tccaatatta	660
aaactgcata tagacggcga tattaaaggt agctcagttg gatataaaca gatagaatac	720
acattttcta aggagaaaga tgatgagact tttatgagtg attttttgaa cttcgggtcca	780
tcacacagta aatag	795