

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7278027号

(P7278027)

(45)発行日 令和5年5月19日(2023.5.19)

(24)登録日 令和5年5月11日(2023.5.11)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 1 1 0

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 1 0 0

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 Z Z N A

C 1 2 Q 1/02

請求項の数 21 (全123頁)

(21)出願番号 特願2017-534913(P2017-534913)

(86)(22)出願日 平成28年1月12日(2016.1.12)

(65)公表番号 特表2018-500913(P2018-500913

A)

(43)公表日 平成30年1月18日(2018.1.18)

(86)国際出願番号 PCT/US2016/013113

(87)国際公開番号 WO2016/115179

(87)国際公開日 平成28年7月21日(2016.7.21)

審査請求日 平成31年1月15日(2019.1.15)

審査番号 不服2021-6734(P2021-6734/J1)

審査請求日 令和3年5月25日(2021.5.25)

(31)優先権主張番号 62/102,347

(32)優先日 平成27年1月12日(2015.1.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(73)特許権者 596060697

マサチューセッツ インスティテュート

オブ テクノロジー

アメリカ合衆国マサチューセッツ州 0 2

1 3 9 ケンブリッジ, マサチューセッツ

・アヴェニュー・7 7

(73)特許権者 507044516

プレジデント アンド フェローズ オブ

ハーバード カレッジ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2

1 3 8, ケンブリッジ, クインシー

ストリート 1 7

(74)代理人 100107984

弁理士 廣田 雅紀

(74)代理人 100182305

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 マイクロ流体送達による遺伝子編集

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞内への核酸 - タンパク質複合体の送達方法であって、前記核酸 - タンパク質複合体の核酸が静電相互作用を介して前記核酸 - タンパク質複合体のタンパク質と複合体化しており、前記方法が、

懸濁液中の細胞を準備すること；

細胞変形狭窄部を含むマイクロ流体チャネルに前記懸濁液を通過させ、前記核酸 - タンパク質複合体が通過するのに十分大きな前記細胞の摂動を誘導すること；ならびに

前記細胞が前記狭窄部を通過する前、及び／またはその最中に、前記細胞を前記核酸 - タンパク質複合体と接触させること；

を含み、

前記狭窄部の直径が、2 ~ 10 μm であり、

前記マイクロ流体チャネルに前記懸濁液を通過させるために、10 ~ 200 psi の圧力が用いられる、

前記方法。

【請求項 2】

前記細胞が前記狭窄部を通過する前に、前記細胞を前記核酸 - タンパク質複合体と接触させることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記細胞が前記狭窄部を通過する最中に、前記細胞を前記核酸 - タンパク質複合体と接

触させることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記核酸 - タンパク質複合体が、遺伝子編集コンポーネントを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記核酸 - タンパク質複合体が、

(a) リボ核タンパク質 (RNP); または

(b) 第 1 RNP 及び第 2 RNP ;

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記核酸 - タンパク質複合体が、

(a) Cas タンパク質または Cpf1 タンパク質; ならびに

(b) シングルガイド RNA (sgRNA) または CRISPR RNA (crRNA)

及びトランスアクチベータリング crRNA (tracrRNA); を含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記核酸 - タンパク質複合体が、Cas タンパク質または Cpf1 タンパク質及び sgRNA を含む RNP を含み、前記 Cas タンパク質または前記 Cpf1 タンパク質及び前記 sgRNA が、1 : 10 ~ 10 : 1 のモル比で複合体化された、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 Cas タンパク質が Cas9 タンパク質である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 RNP 及び前記第 2 RNP が、両方ともニッカーゼである、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 RNP が、前記第 2 RNP の標的配列とは異なる標的配列にニックを入れる、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 11】

前記懸濁液が、ドナー DNA をさらに含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞が前記狭窄部を通過する前、その最中、及び / またはその後に、前記懸濁液が、ドナー DNA をさらに含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞が哺乳類細胞である、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記細胞がヒト細胞である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記狭窄部の直径が、前記細胞の直径の 20 ~ 99 % である、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記狭窄部の直径が、前記細胞の直径の 20 ~ 60 % である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記細胞が複数の細胞の 1 つであり、前記複数の細胞の各細胞を複数の並列マイクロ流体チャネルのうちの 1 つに通過させ、前記複数の並列マイクロ流体チャネルの各マイクロ流体チャネルが、細胞変形狭窄部を含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

(a) 前記狭窄部の直径が、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 μm であり;

(b) 前記狭窄部の長さが、10、15、20、24、30、40、50、60、70、

10

20

30

40

50

80、90、100、10～40、10～50、10～60、もしくは10～100 μm であり；

(c) 前記マイクロ流体チャネルに前記懸濁液を通過させるために使用される前記圧力が、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100もしくは10～100 psiである；

(d) 前記細胞が、300、400、500、600、700、800、900、100～300、200～700、250～400、100～1000 mm/s、1～1000 mm/s、1 m/s、2 m/s、3 m/s、4 m/s、5 m/s、6 m/s、7 m/s、8 m/s、9 m/s、10 m/s、0.01～5 m/s、5～10 m/s、もしくは0.01～10 m/sの速度で前記マイクロ流体チャネルを通過し；

10

(e) 前記マイクロ流体チャネルが、複数の細胞変形狭窄部を含み；

(f) 前記マイクロ流体チャネルが、単一の細胞変形狭窄部を含み；

(g) 前記細胞の前記摂動が、1～20、1～600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、もしくは600 nmの最大直径を含み；

(h) 1～20、1～600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、もしくは600 nmの最大直径を有する前記細胞の摂動が、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10分間前記細胞上で持続する；及び/または

20

(i) 前記複数の並列マイクロ流体チャネルが、少なくとも2、5、10、20、25、30、40、45、50、75、100、500、1000、または2～1000のマイクロ流体チャネルを含む；

請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

前記マイクロ流体チャネルが、複数の並列の、または直列した細胞変形狭窄部を含む、請求項1～18のいずれか1項に記載の方法。

【請求項20】

前記細胞に前記核酸-タンパク質複合体を送達した後、

(a) 前記細胞における標的遺伝子の発現が、少なくとも5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する；または

30

(b) 前記細胞が複数の細胞であり、前記複数の細胞における標的遺伝子の発現が、少なくとも5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する；

請求項4～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項21】

前記細胞に前記核酸-タンパク質複合体を送達した後、

(a) 前記細胞における標的遺伝子の発現が、少なくとも5、10、25、50、75、100、250、500%もしくはこれより多く増加する；または

40

(b) 前記細胞が複数の細胞であり、前記複数の細胞における標的遺伝子の発現が、少なくとも5、10、25、50、75、100、250、500%もしくはこれより多く増加する；

請求項4～8のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、米国特許法第119条(e)の下で、2015年1月12日に出願された米国仮出願第62/102,347号の優先権による利益を主張し、その全内容を参照によ

50

り本明細書に援用する。

【 0 0 0 2 】

連邦政府資金による研究の記載

本発明は、米国国立衛生研究所によって締結された認可番号 R 0 1 G M 1 0 1 4 2 0 - 0 1 A 1 の下、政府援助を受けて行われた。政府は本発明において一定の権利を有する。

【 0 0 0 3 】

本明細書に記載する主題は、機械的細胞破碎により細胞内に遺伝子編集コンポーネントを導入することによる遺伝子編集に関する。

【 0 0 0 4 】

配列表の参照

本出願は、517キロバイトのサイズであり、MS - Windows とのオペレーティングシステム互換性を有するIBM - PC マシンフォーマットで2016年1月12日に作成された「38172 - 510001WO__Sequence__Listing__ST25 . txt」という名称のファイルにあるヌクレオチド及び/またはアミノ酸配列を参照により援用し、これは本出願の一部としての2016年1月12日に出願されたテキストファイル中に含まれている。

【背景技術】

【 0 0 0 5 】

ゲノム編集技術、例えばクラスター化等間隔短回文反復配列 (CRISPR) - CRISPR 関連タンパク質9 (Cas9) 及び転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ (TALEN) などは、細胞の遺伝子コードを変化させる能力に大きな可能性を秘めていることがわかっている。したがって、これらの技術は創薬における新規な洞察を可能とし、次世代遺伝子治療の開発につながり得る。タンパク質コンポーネント及び核酸コンポーネント、例えばデオキシリボ核酸 (DNA) 及び/またはリボ核酸 (RNA) を含む遺伝子編集複合体は、細胞膜を容易に通過することができない。したがって、そのような複合体の送達が課題であった。

【発明の概要】

【 0 0 0 6 】

本発明の方法及びシステムは、標的細胞への遺伝子編集コンポーネント及び遺伝子編集複合体の細胞内送達の問題を解決する。本明細書に記載する結果は、細胞膜の機械的破碎による遺伝子編集コンポーネント、例えばタンパク質、リボ核酸 (RNA)、及びデオキシリボ核酸 (DNA) の送達が遺伝子編集の成功につながることを示す。遺伝子編集物質の細胞内送達は現在の課題であるので、本方法は、潜在的に有害なウイルスベクターまたは電界を用いることなく標的細胞を改変するためのロバストな機構を提供する。さらに、プロセスのスケラビリティ及び比較的単純性が幅広い普及に適している。本方策及び方法は研究及び治療におけるゲノム工学用途に適している。

【 0 0 0 7 】

したがって、細胞内へのタンパク質 - 核酸複合体の送達方法は、懸濁液中の細胞を準備すること；細胞変形狭窄部 (cell-deforming constriction) を含むマイクロ流体チャネルに溶液を通過させること；狭窄部に細胞を通過させ、その結果、細胞に圧力が加わり、前記タンパク質 - 核酸複合体が透過するのに十分大きな細胞の摂動 (perturbation) を引き起こすこと；及び細胞が狭窄部を通過する前またはその後に複合体含有溶液中で細胞を所定の時間インキュベートすることによって行われる。例示的なタンパク質 - 核酸複合体は遺伝子編集コンポーネントを含む。例えば、タンパク質 - 核酸複合体はCasタンパク質 (例えばCas9タンパク質など) 及びガイドRNA (gRNA) またはドナーDNAを含む。他の例では、タンパク質 - 核酸複合体はTALENタンパク質、ジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN)、メガヌクレアーゼ、またはCreリコンビナーゼを含む。

【 0 0 0 8 】

本方法及びシステムは一般に、複合体、例えばタンパク質 - タンパク質複合体、低分子 + RNA 複合体などのサイトゾル送達に適用可能である。

10

20

30

40

50

【0009】

様々な標的細胞型をこのように処理する。例えば、細胞は哺乳類細胞、例えば免疫細胞（例えばT細胞）などまたは幹細胞、例えば造血幹細胞などを含む。

【0010】

マイクロ流体システムは複数のマイクロ流体チャネルを含み得る。複数のマイクロ流体チャネルのそれぞれは内腔を画定し、バッファー中に懸濁した細胞が内腔を通過することができるように構成される。いくつかの実施形態において、マイクロ流体チャネルは1つ以上の細胞変形狭窄部を含む。いくつかの実施形態において、狭窄部の直径は細胞の直径の関数である。したがって、本発明のマイクロ流体システム内には多くのマイクロ流体チャネルが存在し得る。例えば、マイクロ流体システムは例えば2、5、10、20、40、45、50、75、100、500、1,000またはこれより多くの並列に並んだ複数のマイクロ流体チャネルを含み得る。

10

【0011】

複数の並列マイクロ流体チャネルを有するマイクロ流体システムは細胞へのペイロードの高スループット送達を可能にする。多くの細胞が各並列チャネルを1つずつ通過することができる。文脈に応じて、「細胞」という言及は1つ以上の細胞のことをいう場合があると理解されるであろう。

【0012】

狭窄部の直径は処理しようとする細胞型の大きさに応じて選択する。いくつかの実施形態において、細胞は流体の流れによって主に圧縮され得る。いくつかの実施形態において、直径は細胞の直径未満である。例えば、狭窄部の直径は細胞の直径のほぼまたは約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または20~99%であり得る。例えば、狭窄部は細胞の直径のほぼ20~99%である、例えば狭窄部の直径は細胞の直径のほぼ60%である。狭窄部の直径の非限定例としては、ほぼまたは約2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、2~10 μm 、または10~20 μm が挙げられる。様々な長さの狭窄部も可能である。狭窄部の長さの非限定例としては、ほぼまたは約10、15、20、24、30、40、50、60、70、80、90、100、10~40、10~50、10~60、または10~100 μm が挙げられる。

20

【0013】

本明細書に記載する主題は、複合体のコンポーネント（またはそのコンポーネントをコードする核酸）を断片的に送達する方法に勝る多くの技術的な利点を提供する。ほとんどの遺伝子編集システムでは複合体形成が細胞内で発生する必要がある、これは非効率的なプロセスであり得る。RNA及びCas（例えばCas9など）を複合体形態（または他のタンパク質/核酸遺伝子編集複合アセンブリ）で送達する利点としては、他の方法と比較してより良好な効率及び特異性が挙げられる。Casタンパク質（例えばCas9タンパク質など）を発現させるmRNAまたはDNA操作を不要とすることによって、細胞がタンパク質に曝露される時間を減少させ、それによりオフターゲット効果の可能性を減少させることができる。編集コンポーネントを複合体形態で細胞に送達することは、Cas（例えばCas9など）が細胞内の他のRNA鎖と複合体化し、誤った部位を切断するリスクも排除/最小化する。例えば、RNA単独では細胞内及び細胞外Toll様受容体（TLR）及びパターン認識受容体によって検出され、インターフェロン応答または他の抗ウイルス経路を促進し得る。複合体形態はこれらの経路と相互作用せず、そのため望ましくない副作用を回避することができる。

30

40

【0014】

細胞内への送達前のインビトロでの複合体化によって、Cas（例えばCas9など）及びgRNA複合体化反応を正確に制御することができ、ひいては最大限の機能が確保される一方で、サイトゾル内での複合体形成はそれほど効率的ではない場合がある。例えば、サイトゾルに複合体を送達することによって、Cas（例えばCas9など）及びgRNAと標的DNAとの同時相互作用が確実となる。本明細書に記載のインビトロで形成さ

50

れて細胞に送達される複合体は完全な機能を有し、標的細胞の細胞質へのアクセスが得られればすぐに機能する。

【0015】

送達プロセスは複合体の厳密なサイズ及び組成に依存せず、編集物質の複合体形成は最適条件の下、インビトロで発生して制御されるので、本明細書に記載のアプローチは、ヌクレアーゼをガイドする任意のタンパク質 + RNA / DNA ベースのシステムに関連する。

【0016】

本発明の実施態様は以下の特徴の1つ以上も提供し得る。細胞の変形は、ほぼまたは約 $1\mu s \sim 10ms$ 、例えば $10\mu s$ 、 $50\mu s$ 、 $100\mu s$ 、 $500\mu s$ 、及び $750\mu s$ 間の細胞の変形を含む。インキュベーションは 0.0001 秒 ~ 20 分またはこれより長く、例えばほぼまたは約 1 秒、約 30 秒、約 90 秒、約 270 秒、及び約 900 秒間発生する。

10

【0017】

細胞がマイクロ流体チャネルを通過する圧力及び速度も様々であり得る。いくつかの実施形態において、ほぼまたは約 $10 \sim 35$ psi の圧力を用いて、細胞を含有する溶液をマイクロ流体チャネルに通過させる。速度は様々な理由で調節され得るが、高ペイロード送達を維持しながら処理される細胞の生存率を改善することが挙げられる。いくつかの実施形態において、細胞はほぼまたは約 $300mm/s$ 、 $400mm/s$ 、 $500mm/s$ 、 $600mm/s$ 、 $700mm/s$ 、 $800mm/s$ 、 $900mm/s$ 、 $100 \sim 300mm/s$ 、 $200 \sim 700mm/s$ 、 $250 \sim 400mm/s$ 、 $1 \sim 1000mm/s$ 、 $1m/s$ 、 $2m/s$ 、 $3m/s$ 、 $4m/s$ 、 $5m/s$ 、 $6m/s$ 、 $7m/s$ 、 $8m/s$ 、 $9m/s$ 、 $10m/s$ 、 $0.01 \sim 5m/s$ 、 $5 \sim 10m/s$ 、または $0.01 \sim 10m/s$ の速度でマイクロ流体チャネルを通過する。細胞が複数の細胞である場合、ほぼまたは約 5 、 10 、 20 、 30 、 40 、 50 、 60 、 70 、 75 、 80 、 85 、 90 、 91 、 92 、 93 、 94 、 95 、 96 、 97 、 98 、 99 、 $90 \sim 95$ 、もしくは $80 \sim 99\%$ またはこれより多くの細胞が狭窄部を通過した後で生存可能であり得る。いくつかの実施形態において、細胞は狭窄部を通過した後、少なくとも約 1 時間、 2 時間、 3 時間、 4 時間、 5 時間、 6 時間、 7 時間、 8 時間、 9 時間、 10 時間、 12 時間、 18 時間、 24 時間、または 48 時間のいずれかの間生存可能である。

20

【0018】

いくつかの例では、本発明のデバイスは 2 、 10 、 20 、 25 、 45 、 50 、 75 、 100 またはこれより多くのチャネルを含む。いくつかの実施形態において、圧力の印加によってチャネルまたは管路を通して細胞を移動させる、例えば押し進める。いくつかの実施形態において、細胞推進体が圧力を印加することができる。細胞推進体としては、例えば、圧力ポンプ、ガスポンプ、圧縮機、真空ポンプ、シリンジ、シリンジポンプ、蠕動ポンプ、手動シリンジ、ピペット、ピストン、毛管作用体、及び重力を挙げることができる。チャネルに代えて、細胞をネットの形態の狭窄部に通過させてもよい。いずれの場合においても、細胞が通過する狭窄部の幅は、処理しようとする細胞の未狭窄状態、すなわち懸濁状態での幅または直径の $20 \sim 99\%$ である。温度が組成物の取込みに影響を及ぼし、また生存率に影響を及ぼし得る。

30

【0019】

ある実施形態において、 $0 \sim 45$ 、例えば $0 \sim 25$ の温度を細胞の処理中に用いる。様々な実施形態において、室温（例えば 20 ）、生理的温度（例えば 39 ）、生理的温度よりも高い温度、もしくは低温（例えば 0.1 ）、またはこれらの例示的温度の間の温度（例えば $0.1 \sim 40$ ）で本方法を実施する。

40

【0020】

いくつかの実施形態において、免疫細胞に関して、未刺激 T 細胞、B 細胞及び / または単球の処理は、 $4 \sim 8$ の温度、例えば氷上で実施する。別の例では、樹状細胞、活性化 T 細胞、及び / または活性化 B 細胞は、 $20 \sim 25$ の温度、例えば典型的な室温で本デバイスを用いて処理する。

50

【0021】

いくつかの実施形態において、狭窄、伸展、及び/または高せん断速度のパルスによる細胞への制御した損傷（例えば損動）の後、細胞内への導入を望む複合体を含有する送達溶液中で細胞をインキュベートする。制御した損傷は、細胞膜における小さな、例えば直径200 nmの損動として特徴づけられ得る。狭窄部を通過したことに起因する損傷が塞がる細胞の修復期間は数分のオーダーである。送達期間は、1～10分またはこれより長い時間、例えば15、20、30、60分以上を含み、室温で作業する場合には2～5分が最適である。

【0022】

本明細書に記載のデバイス及び方法のいくつかの実施形態において、幹細胞または前駆細胞、例えば人工多能性幹細胞（iPSC）などの狭窄部チャネルの通過は分化を誘発しないが、細胞内への組成物の取込みを確実に誘発する。例えば、細胞内に因子（複数可）を導入した方法に伴う問題が生じることなく、そのような細胞内に遺伝子編集化合物が導入される。

10

【0023】

細胞膜における一時的な損動のサイズ及び持続時間は、様々な要因、例えば細胞変形狭窄部の直径及び細胞が狭窄部を通過する速度などを調節することによって修正することができる。本明細書に示す損動のサイズ及び持続時間に関する開示は、限定するものと解釈すべきではない。Sharei et al., (2014) Integr. Biol., 6, 470-475に損動及び修復の非限定的な記載が提供されており、その内容全体を参照により本明細書に援用する。いくつかの実施形態において、細胞膜の損動はほぼまたは約1～20、1～600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、または600 nmの最大直径によって特徴づけられ得る。様々な実施形態において、ほぼまたは約1～20、1～600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、または600 nmの最大直径を有する細胞膜の損動は、少なくともほぼまたは約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、もしくは1～10分間またはこれより長く（11、13、15、18、20分以上）細胞膜上で持続する。

20

30

【0024】

様々な実施形態において、直径は細胞の直径未満である。例えば、狭窄部の直径は細胞の直径のほぼまたは約20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、または20～99%であり得る。狭窄部の直径の非限定例としては、ほぼまたは約4、5、6、7、8、9、10、15、20、4～10 μm 、または10～20 μm が挙げられる。様々な長さの狭窄部も可能である。狭窄部の長さの非限定例としては、ほぼまたは約10、15、20、24、30、40、50、60、70、80、90、100、10～40、10～50、10～60、または10～100 μm が挙げられる。

【0025】

40

多くの細胞は直径5～20 μm であり、例えば未刺激T細胞は直径7～8 μm である。例えば、単細胞の処理に関しては、狭窄部の直径は4.5、5、5.5、6、または6.5 μm である。別の例では、ヒト卵の処理のための狭窄部のサイズ/直径は60 μm ～80 μm であるが、より大きい及びより小さい狭窄部が可能である（ヒト卵子の直径はおおよそ100 μm である）。また別の例では、12 μm ～17 μm の狭窄部直径を用いて胚（例えば2～3細胞のクラスター）を処理する。未刺激T及びB細胞に関する非限定例において、デバイスは、約10、15、20、25、30、もしくは10～30 μm の長さ、約、3、3.5、4、もしくは3～4 μm の幅、約15、20、25、もしくは15～25 μm の深さ、及び/または約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、もしくは5～15度の角度を有する狭窄部を含む。免疫細胞へのペイロードの送達に

50

有用なマイクロ流体デバイスの例は、2015年10月30日に出願されたPCT国際特許出願第PCT/US2015/058489号、Delivery of Biomolecules to Immune Cellsに記載されており、その内容全体を参照により本明細書に援用する。

【0026】

単細胞に加えて、非常に大きな細胞、例えば卵（直径およそ200 μm ）、細胞のクラスター、例えば2～3細胞を含む胚などの2～5細胞クラスターさえも標的組成物を取り込むように処理される。開口部のサイズは適宜、すなわち狭窄部の幅がちょうどクラスターのサイズ未満となるように調節する。例えば、チャネルの幅は細胞クラスターの幅の20～99%である。

10

【0027】

細胞または細胞クラスターは、所望の細胞型を精製/単離または富化する。本方法で用いられる樹状細胞もしくは他の細胞、例えばマクロファージ、B細胞、T細胞などの免疫細胞、または幹細胞、例えば胚性幹細胞もしくはiPSなどは、精製または富化される。例えば、細胞表面マーカーの発現または他の同定できる特徴によって細胞を単離または富化する。樹状細胞は、-インターグリン(integrin)、CD11cまたは他の同定できる細胞表面マーカーの発現によって同定及び単離する。細胞に関して、用語「単離」は、細胞が天然ではともに発生する他の細胞型または細胞物質を実質的に含まないことを意味する。例えば、特定の組織型または表現型の細胞のサンプルは、細胞集団の少なくとも60%である場合に「実質的に純粋」である。好ましくは、調製物は細胞集団の少なくとも75%であり、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも99%または100%である。純度は任意の適切な標準的方法によって、例えば蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)によって測定する。

20

【0028】

ペイロード組成物、例えばポリヌクレオチド、ポリペプチド、または他の作用物質（例えばCas9及びgRNA）などを精製及び/または単離する。具体的には、本明細書で用いる場合、「単離」または「精製」核酸分子、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、またはタンパク質は、組換え技術によって産生した場合には他の細胞物質、もしくは培地を、または化学合成した場合には化学的前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含まない。精製化合物は、対象とする化合物の少なくとも60重量%（乾燥重量）である。好ましくは、調製物は対象とする化合物の少なくとも75重量%であり、より好ましくは少なくとも90重量%、最も好ましくは少なくとも99重量%である。例えば、精製化合物は、重量基準で所望の化合物の少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、98%、99%、または100%（w/w）のものである。純度は任意の適切な標準的方法によって、例えばカラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析によって測定する。精製または単離ポリヌクレオチド（リボ核酸(RNA)またはデオキシリボ核酸(DNA)）は、その自然発生状態においてそれと隣接する遺伝子または配列を含まない。単離または精製核酸分子の例としては、(a) 自然発生ゲノムDNA分子の一部であるが、それが天然に発生する生物のゲノムにおける分子のその部分に隣接する核酸配列が両方とも隣接していないDNA；(b) 結果として生じる分子がいかなる自然発生ベクターまたはゲノムDNAとも同一でないように、ベクターまたは原核生物もしくは真核生物のゲノムDNA中に組み込まれた核酸；(c) 分離した分子、例えばcDNA、ゲノム断片、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって生成された断片、または制限断片など；及び(d) ハイブリッド遺伝子、すなわち融合タンパク質をコードする遺伝子の一部である組換えヌクレオチド配列が挙げられる。本発明に従う単離核酸分子には、合成的に生成された分子、ならびに化学的に改変された及び/または修飾主鎖を有する任意の核酸がさらに含まれる。

30

40

【0029】

精製モジュールまたはコンポーネント、例えば精製タンパク質（複数可）ならびに精製核酸（RNA及び/またはDNA）から複合体を調製する。したがって、コンポーネント

50

の比は、所望の遺伝子編集結果が得られるように所望により制御及び調整される。本方法は、感受性の高いペイロード、例えばタンパク質 - RNA / DNA 複合体、例えば 40 kDa、50 kDa、75 kDa、100 kDa、及び最大 120、130、150、200、250、300 kDa 以上の複合体の送達に特に好適である。

【0030】

フローバッファー中に界面活性剤（例えば 0.1 ~ 10 % w / w）（例えばボロキサマー、動物由来血清、アルブミンタンパク質）を任意により用いる。細胞内への分子の送達は界面活性剤の存在に影響されないが、動作中のデバイスの閉塞を軽減するために界面活性剤を任意により用いる。

【0031】

いくつかの態様において、デバイスは、シリコン、金属（例えばステンレス鋼）、プラスチック（例えばポリスチレン）、セラミック、または 1 つ以上の適切なサイズのチャンネルもしくは管路を形成するのに適した任意の他の材料から作製される。いくつかの態様において、デバイスは、ミクロンスケールの形体をエッチングするのに適した材料で形成され、細胞が通過する 1 つ以上のチャンネルまたは管路を含む。シリコンが特に好適であるが、その理由は、この材料での微小パターン形成法が十分に確立されており、したがって、新たなデバイスの作製、デザインの変更などがより容易であるためである。加えて、シリコンの剛性により、ポリジメチルシロキサン（PDMS）のようなより軟質の基板に勝る利点を得ることができるが、例えばより高い送達率である。例えば、デバイスは 2、10、20、25、45、50、75、100 またはこれより多くのチャンネルを含む。シリコンをエッチングすることによってデバイスを微細加工する。圧力の印加によってチャンネルまたは管路を通して細胞を移動させる、例えば押し進める。細胞推進体が圧力を印加することができる。細胞推進体としては、例えば、圧力ポンプ、ガスポンプ、圧縮機、真空ポンプ、シリンジ、シリンジポンプ、蠕動ポンプ、手動シリンジ、ピペット、ピストン、毛管作用体、及び重力を挙げることができる。チャンネルに代えて、細胞をネットの形態の狭窄部に通過させてもよい。いずれの場合においても、細胞が通過する狭窄部の幅は、処理しようとする細胞の未狭窄状態、すなわち懸濁状態での幅または直径の 20 ~ 99 % である。

【0032】

本発明の様々な実施態様は以下の臨床及び研究における可能性の 1 つ以上も提供し得る。スクリーニングの向上及び投与量研究のための、細胞モデルへの遺伝子編集複合体またはそのコンポーネントの定量的送達を実現することができる。本方法は、タンパク質治療薬の同定または疾患機序の理解に役立つサイトゾル内でのタンパク質活性をスクリーニングする高スループット方法として採用され得る。本デバイス及び技術は、特定の循環血液細胞のサブセット（例えばリンパ球）、さらには全血への遺伝子編集複合体の細胞内送達；細胞、特に卵母細胞及び接合子内への複合体またはそのコンポーネントの高スループット送達；iPS 細胞を生成するための細胞リプログラミングを誘発する遺伝子編集を（任意によりドナー DNA などの遺伝物質とともに）導入することによる標的化した細胞分化；遺伝子導入または変異幹細胞株の開発のための胚性幹細胞内への DNA 及び / または組換え酵素の送達；遺伝子導入または変異生物の開発のための接合子内への DNA 及び / または組換え酵素の送達；樹状細胞（DC）の細胞活性化；iPS 細胞生成；1 つ以上の遺伝子の細胞機能及び / または疾患への寄与を調べるための正常または疾患細胞（例えば癌細胞など）における変異の作製；ならびに幹細胞分化に有用である。形成外科に関連して用いられる皮膚細胞も、本明細書に記載のデバイス及び方法を用いて改変される。本明細書に開示の遺伝子編集タンパク質の送達方法は、遺伝子疾患及び他の疾患を治療するための、CAR-T 細胞の生成、または造血幹細胞（HSC）の遺伝子改変にも用いられ得る。HSC に関する実施形態において、被検者は、オートログス、シンジェニック、またはアロジェニック編集 HSC を与えられ得る。様々な実施形態において、被検者に遺伝子編集細胞を与える前に被検者の細胞が焼灼され得る。例えば、被検者に遺伝子編集 HSC を与える前に被検者の骨髄細胞が放射線または化学的に焼灼され得る。いくつかの実施形

10

20

30

40

50

態において、本明細書に開示の方法または組成物を用いて、サラセミアまたは鎌状赤血球貧血に関連する遺伝子を編集する。本発明に従って、エクスピボまたはインピトロ、すなわち被検者の体外で処理した細胞は、病変の治療または診断を必要とする被検者へのその後の投与に有用である。代替的实施形態では、インピボ細胞プロセッシングを行う。

【0033】

様々な実施形態において、SHP2遺伝子を編集/変異させ、その活性を減少させるか、またはSHP2発現をノックアウトもしくは減少させる。T細胞の遺伝子編集に関するそのような実施形態において、T細胞は免疫抑制シグナルへの応答性が低下し、腫瘍に対する活性が増加する。そのような実施形態において、T細胞は腫瘍抗原への応答性が高くなり、癌の治療により効果的となり得る。

10

【0034】

本主題の態様は、細胞へのタンパク質 - タンパク質複合体及びタンパク質 - 核酸複合体、例えば遺伝子編集複合体の迅速かつ一時的な送達に関する。複合体の核酸コンポーネントは、デオキシ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA、例えばmRNA、gRNA)またはそれぞれ他の二本鎖もしくは一本鎖核酸化合物を含む。例えば、遺伝子編集複合体(例えばリボ核タンパク質(RNP))の送達は、遺伝子編集複合体のコンポーネント(例えばCasタンパク質及びgRNA)をコードする発現ベクターを細胞に送達した場合よりも早く遺伝子編集を達成し得る。例えば、同じ細胞が遺伝子編集複合体コンポーネントをコードする発現ベクターのマイクロ流体またはエレクトロポレーション媒介送達を受けた場合よりも0.1、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、または0.1~4

20

【0035】

本明細書に開示の各実施形態は、他の開示した実施形態のそれぞれに適用可能なものと企図される。したがって、本明細書に記載の様々な要素のすべての組合せが本発明の範囲内である。

【0036】

関連する機器、システム、技術、及び物品も記載する。

【0037】

本明細書に記載する主題の1つ以上の変形の詳細を添付図面及び以下の説明で示す。本明細書に記載する主題の他の特徴及び利点が、説明及び図面、ならびに特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

30

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1A】マイクロ流体システムの概略図であり、細胞は狭窄部を通過した後で送達物質(ペイロード)に曝露される。

【図1B】マイクロ流体システムの概略図であり、細胞は狭窄部を通過した後で送達物質(ペイロード)に曝露される。

【図2A】マイクロ流体システムの実施形態の概略図であり、チャンネル深さ、幅、及び長さなどのパラメータを示している。

【図2B】マイクロ流体システムの実施形態の概略図であり、チャンネル深さ、幅、及び長さなどのパラメータを示している。

40

【図3】図3A及び図3Bは、図1~2に示したマイクロ流体デバイスを用いて細胞質に遺伝子編集物質を送達されたK562レポーター細胞における、一連のフローサイトメトリープロット(図3A)及び組換え効率の棒グラフ(図3B)である。用いたレポーターについて、細胞株にはフレームシフトGFP遺伝子が存在する。編集を行うために、Cas9-gRNA複合体及びドナーオリゴヌクレオチドが送達されるであろう。複合体はGFP部位付近を切断し、オリゴヌクレオチドが切断部位に挿入される。オリゴの挿入に成功すると遺伝子が修正され、結果としてGFP発現が生じるが、それがこの図に見られるものである。したがって、このアッセイにおいて、あるものがオフであったのに対して遺伝子編集によりオンとなった。遺伝子(または文脈に応じてヌクレオチドもしくはその一

50

部)がドナーオリゴヌクレオチドの不在下で欠失していた場合、遺伝子はオフになると予想される。

【図4】FACSを用いて得られた4つの異なる細胞集団についての送達されたデキストランに対するMHCクラス1の β_2 ミクログロブリンコンポーネント(B2M)発現を示す一連のFACSプロットである。90psiで30-4チップを用いたRNPの送達の結果、エンドサイトーシス対照と比較してB2M発現は54.4%減少する一方で、90psiで10-4チップの結果、B2M発現の減少は25.2%となる。CAS9対照におけるB2M発現はエンドサイトーシス対照と有意差がない。狭窄部が長いチップの方が、RNP複合体の送達が多く、B2M発現の減少が大きいという結果になる。

【図5】指定の条件での機能的な編集の尺度としての、FACSによって測定した投与量依存的なB2M発現の減少を示す一連のFACSプロットである。

【図6】図6の最初の図面から図6の最後の図面にまで及ぶFoxP3ゲノム配列(配列番号56)を示す。FoxP3に属するエキソンを下線及びハイライトした文字で示す。FoxP3に属していないこの領域内の他のエキソンを下線のないハイライトした文字で示す。

【図7】FoxP3から翻訳されたアミノ酸配列(配列番号57)を示す。交互にあるエキソンを下線あり及び下線なしで示す。イタリック体の太字はオーバーラップスプライス部位を示す。

【図8】図8の最初の図面から図8の最後の図面にまで及ぶSHP1ゲノム配列(配列番号58)を示す。SHP1に属するエキソンを下線及びハイライトした文字で示す。SHP1に属していないこの領域内の他のエキソンを下線のないハイライトした文字で示す。

【図9】SHP1から翻訳されたアミノ酸配列(配列番号59)を示す。交互にあるエキソンを下線あり及び下線なしで示す。イタリック体の太字はオーバーラップスプライス部位を示す。

【図10】図10の最初の図面から図10の最後の図面にまで及ぶSHP2ゲノム配列(配列番号60)を示す。SHP2に属するエキソンを下線及びハイライトした文字で示す。配列番号60は以下の通りでもある。

【図11】SHP2から翻訳されたアミノ酸配列(配列番号61)を示す。交互にあるエキソンを下線あり及び下線なしで示す。イタリック体の太字はオーバーラップスプライス部位を示す。

【0039】

(配列番号60)

10

20

30

40

50

AGGCTCAAGCAATCCTCTCACCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGACTACAGGCGCGCGCCA
CCACGCCCCGGCTAATTTTTGTATTTTTGTAGAGATGGGATTTCACTATTTTGGCCGGGC
TGGTTCCCAACTCCTGGACTCAAGCGATTGCCCCGCTCAGCCTCCCAAAGGGAAGTGCT
GGGATTTCAAGCGGTGTGCCACCGCTCCCACCCCAAAGTAGTATTTATTGTAATTATTATT
ATTATTTTGAGACGAGTCTCGCTCTATTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCGATCTCGG
CTCAATGCAACCTCTGCCTCCCGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCTTCAGACTCCCAAGCAG
CTGGGACTACAGGCGCCCCCACCACGCCAGGCTAATTCCTGAATTTTTTAGTGGAGACGG
GGTTTCACCATGTTGGCCAGGATGGTCTCGATCTCTTGACCTCGTGATCCGCCCACCTCG
GCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCGCCAGCCTATTATTATTTTT
TTAGGCAGTGCTTGCCCTGTGCTCAGGGTGTAGTGCAGTGGCGTGATCACGACTCACT
GCAGCCCCGACTTCTCGGGCTTAAGTTATCTTCCCGCCGAGCCTCCACGCCCCGTTAGT
TTTTTGCATTTTTTGTAGAGATGAGGTCTTGCTTTTTTGGCCAGGCTGGCCTCGAACTCC
TTGGCTTAAGCGAACCTCTTGCCGAGCCTCCCAAAGTGTTGGGATTACGGGCGTGAACC
ACCGCGCCAGCCTACTATCTTTATCTTACAG**AAAGAAAAGAATGGAGGAAACCGAGGCT**
CGGAGACAGTAGGTAATTTCCCAAGGTTCCACAGCTAATGAGTGGAGCGGCGATTTGTG
GAACGAAATGAATGAAATCGATGTGGCAGCGGGCCCGACGGGTGGTGGCGTAGACGCG
GAGCGCGCAGCTCACACCTGGCGGCCGCGGTTTCCAGGAGGAAGCAAGGATGCTTTGGAC
ACTGTGCGTGGCGCCTCCGCGGAGCCCCGCGCTGCCATTCCCGGCCGTGCTCGGTCTCT
CCGCTGACGGGAAGCAGGAAGTGGCGGGCGCTCGCGAGCGGTGACATCACGGGGCGA
CGGCGCGGAAGGGCGGGGGCGGAGGAGGAGCGAGCCGGGCCGGGGGCGAGCTGCACAGTC
TCCGGGATCCCCAGGCTTGAGGGGGGTCTGTGCGCGGCCGGTGGCTCTGCCCCGCGTC
CGGTCCGAGCGGGCCTCCCTCGGGCCAGCCGATGTGACCGAGCCAGCGGAGCCTGAG
CAAGGAGCGGGTCCGTGCGGAGCCGGAGGGCGGGAGGAACATGACATCGCGGAGGTGAG
GAGCCCCGAGGGGCCGGCGCGGGCCTCGGCCCGGCCACCGCCGCGTTCGGTTAGCCCCG
TCCGGAAGGGGGCGCCCCGGCCGGGCTTCGGGCTCCCGCCCCGGGTGGGGTTGGGGGCC
GGTTCCCTCCTCGTCCCCTCGCCCTCCAGGGGCCGGGGGCCGGCCCCACCGCGCCCCAC
CCCTCGGGTCCCCATTCATTTCTGCTCCCCGAGTTCCGGCTGCGGCAGCCCCGGGGAT
GCCCGTCAGGCCCGGGGCAGGTAGAGCCGCGAGGGAACACGGGTGCCAGCGGCCAGGC
TCAGCGCCGATTCTGACCCATTGCCTCATGAGAATTGCCTCATGGTGATTCCGAAATA
ACCCTGCTCACTTGGGGAGGCTCCTTGGGACACGAGAGGGGAGTTGCGCGGGGCCGGGCC
CCCAGTGGTCTAGTCGTTCTGGCTCACTGTGCCACTTTCGTGCATTGGGGACTTCACGC
AGGACCCCTGACCTTTTATATGCTCCTTTGTGTCTTCTTTCTCCTACCCCTCACGTG
CCAGAAATGGAAAACTGACTGTATCTGCAGCCACTAGAAGTATTTCTTCTCTGCGAT
CTTCGCTTTGGGAGATGGAAAGGAAGGGAGCCGCATCTCGTTATTTAATCCTTCACTGCA
ACCTTAACAGTCAGGTCACCTTTACTGGTACCCGTTTTATGGATGAGGAAACCGAGGCCCA
GAAGCAACATGCTAGTAAATGACAAGATTTGAACTTAGGAGGATTAGTGAGTTAATGAG
ATCCTTTTGAAAGGTCAGGGTAATACTACTACTAATAAGCTAACATTTGCTTAGTTCTGACC
ACAGCCCTATCAGATGGCTACTATTATCCCCATTGTAAAGATGAGTAAACCGAGTTTCAG
AGGTAAAGTAAATTGCCAACCTCACAGCTAGTAGGTGGTGGAGACAGAATCCCTACTTT
TAATCACTATGTTGCTTCTATTATTTTGTAACTATTGCTAACCATTTGTAAGCCTAATT
TTGTTGTCAAACAGTAGTGTGACCTGTTGTTTCAGATAGTGATCCTGCTATTTTGTATA
GTCACTCTATATAACCACTCACACTTAAGACCCATTGTCTATTCTTTCCATGATTGTTCA
ATTATGGTCACTGTCTCAGACATTTAAAAACGATTCAAGCTATTGAGGCTATTTGAATG
AGATTTTCTTTCTTTTTTCTTTTTTTTTTGGAGACGGAGGCTCACTCTGTTGCCAG
GCTGGAGTGCAGTGGCGAATCTCGGCTCACCACAATCTCCGCTCCTAGGTTCAAGCGA
TTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAACTAGGACTACAGGCGCACCCTATGCCCGGCTAA
TTTTTGTATTTTAGTAGAGACAGGGTTTCACTATGTTGGCCAGGCTGGTCTCAAACCTCC
TGACCTCGTGATCCGCCGCTTGCCCTCCCAAAGTGCTGGAATTACAGGCGTGAGCCAC
CGTACCCAGCCTGAATGAGATTTTTCAAATATTAGGAATGTCTCCTCCAAACACACCTG

10

20

30

40

50

GCATGTTATTTCATACATGGATCTGGAATTTAAAAAGGGGAGAAAAAGAAACTGAGAACT
CGTAGGAAGTGAGTGACTTGGACAGGTCGGTTGGCAAGTGCTTACAGATCTGGGTAATAT
ATAACTGCATTTTCAACAGAACAGTGTATAGCCTCAAATGTTCTAATTCTTTAGGGAGCTT
TTAAATAAACAGTTGTCTATTCTTTAATCTGTCAAATAGTCATTGAGCCTTTTGTTCCTG
GTGTCTGCTCTTCCAGACAAGTAAGGATCTGCTGCTTTAGGAGACATCAGACGGGGCTGG
GGGTTGGGAAAAGGTCTGGGTAGTAATAGACCCTACATTGTCCAGTTTGTTCATTTAGAA
GCATAGAAGTGTGGGCATAGTCAAAGTAGCAAGTGGTAAAGATGACAGTTTGAAATGGAG
TAATTCCTTCTCCCTCCAGCCCTGGTATTATGCACCACCCAAAAAGCCGGGTATGAAC
ATAATACACATAATTTTGAATGATTCAATTATTTTTTGGATTATAAGCCTGTTTTATTTGT
TAACCAGCCTTAATGAGGTATAAATGACATGCAATTAATTGCATATATTTAAATGTACAA
TTTGATCAGTTTTTGACATACATATACACTTGGGAAACCACCACCATAGTCAAGATAATGA
ACACATCTATCACCCCTGGTAATTTTGCCTTATGTTCTTTATAATCCTTCCTTTGTTCTT
AGGCAGCCACTATTCTGCTTTTCTGTCACTATGTATTAGTTTGCATTTCTAGAAATTTTAT
TTTTAAAAATTTTAAATTTGTTGAATAGAGATGGGGTCTCACTGTGTTGCCAGGGCAG
TCTCAAACCTCCTGGGTTCAGTGATCCTCTCACCTTGGCCTCCTGAAGTGTGGGATTAT
AGGCATGAGACACCTGCCCAGCCCTAGAATTTTATTATTATTGTTATTATTGTGTTTTT
TTGAGATAGGGTCTCACTTTTGTGGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCAATCACTGCAGCC
TTGTTTTCTTAGGCTCAATCCATCCCCCTCCTCAGCTTTCCGGTTACTGGGGCTACAGG
TGTGCACCACCACACCCGGCTAATTTTTTGTATTTTTTTATAGAGACAGGGTTTTGCCATG
TTGGCCAGGCTGGTCTCAAACCTCCCGGGCTCAAGCGATCTTCCTGCCTCGGCCTCCCAA
GTGCTGGGATTACAGGCATGAGCTATTGCGTCCCGCCTCAAATTACTTTAACCTAGTAT
TAATTCATTCAACAGGAAGTTAATGAGCCAGGCAGGATAAAGCAGTAAGATAGGAAAATA
TTGCTATTTTCATGGCTGAGAGAGAGCAGACAAACACATGACTAAATAGGGCAATTTTCA
GTAGTAATAAATTTAGGAGGGAAAAATCCACAGAAATGTGAGGATGGGAGAATGCAG
TTAGTTTTGATAGGTGGTTTAGAGAAGGTGATCGTGTGAGCTGACACCTGAATGACAATT
AGTAGTCTGAATTTTGTTTTGCCTAATTATCAAATAACTCCTCTTGGGTTCCGGCTTTTA
TATGCATCCAGTAATTAATGTAAGTATATTCAATGTACTGATATCTCTCAGCATCATA
GGTAGGAAAATAAGGCATTCAGCAATTAAGTGAATCCTCCTTGTATGATGATGATGATGAT
TAGTACTGGATTTAGATTTTGGAGTTGCTTCTCTGCCCTTTTCTGCCTTTGTGAAACCAA
CAAAGCTGCCTGTATTTTCCAACCTCTTCCTTCAGCATGTGGTACCTCCTTTACATCTGTT
TTTGTGTCTCTGAAATCCATACGCGACGATGAGCTGAGAGGGGCAGAAAATTGAGCTTGT
TCTGAGACTGGAGGCTTTTGGTTTATCTCTTGCAGGTCAAGTACATTTTGTCTGGGCTC
TCCCTGGTGGCCACGTTTGTATCTCTCTGCGGGAGTAAATAAATTTGCCTTGTGAAAA
ATAACAGTTCTGTGTCTTTGCAGTGGAACCTGGGATGTCTTTATTAACGTTAGTCTCTGA
TGTAAGGCCAAGTTTTTGGTTAGAGTTGCTCAAGTGCAGAGGCCACTGCTAAGATGACTT
ACCCCTCGTGTCCATGGTCAATGTGGAGACTGTTATGAGTGGCACATGATGCTGGAAAAG
CAGAGCCAACTCATGTTTGTAAATTTGCTCTAGCAGGCCGTGGTGTACTTTGTTAGGCAGCC
ACAGAACAATAGAGAACTCAGCTTATTTCCCTTCCCTCTGGGAAACACAGACAGTACTT
GCCATCCAACGCCAATGTTTTTAAGGAAGAAAGAGGCAAAAAGTGATGTTGGCAAGGTCT
CTGGGAGTTGTGGACCCCAACCAAGATTGGAGACCCTGAAATGGATTGAGATGCCCTAA
AATGCAGCCAGTTCTACTATGAATTTTGGAGGACTTTGTGCCTTGAGCAAATGTGTA
TATGTGACGCTCTTTGACAACACTGAAATAGGAAAAATACTATCCATGTTGCGGAGGAGC
ACTGAATTTAGAGAGGGAGACAGACTTTTATGCCAGCATCAAATGAATTTGATAAAGCTA
GTACCAAAATGAAATTTGAAATTTTTTTTTTTTGAATAGAGTCTTACTCAGTCACCCAG
GCTGGAGTGCAGTGATACAATATTGGCTCACTGCAACCTCCACCTCTTGGGTTCAAACAA
TTCTTGTGCCCTCAGTCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGTGCGTGCCACCATGTCTGGCT
AATTTTTATATTTTATAGGGATGGGGTTTACCATTGTTGGCCAGGCCGGTCTTGAAT
CCTGGCCTCAAGTGATCTGCCCACCTTGGCCTTCCAAAGTGCTGGGATTATAGGCATGAG
CTACCACACAAGCCTGAATTTGAAATGTATTGGTATAGAATATACTGTTTAGAATGTAT

10

20

30

40

50

GTGTATATATGTATATTTGTATACTCATATAAACACAAATACACATTGTATGTGTTTCTG
TAATATGTATATCTGTCTACACATACATGTATATACACACATACAATGTCTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTGAGACAGGTCTTACCCTGTTGCCAGGCTGGAGACTGCAGTGGCATA
ATCTTGGCTCACTGCAGCCTCGACCTCCTGGGCTCAAGTGATCCTCCCATCTCAGCCTCC
TGAGTAGCTGGGACTGACTACAGGCACGTGGCATCAAACCTTGCCAATTTTCTATTTTT
TTGTAGAGTTAGGGTCTTGCTCTGTTGCCAGGCTGGTCTCAAATTCCTGGGCTCAAGCT
GTCTGCCTGCCTCGGCCTTCCAAAGTACTAGGATTACAGATGTGAACCACTGTACCTGGC
CTTTACAATGTCTATTTTAAAGATAATGGTTCAAGTTTTTATCATCCCACTGGCCTACTC
TAATGAAACATATCTATCCATTGATTGAAGAATTATTTATGGTGGGATAACTCTGTGCCAGG
TACCGTGCTAGGCATTGAGTATTCAGGTTTTAGGAAACAGCACATGCAAAAGTGCTGAA
GTGGGAGAAGATCTCGGAGTGATTGAAGGCTAGGAGAGAGCAAGTGTTGGGAGCTGTGAGG
CTGGGAAGGTGGGAGGTAGGTGGGAGCAGACCACATAGGGATTCTTAATGTCTTTAGTGT
CATGTGGACCATGGAGAGGAGTGATGATTGTATTTTAGAGCAATGCAAAATCATAGAAG
GATGTGATCGGGGAGTGGCATGAGCTGATCTATTTAAAAATATTTCTCTGGCTGCTGTG
AAGGAAGGATTGTAGGAGGCAGGAGTAGATTGAGGAGATGAGACAAGTGATGAGAGAGG
CTTTGAACTTGGGTAAAAGTAGTTTGTGGAAAGTCTTTTTTGGAGGTAGTTTTGTGTTAT
TGCTTGTGTCATCAAAGCAGAGATGCTGACCAATGAACTCCATGAGAAAAATAGTGATTTA
TAAAGACATATCTATGCACCTGCCATTAAAAAGCTGCTTGGAAGGATAAAAAAGCTG
CTTTAACAACCTTTTTTTTTTGGAGATGGGGTCTTACTCTGTCAACCAGGCTCACGACCTCA
GCTCACTGCAACCTCTGCCTCCAGGCTCAAGCATTCTCCACCTCAGCCTCCCGAGTGG
CTGGGACTGCAGGCACACGCCACCATGTCAGGCTAATTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
ATGT
GCTAATTGT
TGTAGAGATGGGGTTTTGCCATGTTGCCAGGCTGGTCTCAAATGTTGCCAGGCTGGT
CTCAAACCTCTGAGCTCAGGTGATCCACCCGCTCGGCCTCAAAGTGCTGGAGATTACA
GACGTGAGCCACTGTGCCACCTAACAACTTTAAAAAATTTTGACATTTAGTAGGATAT
TTATTGCATTATTGTTGAGATGGCAAAATATTGGAGACAAGTGAATGTTTCATCAGTGGG
GGGGGCTAGTTAAATGAAATACAGTGTAGCATGCATTAGAACACTTTTCAAGAATTTAAC
TTTTTTGTAGCCTTTTACTTATAATGCTTGTCCCTATTGATGCCTTTTTTTTTCAGCATG
ACTTACTCTTTTACTATAGGATATTAATAATTAATTAGATTAGAAATGAGGAATATTCTT
GTAATCTGTAGAAAGTAACAACTATAAACTTATCCCAAGAACAAATATAATAATTTT
TCTGGAGTAGCAGGTAAGAAAGATATAAATTTATATGTATACAAGAACTGAAATAGAC
TTTATACATTTAAAGGTTACAAGTGCAGTTTTATTACATGAATGTATTATCCAGCATTGA
AGTCTGGGCTTTTAGTGTAACCAGCACCTGAATAACATACATTGTACCCATTAAAGTAATT
TCTCATCCCTCAAACCCCTCCACCCCTGAAATTAGACTTTGGATCCCTAGTTTAAATTCC
ACCCCTCTCTTTTTTTGAGACAAGGTCTCACTCTGTCAACCAGGCTGGAGGGCAATGTTG
CAATGATAGCTTACTGTAGCCTCAACCTCCTGGGCTCAAGGGATACACCTCCTCAGCCT
CCTGAGTAGCTGGAAGTGCAGGCGTGACACCACCATTCAGCTAATTTTTTGATTTTTTT
ATAGAGATGAGGTGGAAGTCTGGGCTCAAGCGATTCTCCCAAGTGCTGGGGTTACAC
ACATGGGCCACTGCCCCAGCCTAAACCTCCTTTCTCAGTATAGCAGCCTTGAGATGAAG
TTCCTGAAATTACTGGCCAGCTTGACTGTTCCCCACATCACTGGAGGAGGGGGATGCAT
AGATAAAACAAAATATTTCAGCATCATTGTATTTCTTTTTGTTTTCATCAGCATCTTTTTT
TAAACTCACTTGACATAAGTCCCTAGCCTCAAAGAGTAAAGCCTTTGCAGAATCTGCAT
TCAGATTTTCGGGTGTGATTTCCCTGACAGATAGTTCAGGTTTGTAAGTCTTTTTTTTTT
TTTGAGACAGAGTTTCACTCTTGTAGCGCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACCATCTTGCCCTC
ACTGCAACTTCTGCCCCCTTGATTACGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTG
GGATTACAGGCATGCGCCACCACCTGGGTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGATGGGGT
TTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTTTTGAACTCCTGACTTCAGGTGATCTACCTGCCTCAG
CCTCCCAAAGTGATGGGATTACAGGTGTGAGCCACCGCAGCCGCCAAAACCTTTGTTTTT

10

20

30

40

50

TTTCCTCTTTTTGTTGCTGAGAAATGTAACTCTTACAGACACAAATTATGTCTCCCATT
TTTTAAAAACCACTCAACACAGGGGTCATGTGTAATAGGCCCTGGAGCTTATTTTAGACA
TTGATTTGAGGCTCTTTTCCCCAAGTGCTGGTTTGTGTGTGTGTATGTGTGTGTAAGT
CTTTCTATGAGATGAGTGGTACCTACCTGGGCTGTGTGATCTTTTTTATTTTATTTATTT
TATTTTTGTAGATACGAGGTCTCACTATGTTGCTCAGGCTGGTCTGAACTCTGGGGCTC
AACCTATCCTCCCTCCTTGGCCTCCTAGAGTGCTGAGATTACAGGTGTGAGCCACTGCAC
CTGGCCAGCGATCCTTAATAAATATAGATAATGGCCGGGCGTGGTGGCTCACACCTATAA
TACCAGTACTTTGAGGGGCCGAGGCTGGCAGGTCACCTGAGCTGAGGAGTTTGAGACCAG
CCTGGGTAAACGTGGGTGAAACCTGTCTCTACAGAAAATAGAAAAATTAGCCAGGTGTGG
TGGTGCAATGCCTGTAGTCAAGCTACTTGGGAGGTTGAGACAGGAGAATTGCTTGAACCT
GGAAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATCGTGTCTTTGAACTCCAGCCTGGGTGACAGA
GTGAGACCTTGTCTCAAAAAAATATAGATATAGGCTGGGCGTGGTGGCTCACACCTGT
AATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGTGGATCAGGAGGTCAGGAGATCGAGACCAT
CCTAGCTAACATGGTGAAACCTGTCTCTACTAAAAATACAAACAATTAGCCAGGCCTGG
TGGTGGGTGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCGTGAACCC
GGGAGGTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGACTGTGCCACTGCCCTCCAGCCTGGGCGACAGA
GCGAGACTCTGTCTCAAAAAAATCTATATATCTATATATCTATATCTATATAGAT
ATAGATATAGATAAATGCCAGATGATGGCTGGTTAGAAGGGATTGTCAGGGGCTGGCAGGT
TTTGCAAGGTGTTAGAAATGAGCAAGATGAGGAGAAGGATGCTTACTTCCCTCTCCTTGTA
CTCTCTACCCCTCCCTCAGTGTTTTTTATTTTTATTTTTATTTATTTATTTTTTTTG
AGACAAGGTCTTGCTCTGTCAACCACTGGATTGCAGTGATGCAATCATAGCTCATTGA
AGCCCAACTCCTGGGCTCAAGTGATCCTCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAAGTGGGACCA
CAGGTGCGTACAACATATGCCAGTAAAGTTTTTCATTTTTTATACAGACGGGGTCTTGCT
ATGCTGTCCAGGCTGGACTTGCACTTCTGGCTTCAAGTGATTCTCTTGCCCTCAGTTTCCC
AAAGTGCTGGCATTATGGGCATAAGCCACTGTGCCTAGCCCATCAGTGCTTTTTTATCCT
TTACTCCTATCAAAATTCATTCAGTCAGCAGCCATTGATCAAGTGCCTACTATATACATG
TTGAGGACTGGAATTTATTTGTCTCTTCTCATCTTATCTGGACCTCTGTGTTAATTGT
AATTAAGTGAATCATCTGTATTAATTGTAATAAACTTGTTGATAAACTCAAATGAGGC
CATACCGTTTTGCCACTTCCCTCCTCCAGGTATATGGATGTACTTACATTGCAGGTT
TCATTTGTTGGTTTCACTTTTTAACTAAGCCCTATTGTGTCAAATTATGCTAGGTGTGAG
ATGGGGAGTTCAAGCTGTGTGTTGTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGCCTCACTTACTA
ATATACAAGCGCTTATAACCTTTGAGGCTGGCCCTATACATTAAGATTTTTATTAATTCC
ACTGTTCTTTATCTTCTCTTACTAAGTTCTCAGGGTCGAATGAACTCTAAGTGCCTTG
CTAGTGATAAGCAAGTTGCAAATTACAGAATTGTCAGTGATTGAATACAGTATTAACC
TGTAAGTGGGAAGCATTTTTGGTAATTATGAATACTTTTGAAAAAAGCTATGGAA
GGAAAGTTTAAAAATCTACGAAAGCTCAAGTAGATGGTCATGGAATAGCTATTTCAATTT
TAACTATATATTTACTTATTTATTTATTTATTTTGGAGACGGAGTTTAGCTCTTGTGCCC
AGGCTGGAGTGTAATGGCGTGATCTCAGCTCACTGCAACCTCCACCTCCCGGGTTCAAGC
TATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTATAGACATGTGCCACCACGCCAGG
CTAATTTTGTATTTTATAGTAGAGACGGGGTTTCTCCACATTGGTCAGGCTGGTCTCGAAC
TCCCAACCTCAGCTGATCCGCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCGTGA
GCCACCGCGTCCGGCCTCTAACTATTGTTTGAATAATGTAGAGACAGCTCCAGAGCCA
TGAAGAAGTGATGAAGAAGCAGTGTTAGCTTAAATGACATACATGTCACAATTGCCTAT
GTGAACTATCATAATTATGCATGAGAAGTATCTATCCTGCATAACCTCCACCAATAATA
ATAATGTTAATAATAGTGAAACTAATGTTTATTAAGTCCTTACTGTCTCCAGCCTCTGT
GCTAAATACTGGTTACTAAGTTTCCCTGAAATACTATTCTCATCTGTTTGTCTTAAATA
ACAGGATAGCATAATTGTAAGTTGTAATGAAATAATACAGTTTATGTAATAAAGGGTA
AAAGAGAAGACCACCTACCTTATCTTCTGTTGCTGATCTGGATGGATGTAGGTGGTGT
ACCTAGTTTACCTTTGGCAGTTGAACTACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGA

10

20

30

40

50

GACAGGGTGGGCCAGGCGCAGTGGCTCACGCCTGTAATCCCCGCACTTTGGGAGGCTGAG
GCGGACAGATCACTTGAGGTGAGAAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCT
GTCTCTACTAAAAATACAGAAAAATTAAGTGGGTGTGGTGGTACACACCTGTAATTCCAG
CTACGTGGGAGGCTGAAGCAGGAGAATCGCTTGAACCCGGGAGTGAGGTTGCAGTGAGC
TGAGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGCAGGACTCCGTCTCAAAAAAAA
AAACAACAACAAAAAAGAAATTTTTAGAAATATGAGATGACAGCAAGAATGAGGGTATT
AAAAAGAAATTTTTAGAACTAAATAGCAGAATGTAATGGTGAAAAAGTTTGATTCTCAAG
TCTGCTTTGCACACAGGCATGTGGCAAACATTCAGTAAGTATAGCTGTAATTTAACCAG
CTGTAATGTATAATAGCCAACATATCACATTTTTCTTTTTCTTTTTTGAGACAGAGTCT
TGCTCTGTTGCCCAGGCTGGAGTGCAAGTGGCACCATCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCCT
CCTGAGTTCAGTGATTCTTGTGCCTCAGCCTCTCAAGTAGCTGGGATTACAGGTGTGTG
CCACCACACTCGGCTATTTTTTGCATTTTATGATAGAGATGGGGCTGGTCTTGAACCTCCA
GCCTCAGGTGATCTGCCTGCCTCAGCCTCCCAAAGTGTGAGATTACAGGTGTGAGCCAC
AGCGCTGGCCATATATTGCTTTTTCTTATTATCAGAGCCAGTTCATAATTGTGGAAAA
ATAGTGTGTTGTAACAATGTAAGTATGGATAAATCATCTTTTTAATTTTGTGATTCATATA
GGTTTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTTATCTTGAGACAGAGTCTTGGTCTGTCAAC
CAGGCTGGAGTGTAATGGCACAACCATGGCTCACTGCAGCCTCAGATGCCTGGGTCAAG
CAATCCCTCCCGTCTCAGCCTCTAGAGTAGATGGGACCACAGGTGTGGGCCACCATGCCTG
GGTAATTACAAAACCTTTTTTTTTTTTTCTAGAGATGAGGTCTCACTATGTTGCCCAGGC
TGGTCTCAAACCTTTGACCTCGCTTCAGCCTTTAGAGTAGCTATGACTATAGGCATGTGC
CATCACCAGCTAATTAATTTTTTTTTCTTTTTTTTTTGGTGGAGATGCGGTCTTACT
TTGTTACCCAGACTGCAAGTTAGTTTCAGATATCAACATTTGGTGTTCCAAATGCACGG
GGAGGCTTTGGAGCAAGTTTTTGGCTCATATGCATAGGTGTCTAGACATTCACTTTGCA
AATCTTATTAAAAATGACTACAGTAGCATACAGATAGGGAAAAATATCCTTGTCAAGTACC
ACCGATTGGGTGAGAAGAGACTGTATATTAACAAACATGACCATCTTTTTGCCACATAAA
TTGCTGGTGGGGCCAGTTTGAAGAGGGCTTTGTGAGTGCCTTCTGCCTCTTCCTCTTGA
GTACGTGGAGTTGGAGTCATCCTTGACAGCCTCCTGTGACACCACCCGGGTACAGATG
TGAAACTGTGTGGATGTAGGAGAGAGCAGTGATGGGGCTTACCCAAGGTGCTCTTCCT
TCCCTCTGGCCACAAATGTTTAGTAAGGAAGTGTCTGTATTAACCATTTGCTAGGGGCT
GCAGATACGGTGGTGAAGAAATAGACATGTTCTACTCGGGATGTGAGGTGGGAGGATT
GCTTGAGCCCAGGAGTTGGAGCTGCAGTGAGCCATGATCACACCACTGCACTCCAGCCTG
GGGGACAGAGCGAGACCCTATCTCTAAAAACAATAAAAGAAATAGATGTGTCTTCACC
CTCATGGAACTGCCAGTCTAGCCTTCAACCTGGTGACTGTAGAAATGTGTGATTAGATGC
TATATTGCCATGTTGAGTGTCAACCTTGAGAAGCAGGGTTTTTTTTGAGAAGGTAGGATG
GGGGATCTGACTGTGGGACCACAGAGGAAAAGCACATGTAAAGCTGCGTGTACCAAC
TGGAGGAAATCGGAGACGTGATCAGAGAACCAGAGTCAACAGGGGCCATGCCGTACAGG
GTCCTGTTAAGATCTGTGACTTTTTTCTAAACGTTTTCTTCTGGATAACATCTAAATTTT
TAGTTCCAAATGTGAACTCCAAGGGCGTTCTGTGCTAAACATTTTGCATGTATTAATTA
ATTTCCACCACACAACATTGCTGTGAATTAAGACAGTTTCTAAGCATGGCAAGAAACCCA
GAAATCATAATGGAAAAATCTGATAAATTTAACAATGCCAACATGAACCTCTGTAGGAAA
AAAAATACCACAGACTAAAAAGGGGGGAAAAAACAGAGACAAATATTTGCAACACATA
CAGTAAAGGGTAATTTCTGGTTATATCAAGAGCTCCTACAAATCAGTAAGAAAAAAAT
CTAATAGGAAATGAGCAACGACAACTGACAACTCATAGAAAAGGAAACACAAGTGGTCT
GAAACATGAAAAAGTGTCTCAGTCTCAGAAAGAAATGCAAACTAACATGGTACCATTTT
CATTAAATCAGATAGACAAAGATGAAAGAGTTTGGTAATGTATGTAGTATTGGCACAAGTG
AGGGAAAACAGGGGATTTCACACTCTATGCCCGTCCAAACCAGTACCTTATTTTGGGGT
GGTTTGACAAATTTTGTCAAAATAAAAAAATATATATAGTCATTTGCCACATAATGATG
GTTCAAGTTGATGATGGACGGCATAATAATGGTGGTCCCATAGAATATAATGGGCTGGG
TGCAGTGGCTCTCACCTGCAATCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGGGTGGATTGCCTG

10

20

30

40

50

AGGTCAGGAGTTTGGAGACCAGCCTGGCCAAACATGGTGAAACCCTGTCTCTGCTAAAAACA
TACAAACAATTAGCCAGGCATGGTGGCGGGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCAG
AGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCGGAAGGCGGAGGTTGCAGTGAGGTGAGATTGGGCCAC
TGCACTCCCATCTAGATGACAAGGCAAAACCTCCATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAT
ATTATGGGCCAGCCACAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGTACTTTGGTAGGCCAAGGC
AGGAGAATCATTTGAACTCAGGAGTTTGAGACTAGTGGGGACAACATAGCAAGACCCCAT
CTCAAAAAAAAAAGATTATGGTGGAGCTGTCCTGTATAGACATACCATTTTTAACTTTTT
TTTTTTTTGAGATGGAGTCTTGCTGTGTCAACCAGGCTGATGTGTAGTGGCGTGATCTGG
GCTTACTGAAACCTCCACCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCTTCTTGAGTA
GCTGGGACTGCAGGCGCAGGACACCATATCTGGCTAATTTTTATATATTTAGTAGAGATG
GGGTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGACCTCAAGTGATCCGCCTGCC
TCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATTAGCCACCATTTACAGGCACCTGGCCAC
CATTTTTAATCTTTTATATTGTATTTAACTGTACCTTTTCTATGTATGGATGTGTTTAG
ATACACAAATACCATTGTGTTACAGTTACTTACAGTATTACAGTACAGTAGCATGCTGTAC
AGGTGTGTAGCCTAGGAGCAATAGGTTATACCATATAGCCCAGGTGTGTAGTAGGCTCTG
CCATCTAGGTTTGTGTAAGTACGCTCCATGATGTTACCACAGTGACGAAATCGCCTAATG
ATGATTTTCTCAGAACATATTCTGTTGTTAAGCAATGCATGACCGTATCTTGACAAAGC
CATTTTTATTTCTAAACCTTTAATTTTACAGATTTATTTGTAAAAAGTATGTAAAAATGATT
GTAAAGGATATGTTCTGCTGCATTATTTGTAATAACAAAAACCAGAGGATAACATAAAT
GTCCTATAAGAAGGGTTAGATTATGGATGGCACATTCATACAATGGGGTATTATGTAGCC
ATTGAATAAAAGGGTACTGGCTGGGCGCAGTGGCTCATGCCTATAATCTCAACACTTTGG
GTGGCCAAAGAAGGAGGATTGCTTGAAGCCAGGAGCTTGGGGCCAGCCTGGGCAACATAG
CAAGACCTATCTCTACAAAGGAAAAATAAAACAATTAGCCAGGTTTGGTATTGGACACC
TTCATGGTCCCAGCTACTGAGGAGGCTGAGATTGGAGGGATCGCTTGTGCCTGGCAGGTT
GAGGCTGTAGTGAGCCATGATTGTGCCACTGCACTCCAGGCTGGGAGATAGAGTGGGACC
CTATCTCAAAAAACAAAAACAAAAACAAACCTCCTGTAAATGTCAAGAAGTCCTAGA
TGIGGGCCAGGTGTGGTGGCTCACACTTGTAAATCCCTGCACTTTGGGAGGCTGAGGCCAG
GAGTTTGAGACCAGGCGAGAGCAAGATAGCAAGACTCCATTTCTACAAAAATAAAAAAA
TTAGTTGGGCATAGTGGTGCATTCTGTAGTCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGGGAG
GATTGCTTGAGCCTGGGAGGTTGAGGCTGCAGTGAGCCATGATCACACCTCTGCACTCCA
ACCTGCGCAACAGAGTGAGACCTGTCTCTAAAAACAACAACCAAAAAACCCAGCAAAG
TACTGATAAAGATCTTTGGCTGGGCGCAGTGGCTCACACCTGTAATCCCAACACTTCAGG
AGGCTGAGGCGGGCAGGTCAACAAGATCAAGAGATCAAGACCATCCTGGCCAACATGGTGA
AACCCGGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCGTGACCTGTAGTC
TCTGCTACTCGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCACTTGAACCCAGGTGGCAGAGGTTGCAG
TGAGCCGAGATCACGCCACTGCATTCCAGCCTGGCGACAGAGCAAGACTCCGTCTCAAAA
AAAAAAAAAAGAGAGAAAGATCTTCAAGTTGTAGTATGTGAAAAAATCAGGGTGTA AAC
AAGAGAATCCCATTTGTGTGTGTGTCGAGTGTGTTTACACAGGCTCAGAGGGAGTAGTG
TGTATATGCACATGAACATACGTGTCAGTGTATATATGTATATATACAAGGTTGTGGGTT
TGTTTGTTTTTTTTTGAGACAGAGTCTTACTCTGTTGCCAGGCTGGGGTGAGTGGTGCA
ATCTTGACCCACTGCAACCTTCACCTCCCAGGTTCAAGTGATTCTTGTGCCTCAGCCTCC
CAAGTAGCTGAGACTACAGGCACGCACCACCATGCCAGTTAATTTTTGTATTTTTAGTA
GAGATGGGGTTTCATCATGTTGCCAGGCTGGTCTGGAACCTCCTGGCCTCAAGTGCTCTG
CCCGCCTTGCCCTCCGAAAGTGCTGTTGCCAGGCTGGAGCTCAGTGGCACAATCGCAGC
TCAGTGCAACCCCGACGTCCCAGGCTCAGGCAATCTTTCCGTCTTAGCTTCCCAAGTAAC
TGGGACTACAGGTGTGTCCATCAATGCCCCACCAATTTTTTAATTTTTTGTAGAGATGG
GGTTTCCCTACGTTGCCAGGCTGATCTTGAACCTCCTGGTCTCAAGCAATCCTCCACCT
CAGCCTCCCAAAGTGCTGCGATTACAGGTGTGAGCCACCTTGCCCTGCCCTGTACAAAGA
TCTGCATAAAAGCAGTTAATAATACTATGTTTGAGGCTGCCATCACAGGGGTGAGGTCAA

10

20

30

40

50

50

GTGTTTCTTAGAGACAGGGTCCCACTCTTGCCCTGGCTGGAGTGCAGTGGCGTCTTGATC
ATAGCTTACTGCATCCTCAAGCTGCTGGGCTTAGATGAACCTCCACCTCAGCCTCCTGA
GTAGCTGGGACTACAGGAGCACACCACCATACCTAATTTTTTTTTTTTTTGAGACGAAGTC
TTGCTCTGTCCCCAGATTGGAGTGTAGTGGTGCATCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCC
TCCCGGGTTCAAGCGATTCTCTCACCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGAGACTGCAGGTGCAT
GCCACCATAACCCGGCTAATTTTTGTATTTTTTAGTAGAAACAGGGTTTCACCATGTTGGC
TAGGCTGGTCTCAAACCTCTTGACCTCAAGTGATCCACCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGCT
GGGATTACAGGCTTGAGCCACTGTGCCCTGGTCCCTGGCTAATTTTTAATTTTTTTGTAGA
GATGGGATCTTGCTATGTTGCCAGGCTGGTCTTGAACACCTGGCCTTAAGCAATCCTCC
CACCTTAGCCTGCCAAAACACTGGGATTTACAGGCATGAACCATTGTGCCCTGGCTTGT
TGTTTTTAATTTCTATGTTGTTTTGAAGGATGTATGGGGAGAGATGGATTTAGGCAATCA
TCGTTGTCCTTGGCTACCTGAAAGTCCAGGCACTCTCTAGATACTTTATAAATATTAAC
TCATTTTATCCTCTCAACAACACTATGACATGGGTACTGTTACACCTTCCATTTTATAGG
ACTTAACAGAGAGGTTAAATATGTAGCCAGGGTCACAGAGAGCTGGGCTTCAGACCAAG
ACAATCTGGCACCAGAGTCTATGTGGCTACCCCTAAGGCTTTGCCACCATGTGTTAGTGA
TTCTCAGCCTGTCAATTTGGGGAGGGGATTGCCCTTTTTTTTAACTTTTTAAAAAATTTA
TTCTTATTTTATTATATTTTTGAGACAGAGTCTCCCTCTTTTGGCAGGCTGGAGTGGAG
TGGTGTGATTTTCAAGTCTACTGTAACTCTGCCCTCTGGGGTTCAAGTGATTCTCATGCCCTC
AGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGTTGCCAGCCACCATGCCAGCTAATTTTTGTATT
ATTATTATTATTATTGAGACGGAGTCTCGCTCTTTTGTTCAGGCTGGAGTGCAGTGCTG
TGATCTCGGCTCTCTGTAACCTTCGTCTCCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCT
CCGGAGTAGCTGGGACTATAGGCGCGCACCACCATACTGGCTAATTTTTGTATTTTTTA
GTAGAGACGGGGTTTCACTATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACCCTGACCTCAGGTGAT
CTACCTGCCTTGGCCTTCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCATGCATGGCTG
GATTGTCTTTTTTAAAAAACAACAAAAAACCCTAACCATAAACCCA
ATATCTGAAAGATTGGTCTCCACACCTGTGTTATATAATAATTAGTTTTTCCATTTTT
TTCTCTTGGTAGAAGGCACATATGCCACTCAGTTTTCCAGTTGCCACACCCAATTAACAT
AATTGTTTTGCAGCCAAAAGCAAAAGAGAGTTGACATTTTAATTAGCTTATGTAGGTAGA
CAAATTGAGGCCTAATGTAAGAGTTTCATTATACCTTTTTGAAAACTATAAATAGCTAG
AAGCCAGTTGTCACTACTTTTTGATTCCCTAGAATTCTGGGCATCTTTCATCTGGAACCA
CAGATGAAAGAAGCTGCAAGGAAGGATTTTTTTCTTAACGGAATAGTTTAACCATTCTG
AATGCAAAAGTATTGGATGCTAGAATAATAGGTATCACATAAATTGAGGTTGACGTTTTT
CCGGGTGAAATTTCTATTCTGTCTCAATTTTCCTTTTTTTTTTGGAGACGGAATCTTGCTCTG
TCGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGATCTCGGCTCACTGCAAGCTCCACCTCCTGGGT
TCATGCCATTTTCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGGGCTGCCACAAC
ACCCAGCTAATTTTTTTGTATTTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCCAGGATGGTCTCAATCT
CCTGACCTCGTGATCCGCCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCCGGGATTACAGGCGTGAGCC
ACTGTGCCTGGCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGACAGAGTCTCGCTTTG
TTGCCTAGGCTGGAGCGCAGTGGCATGATCTCAGCTTATTGCAACCTCCGCCTCCCGGT
TCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTATCTGAGATTACAGATGTGTGCCACCAT
GCCTGGCTAATTTTTGTATTTTTTAGTACAGATGAGGTTTTGCCATGTTGCCAGGCTGGC
CTCAAACCTCTGACCTCAGGTAATCCTCCTGCCTCAGCTCTTCCCAAAGTGCTGGGATTA
TAGGCATGAGTCACCGGGCCAGACTCAATCTTCTGACAAGCTCTCAGAGAGAGTAAAAA
GCAAAATGAATATTTTATTATTTTGTATCTGAGCTTTACGATTTTTCTTTTCTTTTCTTTT
TTTTTTTTTTTGGAGATGGAGTTTTGCGTTGTTGCCAGGCTAGAGTGCAGTGGTGGCGAT
CTTGGCTCACCGCACCTCCGCTTCCCGGTTCAAGCGATTCTTCTGCCTCAGCCTCCTG
AGTAACCTGGGATTACAGGCATGCCACCATGCCCGGCTGATTTTGTATTTTTTAGTAGGG
ACAGGGTTTTCTCATGTTGGTCAAGGCTGGTCTTAAGCTCCCGACCTCAGGTGATCCACCT
GCCTCGGCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAAGCATGAGCCACCTTGCCAGCCTTTTTTT

10

20

30

40

50

TTTAAATCTGAGAAGAGGCTCTTGCTCGATTGCCTAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATCTC
TGCTCACTGCATTCTCTGCCCTCCAGACTCAAGCAATCCTCCACCTTAGCCTCCTGAGT
AGCTGGGACTACAGGCATATGCCACCACACCTGGCTAATGTTCTGATTTTTTTGTAGAGA
CAGGGTTTTGCCATTTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGACCTCAGGTGATCCTCCCA
CCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACTGTGCCTGGTCTCCTTCAC
TGTTGTAAGATACTTGAATTGGGTCAATATTTGTGGAGAAGTCTCTTAAAAGTTCACCTG
ATTGTCAGTACTAGAACTCTACATTTAATATTGACATATTCCTGGGAGCATTTTCAGAGCA
TTCTATTAGCTTAGAAAGGTCCAGGATAATTTGACTTTAGAAGTACTGTTACCATGAAT
CTCAATGACTTTTTGAAATCCATGAAGAATATCTTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTCTCA
CTCTGTCGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGATCTGGGCTCACTGCAAGCTCCGCCTACTG
GGTTCACGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACAGGCACATGCCAC
CACGCCTGGCTAATTTTTTTGCATTTTTTAGTAGAGAGGGGGTTTCACTGTGTAGCCAGG
ATGGTCTCGATCTCCTGACCTTGTGATCCGCCCCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATT
ACAGGCGTGAGCCACCGCGCTGCCCAAGAATATCTTTTTGCTGGTAACTAGAGAGGACT
CCTCTGAAGCAGATGCCATTATGATGGATTTATCATTTTATGGGTTTTAAAAAACATTT
TATTTTTGAAATAATTTCAAATTTAAATAAGAGTTGCAAAATAGTACAAATAATTCGTGTT
AACTTTTCATCCAGATTTACAAGTCAACCTTATACAGGTTGAGTATCCCTTATCCAAAT
GCTTGGGACCAGAAGTGTGTTTGGATTTTCAGATTTTTTCGAATTTTGGAAATATTTTTATTA
TATACCTTAAGCATCTCTAATCCCAAAATCTCAAATCTGAAATATCTGAAATGCTATGATG
AGCATTTCCCTTTGAGTGTTATGTGGGCACCTTTTTAAATTTATTTAATTAATTTATTTTTT
GAGATGGAGTATTGCTCCATCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGCAGGATCTTGGCTTATTGC
AACTTTCACCTTCTGGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCCCCTGAGTAGTTGGGACT
ATAGGCGCTTGCCACCACGGCCGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTCAC
CGTGTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTCAGGTGGTCCACCTGCCTCCGCCTCC
CAAAGTGCTGGGATTACAGGAGTGAACCACCGCGCTGGCCATGGATTTTGCAGCATTTT
AGATTTGGGATACTCAACCTGTACCATGTTTACTCTCTCTCCTCTCTCTCTCTCTTTTT
TAAATATATATATAC
ACTACACATATATGTATGTATATGTATGTATTTTATATATAAAATACATATCTACATATA
AAATACACATGTATATATACATGTGTACATATATGTGTCTCTATATTTAAGTTTTGTTGG
AACCACCTGAGGGTAAGTTGCAGACATGGCGTCTCATTGCTCCAAAATACTTCAGTGTGT
ATTTCTTAAATACAAGGACACTTGGTTACATAACCACAGTATATCACCAAATGTATATTA
TAACAAGACTACCATCAAATCCTTATATCTCTTTCAAATTGTTTTAGTAATATCCTTATA
GCAAAAGACAAAACAACAACAAAACCTGTTCCCTTTTTATTTTGTGTTTGGTCCATTA
TATGTCCAGGTTATGCATTAATGCATTGTGTTACTTGCTAAGTCTTGTTACTGGCCTTTA
ATTAGGATATTTCTTTGCATCCCGCCAAACTCCTCTTCATGGTTGTATCTTTTTTTTTTTT
TTTTGGAGATGGAATTTTGCTTATGTTGCCAGGCTGGAGTATAATGATGCGATCTTGGC
TCACTGCAACCTCCGTCTCCCGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAAC
TGGGATTGCAGGCCTGCGCCACCTTGCCAGCTAATTTTGAATTTTGTGAGACGGGGTT
TTGCCATGTTGGTCAGACTAGTCTCGAACTCCTGACCTCATGATCCGCCCCGCTTGGCCT
CCCAAACCTGTTGGGATTACAGGTGTGAGCCACTGTGCCCGGTCTTTTTTTTTTTTTTTT
GAGACAGGGTCTTATTCTGTTGCCTGGCCTGGAGTGCAGTGGTATGATCTTGGCTCACTG
CAACCTGGACCTCCTGGGCTCAGGCGATCCTCCACCTCAGCCTCCTTAGTAGCTGGGAC
TATAGGCACACACCACCATGCATGGCTAATTTTTATATTTTTTTGTAGAGACTGGGTTTC
GCCATGTTGCCCAAGCTGGTCTTGAACCTCCTGGGCTCAAGTGATCCACCTGCCTTGGCCT
CCCAAAATGCTAGGATTACAGGTGTAAGCCACTGCGCCTGGCCCTAATTTTTGCATTTTT
TGTAAGATGGGGTTTCACTATATTGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGGGCTCAAGTGA
TCTTCCCATCACAGCCCCCTAAAGTGCTGGGATTATAGGCGTGAACCACTGTGCCTGGCT
GAGGATTAAGTTTCAACCTCAGGGGAGCGGCATTCAAACCTATAGCATTGTCTTTAGTGA
CTGGCTTAGTTCACTTAGAATGTTTGTCTATTATCCATCTATAGACACTGTTTTCTTTC

10

20

30

40

50

ACCTTTTGGCTTTTGCAAATAATGCTGCTGTGAATATGAGTTATAGAAAAATACCAATTTG
AATCCGTGTTTTCAATTACTTTGAGTATATACCTGGAAGTGAATTTCTGGATCATATGG
TACTTCCAAGTTTTTTTTTTTTCTTTTTTGAGACAAGGTCTCACTCTGTCACCCAGGCTG
GAGTGTAGTGGCAGCATCTTGGCTCACTGCAACCTCCGCCTCCCGGGTTCAAGCGATTCT
CCTGCCTCAGCCTCTCAAGTAGCTGGGATTACAGGCACGCGCCACCACGCCCAACTAATT
TTGTATTTTTAGTAGAGATGGGTTTCTCCATGTTGGTCAGGCTGCTCCCGAACTCCCGAC
CTCAGTGATCTGCCTGCCTCAGCCTCCCAAAATTTCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCG
CACCTGGCCTCCATGTTTCAATTTTTAAACAAACAATTAGTTAAAAAATAGGAAACTAA
GAGAAATGAACATATTCCTGTTTTATTTCAGTGGGTTATAATCTGTACTATCATTGTTTAT
TTTGAGGTACAAATTGTCCCTACTTTGGCCAGCAGAGGATCCTGCAGTTTGTCTCCTGTG
TCCTTTTCATAGCTCCTTGTGGAACCTTACTGGCCACAATAGGATGTTCCAAGTTCA
TCTTCTTACTTTTACTGCCCCAACGCTGGGATCAGCCATTTCTTCAAGGAGGCCAGTTCC
TTTCATTGGAGAAATGGAACCAATATGTAGAAACCAAGATAGAGGTGTTAGGTGTGAT
TGCTACTGGAGTGTCAATTGCTTCCAAACCCTTTTCAAGAGACCTAGGAAATGTGTGTGT
GTGTGTATATATATATGTGTGTGTGTGTGTATTTCATAAAAGCACATACACATACACAT
ACCCCGAAGCATGATTTCTGTATTATTATTATTTTTTTGAGATGGAGTCTTGCTCTGTC
GCCCAGGCTGGAGTACAGTGGCAGCATCATGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGATT
AAGCAATTCTCCTGTCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGTGTCCACCACCACGC
CCACCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTTACCACATTGGCCAGGATGGTCT
TGAACCTCTGACGTCAAGTGATCTGCCCCCTCGGCCTCCCAAGTGTGGGATTATAGG
CGTGAGCCACTGTTCCCATCCAGAAGCATACATATCTATTTCTATATCTACATTTCTGTC
TTTACATGTATATATTAATAATTACAGTTTGCACATACTCCAATTACAATCTAACAT
CATGGGATTTATTTCTGGCTTTCTCCCTTCTCATATTTGTGTCTCCCCAACAGTGAGAAAC
CTGGCTTGCTATCTCAACATGGTAACCTATTTATTAAGAACTTATTCTTTTTTTTTTT
TTTTTTCTGAGATTGAGTTTCGCTCTTGTGCCCCAAGCTGGAGTGCAGTGGTGTGATCTT
GGCTCACCGCAACCTCTGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCTTCTCAAGT
AGCTGGGATTACAGGCATGCACCACCATGCCCAGCTAATTTTCGTATTTTTAGTAGAGATG
GGTTTCTCCATGTTGGTCAGGCTGCTCTGGAACCTCCGACCCAGCTGATCTGCCTGCCT
CGGCCTCCCAAGTCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGTGCCTGCCTCTAGTTTATT
TATTTTTATTCCATGTGCTCAGTCTTGCGAGCACGTGGTCTGTTTTCTTGGGCTGGCCC
CCTCAGTGCATGTCTTAATACCCTAGCCCCAGTCCCTCTGATCATATCCCCAGACACC
CCTACTGAATCCCAGGTCTCTACCAAGGGAAGGCAGGAGGAGGCATTGACCAAGGAGA
AGAGGGGGAAGGGACAGGGAAGGTCTTGATTGTATTTCTAAAATTTCTACTCTGCTC
ATAATGCGTCTTAGCTGTGTTGTTGTGGAAGTAGTGCTGACAGTGTCTGTTTTTTTTAT
TACTTACTTTGTCTTTCTTTTTAAGATGGTTTCACCCAAATATCACTGGTGTGGAGGCAG
AAAACCTACTGTTGACAAGAGGAGTTGATGGCAGTTTTTTGGCAAGGCCTAGTAAAAGTA
ACCCTGGAGACTTCACACTTTCCGTTAGGTAAGTTGGAATGAAAAGAGAGGATCCTGAGA
GTGTTTTCTAGGTAGGAAGTGGTAAAACCATGCTTGGAATAGCTTGCTGCCTGCATTTCTGA
GTTTGAAGGCCTTATCTGAGCCCTGGGCTGCCTTCAGGGTTTGGGGAGTGGCCTCCTGGA
CATTTAGCAGAAGAGGAGTAAGGAGGGCCCTTCTTCTCCCTCTGAGACCTCATGGAAGGT
GAGTTGGAGCAGGTCTAGAAATTTCTTAAGCCCTCCAGTGCTTGAGACTTGTTCACACA
TCTTGAACCTGGTTTTCTGCATTTTTCTTTTCTTCTGTTGATTTATTTAAAAATTTTAT
TTCTTTTCAATTTTTTTTTTTTTTAAATAGAGGTGGGATCTTCCAATGTTGGCCAGGT
GGCCTTGAACCTCTGGCCTCAAGCAATCCTGCCTCGGCCTCCCAAGTGTAGGATTACA
GGCGTGAGCCACTATGCCTGGCCTTCTTTTTTGAGACAAGCTGTTGCTCTGTTGCCAG
GCTGGAGTGCAGTGGTACGATCACAGCTTACAGCAGCCTTGAACCTCCTGGGCTTAAGTGA
TCCTCCCGCCTCAGCCTCCCGGTAGCTGGGACTCCAGGCTTGTGCCACCATGCTCAGCA
TTTTTAAAAAATATTTTTGTAGAGATGAGGTCTCACTGTATTACCAAGGCTGATCTTTA
ACTCTTAGCCTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTGTGGGATTACAGGCAT

10

20

30

40

50

GAGCCACCACACTCAGACTTTTGTGACTTCTTAATAAGAAAAATACTTGTTAAGAGTTTC
TTCAGATCACTTTCCCTTTATCAACAAGTAAACATGACTGAGGAAGTTGTGGTCCCCTTT
GCTTCCCTGCCCAGGCCCGTTTCCCTCCCTCTTCCCCAGAGGAAACCACCAAGAGGTTG
GCATATATTCTTCTGAACGTGTTTTTATAGTTGTACTGCACTTGTACTGTGTATGAACA
ATATAAAGTTGGTTTGTGTGTTAAAAAATTCACATACATGGATTATAATGTATGTATC
ATTTTGCAACTTAAAAATTTTTTTTTTGTAGCTCCATGCTGATTGATAACGATCTATTTTTT
TTTTTTGAGATGGAGTTTCAGTCTTATTGCCAGGCTGAAGTGCAATGGCGTGATCTCAG
CTCACTGCAACCTCAGCCTCCTGGGTTCAAGCTATTCTCCTGTCTCAGCCTCCGGAGTGG
CTGGGATTACAGGTGCATGCCACCATGCCAGCTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGATGG
GGTTTCACCATGTTCGACCAGGCTGGTCTCAAACCTCCTGACCTCAGGTGATCTGCCTGCCT
TGGCCTCCCAAAGTGCTGGAATTACAGGCATGAGCTACCATGCCTGGCCTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTGAGACAAAGTCTTGCTCTTTTTCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCCACAATCTT
GGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGAGTTCAAGCAGTTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGT
AGCTGGGATTACAGACATGTACCACCATGCCAAGTTAATTTTTGTATTTTTGTAGAGAC
TAGGTTTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTGAACTCCTGACTTAAAGTGATCCATCTGC
CTTGGCTTCCCAAAGTGCTGGGGTTACAGGCATGAGCTATCGCGCTGGCCTGAGAAATC
TCATTCTTACTCCTACTCCCTTGACACTATCTCCATTCTGTAGGTAGCCATTCTATTA
ATTTCTTTTACCCTTCTGTGTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTT
GAGACAACTTGCTCTGTTGCCAGACTGGAGTGCAGTGGTGTGATCTTGGCTCACCAGCA
ACCTCCACCTCCTGGGTTCAAGTGATTTTCATGACTCAGCCACCTAAGTAGTTGGGATTA
CAGCGCTGGTGTACACTACCACCCAGCTAATTTGTGTATTTTAGTAGAGATGGGGT
TTCACCATGTTGTCCAGGCTAATCTCCAACCTTGGCCTCAAGGGATCTGCCTGTCTCAG
CCTCCCAAAGTGCTGGGATTATAGGCATGAGCCACCATGCCTGGCCCTATGTTTCTTTTT
ATAAAAAAAGCAAATTAATATTTTTATTACTATTTTCTTTTATTTTTTACACATCAAGT
AGAACATTAAATATATTTCTCTGTAATTTTTTTCAGTTACCTAAATCTTTTAGTGATCTC
TCTCATCTTTTAAATCAGCTGGATCGCATTCTATCATGTGAATATTTTATAACTTCTATA
TACTGTCCAGCAGCTAGCGATTAGTTGTGCTAATATTTTAAATGATATATAATGC
CTCAATGAATATAGTAACCTTTTGCATATATTGTTTTGTGCTTTGGGATAACACTACCTC
GTATTGGAACTGTGTCAATACATGTGTCTTTAAAATTACATGTGTCTTTTTATTTTTAT
TTTTATTTTTTTTGTAGTGGGAGTTTCACTCTTGTGCCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGAG
ATCTCGGCCGACTGCAACTTCCGCTCCCGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCC
CCAGTAGGTGAGATTACAGGTGCCTGCCACCACGCCAGCTAATTTTTGTATTTTTTAGTA
GGGACGGGGTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTATCGGTCTGCTGACCTCAGGTGATCCT
CCCACCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGACGTGAGCCACCATGCCTGGCCATCA
CTTTTTTTTTTTCTTAATTGCTGCATAGTGGCCGGGCACAGTGGCTCACGCCTGTAATC
CCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCAGCGCGGATCATGAGGTGAGGAGACCAATACCATC
CTGGCTAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTAAAAATACAAAAAATTTAGCTGGGCGTC
GTGGCGGGCGCTGTAGTCCCAGCTACTTGGGAGGTTGAGGCAGGAGAATGGTGTGAACC
CGGGACGTGGAGCTTGCACTGAGCCAAGATTGCACCACTGCACTCCAGCCTGGGTGATGG
AGTGAGACTCTGTCTCAAAACAAACAAACAAACAAAAAATTTGCTGCATAGTATTCCAT
TGTATGAGTAGTAACACAACAATTTTTATAATGCATAGTATTCCATTGTATGAATAGTAA
TGTAGCACTATTTGTTTATACATTTTTATGATTAAAAACAAAATGTTTTCTATTATGA
ATAAAGTGGCAATGAATATTTTTGTACAAGTGTGTTGGTAGCTATACAGTTATTGTCAC
TAATATATGCAATTCGATAGGCCAGTCATTCAAATAGAAGATATACAGGTAGGCCGGG
CGTGGTGGCTCACGCCTGTAATCTCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGTGGGTGGATCACCTG
TGTTTAGGAGTTTACAGCCAGCCTGACCAACATGGAGAACTCATCTCTACTAAAAATA
CAAAAGTAGCTGAGCGTGGTGGCGCATTCCTGTAATCCCAGCTTCTTGGGAGGCTGAGGT
AGGAGAATCACTTGAACCTGGATTTATAATGTATGTAAATCCACCGCAAGGTTGCGGTG
AACCGAGATCAGCTCATTGCACTCCAGCCTGGGCAATAAGAGCGAACTCCATCTCAAAA

10

20

30

40

50

AAAAAAAAAAGATATGCAAGGTAAAGATACTAATAAAGACCTTTGTGTTGAGTTGGTT
GACATGTGGTTATTTACCCATCGTATTTCTTATAGGGAATAGGTAAATTCGTTCCCTGG
GTTTCTTTCAACACTTAGGTAAATCCGACGTGGAAGATGAGATCTGATTTTACTGGTGT
AACTCTTTATTTGTCCCTTGCCTCCCTTTCCAATGGACTATTTTAGAAGAAATGGAGCT
GTCACCCACATCAAGATTCAAGAACTGGTGATTACTATGACCTGTATGGAGGGGAGAAA
TTTGCCACTTTGGCTGAGTTGGTCCAGTATTACATGGAACATCACGGGCAATTAAAAGAG
AAGAATGGAGATGTCATTGAGCTTAAATATCCTCTGAACTGTGCAGATCCTACCTCTGAA
AGGTCACTAATTTTTAGTGACCACAAAGTCTGCTGCTCCCTTGTGCCCTGAGTGTGAGA
AATGCATGACGGTCTGTGTATGACTCTCTGACTCCAAAGGCTTGTGACTGTTTTTTGAGC
TGTAATCTTTAAAGAATTACTAAAGTGAGACTAATAGCATCAAATATTTTCAGAGTACC
TTTTCTCTGCAAAAGTTTTAATCAGTGTTACTTACACTCATCCTATAGGGGTTGCATACC
ATTCCTGCATATACTTGGTACGTGTATTAGTTTTAAGACTTATTGAACTTCAGCAGATAA
TCTTTGAGAGTTATTAGAGGAAAACAAATGATAATGGAGACACCAAAATAGCAGCAGTTT
TCTATGGTGGCTCTCGACCAAGTTATTCAGCAATGTCACCAACAGATGTCAGTTTAAGCTC
AGAAGTGGAAAAGCAGAGAGCTCAGAGGGTCAGCTTTTTCATCAGTTCTTTAATGTTAT
CACCACAATTATGTGAGAATGACCTTGCTTAGAGAAAATTATGTTATTTTCGAGATCTTT
CCCCCTGTGTTGGAAGTACGGCTGATGAAAGCATGGGCTTGACTTATTTATTGATTGTATT
CGTTTTGTACATTCCCAATCTCCTCTCTGACTTGGTGCAAATTCAGGATCTCTTAGTTAG
TTTGTATATTTTGTGTCTTCAGGTATGATTTTTTCAGCTTATACCTTTATGTCAGTGCTA
TTATGTGCTGATAATTGTTTCTCTAGCTACCACCGTAGCTTCAGGCAAAAGGCTGTCAG
CCAACCTCTGTACAGTTTATTTCTAAATTTTACTGTTTTAGTTGAGTATGGATGAAGAAT
AACTCAAAGTTTATTTCTTTTGATGATGAGCCCTTAACACCACCTGCCATGATAGTACTTG
CTTTCTGACCAAGATCCTGAGGGAAAAAGCCACTTTATTATTAGAATGTTAAGATGC
TTCCCAAAAACATGGAGCAGTATTGTCTCAAAGTCTGTCTTGGATGGCTTTGGATGCC
TACATCAGGACTGTCTGATGTGCTGGTTAAATGCAGATTCTCGGGCCTCATTGAGCTT
ACATGTATTGATATTGCTGGTTGTGGAGCCTGGGAATTCATATTTTTAGCAAAATCCCTC
ATTTTTACTCCAAGTCTTATGTGCATTATACAGTTTGAGATGATCACCAGGATATAGTC
CAAAGACACTGGAGGCTGTTGAAGTATAGGTTGTATATATGAAAAGGTTGGAATGTTG
AATTAATTTATAATGAAGATCCTTTTTAATTGAGTGTTACATGCCAAGGCAAGGACAAA
CATTCAAATGATTTTCTGTCTCTGTTACAACCTTTTTCTTTCTTTTTTTAATTTATTTA
TTTGAGATGGAGTCTCACTCTGTCAACCAGGCTGGAGTCAAGTGACGCGATCTCGGCTCA
CTACAACCTCCGCTCCCGAGATTCAAGTAATTTCTTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGG
GACTACAGGCATGTGCCACCATGCCAGTTAATTTTTGTATTTTATAGTAGAGACAGGGTT
TTGTCTGTTTGGCAGGCTGGTCTCAAACCTCCTGAACTCAGGTGATCCGCCACCTTGAC
CTCTCAAAGTGCTGGGATTATAGGCGTGAGCCACCGTGCCTGTCTCTATTACAACTTTTT
ATTACAACCTCTTTATTTTGAAGTTATTTTACAAATTATTTATTTATTTTTTTTGGAGT
GGAGTTTCGCTCGTCACCCAGGCTGGAGTGCAATGGTGCGATCTCAGCTCACTGCAACCT
CCGCTCCAGGTTCAAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGATTACAGG
CACTTGCCACCACACCCGCCAATTTTGTATTTTTAGCAGAGACAGGGTTTACCATGTT
GGTCAGGCTGGTCTCGAATTCTTGACCTCAGGTGATCCACCTGCCTCGGCTCCCAAAGT
GTTGGGATTACAGGCATGAGCCACCAGTCCGGCCGACTTTTTATTTTTTTTCTTGAGAC
AGGGTCTTGCTCTGTCAACCAAGCTGGAGTGCGGTGGCATGATCATAGCGCACTGCAGCC
TCGACCTCCTGGACTCAAGTGATCCTCCTGCCTCGGCTTGTGTATAGCTGGGATTACAG
GCAGTTGCCACCATGCCAGGCTAATTTTTAATTGTTTTGTGAAGATGGGGATTCTACTGT
GTTGCCAGACTGGTCTTGAACCTCTGGCCTCAAGTGATCTTCTGCCTTGGCCTTCCAA
AGTGTGGGATTACAGGCATAAGCCACTATGCATGGCCTGTAACCTCTTTAAATGGCTAT
AATTAACAGTTGGTCTTTTTAAGATTGGGCAATGGACGAATGGCAAATTGCATTTTTTA
AAGAGGAGGGATTTAAAAAAAACAGGAAAGATTGGGGCATTGTCTCTAAAGGACTGTG
GACTCATTTAAGAAGTTTAGTGGTCATTCTTACCATCTTGTGGTTTTCTGCCTGCAT

10

20

30

40

50

GGGATGCAGATTTTCTGTCTCAGGTGGGATTGATCAATCCCTTGGAGGAATGTGTCTACT
TTTTAATTGTGTTTAGGAGAGCTGACTGTATACAGTAGTTTTGTGAAAGAACAACATGAA
CCCATAGTAGAGCTAAATCTTTTTTATTTTTTAAAACTTTAG**GTGGTTTCATGGACAT**
CTCTCTGGGAAAGAAGCAGAGAAATTATTAAGTAAAAAGGAAAACATGGTAGTTTTCTT
GTACGAGAGAGCCAGAGCCACCCTGGAGATTTTGTCTTTCTGTGCGCACTGGTGATGAC
AAAGGGGAGAGCAATGACGGCAAGTCTAAAGTGACCCATGTTATGATTCGCTGTCAGGTA
AATCTCCAGTTGAAAAATGGGTCTGGCAAGATGTTACCTTTGGGTGATTTTTCTGCTGAC
AGAAGACAGACACCATTACATTCAAAGTCAGATTGTCTTTTATTTATTTATTTATTTATT
TATTTATTTGAGACAGGGTCTTGCTCTATCACCTACAGATGGGGTTTCACCACGTTGGGT
CTGGTGACCCAAATCTTTGGGTGATTTTTCTGCTGGAAGAGGACAAACACCATTACATTC
AAAGTCAGATTTTCTGTTTTTTTTTTTTTTTTGTTTTTGTTTTTTAATATTCATTTGTT
TATTCATTTGAGACTGGGTCTTGCTCTGTACGCGAGGCTGGAGTGCAACCTCCCTGGGCT
CAGTTGATCTTCCCTCAGCCTCTTGAGTAGCTGGGACTACAGGTGTGTGCCACCATGCCC
AGCTAGTGTGTTGATTTTTTGTGGAGATGGTGTGTTTGGCGCATTGCCAGTGTGGTCTTG
AACTAGTGCTCAAGAGGCTGCCCTCCTTCAACCTCTCAAAGTGTTAGGATTACAGATGTG
AACTACTGTGCCTGATCCAAAGTCAGATTTTTCTTGTCTTACTTAGTCAAGTTCGTCTATG
CTTTTATTATACTTAATATATTAGTATAGTTACTGTATTAGTATATTAGCATATTTAATA
TATTATTATACTTATCATACTTGAGTATATTGAGTATATTTACACTTTTAGTATATTTGT
ATACACACACCACATTTTTATTATTTATCTTTTTTTTGGAGACAGAGTCTCCCTCTGTCTC
CCAGGCTGAAGCACAGTTGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCTGGGCTCAAGTGATTCTCG
TGCTCTACCCCTCCTGAGTAGCAGGGATTACAGGTGTCCACCACCAAGCCTGGCTAATTTT
TGTATTTTTAGTGGATATGGGGTTTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGAC
CTCAAATGATCTGCCCGCCTTGGCTCCCAAAGTGCTGGAATTACTGGCGTGAGCCACTG
CACCAGCCTATTATCTGTCTTTTGATGGACATTTAAGTTGTCTCTATATACTAGCTATT
GTGAATAATGCTGCAGTGAACATGAGAGTGCTTGAACAACATAATGTAACATAAAGGTAA
CAAATAATAAATGTCATGTGTTTATCTTGAAAG**GAACTGAAATACGACGTTGGTGGAGGA**
GACCGTTTGATTCTTTGACAGATCTTGTGGAACATTATAAGAAGAATCCTATGGTGGAA
ACATTGGGTACAGTACTACAACCTCAAGCAGGTGAGCAGATTGAAAGCTCAAGCTTTCTC
CTTAAAACTTAAACAAATCCTAATAGAGAATTTTGAAACATACAGAGGTAGACAGAA
TAGTATCATCAGCCTCCATGTACCCATTGCAGCTTCAACTATCAAATCTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTGGAGACAGTCTTACTCTGTCAACCCAGTCTGGAGTACAGTGTGCAATCTTGG
CTCACTACAACCTCTGCTTCTGGGTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAG
CTGGGACTACAGGTGCCACCACCATTGCCCGCTAGTTTTTGTGTTTTTAATAGAGATGG
GGTTTCACCATGTTGGCTGGCTGGTCTTGAATTCCTGACCTCAGGTTTTCTGCCCGCCT
TGGCCTCCCGAAGTTTTGGGATTACAGGCGTGAGCTACCACGCCCGGCCCTAAATCTTTT
CTTATTATGATTCCACTCACTGACTGCCGCTATAGTACTTGGAAACATATTCCAGATTTA
TATTATTCCCATATTTATCTGTAAGGCAATTACAGAGGTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTGAGATGGAGTTTGTCTGTGCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGTGTTCTTGGCTCA
CTGCAACCTCTGCGTCCCGGTTCAAGAGCTTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGG
GATTATAGGTGGTGCCACTACACCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGATGGGGTTT
CACCATGTTAGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGACCTCAAGTGATCTGCCTGCCTCAGCC
TCTCAAAGTGCTGGGATTATAGGCATGAGCCACTGCATCTGGCCTAAGGCTGTACAGAGT
TTTAAAGCAAGTTTTTATTATAGATCCACTTCTGGTTACCTTTAGGTAACCTCACTTATT
CACTTTGGCATTGTGCTATTTTCAAATTTACCTTTATGATAGTGGAATGATATAATC
TCTCTAAATAATGGGTCTATTCTATAAGAAAAATAGGCTTGAATTTATATCAGCAGAGT
AAAGTGATGTGAAGACTGAAGAAAGATACATTTTCTGGCTGAACAGAAAACACGGTGAA
ACGATTTGAAAACTTTTATTGTGAATTACAGGGTCTATGAACCTCTGTCCGTGCCCTT
ATGAATATCAACATAGACATGTTTTTTTTTTTTTTTTTGCATTAACACCGTTTTCTGTAA
TATTTCTTTATTTTACATCAACTGCTGTACTCGATCAG**CCCCTTAACACGACTCGTATA**

10

20

30

40

50

AATGCTGCTGAAATAGAAAGCAGAGTTCGAGAACTAAGCAAATTAGCTGAGACCACAGAT
AAAGTCAAACAAGGCTTTTGGGAAGAATTTGAGGTAAGTTATTAATAAACTGTTTTTACG
TGAGTTGTTATATCCTATTTTTTAGTGAGGAGAAAGTTGCTCTTGTGTTTGGAAATTGGACC
TGAGAGACTTGAAACTGACGTCCTTTTTTAATTCGGCCATTGATTGACACGGAGCAAGTT
GCTGAGAGGGCTTCTTCGAAACAGAAGAGCATTGTGTTCTGAGGGAAGGGAGTTGGCAGT
GAGTAGTCAATGGATGTGCTAGCCGCTCCATTTGGCTCTTTTGGTTTGGACTGGTGGCAA
AATCTCAGAGAAACAAAAGGATCTAATTTCTTCGAAAGATTTCCAGCATGCACTGGGGTC
TTTAGAAACAATCTATAGCCTTAGTGACGAAATGAGTATGAGTAAAAGAGAAACACCTT
GTGGTGGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTAGACAGGGTCTCGCTCTGTCGCCGAAGCTGGAG
TGAGTGGCGTGATCTCGGTTTACTGCAGCCCCGTCTCCCTGGGCTCAAGTGATCTTCC
CATCTCAGCCTACTGAGTAGCTGGGACTACAGGCACATGCCCTATGCCTGGCTAATTTT
TGTATTTTTGGTAGAGATGAGGTTTTGCAGTGTTGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGGG
CTCAAGTGATCCTCCTACTTAAGCTTCCCGAGTAGCTGGGACTACAGGCACACGATACCA
TGCCCATCTAATTTTTGTATTTTTTGTAGAGATGGGGTTTTGCAGTGTTGCCAGGCTG
GTCTTGAACCTCTGGGCTCAAGTGATCCTCCAGCTTTGACGTGCCAAATGTGGTGGCTTT
AATTTCAGAGTTCAAATTGATAACTCTGGTAAGTTAAGTGAACGATTTCTTTTTTTTTT
AAATTATTTTTGTTGATTATACTTTAAGTTCTGGGATATATGTGCAGAACGTGCAGGTTT
GTACATAGGTATACATGTGCCATCATGGTTTGCTGCACACATTAACCCATCATTTAGGTT
TTAAGTCTGCATGCATTAGGTGTTTGTCTAATGCTCTCCCTCCCCTTTAATGCATCAG
TGAAAAAGTGATGATAGGCTGGGCGTGGTGGCTCACTCCTGTAATCTCAGCACTTTGAGA
GGGTGAGGCAGGTGGACCACTTGAATCCAGGAGTTGCCCCCATCCCAGACAGTGTGTG
TGATGTTCCCTCCCTGTGTCCATGTGTTCTCATTGTTTGGTTTTCTGTTCTGTGTTAG
TTTGCTGAGAATGATGGTTTCCAGCTTCATCCATGACCCTGCAAAGGACATGAACTCATT
CTTTTTTTATGGCTGCATAGTATTCCATGGTGTGTATGTGCCACATTTTCTTTATCCGGT
CTATCATTGATGGGCATTTGGGTTGGTTCCAAGTCTTTGCTATTGTAAATAGTGCTGCAA
TAAACATATGTGTGCATATGTCTTTATAGTAGAATGTTTTATAATCCTTTGGGTATATAC
CCAGTAATGGGATTGCTGGGTCAAATGGTATTTCTGGTTCTAGATCCTTGAGGAGTCACC
ACACTGTCTTCCACAATGGTTCAACTAATTTACTCTCCACCAACAGTGTAAGCATTCT
CTATTTCTCCACATCTTCTCCAGCATCTGTTGTTTCTCTGACTTTAAGTGAACGATCTCT
TTCTGAAACTAACTTGGGTTGGAGAATGTCCCTGATGGGAATGTGCTGTGTTCCCATTG
CACTCTTCTATATCACTTACCCATTGACAATGTGATCTCTTTCAATTTCTCCTCATCCAT
TTGACAGAAACTTCAAAAACAAGGATTCTGGCATATTTACCTTTGCAGTTGTCCCCAGC
ATGTAGCACGGTGCCTAGTACACAGAAGAACTCCATAAATGTTTGTGAAATGAGATTTA
CATTTAACTCATGTTTACATCATTTTATTTTCTCTGTTCTGTTTATGGGAATGATTATTC
TATGCTTTTTGAGGACTACAATTTATAAATATTTGTGGATTGAATGAATAAGTGAATACT
GGGCAATAAAGTCCTTTTAGCCAGAGTATGTCTGAACAACCTGCTGAGATAGATATGAT
TTCCCATTTTCCAGCTGAGGGGCTAAGGGAGGTTAAGTAAATTATTCAATCTCATACC
ACAGTTTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTTTTCTCCTGAGACAGAGTCTCACTTTGCT
GCCATACTGGAGTACAGTGGTGCAATCATAGCTCACTGCAGCGTCCAACCTTCTGGGCTCA
CGCCATCCTCCACCTCAGCTCCTGAGTAGCTGGTACTACAGGTGTGCACCACCATAGC
CGGCTAATTTTTCATTTTTTGTAGATATGGGGTCTCACTGTGTTACTCAGGTTGGTCTTG
AACTTCTGAGCTCAAACAATTCTCCTGTCTTGGCTCTCAAAGTGTGGGATTACAGGTG
TGAGCCACTGTGCGCGCCATACCACAGATATTGATTGAATTCAGCAGTGGGAGGAG
TGTGGAATAGAACATTCTCAGTCCTTGCTCAACATTACTGAACAGAGACTTGAATTTGAG
TTTATTCTCTCATCCCAGGCTTCGCGTTAGGCTCTGAAGACACTAGTGAACAAGACAGAC
AGGGTTACTGCCTTTAAAGGGAGCTTTTAGTTGAGAGAAGGAAAACAGTGATGAAAAGCA
TCAGTGAAAAAGTGATGATAGGCTGGGGCGTAGTGGCTACTCCTGTAATCTCAGCACTTT
TAGAGGGTGAGGCAGGCAGCTCACTTGATTCCAGGAGTTTGAAGCAGGCTGGGCAACAT
GGTAAACCCCGTCTCTACAAAAATACAAAAAGTAGCTGGGTGTGGGGTGCGCACCCA

10

20

30

40

50

CAGTCCCAGCTACTCTGGGGGTTGAGGTGGGAGGATTGCTCGAGCCTGGGAGATTGAGGC
TGCAGTGAGCTGAGATCACGTCACTGCTCTCCAGCCTGAGCAACAGAGCCAGAACCTGTC
CCAAAAAAAAAAAAAAAAATTGATGATAAACATAGTGAGACAGAATTTTGAAATCTCAGCCTC
ACTGTTGCCTTCCTTGTCCCTGCCTGCCTAAATAATAAAAGGCAGCATTTCAGCAGTCA
TTCATTTCATTACTTTCACCTTCATTTCACCTTCATAAAGCCTCATGAGGTAAGATGGGAA
GATACAGAAGTTTTAGAAACCGCTCATCAAAATTGAATGGAAAGCCGATTGTTCCAAAAC
TTTTTAGTGTGGAAAATTTCTATTATATGCAAAAGTAGAGAGAATGGGATAGTTATAGCA
GTATACCTGACACCCAGCATTAACAACCTGTTGATAATATGGCCAATCTTTTTCGACTCTG
CCCCACTCACTTCCCCAGCCCTGACTTGTCTTGAAGCAAATACTTTTTTTTTTTTTTTGA
GATAGAGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGAGATGGAGTCTCACTCTGTCCCCCA
AGCTGGAGTGCTGTGGCTTGATCTTGGCTCACTACAACCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGTG
ATTCTTGTGCCTCAGCCTCCTGAGTAACTGGGATTACAGGTGTGTACCACCATGCCAGC
TAATTTTTGTATTTTGTAGTGGGACAGGGTTTTCACTATGTTGGCCACGCTGGTCTCAA
CTCCTGACCTCAGGTGATCCGCCTGACTTGGCCTCCGAAAGTGCTGGGATTGTAGGTGTG
AGCCATGCTCCCGCCTTGAAGCAAATCTTAACACATCATTTTCGTCTGTAACATTTTA
TTTCAAAAAATTATAACCTGAATAGCATTATCATATCTAAAACATTAACAGTATTTCT
TAATATTAACACATATCAGTCACATTTTCTGATTGCTACACACACACACACACACAC
ACACACACACACTTGCAATTTGTGTTTTTTCTTTTTAGATGGATCTCACTCTGTTGCCC
AGGCTGGAGTGCAATGGTGCAATTCTCAGCTCACTGCAACCTCCACCTCCTGGGCTCAACT
GATTCTCTTGCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGTGCCACCACCTCACCTGG
CTAGTTTTTTGTATTTTGTAGTAGAGGTGGGGTTTACCATGTTGGCCAGGTTGGTCTCAA
CTTCCGACCTCAGGTGATCCACCCACCTTGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATG
AGCCACTGTGCCAGCAGCAATTTGTTTGAATTGGGAGTGCTTCTTCCACCTTGATTAT
GAAAAAATTTCAAATGTGTATAAACAGATTATATAAAGGATCCTGATATGCCATTATC
AGCTTTATCAATTATCCCTGTCAATCATATTTTTTATTTATAAATATTTCAATATTTGTGG
AATCCTTAAAAATGCATCATAACCCAACATTGTTTCATATTATACCAATTGTCTTATAA
TTTAAAAATATTTTGTTCATATTTTTCAGATAAGCTTCACACACTGTGGTTGGCTAAG
TCTCATAATATTTCTGTGTGAAAAATCTTAAGTCTGGGCGTGGTGGCACACGGCTGTCAT
TCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTGGGCGGATCACAGGTCAAGAGATCGAGACCATCCT
GGCCAACATGTTGAAACCCGCTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCTGGGCGTGGTAGT
GCGTGCCTGTAGTCCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCGCTTGAACCCAGAA
GGTGGCAGTTGCAGTGAGCCGAGATCGCGCCACTGCACTCCAGCCTAGAGACAGAGTGCG
GCTTCATCTCAAAACGAAACAAAAACAATCTTAAGTCTCTTGAATACTTTGATGC
CCCTTCCATCTCTCTTTTTCTGTCTTCCCTTCCCCCTCTCCCTGTCTTTCTGTGTTGAA
GAAAGCAGATCATTTGTCTGAGAGTTACTTATAGTCTGAATTTTGCTGAGTGCCCTCTCT
GTGGTGGACTTAAGCATGTATCCATCCCTTATATTTCTGTAAAGTTGATATATCTAGAGA
CTTCATTGGATACAAGTTTTCTTTGGCAAGATAGCATGTATGGTGGTGTATCAGGAGGTG
TTTATGTCTGTGTTTCTTCTCTGATTTTCTTAGCAGCTCCTGATCATTATTACTTAGA
TCCATTAATTCATAAGGGACTATATGGTAGTGATATTGTAATTTTATCATTCTTCTTCAT
TTGTTAGGTTGGCATATTTCTATAAAAAGCTTTTCATCGCCGAGGGTTGATTTTTTCTCT
CTTACTAAGCAGTTTTCTTTCTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTGAGGTAGGTCTCACTGTG
TTGCTCAGGCTGGTGTGCACTGGCGCAAACACACAGTTGCGAACTCTTGGGCTGAGGTGA
TCCTCCTGCCTCAGTTTCTGTGTAGTTGGGACCACAGGTGCATGCCACCATGCCTGGCT
AATTTTTTGATTTCTTTGTAGAGATGAGGTCTCACTTTATTTTCCAGGCTGGTCTTGAAT
GTCTGGGCTCAAGCAATCTTTCTACCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCACAT
ACCACCATGCCAGCTAATTTTTTAATTTTTTATTTTAGTAGAGATGTGGTCGTATTATG
TTGCTCAGGATGGTCTCGAACTGCAGAGCTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGCCTCCAGT
GTGCTGGGATTATAGGTGTACTACAGGCAAGAGCCAATGAGCCTGGTCAGATTTTTTTTT
CCTGATTTGAAATCTGTTATGGGTTCAATTGATACTTCCAAATCAAACCTCAGGGTTTCAG

10

20

30

40

50

GATTTTTACTAACCTCATTGATCTTACCCATGTATCTCCTTTCTCTAATGCCAAAAATCC
TACTTCTTGAAGCCATAATAAGATTATTCATTTGTTTTATCCACATTACACACAACAAT
CTTAGAATAATGACTTCCCAATAATATGATTACTGAAAACAGTTTAATTTTTTTTTCGCGCT
TTTCAAAAAAATCCTTCAGAGATGTGTAGTCAAGTTACTGTATTCTGCTGGGCACAGTGG
CTCACGCCATATAATCCAGTACTTTGGGAGGACAAGAAGGGAGGATCGCTGGACCTCAGG
AGTTTGAGACCAGCCGGGGCAATATAGTGAGACCCTGTCTCTACAAAAGAAAATTAAAAA
TTAACCAGACATGGTGGCATGTCCCTATAGTCCCAGCTATTGAGAGGCTGTGGCGAGAGT
AGGCTTAAGCCCAGGAGTTTGAAGCTGCAGTGAGATACGATTGTGACACTGTACTCTAGG
GTGACAGAGCAGGGACCCTGTTTTTAAAAAATAAATGAAAAACTTCCTGTGCCTTAG
ACTCATTTGTAATCGTCCTTCTCTGTGTGGCTATATGCTAACTGGGTATATGGTTAGT
TTATTTGTTTCATTTAAAAAATCTCTTCTGTAAAGTTTTATTATAATTACACAAATAC
TGGCTTTGATAGTCAAATTGAAAAACAAAGTGATTCAAAGAAGTCTACCTTCTATCCT
TGTCTTTTCTATGTTTTAGCCATAGTATAAAAAAGTTATGGTTTATCATTATATTTCAA
AATATAAGAAGATATTCCCATATCCCACTTTTTCTTAAACAGTAGCATAACTTTACATAC
TTTTTTCTAACCTTGCTTTTTTAAATATCCTGGACATCCTGGATATCCATAATAGTGTCT
AGAGATAGTCTTCATTCTTTTTTTTACTGTATAGTAATCCACTGTGTACTTGTACCATAGT
TTATTCAACCTATTGATGGGCATTTGGGTAGTTTCCAAATGTATCACAGAGAGGATTACA
GTGAATAGCCTTGTGTATGCATCCTGCTTTACTTTTGCTGACTACTGGTAATATTAACAT
TTTTTATGTTCTGTATTTAAAAAATGGTGGTTATTATTTCATCTATAACTTTTATTATACA
TGACTTTGGTTAGCATGCTTTAACCTTTTAGCATAACATTTGCAAGCTACTTGTTTTTAT
TAAATTTTGGTTAAATGTAAAAAATAGTGAGCTATTTTGTAAATCTAGATTCAATAGAAT
CTTATACTTCCTTTACAAATGATAGCTGAGTTGATCATTTGTGTAAATGACTGTGAACCT
AAAAATTACAGCATTTTTTAAATAAATTTTTTAAACATTTTAAATTTATTTAAATAAT
AGACACACAAAGTAAAAACAGAAGAAAAAAGAGACAGGGTCTTGCTATGTTGGCCCA
GGCTGGTCTCAAACCTCCAGGCTCAAATGATCCTCCTGCCTTGGCCTCCTAAAGTGTAAG
CCACCACACTTGGCAAAAATTAGTTTCTTTAAACAAAAACATTACAGGTTATCTGGTAC
CATGGTAGCTTCTTTAACTAGGTTCACTTAGAACAAAGCTTAGGAACAAAGTCAGACT
TTCACAAAGAGCTTGTGTGGCAATGGGGTATTTTTTGCAAATCCATTGGTGGGGTCAAG
ATGTGAGTTTAGAAGGAACCTTAGCCTGACTCTTCTGGCCATGGAAAAAGATGGTTGCT
TCTAAATGCTGACCTGGTGATTTTACACTGTACATCTCAAATGTGGTCACTTTTTATA
CATTATTAACAACAAAAGGAAAAATTGAGTTGACTTTAAGAGGAAGTGGAAAAATAACGA
GATCACATCTGACTCTACAGGCTCTCCACAGAGGTCAGACTGAGGTGGTAAAATTGTTG
TGCACTAAATTAGGGCATTAACGTTTCATGGAACTGAAGCTATATCTAAATAGCTGATG
GCCTGCTTTCTAGATCTCCTATATACCTGCTTCTCAAATTCAGTCTGTTTTAAAAAATTG
CCCTTTGAGGTTGGAACAGCGAAATAAGGCTGAAAACAGAATAAGCCATTATTGAAAAA
ATTAGGAACCTTGAAGCAGATACTCATAATCTAAATCCTCTGAAGCTAAAGTTTGATCCA
CAATAGCAAAGCATTATCATTTTAGTGATTGTACCTTAGTTGTTTCCTGGCAGGTGATAA
ATTTGGGATCACTTTCTTCTTACAGTGTGCTCTGATAGTCTTTAAACAAACCAGAGCTC
TAAATTGTAATGCCATTGGTAATTTAACTCTGATTTGTCTCTATGCCTGTCTCCTGGTGT
TCTGTAAAATTCTACACGTCAATTCAGGTATCACTATCCAGAAGACGTTACTTTTGCCTT
TGATGCACTTTAAATGTGAAGTCTCTTGTGAAGCTCTTTGGTTATTTTCTCCTTTGCTG
CTGAAATAAATTCAGGTTGATGATTTTCTTGTAGGATATGTTGTGTGATCTAGACATTGC
AAACCAAGTCTTTGATTTTTTTTCCCTACAGATTGCCTGTTTCTTTTTTATTTTAATT
TTTATTAGTTATTATTATTTTGGAGATGGAGTCTCACTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCA
GAGGTGTGATAGCTCACTGCAACCTCCACCTCCCGGGTCTTGTGCCTCAGCCACCCAGG
TAGCTGGGATTACAGGCACGTACCACTCTCAGCTAATTTTTTTGTATTTTAGTAGG
GATGGGATTCTCCATGTTGGCCAGGCTGATCTCAAACCTCTGACCTTAAGTGATCTTCC
TGCCTTGGTCTCTGAAAGTGTGGGATTACAGGTGTGAGCCACTGTGCCTGGCCAGTTAT
TAATTTTTTTAAAGAGATGGGGTCTCACTATCTTGCCCAGGCTGGAGTGCAAGTGGCTCTT

10

20

30

40

50

TACAGGCACTGTTGTAGTGCAGCCTTGAACCTCTGGGCTCAAGTGATCCTCCTGA
GAGGCTGGAATTACAGGCACACACCACTGTGTCCAACAGATTGCCCATTTGTGATCTGTG
TAAATATCTCTCACTTCCTGCAGTATCTCTGCTCAAGAATGTAAAGAGATGGATAATATT
TTTAGATTTGTTGAAACAAAGTAAAGTTCTGCTCAAATGAGAATGACACTAACTAAATGA
AAAGGCCGTTATAATTCTGTAATTTTGTGCCTGCAATGTGTGTGTTATTGTACACTTGA
ATCGGCCCTGTGCATTGTGGCGAGGTGCATATTGCATGGTTGTATTGAAAAGGTGCTTGG
GCCGGCGTGGTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAATTTGGGAGGCTGAGGCAGCTGGAT
TACCTGAGGTTAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTTTCTAGTA
AAAAATACAAAAAATTAGCTGGGTGTGGTGGTGGTGCCTGTAATACCAGCTACTAGGGA
GGCTAAGGCAGGGAGAATTGCTTAAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATTG
TGCCACTGCCTCCAGCCTGAGTGTATCACAAAAAAGGTTTTTGGCCCTCT
CTCTGTGCCTGCTCCTGTTGAGTCTTATAGGCCTGAGCTGCCAGGGGGTACTGTGG
GCTGAGACTGGACATTGCAACCAGCTGCAAGGCACCGTGGGACCCAGGTTGTGGATGGAC
TGTCTCTCGGGCTTTCTTCTTTCCATTTCATCTTCTCCTCTAACTCCCTCTGTATCCAG
TATCCTTGCTCTCCATACACCTGCTTCATTCTTTTCTTCTCAGTAGATTTTTCTGCTTCT
TGACTTACAAACCTACTTCTAGCCCTTTTCTAGATATTGAACTAGCAACTTTTCTAGGCTT
TGTACCAAAGTCTCAGAGATTCTCATTGACTCGGATGCCATCCATCTCTAGTCCAAAGAA
CAATGTCAAGGACATGAACATGTGGAACAAAAGTGTCTGCTGTGGACACCTTTGGGGAGA
AATAGTTTTTCTAGTGATGAGGGTTGTAGTGAGTTGGGCAGATATCCAAAAATATCTGCCA
AAAATATAGACACTTCTGTTGTCAGTGACTTATTCCTTCTTCTCATTGAGCAAACTACTGA
TTGAACACCGACTGTATGTCTGGATCTATTCTAGGTTTTGGGGGTGGAGCAGTGAACAAA
TCAGTCTTTATCTTTATAGAGTGTACAGTCAAGTGGGAGAGACAGGCAGTAAACAAAGAA
ACAGTTCAATATTCAATCTGTGAGATGGTGATAAGTGTACAGAGAAAAACAACTAGTGT
AAGATAAAAAGGGTGTTTTGATAGGCCTTTACTATTTAGGTCTCTTTGATAAGGTGGCAT
TTGAACAAAGCTCTGAAGGAAATAATGGAGCCAACCATGCATATAACCTCAGGGAGAACA
TTCTAGGTAGAGGGAACAGCAAGTGCAAAGGCCCTGAAGTGGGGGTTTTGTTTACCTTGTT
GCACAATCTGCACACAGGCCAGTACAATTGGAATGGATGGGAAATGTAAAAGAGAGAAGT
TGAAAAGGCCAGGTGCAGTGGCTCATGCCTACAATCCCAGCATTTTGGGAGGCTGAAGTG
GGAGGAATTTGAGATCAGCCTGGGCAACAGAACAGACCTCGGGCTAATTTTGTATTTT
TAGTAGAGACAGGGTTTACCATATTGGCCAGGCTGATCTCAAACCTCCTGACCTCAGGTG
ATCCTCCTGCCTCAGCTCCCAAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCATGGCCCCCAGC
CGTATCTTTGTCTTAAAAAGTAATCTCTGTGCTTGGTAGGCCAAGAATTTAAAAATATAAA
AAATTTAAGAAAGAAAAAATAAGTAAAGTAACTATACAGGTGGTCTGGCCGTAATGG
TGAGTGTCTATTATTTTCTTCCCTAGGTATTTTGGCTCTGTTGCTCAGAGCAGTGCAGGC
GAAATGGTCATTAGGGCATCGTCATGGTGCCTGGGGATGCCTGGCTCAGCCAGTTTATTT
TCTGTCTGCCTCTCTCCTTGGTCTTTTCTCCTCCACTTTTCTTCTGAAATTTCTAGTCAAG
AGCTGGGTCCAGTGTTTTTCAATCCAAGGGCTTTGGAAGCCTCTGGGGTCTATTTTGGTC
ATTGCAGTCACTGGGCTGCTGCTCCTGGCATTTAGGTTGGCAGGGGTCTGGGCTGGGAAG
CAGGAATGTTCTAGTGGCCATAAATGTAAGGGTTGGTCTTACATTTACATAAGGGAGACAA
TGAAAACCTAACTCCTCCACAGTAGTGGAGTAGTGCCGTTGGGTACTCACAGTCAGTAGT
GCCGTTGGGTACTCACATGTACAACATGGATCAGGACATTGACTTTCTGTGGATACCTTT
TAATAGTTTTATTAGATGTGTTAGGCTGTTTTGCACTGCTCTAAAGGAATATCTGAGTCTA
GGTAATTTATAAAGACAAGAGGTTTAAATTGGCTCATGGTTCTGAAGGCTGTACAAGCATG
GCTCCAGCATCTGCTTCTGGTGAGGGCCTCAGGAAGCTTCCGGTCATAGTGAAGGCAAA
AGGAGGGCAGACGATCACATGGCCGGAGTGGTGGCAAGGGTGGGGTGGGAGCCACGCTCT
TTTTTTAATTTTATTTTAAATTTGAGACAGTGTCTCACTCTTTTGGCCAGCCTGGAGTGCA
GTGGCGTGATCTCAGCTCACTGCAGCCTCTGCCTCCAGGTTCAAGCAATTTCTCTGCCT
CAGCCTCCTGAGTAGTTGGGACTACAGGCGCGCATACAATGCCAGCTGATTTTTGTAT
TTTTAGCAGAGACAGGGTTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGGACTCCTGATCTCAA

10

20

30

40

50

GTAATCCGCCTGCCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCACTGCGCAC
GGCCACCACACTGTTTTAAACAACCAGATTGCACGTGAACCTAGAGTGAGAACTCACTGT
GAGGATGGCACCAAAACATTTCATGAAGGATCCACCACCTTCCTTTAGGCCCCACCTCCAA
CACTGGAGGTCATATTTCAACTTGAGATTTGGAGGGGACAGACATCCAAACCGTATCATT
AAATTTAATAGTTTTATGCAGTTTTTTTGGCTCTAGATCTGTTAGACTCCTGCAGTCAG
GTGTCTGTAAGTACCTCTGGTCCTTTTGGAGTTTACAGTTTGGTGCAAACCTTTGG
ATGTATTATTTGGGAAAATGGGATATCTGGCAGCCTGTGTCCCTGCTTTACATTATCCTT
TTTGCTGCCTGCCCCAAGCCTCCTCATTAGCATCCCTGCCAAGGCCAGTGGAGAAGGATG
GAGATGCGGTGACATTGAGCTTGACAGGTCATTAGCAGCTTTTGTGCCCTAGGGACTGCT
GGTGGGAGGGAGGTTGTGGAAGATAAACCTTGACAGGAATGTATTCTCCTCGAGGGCAGG
GTTTATTTGATATTTTTCTGGAGCTTAGAACCATAAGCCTGGTGCTGGGGAGGAAGCGCC
CTTAGCATTTGGTAGCCTCTGTGGGCAGAGCATGGAAGTCACTAATTCTGAATTGTTTG
TATTTTCAGTCTCACTCTAGATGGATGGCATCTTCTGCTATGGGAAATGAAATATGTTTA
GGCAACTTGAGTCCCAGGTGCAGATGAGGCTGGGCTAATTGGTGCACTAGGGAAGGAGCC
GGGGGAGAGATGTGCTGTTAGCTATTATCAATCTGTGACAACTGTCAGCTGCTGGCAGTT
AGCACCCACCTGAGCCTGGGATGCAGGGGTGCCCTCCTGTCTCTGTGGAAGCCTCTGG
ACCCAGCAGCATCTTGACTGTGCACTGTTCAAGCCCCAAGTCCGCCTGGAAGAGGTGAT
TGAGAAGTTACTGCAGGATAAGGAAAGCGCAGGACAGGTGCAGTGGCTCACGCCTGTAAT
CTCAGTGCTTTGGGAGGCTGAGGCCGGAGGAGGGCTGGAGTCTTGAGTGCAGAGACCAGC
CTGGGCAACATAGTGAGACCTGTCTTTACAAAAAGGAAAAGAATTAGCCAGATGTGGTG
GTGCGTGCCGTAGTCCCAGCCACTCAAGAGGCTGAGGTGCGAGGATCACTTGAGCCCAG
GAGTTTGAGGTTACAGTGAGCTATGATCATACCACTGCATTCAGCCTGGGTGAGAGAGC
ATGACTCTGTCCCAACAACAAAAAAGAGTTAAGGGAAGCCTCTGGCAGACCTGATGAT
GGGTGGCCAGCCAAAATGAGTATTGATGAGGATTTCCCTGGTCTGGAACCTCTGAATTTA
GTCTGGCAAAGTATTTCCCTTTGTGTTGTGAGATGATTCTTGGTGTTACCCCATCACGGTA
GGTAAGATGAATTAGCAAATGAGAAAGGCTTTCTCTTTTTCATCCTTATCTAGTCCGTAG
ATGAAGCCTGAAGAAGGTCTCCATATGGTAGTAGTAAGTGTTTAAACATCTACCTCTAACA
CTTGCTGTGTCTTTTTTTTTTTTGGCAAAGCCTCAGGAATGCCCCAGTATCTAGGTAGAAT
TTGATAATATTTCAATTTTTGTATATTTCCCTTTTCTGTTTACCTTCTATATACAGCAAAA
TGAAAAAATTTTTAAAATTTGTGCAAGTAAGGGCAATTTCTTTTTTCTTTTTCTTTTTTT
TTGAGACAGGCTCTTGCTCTGGCACCCAGGCTGGAGTGCACTGACACAATCTCGGCTCAC
TGCAACCTCTGCTTCTGGGTTTAAGCGATTCTCCTGCCTCAGGCTTCCAAGTAGCTGGG
ATTACAGGTGCCCTGCCACCACTCCCAGCTAATTTTCATATTTTAGTAGAGACCAGGTTT
TGCCATGTTGACTGGGCTGGTCTTGAACCTCCTGACCTCAGGTGATCCATCCACCTTGCC
TCCCAAAGTGCTGGGATTATAGGCTTGAGCCACTGGGCCTGGCTGAGGCAGTTTCTTTTT
GAAATATATTTTGTGAAGGAGAAAAAGAGGAGTTCAAGTTTAAAGAAACAAATGACATAAG
AGGTGGTATGCAGAGATGCCAAAGCATCTGAAGGTGCTTTTTTTTTTGGAAACAGAGTC
TTGCTTCATTGCCCAGTCTGGTCTGCAGTGGTGCAATCATGGTTCCCTGCAGCCTTGACC
TTCTGGGCTCAAGTAATCCTCCACCTCAGCCTCTCAAGTAGCTGGGACTACAGATGCAT
GCCACTATGTCTGGCTAATCTTTAAATTTTTGTAGAAGCCAGCTCTCACCATATTGCC
AGGCTGGTCTTGACCTCCTGTCTCGAGCAAAAATACCGATTTTGATTAAGTCTGGGGTA
GGACCTGGGGCTGGGATTCTAACCAGCTCCCAGGTGGTGCTAATGCTGCTGGTCTACAGA
CCACACGTGGAGTAGCCAGTGTAGAGTTTCATGTAGCAATAGTGATGTACATAGAAATAGCC
AGTATCTGTATACTTGCTTTTGTGTATGTACGCACTGTATAGTGATGTACATGCATCTC
ATTTGACCCTCACCCCGCCCTTTGGGGGTAGAAAGGATTGTGCTCATTTTCACTCAAG
GAACTGAGGCACAGACAGGCAAGTAGCTTGCGGAAACAGAAAGGAACCTTAGAGGCAGG
CCCTGATTAGCTCAGAGACTAGAAGGCCTTGTGCGTCATCCTGAACAGCTTGACTTGAT
CTTGAAGGTGGAGGAGAAATTGAAGGGTAATTAAACAGGAAGTGTAGGAAATTCACCTT
GCATAGTGATTGCTTTGGCCACGTGTGCCCTGCCACCGCCCCCCCCACCTCAGTGAAGTGT

10

20

30

40

50

50

CCGAGGCAAGCGGATCACCTCTGATCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAA
ACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCCATATGTGGTGGTGTGCGCCTGTAATCC
CAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCGGGAATTTGGTTGAACCCAGGAGATGGAGGTTGCAGTG
AGCCGAGATGTGCCATTGCACTCCAGCCTGGGTGACAAGAGCAAACTCCGTCTCAAAAA
AAAAAAGGAAGACTTTGTGAATATTCGCAAAGCTGTAAAGCTGTACCTTTCAATTTTTT
TTTGAGACATAGTCTCACTCTGTGCTCAGGGTGAGTGCAGCTCACTGTAGCCTCAAC
CTCCTGGGCTCAAGCGATTCTCCACCTCAGCCTCCTGATTAGCTGGGACAATAGGCAGG
CACCAGTACACCTGGTTGATTTTACAGTTTTTCTGTAGGCCGGCGCAGTGGCTTACGCCT
GTAATCCCAGCACCTGGGAGGCCGAGGTGGGCGGATCACCTGAGGTTAGGAGTTCGAGA
GTAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATCTCTATTAAAAATTACAAAATTAGCTGGGC
GTGGTGGTGGATGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCTGAGGCAGGAGAATC
GCTTGAACCTGGGAGGCGGAGGTTGCAATGAGCCGGAGGTGCTATGTGCACCACTGCACT
CCAGGCTGGGCGACAGAGTGAGACTCTGTCTCAAAACAAAAACGATTAAAAAATAATA
AAATTTTTTCTAGGGCGGGGTCTCCCTATGTTGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGGGCT
CAAGTAGTCTCTGCTCAGCCTCCCAACTGTTGGGATTACCAGTGCAAGCCATTGTG
CCTGGCTGTACCTTCTGTAACACCCAAATGCCACCTGGCAAAGCCCAAGTTGAATCATGA
GGAAAAAAGGCCTGGAAGGATGTAGACCTTCTTTTTTCTACTTATTTATTTATTTATTT
TTGAGATAGGGTCTTACTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGATCATGGGTAC
TGCAGCCTCAACCTCCCGGGCTCAAGTGGTCTTCCACCCAGCCTGCAATGTAGCTGG
GACTACAGGCATGTGCTACCATGCCAGCTAATTTTTGTATTTTTTGTAAATATTTTTTT
TG TAGAGACAGGGTTTTCTGTCATGTTGCCTAGGCTGGTCTCGAATTCCTGGGCTCAAACGA
TCTGCCTGTCATCGGCCTCCCAAAGTGTGGGATTACAGGTGTGAACCACTGTGCTGGCT
ATATCTTCTGTAACACCCAAATGCCACCAGGCAAAGCCCAAGTTGAACCAAGGAGGAAAA
AGGCCTGGCAGGATGTAGGCCTTGCATGAGGATCTCAGAACTGCACTAAACCACTCACA
GTTCTCTCTCCCGAGGTCTAAGTCTATGCTGAACCTCTTGCATTTTTATCTCACTTAAT
CCATATCACATGCACAGGAAGGACATTTCGTAGTATCCTGGTTTTCTAGACCATTTTTAG
CAAGGTTATAAGTGAAGGGGAGTGGGTGGGAGAACTGGCACTAGAGCCCCCAAAGTCACT
GTTCTTAGCACCACTCTAATGCATGGGGTCTCCATTGATGTGCTATGCAAGGCAGTGCA
CTGAGGAGAAAGGAAGGAACATTTACAACCTCTCTTTATTTATATCCTGTCCCTAAAAAA
AAAAGAAAAAGAAAAATTTGTCTGAGGCCTAGATTGATTGCAGGGAGTGCATAATGTTTT
ATTGATTGATTGATTGATTGTATATAGAGATGGGGGTCTCACTATATTGCCAGGCTGA
TCTCGAACTCCTAGGCTCAAGCAATCCTCCTGCTTTGGCTTCCCAAAGTGTGGGATTAC
AGGCATGAGCGACTGCACCTGGCTATGCATACTATATTTATCCAACCTACAAATAAGGCT
TGCTTGCTGTAGTGCATATGTGTATACATTTAGCATAGAAAACTGTGTGATTGGGGG
TTGTGATCAAATTTGGAGAGCATTGCTCTCATGTCTTATCAGGTGAGGTCAATTTGTCA
AATCTTGTAACCACTTCTTTGTGTGTCTATGCATGAAACATAGTCTTCTCTTTCTGC
ATGCATATGTACATATACATGGTATATATGTATATCATATCTACATGGATATTGTAATGT
ATATGTATGAGGATGGGGGAAAGTGGAGACATTTGTAATACTGAGAAAAGGCAGTGAGGA
ATTTGCAGAGAAGCAGTTTGAGCTGTAGCATGGTACTAGTGACCTTGAGGAAGCCTTATC
CTTTTTTTTTGGAATTTATTTTTCAATTTTTAGAAATAGACAAGAGTTTCTCTATGTTG
CCCAGGCTGGTCTTGACCTCCTGGGCCCAAATATCCTCCTGCCTTGGCTTCCCAAAGTG
CCAGGATTACAGGTGTGGACCACCATGCCTGGCCACCTTGCTCTTCTATGTCTAAGTTG
TGACATCTGCTCAGGGGTGAGTGGTATTAAATGGTATAAAATGTATGGGAAAGTGAAGG
GATCAATGGTATGCAGTATCTAAATAGAATATCGCTTTTTCTCCCTTAAAGGTCTCATT
CAGATGTTTCTCTGATGAACATCTCATTTCCTTAAAGATGAGGAGTCTGAAGCAAAAAA
GACATTATTCTTTAAGACACATGGCTGTCTTACTAATTCCCATTTGCAAAATATGTTGTT
TAGGTAGAGCACTCAGATTTTATACGAATAATAGACTTTTGTACAGAAATTTGGACAGTT
GATACTATCAGAGCCTTGTGATATCCACTGCATTATGCTTCACTAAAAAATACCTGGCT
GGGTGCGGTGGCTCAAACTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTGGGCAGATCAC

10

20

30

40

50

CTGAGGTCAGGAGTTCAAGATCAGCCTGGCTAACATGGCAAAACCCCATCTCTACTAAAA
ATACAAAAATTAGCCAGATGTGGTGGCACGCTCCTGTAATCCCAGTTACTCAGGAGGCTG
AGGTATGAGAATTGCTTGAGCCCAGGAGGCAGAGGTTGCAGAGAGCCGAGATAGTGCTAT
TGCACTCCAACCTGGGTGACAGAGGAAAACCCCTGTCTCAAAAAATAAATTTAAACAACA
ACAACAACAACAACAAAAACCCCTCTTTATTATGGAATTTTCAAATATATTCAAGAGCA
TAAAGAACCACATGTACCCATCACCCAGCTTCAACAATTATCAACTCATGCCAGTCTT
GGTTTCATCTATACTCTGATCCACATCTCCTCTCTCCTTGAATTATTTGAAGCCCATCT
CAGACATCATGTATATATGTATACTTCAATCTTCTTTTTTTTTTAAACTCCCCCTCCCC
TTTTCTTTTTTCTTGAGACTGTGTCTCACTCTGTCATCCAGGCTGGAGTGATCTTGGCTC
ACTGCAATGTCCGCCTCTCGGGTTCAAGCGATTTTGTACCTCAGCCTCCCTAGTAGCTA
GGATTACAGATGTGGACCAACATGCCTGGCTAATTTTTGTATTTTAAATAGAGACAGGT
TTTGTCTGTTGGCCAGGCTGGTCTTGACCTCCTGACCTCATATGATCCACCTGCCTTGG
CCTCCCAAAGTGCTGAAATTATAGGCCACTGCGCCAGCCCAAAATTTCTTGGTTTGA
TAATTTTGGAACTCATAAGAAGTTACACATATAGTAGAGAGAATTTCTTGTACCTTCTC
TGAGCTTCCCTATATACCAATGATAACATCCTATATACCCATAGTATATGATCAAAACTA
GGAAATTGTGAAGATGGCATTTTGTAGACATCAGGCAGTGTTTACGTTACTGTTTGTCTTA
CCTGGGCTTTAATTTTTATGTGTTTTTTTTTCAATCATTGAATGAACAAAACCTGGACTA
GGCTGGGGAGTAACTGATTGAACTGTTTTTCTGAAGCAGTCCAGGACTTATGTGACC
GTGGTCTCTTTTTCTTCTAGTTGATCATACCAGGGTTGTCTTACACGATGGTGATCCCAA
TGAGCCTGTTTCAGATTACATCAATGCAAAATATCATCATGGTAAGCTTTGCTTTTACAG
TGTTTTCTGACCATACATTTCTAGCCTATTTTTGTATTTTAAATCCTTCCCTCATGTCTG
AAAGTAACTTAAGGTGTTTGAAGGATTTTCTTCTAAATTTCTAGCCTGAATTTGA
CAAGTGCAACAATTCAAAGCCCAAAAGAGTTACATTGCCACACAAGGCTGCCTGC
CAGGGTGAATGACTTTTGGCGGATGGTGTTCGAAGAAAACCTCCGAGTGATTGTCTATGAC
AACGAAAGAAGTGAGAGAGGAAAGGTAAATCACAGAAAACCTTTTTCTGCTAAACTGTT
TTTTAAAGTATCAGACATGTGATTTGGCCATGTTTAGGAATTGAATAAATGAATTAAGCT
TACTGTAACCTGATTCTCTGGAAGGAGGACTAGGAGAAATTTGATTATGTTATTCCTTG
GTGTAGTTTTCTTTATGTTTCTTCTGCTTGGGATTTGTTGAGCTTCTTGGCTCCATGGAT
TTGTAGTTTTCTTAAATTTGGATAATGTTGAGTCTTAGTTTCTCAGATACATATCCTG
GGCTGGGCATGGTGGCTCATGCCTGTAGTCCCAGCACTGTGGGGTGTGAGGTGGGCGGA
TCACTTGAGGTGAGGAGTTTGTAGACCAGCCTGGGCAATGTAGTAAGACCCCATCTCTTAA
AAAAAAAATGTACCTGCACAACCTTGTCTTAGGACAGCAGTCATACGTGTATTAGAC
TACTTGAAGTTGCTCATAGCCCACTGATACTTGGTTTATTTTATTCAGTTTTTTCTCCC
CGTGTTTCATTTTCAATAGCTTCTTTTGTCTATGTCTCCAAGTTAATCTTCTGCAATATGT
CATCCGCTCTTAATCCTATCCAGAGTATTTTTCATCAGACATTGTATTTTTCATCTCT
AGAAGTGTTAATGTCATCTATAGCTTTCCTTTTAAACATGTGTAGCATTTTCTTACCTTT
TGAATGTATGGAGTATTTCTGTTGTTGTTTTTGTGTTTGTAGAGACAGGCTCTCGGTCTG
TTGCCAGGCGGAGTGACGTGGCATGATCTCAGCTCACTGCAGCCTCTGCCTCCCGGTT
CAAATGATTCTCATGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGACTACAGGTGCGTGCCACCACG
CCTGGCTAATTTTTGTATTTTGTAGAGATGGGGTTTTGCCATGTTGGCCAGGCTGGTT
TTGGAACCCCTGAGCTTAGGTGATCCACCTTCCTTGACCTCCCAAAGTGTTGGGATTATA
GGTGTGAGCCACCATGCCTGGCCATGTTGCTGTTTTAATTAACCTGCCTAACTGTCTCT
CCCAATGGTTGCTGCAGTGCTCACTCCCACAGCAGCACCTGCCTAGGACTCATTACTC
CATACTCTTCAAGACACTTCAGATTAATAAATAAATTTGTAACACCCACACCTACAGAA
GAGCGGACAGATCTTATTGAGTGACAGCCCTCTGTGTTATCTCAAAGTGAGCCCACCATG
GTGGTTTTTTTTTAAATATGGAAGTTCTGTGTTTTTGTGTTTGTGTTCTAGTGAAAGTT
CTTTTTTAGATATCTTTAATTGTTTATATAAGATTTTATGTGGAATGTAGCAGTCATA
CCTATAAATTAACCTAAGGCAGATGGAGAATTTGGAGTTGAGCCTTCTACTGTAATT
TTCATATTGGATGTGAAGGCAGTGTGATTTTTCATAAGACTTTCATTGTTGTACTCCTAG

10

20

30

40

50

TTGGTATACTTCTGAATACCTTTGAGGCCAGTTTCTGGTCATCGTGAAACAAAGGTTTCCT
TCAGCAAATGCCTGTGGTAACATTAGGTGTTCTTGAATTAATGGACCAATGAAAACATCT
TTGTAGTTTTCTGCTTCAGGCAAGGGTTTTTGCCTAAATGTGGATAGGAAGAATGAAGC
CCTTCATCCTCCTTTTTGCCTGATTATAGCTATAGGAGGTTACCTGTTCTCAGAAGACA
TGAGGATTGTGAAGAGAGGGGTCTTGTGTTGCTTCAGAGGAATCAGTATCAGTCCCTTTC
AGAAGCTCTCCTGGATAGACAGGCATTAGGGCCAAATCACTCTGCCCCACCCCTCACCAC
CATGTCTACTCTCTGCTCCCTGTCTCATTCTCTCTTTACTTTGGTGGTGCCGAGAGG
ATGACATGATGGGTATTGATTCTCTCCACAGACCTTTCTGACATCCTACTTTCAGTATCC
CCCCAGTGACAGAGAAGACAAGCCAGACTGTGGACTGTGTTTGATTCTGGGCTCTATTTT
AAAAGACAGTGTATTAGTTCTCACATTTTAGAATTTGTTTGCCAAGGTTTCCACGGGAGT
TTAGAAACTAGGGGGAGGGCTGATGTTTAAAGTTAGCTAAAAATGTTCTTTTCAGGGTCAT
GATTTAATTTTATATTCTCTGGTGAGTTCCCTATAGTGACTGGGAGCAGTCCCTCAGTCTT
GATTGGCCAGTGACAGCATAGAGTACAATTAATATTAGGAGTGCTCATTGGGGAAACTA
AAATTTGCATCAAATCTGTGAGAGGTGTTTGGATCTACAAAATACCGGAGGGAAAGCTGA
ATTGAGAATCATAATAAATAAAAGACCACATCGTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGGACT
GTATCTTGCTCTGTCACTCAGGCTGCAGTGCACTGCAGTGGCACTATCTTGATCACTGCAGGCT
CCGCTCCCGGATTCAAGCGATTTTCTGCCTCAGTGCCTGAGTAGCTGGGATTACAGGC
GTGTGCCACTACACCTGGCTAATTTTGTAAATTTTAGTAGAGACAGGTTTCACCATGTTG
GCCAGGCTGGTCTCAAACCTCGGCTCAAGTGATCCACCCGGCTTCCCAAAGTGCTGGG
ATTACAGGCGTGAGCCACTGCGCCCAACCAAGACCACATCCTTTATTGAACGTTCCCTCC
TACCATGTTTTCTTTTTCTTTCAATTAATCATTGACTCATTGACTCTCACTGTTGATGT
CTGTAGCTGCTCTTATTTCAGTTTTATAGCTGTAAATTTCTCTGTCTTCTTAAGATA
CAAGGTAAATTTCTCTTGCTGATATTGGTGGTTTTGGAAAGTGAGTGGTGTGCATGACTG
CCCAGAAAACAACAGAACACAAAAGCATCTCTGCCCAGAACACATCACCAAATAGATAC
AAACTCATCTCTTACTGAGTGAAATAGCTTCCTTTTTTGGCAGCAAGAATGATTTTCTTGG
TGCCATATTTTTCAATCCGCTGCTCTTGAAGCCAGCAGCTATTGCAGACTTGGCATTCC
CAGGCACCCAGTTAAGGGAAAGTGACGTGTAGAGGAGGTATCAGATGGGTCTGGATATAG
AAAAAGCAGCTGGTTCAAACCCCATGGGCTGCCTTTCTGTGATAGAGTTATTCACACTT
GGGTTAGATAAGGCACAGAGTCTCTTACACTGGTGCAGAAATGAAACAGACAGTCTGGC
TCGTTGGGCAGCTAGCCTCCTCCAGAATCTGTGCTTGCCTTCCCTATGGAGTGACTGGT
AGATCTTAGAATTCAGACCTCAGTGGTTGCTAGCCAGCACTCTCACATTGGTTGGTCTT
CTCTCTGCATCTTTGATTCTTTAGAGATAGATAAACCAAGCACCAGCTCTCCTTTGACAT
GTGCTTGGAAACAGACACCTGCACGAGCTGCCTTTCTCCTCCACTTCTGCCTGGTCTTCC
AAACACCTGCTTTTCTTGTGTTGAACCTCTCCTTTTTTTTTTGGAGACAGAACCTCTCTCTGT
CACCCAGGCTGGAGTGCACTGGCATGATCTCAGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCAGGTT
CAAATAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGTGCCTGCTATCACG
CCTGGCTAATTTTTGTATTTTAGTAGAGACACGGTTTCACCATTTGGCCAGGTTGGTCT
CAAACCTCTGGTCTCAAGTGATCTGCCCCTCGGCCACCCGAAGTCTGGGATTACAGG
CATGAGCCACTGCGCCCCAGCTGATTCTTTACAGATAAACAAACATTGACTCTGCTTTGA
CATGTGCTTGGATCAGGTAACGCACAGCTGCCTTTCTCCTCCCACTTCTGCCTGGTCC
TCCGAATGCCTGCTTTTCTTATTTGAACCTCTCTGTCTTTCTGAAAACCTAACAGATG
CGAAACAGGCCATTTCCATGTTGGTGGTTATTAAGCAAGACTTGAACATTTGTTGTTG
CTTGTATTAGCTTTTATTTTCAAGTTTACAGAAATTAACCTTTCTTTTTTTCTGATCTCTTC
CAGAGTAAATGTGTCAAATACTGGCCTGATGAGTATGCTCTAAAAGAATATGGCGTCATG
CGTGTTAGGAACGTCAAAGAAAGCGCCGCTCATGACTATACGCTAAGAGAACTTAAACTT
TCAAAGGTTGGACAAGTAAGTATATTGTCTATTCTAGAGACTTTGGGAAGTGTGATGG
TGTGTAGGAATTCAGGGTCTTGCCGTTACTCATGTTTGCATACATGCATGCATTGCTCA
CTCATTGATTAGTAGCCATTTATTAGCTTCCTTCTATGTGCCAGGTACAGTTTAAAGCAG
TACTGGTACATTGTGAACAAGGCAGGTAGTGTTCCTGCCTCATCGAGCCTAGGGAGATA

10

20

30

40

50

GACAATTTAAAAACAAATAACTGGCCAGGCGCCGTGGCTCAGGCCTGTAATCCCAGCACT
TTGGGAGGCTGAGGTGGGTGGATCGCTTGAGCCGGGGAGTTCGAGACCAGCCCTGGGTGG
GAGACTGGGATAGGGTGACCTGAGTGGCTACAAGGTCTGTTAGGAGGCCTCCGCAGGGGC
CTATGTTGATGGCCTCCTCTCCAAGTATCCACAGACTTCAGCAGTTGTTCTTTTTTGTTC
CTTCCTTTGGAATGGAATATTATATAAAATGGCAGAATAAACTGGAAGAGAAGCAGTAGA
TGTGAGAGGTGCCGGGGGTGAAGTCTGCAGGATGTGGGGATTGTTTGGCTTTTGGAGGA
GGAAGGAGGGATTCAAGACACATTGTAGAGGTTTGAAGTCTGAGCGGACAGTGGTGCTGTG
GCAGACACCACAAAAGCTGGAAGGAGAACTGATGTGGGCAGTGATTTGTTTTCTTCTGGA
TGTGTTACAGCTGGGCATCTGAACAGTCATGTGGACATTCACTATTTCATTTCAGAGATATT
TGTTCAATGACCTCTTGTTTCTTGGCACCATGCTGCTTGCTGGAGATAGAGCTGGGGAAC
AAAACAGATGGAATCCCTGCACTCCCAAGTGTACACTATACTGGCCAGTAATCTACCAGC
CCAGTAATTGCACATATAAATATATCATTATAAACTGTAATCAGGGCTAGAAAAGAAAAA
TGCAGGAGTTTAGGGTTCATTGAGGGGGGAAGGGACTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAAC
AGAATCTTGTTCTGTCAACCAGACTGGAGTGCCTGGTGCATTCACGGCTCACTGCAGCC
ACAACCTCCTAAGCTCAAGTGATCCTCTCACCTCAGCCTCCCATGTAGCTGGGGGCTACA
GGTGTGTGCCACCATGCCACCCCAATTGTTAAATTTTTTATAGAGACGGTTGTCTCATT
TGTGCCCCAGGCTGGTCTTGAACCTCTGGGCTTAAGCGATCCTGCTGCCACATGCAGCCT
CCCAAGGTGCTGGAATTACAGGCGTGAGCCAGCGCACCCGGCCAAGGGAGGGGAGGTTCT
TAAGGCATAGGGAACAATGTGTTTGAGTCAGCAAAGGAGGTTGTGGGGGTTGTCTTAAG
TGTGGTAAGCAGCCAGAGTTGGATTTAAGTTTTTAAGAGATTCCCTCCACCCTGTAGAG
ACTGGAGGGGGCAGGAGTTGTTCTAGGGATTAGGACCAATTTGGAGGTAGTGCAGCCGTC
AGAGTAAAAAATAATAGGGATTGAACTAGGCCAGTGCCAGGGTGCCTGAAAGAAGAGGA
CCCAGTAGAGCTGACTGGAGGCAGACATGCAGGGATTCAAGTGAAGGAGTGTACCAAGGGC
GAGGGTGGTGTGCAGGGTGACTGGCAATTTTCTAGCTTGAGAAAGGTCCGGGGGGATGGC
AGTGGAGTTGAGGAAGCTGGGAGGATCAAGGACCTTTTTGTGAACACACAAAGTTTGAGA
TGCCCTTGGACACATTGAAGTGGAGCGGTGAGGAGGCAAGGGTGGAGGTGGGATGCGGAG
GGGAGGTGGGATGCAGAGCGTCGTGGATGGATCAGTTTTGCTCGATAGAGGGACATGTTT
TTCTGTGGCAACAGGAGGGCAAAAGGAGAAGGTGGCCACAGATGCCGGTAGATGAGCTGA
GAGTGATTGTATTCCCTATCCTCTCGGAAGCTTGAGGCAAGGCCATCAACAGACAATCAG
AGGGAATAAGAAGAGATAGAAATATATGAAGAAAGGGAGAAAAGATGAAATCGTAATTGTG
TAGCAGGGCAAGAGTCCAGAAATTTCTGTGCTGTGCCAAGTTCACAGTTGAGGCGGTGA
ACATGAAAATATACTGATACCCATTGCCGTGGTTTTTCTCCAAGGACACTTGGCTCCTAGG
GCACAAAACAGAAAGTACGTGGTTTGTCCAGGCCGAGGGCTTTGCATAGTTGCAGTGGAT
GGAGAGGAGGTCAAGGAATGGAGGCACATGGTAGAGAGAGACTGTCCCCAGAGCACGGGG
ACTCCTGGCCGGATGAGGGGGACAGGGGCAGGAGGAGGCAGGTGGAAAGTAGAGGGAGGG
CTCAGTGGTCTGGAGGCTACAGGAAGTGACGGGGGGACCAGAAGGAGCTGGAACCAGTG
TGTTTGTGGCCAGGGTGGGATGTTTGGATTTCTGATGTCAGAGAGGGTCCAGTCCCTCT
GATGATGGGGAGGGGTGGAGGCTGAATCTATGGTAGAGATAGTGAGAGGAACTGGAACAA
TGTAGCTGTCAAGTGGAAATGGGAGAAAGGGCTGGGCGTGGTGGCTCACGCCTGTAATCC
CAGCATATTGGGAGGCTGAGGCAAGAGGATCGTGTTAGCTCAGGAGTTCTGGGCTGCATT
GAGCTGTGATTGTGCCACTGCACTCCAGCCTTGGCAACAGAGTGCCCAAGTTAAAAATAAA
AATAAAATAAAATAAAAAATTAATAAAAAAAGAAGAAGAAAAAGAGAAAAAGTGCCTT
TTACATCCCTTTTAAAAATGTCACTTAAGGCTGGGCAAAGTGGCTCATGCCTGTAATCCC
TGCACCTTGGGAGGCTGAAGTGGGTGGATTACTTGAGGTCAGGAGTACAAGACCAGCCTG
GCCAACATGGCGAAACTCCTTCTCTACTAAAATTAGCTGGATGTGGTACATGCCTGTAGT
CCCAGCTACTCGGGAGTGCAGTCTGAGGCCCAAGAATTGCTTGAATCGGGGAGGCGTAGG
TTGCAGTGAGCTGTGATCAGGTCACTGTGCACCAGCCTGGATGACAGAGTGAGACTCTGT
CTCAAAAAAAGAGTCACTTAGCTTAGATTGTCTCTACATATATAGGAAGAAGATGTAGG
AATGAATGGTGCTGCTACAATTACGTCACTCTGGATAGACCCAGAAACATGATACTTTTTG

10

20

30

40

50

GTTTTCTGTAGCCTTGGTGCCATTGTTGATCTTTATTAATTATCATTATCCTCAAAATAG
CCATAATGTGCTGAGTCTCTTCTATTTGCTGGGCAGAGGCTGAGTATTTTCAGCGAGCTC
ACTGAGTCCTTAAAAATTGCATTATGATAGAGAGAAAGAGATTATTATTTGCATTTTGCAA
AATGAAGAAATTGAGGTTTAGAGATACCCAAGGGCCACGTGAGTGTGAGTGCCTGGAATT
GGAGCCTAAATCTAGTCATCTGATAGCAAAGCCTGTTTTCTTATCTGCTTTGCATTAAAT
ATAAGTTTAAAAAGAACAAATACTGGCCAGGCTGGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCA
CTTTGGGAGGTCGAGGCAGGCAGATCACCTGAGGTGAGGAGTTTGCAACCAGCCTGGCCA
ATATGGCGAAAGAAACCCCATCGCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCATGGTGATG
TGTGCCTGTAATCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATGGCTTGAACCCGGGAG
GCAGAGGTTGCAGTGAAGATCACGCCACTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGAGTAAG
ACTCTGTCTTGAAAAAAGAAATGATACTATAGTCTGTGTTTATATGGTGG
GGAAGGTTGAGTATCAAAAAATAACAAAGAGGAATGAATGTCTTAAGTGAATGCCGTGT
TCCCCATCTGCTTCTCTCTGCTGGGAGGAGAGACCTGGATCCCTAGAGGTTTCAGTTG
CCTCCAGAGCTGAGTGCCACAGGGATGCAGGGGAATAGGGATGTTACCTGTCGCTGGTAA
TTCAGAGAGATGATTACGGGTATAGTTACCTGAAAGAACAATTGCCATGCCAGACGCTCT
TGTTCTTTATGACAGAGGCAAGAGTTGCCTCCAGGATTGCCAAAAGGAGACGAGTTCT
GGGAACCTCACGAAGAGGACCTTTTCACTGGAACCTGGGGAGATTCTCTCTCTCCATTG
GATTTAGGAAAGCTTAGAACCGGGTATTCTCAACCTCTTGATTTATTTAATTCTTTTC
TGGTTTTTCTTGGCTCTACTCCAGGGGAATACGGAGAGAACGGTCTGGCAATACCCTTT
CGGACCTGGCCGGACCACGGCGTGCCAGCGACCTGGGGGCGTGCTGGACTTCCTGGAG
GAGGTGCACCATAAGCAGGAGAGCATCATGGATGCAGGGCCGGTCTGTTGCACTGCAGG
TGACAGCTCCTGCTGCCCTCTAGGCCACAGCCTGTCCCTGTCTCCTAGCGCCAGGGCT
TGCTTTTACCTACCCACTCCTAGCTCTTTAACTGTAGGAAGAATTTAATATCTGTTTGAG
GCATAGAGCAACTGCATTGAGGGACATTTTGATCCCAAGGCATTTTCTCCTAGACCCTA
CAGCACTGCCATTGGCCATGGCCATGGCAACATGCTCAGTTAAAAACAGCAAGACTAAGT
CAGCATTATCTCTGAGTCCACCAGAAGTTGTGCATTAAACAACCTTCATCCTGGCTCTGCA
GTTTCTCCTTATTCTTCATGATGTTTGTCTTGTAGCTGTTGACTGCTTTGTAGGTATTGA
GGTGGTGGGGGTGTGGTGAAATAGGCCTGACTCTTGAGGATCCCTTAAGTCATTTTTGC
TTGGTTCTCTTTTCTTCTTCTTCTACTCTTCTATGATTCTCTCTTTGATTGTGAT
TCTGTTCTCTCTCTCTCTCTCTTTTTTTTTTTTCTGTTTTTGAGACAGAGTCTGTTTT
GTTGCCAGGCTAGAGTGAGTGCGGTGCCATCTTGGCTCACTGCAACCTCCGCCCTCCGGG
TTCAGGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCATCTGACACTA
CGCCCCGCTAATTTTGTATTTTAATAGAGACAAGGTTTGTGTCATGTTGGCCAGGCTGGT
CTCGAACCTTGACCTCAGGTGATCCACCTGCCTTGTCTTCCAAAGTGCTGGGATTACA
GGTATGAGCTACCATGCCCGGCCATTCTGTTCTCTTCTACCATAAATATATTCTCCCC
TAACACTATATTTGTTTGCTTACAAGATTCCAGCTGCTTTTCCACCAAGGCCTTTGATG
GAAGCTGTGCTGTGACCTCTGTAATGAGTCTGTGGGCTGCTGATTCTCCAGTTTGGGCTT
CATGATTATACTGGGAATATTGGGTTTCCATAATCTCATTTCTTTGGGCAAGTAGA
TATATGTGAAAGTGTTTATTTGTCCAGTTGTAAAGAAGCTACCATTATTGAGCCAGCC
TCTGAGCACAATGTTTTTGTGTTTGTGTTTTTAATTTTAAATTTTAAATTTACTTCTTC
TATTTCAATAACTTTTATTATTATTTTTTGGAGACAGAGTCTCACTCTGTCAACCAGGC
TAGAGTGCAATTGAGCGATCTTAGCTCACTGCAACCTCTGCTTTCTGGGTTCAAGCAATT
CTCATGTCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGGGATTACTGGTACGTGACAACATGCCTGGCTAA
TTTTTGTGTTTTTAGTAGAGACGAGGTTTTGCTATGTTGGCCAGGCTGGTCTGGAACCTC
TGGCCCCAAGTGATCCTGCCTCGGCCCTCCCAAGTGCTGGTATTATAGGTGAGAGCC
ACTGCGCCCCGGCCCTCTTTCAGTAATTTGATGTATTTTTTGTATATGATTCCTGTTC
ATTCTGTCCAACCAGCACTCTGTATGGTATGTGCTGTTGTCCCATTTTACAGATGCAGA
AATTAAGGGTCAGAGAGGTTAAGGGACTTACCTCAGGCACGTTGTACTGGAGAAGCTGAA
CTCCAAGAGCAGGTTTGGGCTGACTCCAAAGCCCTATGCTTTTTGCCAACATATTTTCAA

10

20

30

40

50

ACATAAATAGACAATTTTATAAATAGCTCCAAAGAGTAGACATTGTTTCTGTTGATATTA
ATGGCTTGGTTTTGAGTCTGAAACCCCATGAATGATTCTGTTGTCCCTGCTTTTTGTCC
TTCTGCCCCGAG**TGCTGGAATTGGCCGGACAGGGACGTTTCATTGTGATTGATATTCTTAT**
TGACATCATCAGAGAGAAAGGTGGGTCATCTGGTGGGCAAGAAGCGACAGTTTCTGTTTT
TAGTTTTATGGAAGGAACTGCTCACGAAAACAGTCTGGGGAAGAGAGGTTGAATGGGAAA
ATTCTTTACAAAAATCTGGGCTGAAGACTTCAGTGTGTCTGCCTGAGAACAGAAAGTGAC
ACTATTTGAGCTTTTGGCATAAAATGAAGTCTAGGAGCTGCAGAACCCTGCCATGGCC
TTTTGTTGCATACACAGTGGTGGTCTCTATCCAGCCACCTGACCTTGTTTACAGTATGGG
GTGATTTGTTGGCAAGTGAGGGAATCCTGACTTCTGCCACTTCGTTATTTATGTAGTCTT
CTGGGATCATTGGTATTGGTCAGAAGTTCAACACTGTAGCCATTGCAACATGCTCAGTTA
AAACAGCAAAGACTAAATTAGCATTGTCTCTGAGTCCACTAAAAGTTGTGCATTAAACAA
CTTCATCCTGGCTCTGCAGTTTCTCTTTATTCTTCATGATGTTTCCTTCGTAG**GTGTTGA**
CTGCGATATTGACGTTCCCAAAACCATCCAGATGGTGGGTCTCAGAGGTCAAGGATGGT
CCAGACAGAAGCACAGTACCGATTTATCTATATGGCGGTCCAGCATTATATGAAACACT
ACAGCGCAGGATTGAAGAAGAGCAGGTACCAGCCTGAGGGCTGGCATGCGGATTCTCATT
CTCTTAGGCTCTTTGGATACGCTCTCCTTTTGAGCAGGAGGACAGGCTCTGATAGAC
AACTGTTTGATTTTCGGAATGGGAAACAACTCCCAACTAAAAGGGCCTCTGGAACTGTC
AATTATTCTCCACTTCTCAGCTCTGATTTTTCACTGCAGAGGAGCTTAGGGAAGGGCACC
ATCCTATCAGCCTGGCCTGCCAGATTGAAGAACTGCCATGCAGAAAGGTTCTGATGTTCT
CAGGCTCATGTGGCAAGCGTAAAACTCAAAGCCTTGAAGTTTCTAGCCTGTCCAGCCTT
GATCCAGGCCATGTTTATCCTGATTCCATCCTTTAAACGAATGCCTCACTCTTAATAGC
GCACGGCAGTTTGAACCACTAATTTGGTCGAGTTGGAAACAGTGAAATTTCAATTTTAAT
AAGCTGTGCATAATGAAGAGGAATGTGGAATTGGAGCCTTTCCATCTGAAGCTATTCTATA
ACAGGCACAAAGCTGAGTTAATTAGGAATATGCTGAGATGAAGGAAATGAGGAGAGCTGC
TCTTTTGGGGCTGTGCTTCTCTCCCCAACCCTCAACCCATTGCCATGCTGCAGATGG
GGTGGTGTCTAAACATCAGTGGCGAGTGCCTGCATTACTCTGCTCGTTGCCTTCCAGAGA
ACTCAGCTTCTCCAAATGCTGAGCTCTTTTCAGAATGGGACCTGCCACCAGTATTTGAAA
GATTTCTAGCCTAGCAGAACAGCAGCCACGTTATCAAAGTTTGGTTGGCCAAAGGAAGGT
ACTTGCTAATTAGTTTAGTAGGTTTTCACTCCGCACAGACATACGGGATTGTTTTATTGT
ACATAGACATCTTCAGAAACAGTGTATGTATAGAAATGTAAGGTCAAATTTGAACCTCA
GTGCTTTAAATCTGAATTTGTATTAATGATATGAAATATTTAGACGGTTACTTTATTTT
ATATCTGTCTTCCATTATACTTAATTTGGCTCAAGAAATAGTTAGGCAAAAAGTTGCCAA
AGAGAAGGATCTCCTAGTAAATACAAAGAGAATGTAACATAGTTGCTACAAGTTGGAGCA
TGTTCAGGGATGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGAGAGGTTCTCTCTGTTGCCCA
GGCTGGAGTGCAGTGGTGAATCATGGCTCACTGCAGCCTCAATCTCCAGGCTTAAGCG
ATCCTCCCACCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGACTATAGGCATGCGCCACCACACCTAGC
TAATTTTTCGCAATTTTGTAGTGTACAGTTTCGCCATGTTGCCAGGCTAGTCTCGAAT
TCCTAGGCTCAAGCAGTGTCTTGCCTCAGCCTCTCTGAGTAGTTAGGACTACAAATTTG
TGGCTCCATGCCCCGCTAATTTTTTTTATCTTTATTTTGTAGAGACAAGGTCTCACTGTGT
TGCCAGGCTAGTCTTGAACCTCTGGGCTCAAACAACCTCCCCTTTGGGTTTCCAAAG
TGCTGGGATTACAAGTGTGAGCCACTGAGCCAGTGACCTCTGGGTTTTAAAAATGTGTA
GGCTTCAATTATTTTAAAAAATGAAATCCTGCAATATATAGTTTCTGCGTTGTGT
GGTTTGAATCAATCTGGGAACCTGGCTTGTGCTGGCTGATTGTGGTAAGTAAGAAGTACTTA
ATTTAGTAGAAAGTTTAAATGGCAGACATAACATTAAACCCAGCTGATTTATAAATGAAG
CAAAAGAACAAAACCTCATTGAGGATAATTGGTTATTCTAAAATACAGTCATTTCTAAAAT
TATGAAGTGTTCAGGACCTTTGGGAGTGAAAGAATTTGCTAAAGAAGGATCAGTGAAAAA
AAGGAATGATGGGTGAAGAGCTGTGGAGAAGGAAGAGAAGAAACAGCACAAAGGAAGGAAG
AATATAAAATCAGATGTGGGAATCCAGGGGAAAGTGCAAACGAAGCAAGATTGAGAAAAAT
TCTCAAGTTTTTATAAACAGTTCTCACACTCTGCCAGTTTCTTGGAGGTAGACTTTTTTG

10

20

30

40

50

TTAACTTCCAACCTACAGTAGTGAAAAAACCCTCAAATTTGCAAAAGCAGTC
TGTGGAATTTTCTTTACCCAGCTTTCTGACTGTTAACTTTTACACACTTAACTTTAT
CATTCGTTTATTCTCTCTGTTTAAATTTAAATGTAAATTTTAAAAAGTAAATGTTTG
TTGGTTACAAACATTTATACCCCTTTGTCTCTAAATATCATTTTCAATTTTAAAAATGAAT
AATCTAAGCCTACACATTCTAAATGTGTATATTTTCTAAAAATAAGGGCATTCTCTTAC
ATAACCAATGTACAAATTATTTGATACAGTGATCAAAATCAGGAACTAACATTGATATA
ACACTATTATCTAACCTACAGACCATCTTCAAATTTTGTCTGCTAGTATCTTTTATGGG
TCCAGGGTCACACAGTGCAATTTGGCTATAATGTATCTTTTCTCTTTTGTGAGACAGG
GTCTCACTTTGTTGCCAGGTTGGAGTGCAATTTATGGCTCACGGCAGCCTTG
ACCTCCTTGGGCTCAGGTGATCTCCACCTCAGCCTCTCGAGTAGCTGGAGACCACAGG
TGTGCACCACCATGCCTGGCTAAGTTTTGTATTTTTTGTAGAGATGGAGCTTCGCCGTGT
TGCCCCGGCTGGCCTGAACTCCTGGGCTCAAGTGACCTCCCGCCTTGGCCTCCCAAAG
TGCTGGGATTACAGGCGTAGTCACACACCTGGCCAGTTATTAGTATGTTTAGTCTCTT
TAATCTGGAACAGTTTCTCAGTCATTCTTTATTTTTCATGACCTGGATGTTTTGAAGAG
TTTAGGCCAGCTATTTAGCAGAATGCCCTTTCAGTTTGGATTGTCCAGTGTTTTCTCTTG
ACTATATTCTAGTCATGCATTTTGGCAGGACTGTACAGAAATGTTGTGTAGTCTTCT
TAGTACATCACATCAGGTACACACTGTTGATCTGATTCTACTAGTGGTGTTAACTTTG
ATCACTTGAATAAGGTGGTGTCTGTCAAATTTGTCCACCGTAAAGTTACTTGAGCAAAC
GTAGCTGGGACTACAGGCGTAGCAAAAATGTAGCAAAAAGTAGTATTTTGCTACATTT
TTTTTTTAGGAACAAAGTATTTTCCCTTTTAAAGTTAATCTTGTCCATAAAGTTATTA
TTTTTCCCTTTTAAAGTTAATATCTTGTGGGTAGATACTGGAGACTGCGTAAATTACCTAT
TTCTCATAACTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGTCTCGCACCGTCTCCAGGCTGGAGT
GCAGTGGTGCAATCTCGGGTCACTGCAAGCTCCACCTCCCGGGTTGACGCCATTCTCCTG
CCTCAGCCTCCCAAGTAGTTGGGACTACAGGCGCCGCCATCACACCTGGCTAATTTTTT
GTATTTTTTAGTAGAGACGGGTCTCACCGTGTAGCCAGGATGGTCTTGATCTCCTGACC
CCGGCTCTCATAACTTTTTTGCCTACTAATTTTATATTCATTGATTAAATTCTTGCCTG
AAAAAATTATTACTGTGGTATTTGCCAAATGGCAATTTTCTGTTTCCATCATTTGCCTTTC
CCCCGCTTTTAAAGTATAAGTGACAAAGAAAACTGTATATAAAGTGACACCATGATA
TTTTGATATATGTATACCTTGTGAAATGATTATCAAAATTGAGTTAAATAATGCATCCAA
CATCTCAGTTACTTTTTTTTTTTTTTGGACAGAGTCTTGGTTTGTCACTAAGGCTGGAG
TGCACTGCCACAATCTCGGCTCATTACAACCTCCACCTCCAGGTTCAAGTGATTCTCCT
GCCTTGGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGTGCCACCATCACACCGGCTAATTTTT
GTATTTTTTAGTAGAGGTGGGTTTCACTACGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACC
TCAAATGATCCTCCCGTCTCAGCTTTCCAAAGTGGTGGGATTACAGGCGTGAGCCACTGT
GCCCCGCCACTCTTAGTAAATTTTAAAGTGACATTTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGATGGA
GTCTCACTTTGTACCCCTGGCTGGAGTGCACTGGCATGATCTTGCCACACTGGAACCTCT
GCCTCCTGGGTTTCACTCAGGTGCTTCTCCACCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGAGACTACA
GGTACCCGCCACCATGCCTGGCTAATTATGTATTTTTTAGTAGAGATGGGGGTTACCAT
GTTAGCCAGGCTGGCCTCAAACCTCCTGACCTCAGGTGATCTACCCACCTCGGCCCTCCAA
AGTACTGAGATTACAGGCATGAGCCACCACCCAGCCACATTACGTTAGTATTAAGTAT
AATCACCATGCTGTACATTAGATCTCCAAATGTATTCATCTTATGTAAGTTCAAGTTTG
TACCCTTTGACCAAGTCTCCTTGTTTTCCCTACCCCAACCCCTGGTAATCACTGCTTT
AATCTCAGTTTTTATGAGTTTGACTGGTTTAGATTCCACATACAAATGAGATCAGGCAGT
GATGGTTTATTTCACTTAGCATAATGTATCCATGTTCTTGCAATGACAGGATTTTCTT
CTTTTTAAACTAATATCCATGCTGGACACGGTGGCTCATGCCTGTAAATCCAGCACTTT
GGAAGGCTGAGGAGGTGGATCACTTGAGGTGAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAAACAT
GGTGAAACCCATCTCTACCAAAAATATAAAAAATTAGCTGGATGTGGTGGCGCACACCT
GTGATCCAGCTACTTGGGACACTGAGGCAGGAGGATCGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGG

10

20

30

40

50

TTGCAGTGAGCCAAGATGGTGCCACTGCACTTTAGCCTGGATGTTGATGTTGTTCCACTT
GTTTATTTTTATTTTGTCCCTGTGCTTTTGGTATCAAATCCTAAAAACCATTGCCATGA
CCATTGTCATGTTACTTTCCCATATGCTTTCTCTAGAAGTTTAAAGGTTTCATCATTCC
CTTTTCTGTTTTTAGTTGCAAGCCTACTATAAGGAAGGGCTTTTCTTTCTCCTTATTTA
TTTATTCATGTCTATCAGAATGGGCACCTTACTACTATTTTGTGTTATTGCTTGAATT
GACTTGAATTTGGCTAGTGGAACCTTTTCAGATCGGGTACTCTGTCTTTTGATCTCTT
TCCATTTTCAAGCACTTCTTTAGACTTAAGATGGTCTAGGCTCATCTCTCCTTTCCAG
CCATTTTCAAAGAACCTGATTCCCTTTAGTGAAGAGCAGTATTTGAAACCAAGATCT
GGGCACTGGGTCTACTTGTGTTGTACTGGTACAGTGTTCTTTGAATTGCTAATTAGCTGAT
CAATTACTGCTCTATTTGAGTTCCCTCTTTCTAAAACCTCACATATGTGTACAGACGGTC
CCTGACTTATGATGGTTCGACTTATGATTTTTGATTTTATGATGGTTTGAGAGCAATACA
TCCATTCTGTTTTTCACTTTTCATTCAACACTTTATTTTAAATAGGGATTGTGAGATGA
TATTGCCACGTGTAGGCTAATGTAAGTGTTCTGAGCACGTTTAAAGTAGGCTAGGCTAA
GCTGTGGTGTTTGGTAGGTTAGATATGTTAAATGCATTTTCGACTAGTGATATTTTCAAC
TTATGATGAGTTTATTGGGATGTATCCCATAAAGTCGAGGAGCATTATACATATCTCTG
TATAACAGAGTGAGTTCCCTTATACCTTTCATCCACTTTCCCTGAAGTTAACATTTTACC
TAACCATGATACATTTATCAAACTAAAACATTAACATCAATACATTGCTATTAACATAAA
CTAGAGTTTAAATGGATTTTGCCAGTTTCCAATGAATATCCTTTTTCTGTCTCCTTGATC
CAATTCATGGTCACACACTGAGTTTGGTCACTTGTCACTGTAGTCTTCTCCAATCTGCGA
CAGCTTCTTAGGCTTTCCCTGTTTTTTCATGTACTCTTGACGATTTTAAAGAGTACTGGTC
AGATATCTTGTAGGATATCCACAACTTGTGTTTAACTTATGTTTTCTCATGATTAGAC
TTGAGTAATGGATTTTGGGAAGAATACCACAGAGGTATATTGTTAAGTGTTCTCATCAC
TTGGAGGTAAATGTTATCAACATGGCCTGGTGATGTTAACTTGTGAGTTTGTAGTTA
GTATCTGCCAGATTTTCTCACTGCATAATTACAAATCCTCCTTAACTTATGATGGGGTT
ACAGCCTGATAAGCCCATCATAAATGAAAATATCATAAGTCAAAAATGCATTTAATGCA
TCTAACTACTAAACATCACAGCTTAGCCTAGCCTGCCTTGAACGTATTCAGGACACTTA
CATTAGCCTACAGTTGGGCAAAATCATCTCATGGGAAGCCTGTTTTATAATGTGTGCAT
ATCTTATGTAATGTGTTGAGTACTGTACTCAGAATGAAAACAGAAGGGTTGTATTGCTT
TTGCACCATCATAAAATCAAAAAACCATAAGGCAAACCATCATGAAGTTGGGGACTGCC
TGTACTTTTTCTCTTTCCCTGTTCAATTCCTTGGGAAGAAAGTCATTTAGTTTCAGACCA
TACTCAAGAAAAGGGAAATAAAGCTCCATCTCTTGGAGCTTAATTGAACTGGAATGACT
AGTTTCTATATACATTATTTAGAATCCTTTTGTAAAGAAAGATTTGTCTCTCTCCATT
TATTTATCCATTATTTATATTGATAGAGACGCATGTACATTTATTTTATACTTTGGGTT
ATAATCTATTTTTCTGTCAAATGTTACAGCTTTGGTCACTGGGAGGTTCTTCAGATT
GGCTCCTGTGTCAATTTGACATGTCCCACCCTCTCGTTTCTGAGTACTTCTCTACTTTGG
CATTACAAAAGATGTTCCAGGCTCCTCTTATATTTTTCCCTGCCGAGCCCTAGAATCAT
CCATTTTTCTATGGTGCCCTGGTTCCCTTTTACTTTAGATGGGGGTTTAGAAACCAATCTG
GGTGTTGGGTGTGCTCATTGCTACTGGAATCACTGCTTCTAGGCCCTCTCAGCAGATAGA
GCTAGAAAACATATGGCTGTATATGAATCCATGGATTATATATATCTATAATTGTTTTT
TGTATCTGGCCATCTATATATATATTAAGCTAAACATGAATTCATACTGATGTCTCAGAC
TCGAATCCATTGCCGAGGGCTCATCTTGCCCTTCTCTTGCTTATTTGTGACTTCTTTC
TCTAACAGGGGAGAAACCCAGTCTCATTATCACCAACCTATCTACTCATTTGTTCAACCC
TGGTATAGGTGTAAAGTAGTTTCAGAATTACTAACCTATACCCATGTGAGAATTGTATTT
GCACTTCTTGTGTTGAAGGAAATACATACAACACAGGTAGCGTCTCTACACTTCAGTATAC
AGAGATCTGAACAGTGTTCTCTCTGAGTGAATCATATTGCAGGACAGAAATTACTTTTAA
AAATTCTGTAATGGGTGAGGCTATAATCCTAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTGGGCAGAT
CACCTGAGGTGAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAAAATGGTAAAACCCCATCTCTACAA
AAAATACAAAATTAGCCAGGCGTAGTGGTGTGTGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGG
CTGAGGCACGAGAATCACTTGAACCTGGGAGGCAGAGCTTGCACTGAGCTGAGATTGAGC

10

20

30

40

50

CACTGCACTCCAGTCTGGGCGACAGAGCGAGACTCTGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AATTCCATAATGATAGCAGAGCTGGAATAGAAATGGGATTGCACAGGCTGAATCTGAGTT
GTTGCAACAGTAAACGAGCAAGATTTAAACTGGCCTTGTGTAGCACTTGCTATTTGGCTC
CTCATATTTTATTAGACGCTTATCTTTTTTTGTTTGGTGTTCATTCCCTTGAGAAATATT
GAGTGCCTTTTCTGTTGCAGACATTGATTAGATGCTGAGGTTGTAACAATGAAGAAGATA
GCCATCGCTGTTGCCTCATGGAAGTTTACTAGATGTAAATTTGAGTTAACATG
AGGCCGTGCCCTATGTGCCCTATTGTTTCTTCACACAGCTCCCTTCATCTCCTTGGTCC
AATGAAAAGGTTTTTTCATACTTGTTCATTTCCTGCATTAATTAAGTAGGTTGTAC
TGTGCCAGGCACTGGGAATATTTAAGTAGTTGTGTTCCCTGAATTGGAAATGAATCCAGCA
TGGTTGGAGTAGAAGGAGCTGGGGGGCAATGTGGAGTGTGATGGGGAGATTGGAAGTA
AGCTGAGACCAGATTTTTCAGTTTGGAGGGAGAGGTGGGCCTTGTAGGCCATATTACAGA
TTGTAGACTTTATTTGGAGGGACATGGAAGTCATTGAGGAGTCTGAAGCAGGGGAATGAC
ATAAAAAGATCCTCATTTTAGGCCGGATGTGGTGGCTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTT
GGGAGGTTGAAGTGGGTGGATTGCTTGAGGCCAAGAGTTTGAGACTAGCCTGGGCAACAT
GGTGAAACCCTGTCTCTATCAAAAATACAAAAATTAGCTGGGCATGGTGGCTCACACCTG
TAGTCCCAGCTACTTGGGAGGCTGAGGCATGAGAATCGCTTGAACCCGGGAGGCAGAGAT
TGCAGTGAGCCGAGATTGTGCCACTGCATTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACTTCGTG
TCAAAAAAAAAACAAAAACCCCTCATTTTGAAAGGGAACCCCTGGCTTGAGGGTGAAGAA
TGGGTGGGCACTAGGCTAGAGCAGCTGCAGGGTCAGTGAGGAGCTGCCGCAGTGCTGCAC
GTGAGAACCCTCATGGTTGGTCAGGGTGGGCAGGACTGACAGTGAGCACAGAGCGAAG
TAAACCAGCAAAATTTTCATGATTGGATAGTGGAGGAATCATGGTGTTTGTAGTCTTCA
AATGTGAACCCAGAGTGCACTGGACAAGTAGTCTAGGCTGCTCTGTAACCAAGGCAAGTG
TTTTCATTTTACCCTCTCTCTGCTCTTGGCCTTTGGATTTTTTGTAATTTAAGGTTTA
TGAATGTAATCAGTTACTTAACATGGAAAGATACTTAATACCAGATGATTTTGGAGTCTT
GTGATCAATACCTTCTCTCAATCTTGGGTGTGTGTGTCAGTTGGCAAGGCCATAAAATTTGT
TATAAACATTGCAGAAGGCTTGGTTACTGTGCTGTGACGTTGAATTTGGGTGGAGATAGA
TCAATTTTCAGTTGATTTTCTAGGCTTCAGAAACACATTACCCTCTACTCCACAAACACAA
ATCAAAACAAAACAAATCCCTATTCCCTGAGCATTTCTCTTGATCTATAACACAGCCTGGG
CTGTCACAGTACTAAGACAAGCCCATCTGATTTGTGAGTCAGTTTTATTTCTTGGTCTTC
TACATAAGCTAAAAGTTTCAACATTTTAATGCTTTTCTTGGATTCCCTTGTAGTCATTG
AAGTAATTCCTGTTTCATTTGTACTAATTATTCCACACTAGAAAATCTGTGTGAATCAC
TTTATGTATTAATAGAAATACTGATTTTTATTTTCAAGGAAGTATTGAGTAGGGAGGGG
AAATAGGGATTTGCTGTTCAATGGGTATAGAGTTTCAGTAATACAGACAAAAACTTCA
GAGATCTTCTATACAGCAGTGGGTATATAGTTAACAATACTGCACATCTAACAGTTTGT
AAGAGGGTAGATCTCATGTCTGTGTTTTTAAAAATTGCTTTTTAAAAAAGTATCGAGTA
AAAAAGCAGTTTTACTCCTCAGTTTCTATTTATATTTAAAAATTTTATTTTAAAAAGTGAG
TTGAGATTTTTTAAACCTCAGGATAAGTTTTATTTTTTAAAAAATTTATTTTTTATTTT
TTTGAGATGGAGTCTCACTCCATCTCAAGTCACCCAGGCTGGAGTGCAAGTGGTGTCTTGG
CTCACTGCGACCTCTATCTCCCAGGTTCAAGTGTCTGCTGCTTCAGCCTCCTGAGTAG
CTGGGATTACAGGCTGCAACCACACGCTGGCTAATTTTTGTATTTTGTAGTAGATGG
GGTGTCAACATGTTGGCCAGGTTTGTCTTGAACCTCCTAACCTCAAGTGACCACCTGCCTT
GGCCTCTCAAAGTGCTGGGATTACAGGTATGAGCCACAGTGCCCGGCGGGATAAGTTTTTA
AAATAATATTCTCTGCTGGCTGGGCATGGTGGCTCATGCCTGTAAACCCAGCACTTTGGG
AGGCTGAGGCAGGAGCATCACTCGAGGCCAAGAGTTTGAGACCAGTCTGGGCAACATAAT
GAGACCCCTCTCTACAAAAAATAAAAAAATTTGGCTGAGTGTGGCATGTTCTCTGTAGC
TATCGGGAGGCTGAGATGGGAGGATTGCTTGAGCCCAGGAGTTTGGGCTGCAGTGAGCT
ATGATTGCACCACTGCGCTCTAGTCTGGGTGACAGTGTGAGACCCTGTCTCTTAAAAAAA
AAAAAAAAGAGCCAGGCACAGTGGCTCAGGCCTGTAAACCCAGCACTTTGGGAGGCCG
AGGCGGGTGGATCACTTGAGGCCAGGAATTTGAGACCAGGCTGGCCAACATGATGAAACC

10

20

30

40

50

CCGTCTCTACTAAAAATACAAAAATAAGCTGGGTGTTGTGGTGCACACCTGTAATCCCAG
CTACTTGGGAGGCTGAGGGAGAGAATTGCTTGAACCTGGGAGGCAGAGGCTACAGTGAGC
CGAGATCACACCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGCAAGACTCCATCTCAAAAAACA
CAACAACAAAAAACCAATGTTCTTGCCAATTCTTCCATTAAATATTTAATTTTGAATT
ATATTGTATCTTTCTAAGGATTGTTCTTATATAAGCAAAGATTTTTTCAGTGCTAAACAT
TTACGACTGCTATTAGAAATGGTTATTTACAGTCTTTTTGTTTTAAGAAAATGGCTGT
TCAAAAAATTAATAAGTATATAAACCAACAAAATATTTTTGCTTTGGATGTCTGTTTT
GCAGCTTCTTCCCTACACTATAAGTTCTTACTGACTGCTTTATCACTTAATAAATTGGTT
TGGCTACTTTAACAGAGGCAAATAGTATCAGGCAAAAAATTATTTTTTATTTTTATTTTT
TGAGACAGTCTCACTCCATCACCCAGGCTGCAGTGCAGTGGCCTGATCTTGGCTCACTGC
AACCTCCACCTCCCAGGTTCAAGCGATTCTCATGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGAATT
ATAGGCATGCACCACCACACTCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGACAGGGTTTTGC
CATGTTGACCAGGCTAGTCTTGAACCTCTGACCTCAAGTGATCCATCTGCTTTGGCCTCC
CAAAGTGCTGGGATAACAGGCATGAGCCACCATGCCAGCCCTATTTTTTATTTTTTAGA
GATGGGTCTCGCTTTTTAGAGATGGGTCTTGTGTTGCCAGGCCAGAGTGCAGTGGTGCGAT
CATAGCTTTACTGCAGCCTTGAATTCCTGGGCTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCG
AGTAGCTGGGACTACAGGCCTGTGCCACCAGGCCTGGCTTGTACATTAGTATTTGATATG
GCTACCCTAAGGGCAATCCTATAGTGAAGTCAACATTAGATAATGATGCTCATCTGATGG
ATTAGATTTTTCAGAGTTGGCTGTTCCAGGTGCCTATAGGAGTAGAAAAGGGTGACAAAC
CTCCTAACTAGATGTCTACCAAATATAGTTCACTCCACATCTGAGATGAGACTGCATGA
CTGCTGGTTTTCTTTGCCTTTTCCCCCAGGGTATCATCAGAACCAAAAAATAAGTTTT
AAAGGTGGGTGAGGTGTGTGTTGGCTCATGCCTGTAATCCTAGCACTTTGGGAGGCTGAG
GCAGGTGGATCATCTGAGCTCAGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCTAATAACATGGTTAAGC
CCCATCTCTACTAAAATACAAAAAGTTAGCTGGGCATGGTGGTGGGCACCTGTAATCCCA
CCTACTCAGGAGGCTGAGGCATGAAAAATCGCTTGAACCCAGAGGCGGGGGTTGCAGTGA
GCCGAGATCATGCCACTGCACACTAGCCTGAACAACAGAGCAAGGCTCTGTCTCCAAACA
AACAAAAATGGTGCCAGAGTCTTTTCCAGGGCTGAGGGGAGATACAATGAAGTGTGTTAT
TTTTTCTGATAAGAGTGCTACCATCTTTCATTCTTGTGTGCCATTCTAGTTGGGGTGAA
TTTGTTTTCCGAGTTCCTTTCCAGCTGTTTGCCTGAAAACCATGAAATGTGTTCCACA
TGAATATGAAATGATTAGATGCTAATGTGGCAAAGAAAGTGTGAATCTCTTGTAGAAA
CAGGGACATTTGGTTCGGTACAGTAAGTTGTTAATGCGTGACTCTGTGCTTTCAAATTCT
GTGGTTCAAAAGTACTTTTCACTCCTACTGTGTATTTACCTTGAGAAGGTGAATCCCTA
ACAATTTGGTCAATGTATCAGTATTCTCAACCCGCTATCAATTTTTTTTTTCTTTCTCCC
TCTTTTTTCTTTTTTGGGCAAAATACCTTTTTTGCTTTTTATCCCTTAAAAATAACCAT
TGTCCCTCACATGTGCACTCTTCCAAATTTCAAGAAAAGCAAGAGGAAAGGGCACGAATAT
ACAAATATTAAGTATTCTCTAGCGGACCAGACGAGTGGAGATCAGAGCCCTCTCCCGCCT
TGTACTCCAACGCCACCCTGTGCAGAGTAAGTAGTGCTGAAGGAAATCTTTTTACCTGG
TCATGGTGGTTTAAAAAGGTTTAAAAAACAAAAACAAAAACAAAGTTTGTAGCA
CATGCCTTTCACTGGTGCACGTTCTGTGTCCTACTGTTAGTGTATCTGTGACTGGTGA
TATCTATTGATTGTGTTAATGCTATCTCAACCACGTTTTTAATTTTCTTAAGCTGGCCAGG
CACGGTGGCTAACGCCTGTAATCCCAGTGCTTTGGGAGGCCGAGGTTTCATGGATTACTTT
GAAGTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCTGTCTCTACTAAAAAT
ACAAAAATTAGCCGGCATGGTGGCGCATGCCTGTAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAG
GCAGGAGAATCGCTTGAACCCAGGAAACGGATGTTGCAGTGAGCCGAGATCATGCCACTG
CACTCCAGCCTGGGCGATAGAGTGAGCCTCTGTCTAAAAATAAAATAAAATAAAATAAAT
TCCTAAACTGAAGGCTGACTGCTATGCTAGCTAGGATTATATGGGATTTTAAGTATATCA
AGTGGTGGTTCTCCAAGAAGAATCTAATTTTTCTTTTGATGGGCTGGGGATTGTAACAAA
GGAAGGTCTATGTCTTAATGATGTGTTAAGGCTCTTGC AAAATCAAAGTAAATAAATT
GACCACTAATGTGTGAGCCAGCCATGTTCTGCTCATTTGCCACCAGTCAACAGAAATCT

10

20

30

40

50

ACTTTGGGTGTTTAAACCAGGAGTCAGCAAACCTACAGCTCACAAGGCCAGATGTGGGCCA
TGGCCTGTACTGTATGGCCTGTTAATGGTTTTAAAGGGTTGTAAAAACAAAGAACACAA
AACAAAGACCCAATAACAAAACAAAGCCCCGAAGAATAATATGCGACAGAGACCATGTATG
GCATATAGAGCCTAAAATACTGACTCTCAAGCCCTTCCCAGAAATCCTTCCCGACTCCTT
GTTGAAAACACGGTAGGAAAGCATTTGTCAAATTGAGGATATGAATAGCAATTGTAAGTT
ATTATTTTTCTATATATTCGAAAGTCACCTTGCTAGTATAACATTTACCTTTTATTTTTCC
CTAAGAATCTTCTCTCTGTTTGTCTTCGACATGGATTTTTAAACCCCTGCAGATTTAAT
ATTCTATATAAATGTTTTAGGTGGCATATATGAGGTTTGTATTAACATTTGCTTTCTATT
TAACATTGAAATGAAATTATACAGCAGAGGTATTTTCTCGTCCAAGTTGCCACTTCTTTC
TATCTTTTTCTTTTTCTTTCCAGTGGACTGCCTGGGAAAATTGATATTTTAAATTGCTC
TCTGCAATAATTTGCAATGGAACGGAATGCCAGGGTTCTGAGTCCTTGCCAGACAGCTC
GTCCCTCCTGTTGGCATGACTGAGTCAGCTGTCATGATCCCTCAGTACCAGTGGCATGC
CTGTGACAGACAGCCTGTCTGCCTTTCATTCCCGTCTGCTCCCTTGTAGGGTTCCAGATCC
AGGATACACTGGTCTCGAGCCCCCTCAGCCTGGCACCACAGCTGCTGGGTTCCCTTAC
TCTCCTGGACTGCTGTGATGTCATCTCCCTGCTCAGCAGAAAGAAGTCTGGGATCTTGAT
GCTTTGGCCCTCTGTCTTAGGCCCTAAACCACCCATTGCCCTTACATAACCTGAGCTGG
GGCTAAATAGATCTCTCATCACTGCCTGCCTGCTCCTGTATTTTCCCTTCTGGAGCTTT
TGCTGTTTCCAGATCCCTCTACTGGAAATTAATAGGATTTTCTCTATGTGTGCATTTCCA
ACCTTTCTTACAGTGCATCCAAATGCCTCATCTACAGGCCTCCTTAAACAACTGC
TTTCTGCCAGACCCAGGAGCACCAGGACTTGAGGCTTTTATTGCACTTCTGTGTTTTT
TTTGAGATGGAGTCTCGCTCTGTGCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCAGCATCTCTGCTCA
CTGCAACCTCCATCTCCCGAGTTCAAGAGATTCTTCTGCCTCAGCCTCTCAAGCAGCTGG
GACTACAGGCATGTGCCATGACACCCGGATAATTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGGTT
CACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCAAACTCCTGACCTCGTGATCCACCCACCTGGGCCTC
CCAAAGTTCTGGGATTACAGGCGTGAGCCACCATGCCAGCGTTATTTCACTTCTGCCTC
TGTAATTATATTTGCTGTATGGCTATCTTCTCTCCCTGGGAATGTGAGTCTTAGGCAC
AGGAACTGTGTCTGTACCATATCTGGTGGCCAAAGAATGTAGTATGTGTTTTATAGATAT
CATGTAAGCTTAAACAGCGTGGTCTACATTTTTGTAAATGTCTTCTTTTTCTTTCTCT
CCAGAATGAGAGAAGACAGTGCTAGAGTCTATGAAAACGTGGGCCTGATGCAACAGCAGA
AAAGTTTCAGATGAGAAAACCTGCCAAAACCTTCAGCACAGAAATAGGATTTTAAATGCAA
GTGCTCTATTGGTTAATTGTTTTATATAATTGGCAGTATTTTTAAGCAGGCAAGCAATTTG
GGAATGTTTTAGCAAAGTGTACCATAATTGAGTTTTACAAACCAGGCTCCTTTTTCTCT
CCCTGTACTTCTTTTTCCAAGATGGTTTTAGTTTAGAGTTCATTAACATTAATAACAA
CACAGAATTAATTCGCATGAGGCAAGGCTAGCACTTATTCCAGAGAAATGGCTGATACT
GGTGGTAGAGTGCAGGTATCACTGTTCTGCAATTTTTATTAGAGTTGGTTAGCCCAGGC
TGTGCTGGGGGATGATCTGTAGGGATCTGGGAAGCATCGGGACTCAGCACTGGGTGGTTG
GGAGTCAGGAAGCCTGAGTTCTCATTTCACTAGTCTCTGACCAACTGTGTGGCATGGGG
TGCTAGACCACTTGGCTGCCGACTGGGTCAACGACATCCCTTCCAGCTCTGCTGCTGGAA
ATTCTCTCTCCCATATGTTGCCTCCCCATCAATTACGTTTTTAAAGTGTGACCCAAAGTA
TATGATGTATGTTTTCATGATAAATTAGAACTTATCTGGGCATGGTGGCTCATACCTGT
AATCCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGTGGGCGGATCACCTGAGGTGAGGAGTTCGAGACC
AGCCTGACCAACTAAAATAGTAGAGACCAACCGTCTCTACTAAAAATAGAAAATTAGCT
GAGCATGGTGGTGCATGCCTATAATCCCAGCTACTCAGGAGGCTGAGGCAGGAGAGGCAG
CGGTTGCAGTGTGCCAAGATCGCGCCATTGCACTCCACCTGGGCCACAAGAGTGAAACTC
CATCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTCAGTGTGAGTATTTTATGTCGAAATTC
CACTTCAATGGGTAGTGTAGTTAAAGCTCTAAGTCTACCTTAAATCACCTAATGCTTT
GTTAAGCTTTTATAGATATATGTTCTTAAAACTCTTAACCTATTTCTTCCCCAGATGTGG
ACTTTCACCTCTCCCTAAAAAGATCAAGAACAGACGCAAGAAAGTTTATGTGAAGACAG
AATTTGGATTTGGAAGGCTTGAATGTGGTTGACTACCTTTTGATAAGCAAAATTTGAAA

10

20

30

40

50

CCATTTAAAGACCACTGTATTTTAACTCAACAATACCTGCTTCCCAATTACTCATTTCCT
CAGATAAGAAGAAATCATCTCTACAATGTAGACAACATTATATTTTATAGAATTTGTTTG
AAATTGAGGAAGCAGTTAAATTGTGCGCTGTATTTTGCAGATTATGGGGATTCAAATTCT
AGTAATAGGCTTTTTTATTTTTATTTTTATACCCCTTAACCAGTTTAAATTTTTTTTTTCCCT
CATTGTTGGGGATGATGAGAAGAAATGATTTGGGAAATTAAGTAACAACGACCTAGAAA
AGTGAGAACAACTCATTTTACCATCATGTATCCAGTAGTGGATAATTCATTTTGATGGCT
TCTATTTTGGCCAAATGAGAATTAAGCCAGTGCCTGAGACTGTGAGAAGTTGACCTTTG
CACTGGCATTAAAGAGTCATAGAAAAAAGATCATGGATATTTATGAATTAAGGTAAGAGG
TGTGGCTTTTTTTTTTTTCTTTTTTCCAGCCGTTGACCAATTATAGTTCGGCTGTTGACT
GAGAAGTTTGTGGTGGGAAAACGTTTGCCATATTTCTTTGCATTTGAATAATTGTCTTG
TACTTAGAAAAAAGGCGTCTATGAATGACCAGTGTTTTTGGTCGCCAAATGTTGCTGACA
AACTTATCCCAAACTTTAGTGGCTTAAAAAACCTGCCCCCACTGTTAGTCAATCTGA
GCTGGGCTCAGCTGGGCTGTTCTTCTGCCAGCCTGCAGGTGGCCACTCATGTGGTCAGCA
GGTCGGCGGAGAGACTGGGATGGCTGGGCTTCTCTCTGCTGCAGTCCTGAGTCTCTC
CTTCTTCGTGTAGTCTCTTTCAGTGGCCTGGCTGGCAGGGTAGCTAGACCTCTCACATGC
AGCTCAGAGCTCCCAAGAGCTCAAAAGCAGAAATGGCCAGGCCTTCTGAAAACCTAAGTC
CAGAATTGTCACAGTGTCCCTTCTACTTCCCTCTATTGATGATGATGATGATGATGA
TGATGATGATGATGATGATGATGATGTTTTTCTAATCAGAAGAAAGCTGGGGTATGCCCTC
TACTTACTAAACAAGTCACAAGCCCAGCTCAGATTCAAGAAAAGGGTGTGAAGTAGAGGT
GCAGTTAAGTGGGGGGCCACTAGTCTAACAGACGGTCACAACCAGTGCCATGGAAAACCA
AGGATATTAGCAAAAGCAGAAGTTGCTAGTGACCTTGGGAAGCCGAAGCTGCTTACAGTA
GCTGGGACAAGCTGAAAGTCAGACTAAGAAATAAAGAGAGGGCCTTCAAGAAGCTTCTTG
AATGATTTCTGCTAGCCCTGAGCCTATTTTGGAAACAGCACTTGGGGAACCTGATCTTG
TGAGGATGGATGTGTTTAGGGACACAGGGCTTTTGAGAGCAGCACCACCCACTGGGGCA
TCCCAGACTTGGGAAACGTGACTCTTTCTTAATGCCACTGGGTTTTAGTCAGGCCACAG
TGAGAAGGAACAGCCCTAACAGGCCTCCAGCCAGGTTGAATGAGCTCATTTTTGTTGTAG
CCAAACCAGTAAGATTTGCTAATGTTCTACATTAAGTGCCCTTCTCCAAAGACATCCCTCTT
TGCCTCATATGTTGAATCATCCAGTGCGGATATTTCAATGAAAATATCATTGGTTGACTT
TTGTGATGGTAATAATGCTATGGCATCTTGCCATGAAGTTGTGGCCTCCTTGGATTCTT
CTGACTTTGGCTTCTGAAAGGAAGGCCTAGATCCAGCCCTGGTGGTAGTTCCTTTCTGAG
GTCTCTCAGTCCCTTGAGACTTTGGGGTAGTTTGGCTGCCATTCTCACTGACAAAATGTA
TATCAGCCCCACCTCCACCCCCCAATATTCCTTGAACCTTTGAATTGCTTCAGAACACAG
GTGTGGCCTGAAGGTATTCCTTATTAGGGAAGTGCTACTGCTGTCTTCTAGTCAAACTT
GTAAAGAAAAAGATTCCAGTTCAGTATTTGCAGCAAGAAGCTTGAATGCTGTTCTTTTTA
TCGCATTGTTACATCGACTCATTTCTCCATTTTGCTTTGGTTTTGTCTTGACTTGACTTGA
CTTTGGGGTAAAGTCTTTTACCAGCACACAAGAGTTTGATTGTACAAATATATCTCTG
CATTAAACATCTCTGCCTGTTGCTTAAGATCAGTTGCTTTTATACTCAGAATGGAAATACC
TGATCTTGGCTAGTTTTGTTATAAGATATTGATTTTATTAGATTTCCCTCCACGAGGTC
AGCAAACTATCATGTTCTTATGTAACTTAGGCCAAGGCCAGAGTTATCATAGTCCCTAG
GTTGCTACGGCTTATCATGTGCTTGGTAAAAGGTGATCGCAGGTTCTCAGACGAGTTTAC
TTTACATGAGATGGAATCAGGCAGAGAGGCTGGGATGATGGAGAAAGCTCAGGTGAAGT
TTTAAAAAAAAGTTGTGAAAGGAAAGTTCCAAAGAGGTGGTTTTCTGAGGAAGTCAGAG
CGCCAGGGCCAGAGCAGTCAGTAATGGGTGAATGAGGTTGTTTGGAAAGTCGGTGTGAC
AGACACATGGATGCCATCTACTTCTAGGTTGCTGGTGGGATTAAATATGCACAATATTC
CATAGCTCACTGAGGATTTTAAATTTATAAGCATAGGATTTTATATTTTGGGGTGAAGA
ATTATCTGGCACATTAGGTATTGGAGTTTAAAAAAAAGCCAAATTTTACAGTCTTAATA
ACTTTTTTAAAAAACTAAAAGGCGCTTCATGTCCAGTGTGTGGCCCTTCTGAAACTT
ATGGTCATCTCTCCACTGAAACCAAGGTCTTTTCAAATGTGGCTAAATGGGGATGAGGA
GACACGGGTAGGACTTTCTTGGTGTGTGTGCATTCTTTAAAGAGCCAAGTTGCTTCGGG

10

20

30

40

50

30

40

50

otechnol. 31(7):397-405; 参照により本明細書に援用)。

【0042】

多数の刊行物で、Cas9及び/またはgRNA及び/またはドナーオリゴヌクレオチド(関連する場合)をコードするためのウイルス、mRNA及びプラスミドの使用について記載されている。こうした方法に対して、本明細書に記載の方法及びシステムは異なる方針、すなわちガイドRNAと複合体化させたタンパク質そのものの送達を用いる。このプロセスは、編集を行うのに細胞が翻訳/転写する必要がないので根本的に異なる。この理由により、またタンパク質/ガイド複合体は短い半減期を有するので、本発明のアプローチの結果、編集がより早く、より効率的となり、オフターゲット効果がより小さくなる。

【0043】

リポソーム媒介タンパク質送達、マイクロインジェクション、及び細胞膜透過性ペプチド(CPP)などの他のアプローチ

Cas-9に融合したGFPを用いるリポソーム媒介タンパク質送達の一例も用いられている(Zuriset al., 2015, Nature Biotechnology 33:73-80)。GFPは、電荷相互作用による従来のリポフェクション剤(例えばリポフェクタミン)との複合体化が可能であり、遺伝子編集反応を媒介すると思われる。このアプローチと比較した本発明の主な利点は、1)融合タンパク質を必要としない、2)毒性、エンドソームエスケープの課題、及び初代細胞へ移入する問題/課題を有し得るリポフェクション剤を必要としないことである。

【0044】

マイクロインジェクション媒介複合体送達は、極めて低いスループットを特徴とし、ほとんどの哺乳類細胞型で実施するのが困難であり得る。後者の欠点は、胚、すなわち線維芽細胞またはT細胞(遺伝子編集の試みに望ましい標的細胞である細胞)よりもはるかに大きい細胞で実施されたという事実により浮き彫りにされている。高スループット及びより小さい初代細胞、例えば線維芽細胞、T細胞、幹細胞への移入を可能とすることにより、本明細書に記載の方法は大きな利点を有する。

【0045】

CPPベースの方策は複合体を必要としない。そのような方策の一例がRamakrishna et al., 2014, Genome Res. 24(6):1020-7に記載されている。個々のコンポーネントのCPP媒介送達も欠点を伴う。CPPをガイド及びCas9に結合させるには、機能を阻害し、スケーラビリティを制限し得る追加の修飾が必要となる。CPP媒介送達はエンドサイトーシスを経ることが知られており、非効率的または多くの初代細胞(特に免疫細胞)において効果がない。

【0046】

標的細胞及びペイロード組成物

記載の遺伝子編集法を用いて任意の遺伝子を操作することができる。いくつかの標的遺伝子/タンパク質は特に臨床疾患に関連し、そのためそのような標的遺伝子/タンパク質の遺伝子編集は治療に有用である。例としては、C-Cケモカイン受容体5型(CCR5):ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染の予防;主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I):移植片対宿主病の軽減;分化抗原群1(CD1):移植片対宿主病の軽減;プログラム細胞死タンパク質1(PD-1)、プログラム死リガンド1(PDL-1)、細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4(CTLA-4)、インターフェロン調節因子(IRF)タンパク質ファミリー、TLRタンパク質ファミリー、パターン認識受容体(PRR):エフェクター/抗ウイルス反応を促進または抑制する免疫の調節;フォークヘッドボックスP3(FoxP3):Treg媒介寛容の除去;分化抗原群80(CD80)、分化抗原群86(CD86)及び他の共刺激分子:寛容を促進する共刺激能のノックアウト;T細胞受容体(TCR)、B細胞受容体(BCR):所望の特異性を有するT細胞及びB細胞の改変を可能とする内因性TCRまたはBCRの除去;癌遺伝子(例えばKras、Myc、Tp53):癌治療が挙げられる。別の例では、細胞運命を変化させるために転写因子を標的とする、例えばFoxP3を欠失させてTreg型機能を除去する。核

10

20

30

40

50

内因子 B (NF - k B)、t - b e t、エオメソデルミン (E o m e s)などを欠失させてT細胞分化を変化させる。

【 0 0 4 7 】

フォークヘッドボックス P 3 (F o x P 3)のタンパク質コード配列は以下の通りである。

【 0 0 4 8 】

ATGCCCAACCCAGGCCTGGCAAGCCCTCGGCCCTTCCCTTGGCCCTTGGCCCATCCCC
AGGAGCCTCGCCCAGCTGGAGGGCTGCACCCAAAGCCTCAGACCTGCTGGGGGCCCGGG
GCCCAGGGGGAACCTTCCAGGGCCGAGATCTTCGAGGCGGGGCCCATGCCTCCTCTTCT
TCCTTGAACCCCATGCCACCATCGCAGCTGCAGCTGCCACACTGCCCTAGTCATGGT
GGCACCTCCGGGGCACGGCTGGGCCCTTGCCCCACTTACAGGCACTCCTCCAGGACA
GGCCACATTTTCATGCACCAGCTCTCAACGGTGGATGCCACGCCCCGGACCCCTGTGCTG
CAGGTGCACCCCTGGAGAGCCAGCCATGATCAGCCTCACACCACCCACCACCGCCAC
TGGGGTCTTCTCCCTCAAGGCCCGGCCCTGGCCTCCACCTGGGATCAACGTGGCCAGCC
TGGAATGGGTGTCCAGGGAGCCGGCACTGCTCTGCACCTTCCCAAATCCAGTGACCC
AGGAAGGACAGCACCTTTTCGGCTGTGCCCCAGAGCTCCTACCCACTGCTGGCAAATGG
TGTCTGCAAGTGGCCCGGATGTGAGAAGGTCTTCGAAGAGCCAGAGGACTTCCTCAAGC
ACTGCCAGGCGGACCATCTTCTGGATGAGAAGGGCAGGGCACAATGTCTCCTCCAGAGA
GAGATGGTACAGTCTCTGGAGCAGCAGCTGGTGCTGGAGAAGGAGAAGCTGAGTGCCAT
GCAGGCCACCTGGCTGGGAAAATGGCACTGACCAAGGCTTCATCTGTGGCATCATCCG
ACAAGGGCTCCTGCTGCATCGTAGCTGCTGGCAGCCAAGGCCCTGTCGTCCCAGCCTGG
TCTGGCCCCCGGGAGGCCCTGACAGCCTGTTTGCTGTCCGGAGGCACCTGTGGGGTAG
CCATGGAAACAGCACATTCCCAGAGTTCTCCACAACATGGACTACTTCAAGTTCCACA
ACATGCGACCCCTTTTACCTACGCCACGCTCATCCGCTGGGCCATCCTGGAGGCTCCA
GAGAAGCAGCGGACACTCAATGAGATCTACCACTGGTTACACGCATGTTTGCCTTCTT
CAGAAACCATCCTGCCACCTGGAAGAAGCCATCCGCCACAACCTGAGTCTGCACAAGT
GCTTTGTGCGGGTGGAGAGCGAGAAGGGGGCTGTGTGGACCGTGGATGAGCTGGAGTTC
CGCAAGAAACGGAGCCAGAGGCCAGCAGGTGTTCCAACCTACACCTGGCCCTGA

(配列番号 6 2)

【 0 0 4 9 】

S r c 相同領域 2 ドメイン含有ホスファターゼ 1 (S H P 1)はチロシン - タンパク質ホスファターゼ非受容体 6 型 (P T P N 6)としても知られている。S H P 1のタンパク質コード配列は以下の通りである。

【 0 0 5 0 】

ATGGTGAGGTGGTTTCACCGAGACCTCAGTGGGCTGGATGCAGAGACCCTGCTCAAGGG
CCGAGGTGTCCACGGTAGCTTCCCTGGCTCGGCCAGTCGCAAGAACCAGGGTGACTTCT
CGCTCTCCGTCAGGGTGGGGGATCAGGTGACCCATATTTCGGATCCAGAACTCAGGGGAT
TTCTATGACCTGTATGGAGGGGAGAAGTTTGCAGCTCTGACAGAGCTGGTGGAGTACTA
CACTCAGCAGCAGGGTGTCTGTCAGGACCGCGACGGCACCATCATCCACCTCAAGTACC
CGCTGAACTGCTCCGATCCCACTAGTGAGAGGTGGTACCATGGCCACATGTCTGGCGGG
CAGGCAGAGACGCTGCTGCAGGCCAAGGGCGAGCCCTGGACGTTTTCTTGTGCGTGAGAG
CCTCAGCCAGCCTGGAGACTTCGTGCTTTCTGTGCTCAGTGACCAGCCCAAGGCTGGCC
CAGGCTCCCCGCTCAGGGTCACCCACATCAAGGTCATGTGCGAGGGTGGACGCTACACA
GTGGGTGGTTTGGAGACCTTCGACAGCCTCACGGACCTGGTGGAGCATTTCAAGAAGAC
GGGGATTGAGGAGGCCTCAGGCGCCTTTGTCTACCTGCGGCAGCCGTACTATGCCACGA
GGGTGAATGCGGCTGACATTGAGAACCGAGTGTTGGAAGTGAACAAGAAGCAGGAGTCC
GAGGATACAGCCAAGGCTGGCTTCTGGGAGGAGTTTGAGAGTTTGCAGAAGCAGGAGGT
GAAGAAGTGCACCAGCGTCTGGAAGGGCAGCGGCCAGAGAACAAGGGCAAGAACCGCT
ACAAGAAGATTCTCCCCTTTGACCACAGCCGAGTGATCCTGCAGGGACGGGACAGTAAC
ATCCCCGGGTCCGACTACATCAATGCCAACTACATCAAGAACCAGCTGCTAGGCCCTGA

TGAGAACGCTAAGACCTACATCGCCAGCCAGGGTTGTCTGGAGGCCACGGTCAATGACT
TCTGGCAGATGGCGTGGCAGGAGAACAGCCGTGTCATCGTCATGACCACCCGAGAGGTG
GAGAAAGGCCGGAACAAATGCGTCCCATACTGGCCCCGAGGTGGGCATGCAGCGTGCTTA
TGGGCCCTACTCTGTGACCAACTGCGGGGAGCATGACACAACCGAATACAACTCCGTA
CCTTACAGGTCTCCCCGCTGGACAATGGAGACCTGATTCTGGGAGATCTGGCATTACCAG
TACCTGAGCTGGCCCCGACCATGGGGTCCCCAGTGAGCCTGGGGGTGTCTCAGCTTCCT
GGACCAGATCAACCAGCGGCAGGAAAGTCTGCCTCACGCAGGGGCCCATCATCGTGCAT
GCAGCGCCGGCATCGGCCGCACAGGCACCATCATTGTCATCGACATGCTCATGGAGAAC
ATCTCCACCAAGGGCCTGGACTGTGACATTGACATCCAGAAGACCATCCAGATGGTGCG
GGCGCAGCGCTCGGGCATGGTGCAGACGGAGGCGCAGTACAAGTTTCATCTACGTGGCCA
TCGCCCAGTTTCATTGAAACCACTAAGAAGAAGCTGGAGGTCCTGCAGTCGCAGAAGGGC
CAGGAGTCGGAGTACGGGAACATCACCTATCCCCAGCCATGAAGAATGCCCATGCCAA
GGCCTCCCGCACCTCGTCCAAGAGCTTGGAGTCTAGTGACAGGGACCGTGGCTGCGTCAC
CTGTGAGACGGGGTGGCCAGAGGGGACTGCCAGTGCCGGGTCCCCCTGTGCTGTCTCT
GACCTGCACCAACTGCCTGTACTTGCCCCCTGCACCCGGCTGCAGACACAAGGAGGAT
GTGTATGAGAACCTGCACACTAAGAACAAGAGGGAGGAGAAAGTGA

(配列番号 63)

【 0051 】

S r c 相同領域 2 ドメイン含有ホスファターゼ 1 (S H P 2) はチロシン - タンパク質
ホスファターゼ非受容体 1 1 型 (P T P N 1 1) としても知られている。S H P 2 のタン
パク質コード配列は以下の通りである。

【 0052 】

ATGACATCGCGGAGATGGTTTCACCCAAATATCACTGGTGTGGAGGCAGAAAACCTACT
GTTGACAAGAGGAGTTGATGGCAGTTTTTTTGGCAAGGCCTAGTAAAAGTAACCTGGAG
ACTTCACACTTTCCGTTAGAAGAAATGGAGCTGTCACCCACATCAAGATTCAGAACACT
GGTGATTACTATGACCTGTATGGAGGGGAGAAATTTGCCACTTTGGCTGAGTTGGTCCA
GTATTACATGGAACATCACGGGCAATTAAAAGAGAAGAATGGAGATGTCATTGAGCTTA
AATATCCTCTGAACTGTGCAGATCCTACCTCTGAAAGGTGGTTTCATGGACATCTCTCT
GGGAAAGAAGCAGAGAAATTATTAAGTGAAGAAAGGAAAACATGGTAGTTTTCTTGTACG
AGAGAGCCAGAGCCACCCTGGAGATTTTGTCTTTCTGTGCGCACTGGTGATGACAAAG
GGGAGAGCAATGACGGCAAGTCTAAAGTGACCCATGTTATGATTCGCTGTGAGGAAGT
AAATACGACGTTGGTGGAGGAGAACGGTTTGATTCTTTGACAGATCTTGTGGAACATTA
TAAGAAGAATCCTATGGTGGAAACATTGGGTACAGTACTACAAGCAAGCAGCCCTTA
ACACGACTCGTATAAATGCTGCTGAAATAGAAAGCAGAGTTTCGAGAAGTAAAGCAAATTA
GCTGAGACCACAGATAAAGTCAAACAAGGCTTTTGGGAAGAATTTGAGACACTACAACA
ACAGGAGTGCAAACCTTCTCTACAGCCGAAAAGAGGGTCAAAGGCAAGAAAACAAAAACA
AAAATAGATATAAAAACATCCTGCCCTTTGATCATACCAGGGTTGTCCTACACGATGGT
GATCCCAATGAGCCTGTTTCAGATTACATCAATGCAAATATCATCATGCCTGAATTTGA
AACCAAGTGCAACAATTCAAAGCCCAAAAAGAGTTACATTGCCACACAAGGCTGCCTGC
AAAACACGGTGAATGACTTTTGGCGGATGGTGTTCAGAAAGAACTCCCGAGTGATTGTC
ATGACAACGAAAGAAGTGGAGAGAGGAAAGAGTAAATGTGTCAAATACTGGCCTGATGA
GTATGCTCTAAAAGAATATGGCGTCATGCGTGTTAGGAACGTCAAAGAAAGCGCCGCTC
ATGACTATACGCTAAGAGAACTTAACTTTCAAAGGTTGGACAAGGGAATACGGAGAGA
ACGGTCTGGCAATACCACTTTTCGGACCTGGCCGGACACGGCGTGCCAGCGACCCCTGG
GGCGGTGCTGGACTTCTGAGGAGGTGCACCATAAGCAGGAGAGCATCATGGATGCAG
GGCCGGTCTGTTGGTGCATGCAAGTGGTGAATTGGCCGGACAGGGACGTTTCATTGTGATT
GATATTCTTATTGACATCATCAGAGAGAAAGGTGTTGACTGCGATATTGACGTTCCCAA
AACCATCCAGATGGTGCGGTCTCAGAGGTCAGGGATGGTCCAGACAGAAGCACAGTACC
GATTTATCTATATGGCGGTCCAGCATTATATTGAAACACTACAGCGCAGGATTGAAGAA
GAGCAGAAAAGCAAGAGGAAAGGGCACGAATATACAAATATTAAGTATTCTCTAGCGGA

10

20

30

40

50

CCAGACGAGTGGAGATCAGAGCCCTCTCCCGCCTTGTACTCCAACGCCACCCTGTGCAG
AAATGAGAGAAGACAGTGCTAGAGTCTATGAAAACGTGGGCCTGATGCAACAGCAGAAA
AGTTTCAGATGA

(配列番号 6 4)

【 0 0 5 3 】

他の標的としては、プラスミドまたはドナー DNA を挿入することができ、その結果、標的細胞が新たな遺伝子、例えば組換え T C R、組換え B C R、キメラ抗原受容体、蛍光タンパク質、リプログラミング因子を発現することができるゲノムの領域が挙げられる。

【 0 0 5 4 】

いくつかの実施形態において、コーディング領域のゲノム配列を編集する。ある実施形態において、非コーディング領域のゲノム配列を編集する。

10

【 0 0 5 5 】

F o x P 3 に関する様々な実施形態において、F o x P 3 の上流の遺伝子領域が編集され得る。そのような実施形態において、F o x p 3 の転写抑制因子が結合し得る領域を編集する。例えば、F o x P 3 転写開始部位の約 0 . 5、1、1 . 5、2、2 . 5、3、3 . 5、4、4 . 5、5、0 . 5 ~ 2 . 5、または 0 . 5 ~ 5 k b 上流の部位が編集され得る。

【 0 0 5 6 】

被検者の治療

本発明の態様は、複数の被検者細胞のゲノムの編集に関する。様々な実施形態において、被検者から細胞を取り出し、本主題の方法を用いて遺伝子編集複合体を取り込ませ、その後、被検者に再び導入し戻す。例えば、本明細書に記載の遺伝子編集複合体の送達を伴うプロセスにおいて変異細胞が生成され得る。変異細胞は変異させた対立遺伝子、疾患に関与する遺伝子がヘテロ接合型であってもよく、ホモ接合型であってもよい。ある実施形態において、変異細胞は疾患に関与する遺伝子の機能が喪失している。

20

【 0 0 5 7 】

骨髄由来の幹細胞（例えば造血幹細胞）、または全血中の循環免疫細胞などの細胞が、本明細書に記載の方法及びデバイスを用いて処理され得る。細胞は、病原体（例えばウイルス性もしくは細菌性病原体など）または毒素（例えば微生物性病原体毒素など）に対する受容体の発現を減少させるように遺伝子改変され得る。遺伝子編集タンパク質複合体またはそのコンポーネントは発現させる必要なく標的細胞内に直接導入され得るので、導入遺伝子の送達が必要ない。このアプローチは、異常な発現、挿入、及びサイレンシング、ならびに導入遺伝子コピー数の不定な送達に悩まされる従来の遺伝子治療アプローチに勝る重要な利点を有する。

30

【 0 0 5 8 】

一実施形態において、ヒト免疫不全ウイルス（H I V）に感染している被検者の血液（例えば C D 4 + T 細胞など）または骨髄細胞（例えば造血幹細胞など）に、C - C ケモカイン受容体 5 型（C C R 5）遺伝子を標的とする遺伝子編集複合体を導入する。遺伝子編集複合体は、C C R 5 遺伝子を変異させ、その結果、遺伝子編集複合体を取り込んだ細胞が C C R 5 を発現することがなくなるか、または C C R 5 を低いレベルで発現するように設計され得る。一例において、H I V に結合する C C R 5 の型を発現する（または C C R 5 を発現する子孫細胞を生成する）造血幹細胞を被検者から取り出し、H I V に結合する C C R 5 の型を発現することがないように改変し、その後、被検者に移植する。別の例では、C D 4 + T 細胞が H I V に結合する C C R 5 の型を発現することがないように、本明細書に記載の方法及びデバイスを用いて、被検者の C C R 5 発現 C D 4 + T 細胞に遺伝子編集複合体を取り込ませる。その後、改変 C D 4 + T 細胞を被検者に戻す。C D 4 + T 細胞のそのような処理は被検者の全血で実施され得る。これらの及び他の実施形態において、H I V が結合する C - X - C ケモカイン受容体 4 型（C X C R 4）を発現することがないように、骨髄細胞または血液細胞を改変する。同様に、Y e r s i n i a p e s t i s（腺ペスト）または V a r i o l a m a j o r（天然痘）に関連する感染を治療また

40

50

は予防するために、被検者の細胞がCCR5発現を減少させるように改変され得る。

【0059】

本明細書に開示の方法及びデバイスによって改変した細胞を有するヒト以外の被検者も規定する。そのような被検者としては、非ヒト脊椎動物、両生類、哺乳類、及び霊長類被検者が挙げられる。非限定例としては、*Danio sp.*、*Fugu sp.*、*Xenopus sp.*、*Mus sp.*、*Rattus sp.*などが挙げられる。

【0060】

細胞内への遺伝子編集タンパク質及び複合体の導入

予め形成したタンパク質複合体の送達により、研究している細胞を遺伝子改変することなく細胞プロセスの研究が可能となる。本主題は、細胞にCRISPRをはじめとするタンパク質複合体及び遺伝子編集複合体を送達するのに有用である。

10

【0061】

本明細書に記載の方法及びデバイスを用いてタンパク質複合体を送達する利点としては、細胞及びタンパク質複合体の機能の研究用の試験剤の制御された一時的な導入が挙げられる。導入遺伝子の発現及び複合体コンポーネントの細胞アセンブリが必要ではないので、複合体機能のタイミング及び比（タンパク質：RNA）を制御することができる。加えて、オフターゲット効果または副次効果をもたらし得る長期発現ではなく、送達の一過性の性質により、一時的な機能に起因する変化の観察が可能となる。インビボホーミングの観点及び遺伝子発現様式から、マイクロ流体送達ではエレクトロポレーションよりも処理する細胞への副作用がはるかに少ない（10倍）。

20

【0062】

例えば、マイクロ流体送達の結果、エレクトロポレーションと比較して、異常な及び非特異的な遺伝子発現の変化が少なくなる。加えて、マイクロ流体的に圧搾した細胞の構造的及び機能的完全性は、エレクトロポレーション媒介カーゴ送達と比較して保持される。一例として、エクスピボでマイクロ流体送達に供した（その後被検者体内に導入した）T細胞は、エレクトロポレーションを受けたT細胞と比較してリンパ節にホーミングする数が多い。エレクトロポレーションによって処理され、その後被検者に投与された細胞（例えばT細胞）は、マイクロ流体送達によって処理された細胞と比較して、被検者から除去される可能性がより高い。そのようなクリアランスは、そのような細胞を体による破壊またはクリアランスに対して標識するエレクトロポレーション後の改変／異常遺伝子発現に

30

【0063】

標的細胞及びペイロード組成物

マイクロ流体デバイスを用いて、任意の真核細胞、例えばヒトなどの哺乳類細胞を処理し、標的細胞のサイトゾル中へのタンパク質／核酸複合体またはアセンブリの導入のために細胞膜を変化させることができる。例示的な標的細胞としては、リンパ球／免疫細胞：DC、B細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞（NK細胞）、好中球、好塩基球、好酸球、自然リンパ球、単球、マクロファージ、造血幹細胞、リンパ球系共通前駆細胞；幹細胞：胚性、間葉系、人工多能性；他の初代細胞：線維芽細胞、肝細胞、心筋細胞、ニューロン、上皮、表皮、内皮、膵島細胞；及び細胞株、例えば疾患研究のための細胞株：T細胞クローン、ジャークット細胞、ヒーラ細胞、ヒト胎児腎293（HEK293）細胞、U2OS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞が挙げられる。原核細胞を処理することもできる。デバイスの狭窄部の寸法は、処理しようとする細胞型に応じて調整する。

40

【0064】

いくつかの実施形態において、細胞は原核細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は真核細胞である。真核細胞の非限定例としては、原生動物、藻類、真菌、酵母、植物、動物、脊椎動物、無脊椎動物、節足動物、哺乳類、げっ歯類、霊長類、及びヒト細胞が挙げられる。細胞は、例えば単細胞生物または多細胞生物の細胞であり得る。細胞は、例えば初代真核細胞または不死化真核細胞であり得る。いくつかの実施形態において、細

50

胞は癌細胞である。ある実施形態において、細胞はヒト細胞以外である。例えば、癌を治療するための組成物及び／または癌の治療方法もしくは癌を治療するための組成物の調製方法は、本明細書に記載の遺伝子編集方法を用いて、腫瘍細胞からの免疫抑制シグナルの発現／産生を減少させるように免疫細胞を処理することを含む。例としては、腫瘍に対する免疫活性を増加させるための減少またはSHP-2ノックアウトが挙げられる。

【0065】

様々な実施形態において、細胞は2種以上の細胞型の混合物であり得る、または複数の細胞は2種以上の細胞型の混合物であり得る。細胞型の混合物は複数の細胞型（例えば本明細書に開示したもの2種以上など）の共培養物、または天然で一緒に存在する細胞型の混合物、例えば全血などであり得る。

【0066】

いくつかの実施形態において、細胞は末梢血単核細胞である。様々な実施形態において、細胞懸濁液は精製された細胞集団を含む。ある実施形態において、細胞は初代細胞または細胞株細胞である。

【0067】

いくつかの実施形態において、細胞は血液細胞である。いくつかの実施形態において、血液細胞は免疫細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞はリンパ球である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、樹状細胞（DC）、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、肥満細胞、単球、マクロファージ、好塩基球、好酸球、または好中球である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は適応免疫細胞、例えばT細胞及びB細胞などである。いくつかの実施形態において、免疫細胞は先天性免疫細胞である。例示的な先天性免疫細胞としては、自然リンパ球（ILC；ILC1、ILC2、ILC3）、好塩基球、好酸球、肥満細胞、NK細胞、好中球、及び単球が挙げられる。いくつかの実施形態において、免疫細胞はメモリー細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は初代ヒトT細胞である。いくつかの実施形態において、細胞はマウス、イヌ、ネコ、ウマ、ラット、ヤギ、サル、またはウサギ細胞である。

【0068】

いくつかの実施形態において、細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態において、細胞懸濁液はヒト細胞以外の細胞または非哺乳類細胞を含む。いくつかの実施形態において、細胞はニワトリ、カエル、昆虫、または線虫細胞である。

【0069】

細胞を浸し／インキュベートし、デバイスを通して細胞を処理する溶液として、任意の生理学的に適合性のまたは細胞適合性のバッファー系を用いることができる。例えば、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）、Opti-MEM（登録商標）、ロズウェルパーク記念研究所（RPMI）、ダルベッコ改変イーグル培地（DMEM）。低血清または無血清培地またはバッファー組成物が好ましい。バッファーまたは培地は、標的細胞の健康もしくは生存力及び／または遺伝子発現への効果を維持及び保存することに基づいて選択する。例えば、場合によっては、バッファー中のカルシウムの存在はmRNA発現を促進または補助するのに望ましい。

【0070】

ペイロード組成物は、タンパク質-核酸複合体またはアセンブリを含む。例示的な複合体は、上記の遺伝子編集システム、例えばヌクレアーゼ／ガイド核酸結合体またはアセンブリのコンポーネントまたはモジュールを含む。例えば、gRNA：Cas9モル比は1：100、000～100、000：1の範囲であり、例えば好ましい範囲は1：10～10：1、例えば1：1または1：2、2：1である。送達を容易にするバッファー中の複合体濃度（モル濃度）は典型的には100mM～1nM、例えば10μM～100nMの範囲である。複合体は、狭窄部を通過する前またはその後で細胞と混合させることができる。

【0071】

10

20

30

40

50

遺伝子編集複合体のマイクロ流体送達

効果的な遺伝子編集操作を行うために、例えばマイクロ流体プラットフォーム（例えば2014年4月17日に出願された米国特許出願公開第20140287509号；2014年8月15日に出願されたPCT国際出願第PCT/US2014/051343号；2015年11月13日に出願されたPCT国際出願第PCT/US2015/060689号；及び2015年10月30日に出願されたPCT国際出願第PCT/US2015/058489号に記載、それぞれ参照により本明細書に援用）を用いた機械的変形によって、Casタンパク質（例えばCas9タンパク質など）、ガイドRNA及びドナーDNAを細胞に送達することができる。

【0072】

図1～2は、ゲノム編集タンパク質、RNA、及びDNAの送達に用いることのできるマイクロ流体システムの例を示す。マイクロ流体システム5は管状の内腔を画定するチャネル10を含む。マイクロ流体チャネル10は、好ましくは一度に1つの標的細胞20のみが狭窄部15を通過することができるように構成された狭窄部15を含む。好ましくは、細胞20は、送達物質30も含む溶液バッファ25中に懸濁されてチャネル10を通過するが、細胞20が狭窄部15を通過した後に送達物質を溶液バッファ25に加えることもできる。細胞20が狭窄部15に接近して通過する際に、狭窄部15により細胞20に圧力（例えば機械的圧縮）がかかり、細胞20を圧搾する（例えば細胞20₁として示す）。狭窄部15によって細胞にかかる圧力は細胞膜に摂動（例えば孔）を引き起こす（例えば細胞20₂）。細胞が狭窄部15を通過すると、細胞20は孔を通して、送達物質30を含め溶液バッファ25中の物質を取り込み始める（例えば細胞20₃）。細胞膜は時間の経過とともに修復し、送達物質30の少なくとも一部は好ましくは細胞内に捕捉されたままとなる。

【0073】

いくつかの実施形態において、デバイスは、約5 µm～約50 µmまたはこの間の任意の長さもしくは長さの範囲の狭窄部長さを備える。例えば、狭窄部長さは、約5 µm～約40 µm、約5 µm～約30 µm、約5 µm～約20 µm、または約5 µm～約10 µmの範囲である。いくつかの実施形態において、狭窄部長さは、約10 µm～約50 µm、約20 µm～約50 µm、約30 µm～約50 µm、または約40 µm～約50 µmの範囲である。いくつかの実施形態において、狭窄部深さは約2 µm～約200 µmの範囲、またはこの間の任意の深さもしくは深さの範囲である。例えば、狭窄部深さは、約2 µm～約150 µm、約2 µm～約100 µm、約2 µm～約50 µm、約2 µm～約25 µm、約2 µm～約15 µm、または約2 µm～約10 µmの範囲である。いくつかの実施形態において、狭窄部深さは、約10 µm～約200 µm、約25 µm～約200 µm、約50 µm～約200 µm、約100 µm～約200 µm、または約150 µm～約200 µmの範囲である。いくつかの実施形態において、狭窄部の入口または出口部分の角度は約0度～約90度の範囲またはこの間の任意の角度もしくは角度の範囲である。例えば、角度は約5、約10、約15、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、または約90度以上である。いくつかの実施形態において、圧力は約50 psi～約200 psiの範囲、またはこの間の任意の圧力もしくは圧力の範囲である。例えば、圧力は約50 psi～約150 psi、約50 psi～約125 psi、約50 psi～約100 psi、または約50 psi～約75 psiの範囲である。いくつかの実施形態において、圧力は約75 psi～約200 psi、約100 psi～約200 psi、約125 psi～約200 psi、約150 psi～約200 psi、または約175 psi～約200 psiの範囲である。いくつかの実施形態において、デバイスは約2 µm～約10 µmまたはこの間の任意の幅もしくは幅の範囲の狭窄部幅を備える。例えば、狭窄部幅は約3 µm、約4 µm、約5 µm、約6 µm、または約7 µmのいずれか1つとすることができる。

【0074】

以下に記載するデータは以下の物質及び方法を用いて得た。複合体は以下の通り作製し

10

20

30

40

50

た：C a s 9 タンパク質で標識した 1 m g / m l 核局在化シグナル (N L S) 1 0 μ l を 1 m g / m l ガイドRNA 5 μ l と混合する。2 0 分間氷上でインキュベートして複合体を形成させる。送達のために、無血清培地に 1 千万細胞 / m l で標的細胞を懸濁する。デバイス処理の直前に、複合体濃度が約 0 . 1 5 m g / m l となるように細胞及びC a s 9 - g R N A 複合体を混合する。標的細胞型に特異的な圧力、温度、チップデザイン及びバッファー条件を用いて、細胞をデバイスによって処理する。例えば、初代ヒトT細胞については、圧力はおよそ 1 0 0 p s i であり、氷上で 3 0 μ m の長さ、4 μ m の幅の狭窄部を通す。2 分間の処理後インキュベーションの後、細胞を培地で希釈し、洗浄して未送達複合体を除去する。その後、細胞を培養して遺伝子編集を発生させる (例えば 1、2、5、1 2、2 4 時間またはこれより長く (非臨床用途については、期間はアッセイ読取りに依存する、例えば 2 4 時間以降))。臨床用途、例えば患者治療については、細胞はデバイス処理の直後に患者に注入し戻され得る。任意により、患者レシピエントへの細胞の注入前に、一定時間 (例えば 1、2、5、1 2、2 4 時間またはこれより長く) 細胞をインビトロでインキュベートする。分子の温度、濃度、繰り返しは標的細胞型に応じて異なる。

【 0 0 7 5 】

図 3 は、図 1 ~ 2 に示したマイクロ流体デバイスを用いて細胞質に遺伝子編集物質を送達された K 5 6 2 レポーター細胞 (American Type Culture Collection (A T C C) (登録商標) C C L - 2 4 3 (商標)、慢性骨髄性白血病の患者に由来する骨髄由来細胞; リンパ芽球形態) における、一連のフローサイトメトリプロット及び組換え効率の棒グラフである。上はタンパク質C a s 9、部位特異的g R N A、及びドナーオリゴヌクレオチドが送達された K 5 6 2 レポーター細胞のフローサイトメトリプロットである。C R I S P R 複合体は約 1 5 0 k D a である。これらのレポーター細胞はmCherry 遺伝子を有していたので、通常であればプロットのQ 1 に現れる。ドナーオリゴヌクレオチドの部位特異的DNA 切断及び挿入が成功すれば、緑色蛍光タンパク質 (G F P) の発現をもたらす、すなわち細胞はQ 2 に現れる。下は、エンドサイトーシス (取込み) 及び未処理 (N C) 対照と比較した、複数のデバイス条件についてのフローサイトメトリーに基づく組換え効率の定量化である。細胞圧搾によるC a s 9 タンパク質、ガイドRNA 及びドナーDNA の送達の結果、レポーター細胞株のゲノムの変化に成功した。これらのデータは、機械的細胞破碎による遺伝子編集コンポーネントの (複合体またはアセンブリの形態での) 送達によって、効果的にゲノムの変化がもたらされることを示す。

【 0 0 7 6 】

T A L E N タンパク質もしくはmRNA、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、Cre リコンビナーゼまたはDNA を切断可能な任意の他の酵素の送達も、細胞膜の機械的破碎によって細胞の細胞質に送達することができる。例示的なT A L E N ゲノム編集システムは、例示的なT A L E N タンパク質を含め、Ding et al . , (2 0 1 3) Cell Stem Cell , 1 2 , 2 3 8 - 2 5 1 に記載されており、その内容全体を参照により本明細書に援用する。Ding et al . , (2 0 1 3) Cell Stem Cell , 1 2 , 2 3 8 - 2 5 1 は、1 5 塩基対配列を認識する包括的T A L E N アミノ酸配列の非限定例を記載している。包括的T A L E N アミノ酸配列の非限定例は以下である。

10

20

30

40

[illegible]

(配列番号 6 5)

[illegible]

(配列番号 6 6)

【 0 0 7 7 】

配列番号 6 5 及び 6 6 において、C を認識するには $XX = HD$; T を認識するには $XX = NG$; A を認識するには $XX = NI$; 及び G を認識するには $XX = NN$ 、ただし最後の位置のみ $XX = NK$ である。下線は T A L エフェクタ - の N 末端及び C 末端を示す。

【 0 0 7 8 】

上記では少数の変形しか詳細に記載していないが、他の修正または追加が可能である。例えば、遺伝子編集物質には、細胞膜の機械的破砕によって細胞の細胞質に送達される T A L E N タンパク質、T A L E N m R N A、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、C r e リコンビナーゼまたは D N A を切断可能な任意の他の酵素を含めることができる。

【 0 0 7 9 】

複合体形態のRNA及びCas9の送達

得られた結果は、遺伝子複合体のマイクロ流体送達による遺伝子編集の成功を妨げる可能性のあった多数の要因を鑑みると驚くべきものであった。例えば、Cas9-gRNA複合体は、遺伝子編集機能及び/または存続を阻害したであろうTo11様受容体(TLR)媒介または他のPRR(パターン認識受容体)媒介反応を引き起こす可能性があったが、この潜在的な問題は観察されなかった。細胞質に入っても複合体が安定である保証はないので、分解し、機能しなくなる可能性があったが、驚くべきことに、送達された複合体は変わらず編集することができた。

【 0 0 8 0 】

遺伝子編集複合体の完全性は、細胞へのマイクロ流体ベースの細胞圧搾送達を用いて保存された。複合体は gRNA のみまたはタンパク質のみと同じ物理的 / 化学的特性を有せず、そのため、その個々のコンポーネントに対して複合体の送達という状況において、送達プロセスが同様に振る舞うかどうかは不確定であった。複合体はその構成要素よりも大

きく安定性が低い。複合体は、例えばせん断力によって分解し得る。加えて、機能する、または細胞標的に作用する機会を得る前に何らかの他の要素が複合体を分解し得るので、複合体は膜通過を経て、またはサイトゾル内で存続しない場合がある。複合体は、送達される複合体の能力に影響を及ぼし得る異なる電荷分布も有する。形状ひいては輸送特性も複合体構成要素と比較して変化し得る。本送達方法では複合体の構造的及び機能的完全性が首尾よく保存された。

【0081】

送達プロセスに関与するせん断力は、タンパク質 / gRNA複合体を破壊し、機能させなくしていた可能性もあったが、驚くべきことに、本送達システムは細胞内に複合体を導入するのに効果的であり、遺伝子編集は変わらず行われた。NLSを有する非複合体Cas (例えばCas9など) タンパク質のみと比較して、複合体が核局在化挙動を変わらず有するかも明らかではなかったが、上記の遺伝子発現結果に実証されるように挙動及び機能はプロセス全体を通して保存されていた。

10

【0082】

CRISPR-Casシステムは当該技術分野において公知である。2014年4月15日に発行された米国特許第8,697,359号にこのシステムの非限定態様が記載されており、その内容全体を参照により本明細書に援用する。

【0083】

Casタンパク質の非限定例としては、Cas1、Cas1B、Cas2、Cas3、Cas4、Cas5、Cas6、Cas7、Cas8、Cas9 (Csn1及びCsx12としても知られる)、Cas10、Csy1、Csy2、Csy3、Cse1、Cse2、Csc1、Csc2、Csa5、Csn2、Csm2、Csm3、Csm4、Csm5、Csm6、Cmr1、Cmr3、Cmr4、Cmr5、Cmr6、Csb1、Csb2、Csb3、Csx17、Csx14、Csx10、Csx16、CsaX、Csx3、Csx1、Csx15、Csf1、Csf2、Csf3、Csf4、これらのホモログ、またはこれらの改変型が挙げられる。これらの酵素は公知であり、例えば、S. pyogenes Cas9タンパク質のアミノ酸配列はSwissProtデータベースで受託番号Q99ZW2の下に見出され得る。いくつかの実施形態において、非改変CRISPR酵素はDNA切断活性、例えばCas9などを有する。いくつかの実施形態において、CRISPR酵素はCas9であり、S. pyogenesまたはS. pneumoniae由来のCas9であり得る。いくつかの実施形態において、CRISPR酵素は標的配列の位置、例えば標的配列内及び/または標的配列の相補鎖内などで一方または両方の鎖の切断を誘導する。いくつかの実施形態において、CRISPR酵素は、標的配列の最初または最後のヌクレオチドから約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、50、100、200、500、またはこれより多くの塩基対以内で、一方または両方の鎖の切断を誘導する。いくつかの実施形態において、ベクターが、変異CRISPR酵素が標的配列を含有する標的ポリヌクレオチドの一方または両方の鎖を切断する能力を欠くように、対応する野生型酵素に対して変異しているCRISPR酵素をコードする。例えば、S. pyogenes由来のCas9のRuvC I触媒ドメインのアスパラギン酸からアラニンへの置換(D10A)は、両方の鎖を切断するヌクレアーゼからニッカーゼ(片方の鎖のみ切断)にCas9を変換する。Cas9をニッカーゼにする変異の他の例としては、限定はしないが、H840A、N854A、及びN863Aが挙げられる。本発明の態様において、ニッカーゼは相同組換えを介したゲノム編集に用いられ得る。

20

30

40

【0084】

Cas9アミノ酸及びcDNA配列の非限定例を以下に示す。

【0085】

Streptococcus pyogenes Cas9タンパク質のアミノ酸配列は、SwissProtデータベースで受託番号Q99ZW2の下に見出され得る。このアミノ酸配列は以下である。

50

【 0 0 8 6 】

MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEA
TRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLSEESFLVEEDKKHERHPIFGNI
VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLVDSTDKADRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD
KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRRLLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIAL
SLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDITYDDLDNLLAQIGDQYADFLAAKNLSDAILLSDI
LRVNTTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDG
GASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ
EDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAMTRKSEETITPWNFEEVVDKGAS
AQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHKSLLEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKA
IVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLD
NEENEDILEDIVLTTLTFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLIN
GIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA
GSPAIIKKGILQTVKVVDLVKVMGRHKPENIVIAMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI
KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLK
DDSIDNKVLTNRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGG
LSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSCLVSDFRK
DFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAVVGTAIIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQ
EIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLS
MPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAK
VEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSSFENPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLELENGR
KRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII
EQISEFSKRVLADANLDKVL SAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTID
RKRYTSTKEVLDATLIHQSI TGLYETRIDLSQLGGD

10

20

(配列番号 1)

【 0 0 8 7 】

配列番号 1 は European Nucleotide Archive で受託番号 A A
K 3 3 9 3 6 . 2 の下に見出される以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 0 8 8 】

ATGGATAAGAAATACTCAATAGGCTTAGATATCGGCACAAATAGCGTCGGATGGGCGGT
GATCACTGATGAATATAAGGTTCCGTCTAAAAAGTTCAAGGTTCTGGGAAATACAGACC
GCCACAGTATCAAAAAAATCTTATAGGGGCTCTTTTATTTGACAGTGGAGAGACAGCG
GAAGCGACTCGTCTCAAACGGACAGCTCGTAGAAGGTATACACGTCGGAAGAATCGTAT
TTGTTATCTACAGGAGATTTTTTCAAATGAGATGGCGAAAGTAGATGATAGTTTCTTTC
ATCGACTTGAAGAGTCTTTTTTGGTGGAAGAAGACAAGAAGCATGAACGTCATCCTATT
TTTGGAATATAGTAGATGAAGTTGCTTATCATGAGAAATATCCAACCTATCTATCATCT
GCGAAAAAATTGGTAGATTCTACTGATAAAGCGGATTTGCGCTTAATCTATTTGGCCT
TAGCGCATATGATTAAGTTTCGTGGTCATTTTTTGTATTGAGGGAGATTTAAATCCTGAT
AATAGTGATGTGGACAACTATTTATCCAGTTGGTACAAACCTACAATCAATTATTTGA
AGAAAACCCTATTAACGCAAGTGGAGTAGATGCTAAAGCGATTCTTTCTGCACGATTGA
GTAAATCAAGACGATTAGAAAATCTCATTGCTCAGCTCCCCGGTGAGAAGAAAAATGGC
TTATTTGGGAATCTCATTGCTTTGTCATTGGGTTTGACCCCTAATTTTAAATCAAATTT
GATTTGGCAGAAGATGCTAAATTACAGCTTTCAAAGATACTTACGATGATGATTTAGA
TAATTTATTGGCGCAAATTGGAGATCAATATGCTGATTTGTTTTTGGCAGCTAAGAATT
TATCAGATGCTATTTTACTTTTCAAGATATCCTAAGAGTAAATACTGAAATACTAAGGCT
CCCCTATCAGCTTCAATGATTAAACGCTACGATGAACATCATCAAGACTTGACTCTTTT
AAAAGCTTTAGTTTCGACAACAACCTCCAGAAAAGTATAAAGAAATCTTTTTTGATCAAT
CAAAAAACGGATATGCAGGTTATATTGATGGGGGAGCTAGCCAAGAAGAATTTTATAAA
TTTATCAAACCAATTTTAGAAAAAATGGATGGTACTGAGGAATTATTGGTGAAACTAAA
TCGTGAAGATTTGCTGCGCAAGCAACGGACCTTTGACAACGGCTCTATTCCCCATCAAA

30

40

50

TTCAC TTGGGTGAGCTGCATGCTATTTT GAGAAGACAAGAAGACTTTTATCCATTTT TA
AAAGACAATCGTGAGAAGATTGAAAAAATCTTGACTTTT CGAATTCCTTATTATGTTGG
TCCATTGGCGCGTGGCAATAGTCGTTTTGCATGGATGACTCGGAAGTCTGAAGAAACAA
TTACCCCATGGAATTTTGAAGAAGTTGTCGATAAAGGTGCTTCAGCTCAATCATTTATT
GAACGCATGACAAACTTTGATAAAAAATCTTCCAAATGAAAAAGTACTACCAAAACATAG
TTTGCTTTATGAGTATTTTACGGTTTATAACGAATTGACAAAGGTCAAATATGTTACTG
AAGGAATGCGAAAAC CAGCATTTCTTT CAGGTGAACAGAAGAAAGCCATTGTTGATT TA
CTCTTCAAAACAAATCGAAAAGTAACCGTTAAGCAATTA AAAAGAAGATTATTTCAAAAA
AATAGAATGTTTTGATAGTGTTGAAATTT CAGGAGTTGAAGATAGATTTAATGCTTCAT
TAGGTACCTACCATGATTTGCTAAAAATTATTAAGATAAAGATTTTTTTGGATAATGAA
GAAAATGAAGATATCTTAGAGGATATTGTTTTAACATTGACCTTATTTGAAGATAGGGA
GATGATTGAGGAAAGACTTAAAACATATGCTCACCTCTTTGATGATAAGGTGATGAAAC
AGCTTAAACGTGCGCGTTATACTGGTTGGGGACGTTTGTCTCGAAAATTGATTAATGGT
ATTAGGGATAAGCAATCTGGCAAAACAATATTAGATTTTTTTGAAATCAGATGGTTTTGC
CAATCGCAATTTTATGCAGCTGATCCATGATGATAGTTTGACATTTAAGAAGACATTC
AAAAAGCACAAGTGTCTGGACAAGGCGATAGTTTACATGAACATATTGCAAATTTAGCT
GGTAGCCCTGCTATTAAAAAAGGTATTTTACAGACTGTAAAAGTTGTTGATGAATTGGT
CAAAGTAATGGGGCGGCATAAGCCAGAAAATATCGTTATTGAAATGGCACGTGAAAATC
AGACA ACTCAAAAGGGCCAGAAAATTCGCGAGAGCGTATGAAACGAATCGAAGAAGGT
ATCAAAGAATTAGGAAGTCAGATTCTTAAAGAGCATCCTGTTGAAAATACTCAATTGCA
AAATGAAAAGCTCTATCTCTATTATCTCCAAAATGGAAGAGACATGTATGTGGACCAAG
AATTAGATATTAATCGTTTAAAGTGATTATGATGTCGATCACATTGTTCCACAAAGTTTC
CTTAAAGACGATTCAATAGACAATAAGGTCTTAAACGCGTTCTGATAAAAATCGTGGTAA
ATCGGATAACGTTCCAAGTGAAGAAGTAGTCAAAAAGATGAAAAACTATTGGAGACAAC
TTCTAAACGCCAAGTTAATCACTCAACGTAAGTTTGATAATTTAACGAAAGCTGAACGT
GGAGGTTTGAGTGAAC TTGATAAAGCTGGTTTTATCAAACGCCAATTGGTTGAAACTCG
CCAAATCACTAAGCATGTGGCACA AATTTTGGATAGTCGCATGAATACTAAATACGATG
AAAATGATAAACTTATTCGAGAGGTTAAAGTGATTACCTTAAAATCTAAATTAGTTTCT
GACTTCCGAAAAGATTTCCAATTCTATAAAGTACGTGAGATTAACAATTACCATCATGC
CCATGATGCGTATCTAAATGCCGTCGTTGGA ACTGCTTTGATTAAGAAATATCCAAAAC
TTGAATCGGAGTTTGTCTATGGTGATTATAAAGTTTATGATGTTCTGTA AATGATTGCT
AAGTCTGAGCAAGAAATAGGCAAAGCAACCGCAAAATATTTCTTTTACTCTAATATCAT
GA ACTTCTTCAAAACAGAAATTACACTTGCAAATGGAGAGATT CGCAAACGCCCTCTAA
TCGAAACTAATGGGGAAACTGGAGAAATTGTCTGGGATAAAGGGCGAGATTTTGCCACA
GTGCGCAAAGTATTGTCCATGCCCAAGTCAATATTGTCAAGAAAACAGAAAGTACAGAC
AGGCGGATTCTCCAAGGAGTCAATTTTACCAAAAAGAAATTCGGACAAGCTTATTGCTC
GTAAAAAAGACTGGGATCCAAAAAATATGGTGGTTTTGATAGTCCAACGGTAGCTTAT
TCAGTCCTAGTGGTTGCTAAGGTGGAAAAAGGGAAATCGAAGAAGTTAAAATCCGTTAA
AGAGTTACTAGGGATCACAATTATGGAAAGAAGTTCTTTGAAAAAATCCGATTGACT
TTTTAGAAGCTAAAGGATATAAGGAAGTTAAAAAAGACTTAATCATTAACTACCTAAA
TATAGTCTTTTTGAGTTAGAAAACGGTCGTAAACGGATGCTGGCTAGTGCCGGAGAATT
ACAAAAGGAAATGAGCTGGCTCTGCCAAGCAAATATGTGAATTTTTTATATTTAGCTA
GTCATTATGAAAAGTTGAAGGGTAGTCCAGAAGATAACGAACAAAAACAATTGTTTGTG
GAGCAGCATAAGCATTATTTAGATGAGATTATTGAGCAAATCAGTGAATTTTCTAAGCG
TGTTATTTTAGCAGATGCCAATTTAGATAAAGTTCTTAGTGCATATAACAAACATAGAG
ACAAACCAATACGTGAACAAGCAGAAAATATTATTCATTTATTTACGTTGACGAATCTT
GGAGCTCCCGCTGCTTTTAAATATTTTGATACAACAATTGATCGTAAACGATATACGTC
TACAAAAGAAGTTTTAGATGCCACTCTTATCCATCAATCCATCACTGGTCTTTATGAAA
CACGCATTGATTTGAGTCAGCTAGGAGGTGACTGA

(配列番号 2)

10

20

30

40

50

【 0 0 8 9 】

Streptococcus thermophilus Cas9 タンパク質のアミノ酸配列は、UniProt データベースで受託番号 Q03JI6.1 の下に見出され得る。Saprunauskas et al., (2011) *Nucleic Acids Res.* 39:9275-9282 も参照。このアミノ酸配列は以下である。

【 0 0 9 0 】

MTKPYSIGLDIGTNSVGWAVTTDNYKVPSKKMKVLGNTSKKYIKKNLLGVLLFDSGITAE
GRRLKRTARRRYTRRRNRILYLQEIFSTEMATLDDAFFQRLDDSFLVPDDKRDSKYPIFGN
LVEEKAYHDEFPTIYHLRKYLDSTKKADRLVYLALAHMIKYRGHFLIEGEFNSKNNDI
QKNFQDFLDITYNAIFESDLSLENSKQLEEVKDKISKLEKKDRILKLFPGKEKNSGIFSEFLKL
IVGNQADFRKCFNLDEKASLHFSKESYDEDETLTLLGYIGDDYSDVFLKAKKLYDAILLSGF
LTVTDNETEAPLSSAMIKRYNEHKEDLALLKEYIRNLSLKTYNVFKDDTKNGYAGYIDGK
TNQEDFYVYLKKLLAEFEGADYFLEKIDREDFLRKQRTFDNGSIPYQIHLQEMRAILDKQA
KFYPFLAKNKERIEKILTRIPYYVGPLARGNSDFAWSIRKRNEKITPWNFEDVIDKESAE
AFINRMTSFDLYLPPEKVLPKHSLLYETFNVYNELTKVRFIAESMRDYQFLDSKQKKDIVR
LYFKDKRKVTDKDIIEYLHAIYGYDGIELKGIEKQFNSSLSTYHDLLNIINDKEFLDDSSNE
AIIIEIIHTLTIFEDREMIKQRLSKFENIFDKSVLKKLSRRHYTGWGKLSAKLINGIRDEKSG
NTILDYLIDDGISNRNFMQLIHDDALSFKKKIQKAQIIGDEDKGNIKEVVKSLPGSPAIIKKG
ILQSIKIVDELVKVMGGRKPESIVVEMARENQYTNQGKSNSQQRLKRLEKSLKELGSKILK
ENIPAKLSKIDNNALQNDRLYLYYLQNGKDMYTGGDLIDRLSNYDIDHIIPQAFLKDNSI
DNKVLVSSASNRGKSDDVPSLEVVKRKRTFWYQLLKSCLISQRKFDNLTKAERGGGLSPED
KAGFIQRQLVETRQITKHVARLLDEKFNNKKDENNRVAVRTVKIITLSTLVSQFRKDFELY
KVREINDFHHAHDAYLNAVVASALLKKYPKLEPEFVYGDYPKYNSFRERKSATEKVYFYS
NIMNIFKKSISLADGRVIERPLIEVNEETGESVWNKESDLATVRRVLSYPQVNVVKKVEEQ
NHGLDRGKPKGLFNANLSSKPKPNSNENLVGAKEYLDPKKYGGYAGISNSFTVLVKGTIE
KGAKKKITNVLEFQGISILDRINYRKDKLNFLEKGYKDIELIIELPKYSLFELSDGSRRMLA
SILSTNNKRGEIHKGNQIFLSQKFVKLLYHAKRISNTINENHRKYVENHKKEFEELFYIILE
FNENYVGAKKNGKLLNSAFQSWQNHSEIDELCSSFIGPTGSEKGLFELTSRGSAADEFELG
VKIPRYRDYTPSSLLKDATLIHQSVTGLYETRIDLAKLGEG

(配列番号 3)

【 0 0 9 1 】

配列番号 3 は European Nucleotide Archive で受託番号 ABJ66636.1 の下に見出される以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 0 9 2 】

ATGACTAAGCCATACTCAATTGGACTTGATATTGGAACGAATAGTGTTGGATGGGCTGT
AACAACTGATAATTACAAGGTTCCGTCTAAAAAATGAAAGTCTTAGGAAATACGAGTA
AAAAGTATATCAAAAAGAACCTGTTAGGTGTATTACTCTTTGACTCTGGAATCACAGCA
GAAGGAAGAAGATTGAAGCGTACTGCAAGAAGACGTTATACTAGACGCCGTAATCGTAT
CCTTTATTTGCAGGAAATTTTGTAGCACAGAGATGGCTACATTAGATGATGCTTTCTTTC
AAAGACTTGACGATTCTGTTTTTAGTTCTGATGATAAACGTGATAGTAAGTATCCGATA
TTTGGAACTTAGTAGAAGAAAAAGCCTATCATGATGAATTTCCAACCTATCTATCATTT
AAGGAAATATTTAGCAGATAGTACTAAAAAAGCAGATTTGCGTCTAGTTTATCTTGCAT
TGGCTCATATGATTAAATATAGAGGTCACCTCTTAATTGAAGGAGAGTTTAATTCAAAA
ATAATGATATTCAGAAGAATTTTCAAGACTTTTTGGACACTTATAATGCTATTTTTGA
ATCGGATTTATCACTTGAGAATAGTAAACAACCTTGAGGAAATTGTTAAAGATAAGATTA
GTAAATTAGAAAAGAAAGATCGTATTTTAAACTCTTCCCTGGGGAGAAGAATTCTGGGG
ATTTTTTTCAGAGTTTCTAAAGTTGATTGTAGGAAATCAAGCTGATTTTAGGAAATGTTT
TAATTTAGACGAAAAAGCCTCCTTACATTTTCCAAAGAAAGCTATGATGAAGATTTAG
AGACTTTGTTAGGTTATATTGGAGATGATTACAGTGATGTCTTTCTCAAAGCAAAGAAA
CTTTATGATGCTATTCTTTTATCGGGTTTTCTGACTGTAAGTAAAGACAGAAAGC

ACCTCTCTCTTCTGCTATGATAAAGCGATATAATGAACACAAAGAAGATTTAGCGTTAC
TAAAGGAATATATAAGAAATATTTCACTAAAAACGTATAATGAAGTATTTAAAGATGAC
ACCAAAAATGGTTATGCTGGTTATATTGATGGAAAAACAAATCAGGAAGATTTCTACGT
ATATCTAAAAAACTATTGGCTGAATTTGAAGGTGCGGATTATTTTCTTGAAAAAATTG
ATCGAGAAGATTTTTTGAGAAAGCAACGTACATTTGACAATGGTTCGATACCATATCAG
ATTCATCTTCAAGAAATGAGAGCAATTCTTGATAAGCAAGCTAAATTTTATCCTTTCTT
GGCTAAAAATAAAGAAAGAATCGAGAAGATTTTAACCTTCCGAATTCCTTATTATGTAG
GTCCACTTGCGAGAGGGAATAGTGATTTTGCCTGGTCAATAAGAAAACGAAATGAAAAA
ATTACACCTTGGAATTTTGAGGACGTTATTGACAAAGAATCTTCGGCAGAGGCCTTCAT
TAATCGAATGACTAGTTTTGATTTGTATTTGCCAGAAGAGAAGGTACTTCCAAAGCATA
GTCTCTTATACGAACTTTTAATGTATATAATGAATTAACAAAAGTTAGATTTATTGCC
GAAAGTATGAGAGATTATCAATTTTTAGATAGTAAGCAGAAGAAAGATATTGTTAGACT
TTATTTTAAAGATAAAAGGAAAGTTACTGATAAGGATATTATTGAATATTTACATGCAA
TTTATGGGTATGATGGAATTGAATTAAGGCATAGAGAAACAGTTTAATTCTAGTTTA
TCTACTTATCACGATCTTTTAAATATTATTAATGATAAAGAGTTTTTGGATGATAGTTC
AAATGAAGCGATTATCGAAGAAATTATCCATACTTTGACAATTTTTGAAGATAGAGAGA
TGATAAAACAACGTCTTTCAAATTTGAGAATATATTGATAAATCCGTTTTGAAAAAG
TTATCTCGTAGACATTACACTGGCTGGGGTAAGTTATCTGCTAAGCTTATTAATGGTAT
TCGAGATGAAAAATCTGGTAATACTATTCTTGATTACTTAATTGATGATGGTATTTCTA
ACCGTAATTTTCATGCAACTTATTCACGATGATGCTCTTTCTTTTAAAAAGAAGATACAG
AAAGCACAAATTATTGGTGACGAAGATAAAGGTAATATTAAAGAGGTCGTTAAGTCTTT
GCCAGGTAGTCCTGCGATTAAAAAAGGTATTTTACAAAGCATAAAAATTGTAGATGAAT
TGGTCAAAGTAATGGGAGGAAGAAAACCCGAGTCAATTGTTGTTGAGATGGCTCGTGAA
AATCAATATACCAATCAAGGTAAGTCTAATCCCAACAACGCTTGAAACGTTTAGAAAA
ATCTCTCAAAGAGTTAGGTAGTAAGATACTTAAGGAAAATATTCCTGCAAACTTTCTA
AAATAGACAATAACGCACTTCAAATGATCGACTTTACTTATACTATCTTCAAATGGA
AAAGATATGTATACCGGAGATGATTTAGATATTGATAGATTAAGTAATTATGATATTGA
TCATATTATTCTCAAGCTTTTTTGAAGATAATTCTATTGACAATAAAGTACTTGTTTT
ATCTGCTAGTAACCGTGGTAAATCAGATGATGTTCCAAGTTTAGAGGTTGTCAAAAAA
GAAAGACATTTTGGTATCAATTATTGAAATCAAATTAATTTCTCAACGAAAATTTGAT
AATCTGACAAAAGCTGAACGGGGAGGATTGTACCTGAGGACAAAGCTGGTTTTATTCA
ACGCCAGTTGGTTGAAACACGTCAAATAACAAAACATGTAGCTCGTTTACTTGATGAGA
AATTTAATAATAAAAAAGATGAAAATAATAGAGCGGTACGAACAGTAAAAATTATTACC
TTGAAATCTACCTTAGTTTTCTCAATTTCTGTAAGGATTTTGAACTTTATAAAGTTCGTGA
AATCAATGATTTTTCATCATGCTCATGATGCTTACTTGAATGCCGTTGTAGCAAGTGCTT
TACTTAAGAAATACCCTAACTAGAGCCAGAATTTGTGTACGGTGATTATCCAAAATAC
AATAGTTTTAGAGAAAGAAAGTCCGCTACAGAAAAGGTATATTTCTATTCAAATATCAT
GAATATCTTTAAAAAATCTATTTCTTTAGCTGATGGTAGAGTTATTGAAAGACCACTTA
TTGAGGTAAATGAGGAGACCGGCGAATCCGTTTGAATAAAGAATCTGATTTAGCAACT
GTAAGGAGAGTACTCTCTTATCCGCAAGTAAATGTTGTGAAAAAAGTTGAGGAACAGAA
TCACGGATTGGATAGAGGAAAACCAAAGGATTGTTTAATGCAAATCTTTCCTCAAAGC
CAAAACCAAATAGTAATGAAAATTTAGTAGGTGCTAAAGAGTATCTTGACCCCAAAAAG
TATGGGGGGTATGCTGGAATTTCTAATTCCTTTTACTGTTCTTGTTAAAGGGACAATTGA
AAAAGGTGCTAAGAAAAAATAACAAATGTACTAGAATTTCAAGGTATTTCTATTTTAG
ATAGGATTAATTATAGAAAAGATAAACTTAATTTTTTACTTGAAAAAGGTTATAAAGAT
ATTGAGTTAATTATTGAACTACCTAAATATAGTTTATTTGAACTTTTCAAGTGGTTCACG
TCGTATGTTGGCTAGTATTTTGTCAACGAATAATAAGAGGGGAGAGATTCACAAAGGAA
ATCAGATTTTTCTTTCACAGAAGTTTGTGAAATTAATTTATCATGCTAAGAGAATAAGT
AACACAATTAATGAGAATCATAGAAAATATGTTGAGAACCATAAAAAAGAGTTTGAAGA
ATTATTTTACTACATTCTTGAGTTTAATGAGAATTATGTTGGAGCTAAAAAGAATGGTA

10

20

30

40

50

AACTCTTAAACTCTGCCTTTCAATCTTGGCAAAATCATAGTATAGATGAACTCTGTAGT
AGTTTTATAGGACCTACCGGAAGTGAAAGAAAGGGGCTATTTGAATTAACCTCTCGTGG
AAGTGCTGCTGATTTTGAATTTTGTAGGTGTTAAAATTCCAAGGTATAGAGACTATACCC
CATCATCCCTATTAAAAGATGCCACACTTATTCATCAATCTGTTACAGGCCTCTATGAA
ACACGAATAGACCTTGCCAAACTAGGAGAGGGTTAA

(配列番号 4)

【 0 0 9 3 】

核局在化シグナル (G G S G P P K K K R K V ; 配列番号 5) をその C 末端に含む C a s 9 タンパク質の一例は以下のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 9 4 】

MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEA
TRLKRTARRRYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNI
VDEVAYHEKYPTIYHLRKKLV DSTDKADLR LIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVD
KLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKAILSARLSKSRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIAL
SLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKD TYDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDI
LRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDG
GASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQ
EDFYFPLKDNREKIEKILTFRIPIYVGPLARGNSRFAMTRKSEETITPWNFEEVVDKGAS
AQSFIERMTNFDKNLPNEKVLPHKSHLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKA
IVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLD
NEENEDILEDIVLTTLTFEDREMIEERLKYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLIN
GIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNF MQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLA
GSPAIIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIE MARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGI
KELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDHIVPQSFLK
DDSIDNKVLT RSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGG
LSELDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKS KLVSDFRK
DFQFYKVVREINNYHHAHDAYLNAVVG TALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIKSEQ
EIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLS
MPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLIARKKDWD PKKYGGFDSPTVAYSVLVVAK
VEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYS LFELENGR
KRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEII
EQISEFSKRVLADANLDKVLSAYNKH RDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTID
RKRYTSTKEVL DATLIHQ SITGLYETRIDLSQLGGDGGSGPPKKKRKV

(配列番号 6)

【 0 0 9 5 】

いくつかの実施形態において、C a s 9 ニッカーゼは、ガイド配列 (複数可) 、例えば DNA 標的のセンス及びアンチセンス鎖をそれぞれ標的とする 2 つのガイド配列とともに用いられ得る。この組合せにより、両方の鎖がニックされ、非相同末端結合 (N H E J) を誘発するのに用いられることが可能となる。

【 0 0 9 6 】

さらなる例として、すべての DNA 切断活性が実質的に欠失している変異 C a s 9 を生成するように、C a s 9 の 2 つ以上の触媒ドメイン (R u v C I、R u v C I I、及び R u v C I I I) が変異させられ得る。いくつかの実施形態において、D 1 0 A 変異を H 8 4 0 A、N 8 5 4 A、または N 8 6 3 A 変異のうちの 1 つ以上と組み合わせ、すべての DNA 切断活性が実質的に欠失している C a s 9 酵素を生成する (ここでアミノ酸番号は配列番号 1 の通りである) 。いくつかの実施形態において、C R I S P R 酵素は、変異酵素の DNA 切断活性がその非変異形態に対して約 2 5 %、1 0 %、5 %、1 %、0 . 1 %、0 . 0 1 % 未満、またはこれより低い場合、すべての DNA 切断活性が実質的に欠失していると考えられる。他の変異が有用である場合もあり、C a s 9 または他の C R I S P R 酵素が S . p y o g e n e s 以外の種由来の場合、類似の効果を得るために対応

10

20

30

40

50

するアミノ酸の変異がなされ得る。

【0097】

いくつかの実施形態において、CRISPR酵素をコードする酵素コード配列は、特定の細胞、例えば真核細胞などでの発現に最適化されたコドンである。真核細胞は、特定の生物、例えば限定はしないがヒト、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、または非ヒト霊長類をはじめとした哺乳類などのものまたは由来するものであり得る。一般に、コドン最適化は、対象とする宿主細胞における発現を強化するために、元のアミノ酸配列を維持しながら、元の配列の少なくとも1つのコドン（例えば約1、2、3、4、5、10、15、20、25、50以上、またはこれより多くのコドン）を、その宿主細胞の遺伝子に用いられる頻度がより高いまたは最も高いコドンで置換することによって、核酸配列を改変するプロセスのことをいう。様々な種が特定のアミノ酸の決まったコドンに特定のバイアスを示す。コドンバイアス（生物間でのコドン使用頻度の差）はメッセンジャーRNA（mRNA）の翻訳の効率と相関があることが多く、そしてまた、この効率はとりわけ、翻訳されるコドンの特性及び特定のトランスファーRNA（tRNA）分子の利用可能性に依存すると考えられている。細胞内で選ばれたtRNAが圧倒的多数を占めているのは一般に、ペプチド合成に使用される頻度が最も高いコドンを反映している。したがって、コドン最適化に基づいて、所与の生物における最適遺伝子発現に遺伝子を適合させることができる。コドン使用頻度表は、例えば「Codon Usage Database」で容易に利用可能であり、これらの表は様々な方法で応用することができる。Nakamura, Y., et al. "Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000" Nucl. Acids Res. 28: 292 (2000)を参照。特定の宿主細胞における発現に対して特定の配列をコドン最適化するコンピュータアルゴリズムも利用可能であり、例えばGene Forge (Aptagen; Jacobus, Pa.)なども利用可能である。いくつかの実施形態において、CRISPR酵素をコードする配列における1つ以上のコドン（例えば1、2、3、4、5、10、15、20、25、50以上、またはすべてのコドン）が、特定のアミノ酸に対して使用される頻度が最も高いコドンと一致する。

【0098】

一般に、ガイド配列は、標的配列とハイブリダイズして標的配列へのCRISPR複合体の配列特異的結合を誘導するための、標的ポリヌクレオチド配列との十分な相補性を有する任意のポリヌクレオチド配列である。いくつかの実施形態において、ガイド配列とそれに対応する標的配列との間の相補度は、好適なアラインメントアルゴリズムを用いて最適アラインメントした場合、約50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%、97.5%、99%以上またはこれより高い。最適アラインメントは、配列をアラインメントする任意の好適なアルゴリズムを用いて決定され得るが、その非限定例としては、Smith-Watermanアルゴリズム、Needleman-Wunschアルゴリズム、Burrows-Wheeler変換に基づいたアルゴリズム（例えばBurrows Wheeler Aligner）、ClustalW、Clustal X、BLAT、Novoalign (Novocraft Technologies)、ELAND (Illumina, San Diego, Calif.)、SOAP (soap.genomics.org.cnで入手可能)、及びMaq (maq.sourceforge.netで入手可能)が挙げられる。いくつかの実施形態において、ガイド配列は約5、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、75以上またはこれより多いヌクレオチドの長さである。いくつかの実施形態において、ガイド配列は約75、50、45、40、35、30、25、20、15、12未満、またはこれより少ないヌクレオチドの長さである。標的配列へのCRISPR複合体の配列特異的結合を誘導するガイド配列の能力は、任意の好適なアッセイによって評価され得る。例えば、試験しようとするガイド配列を含め、CRISPR複合体を形成するのに十

10

20

30

40

50

分なCRISPRシステムのコンポーネントが、例えばCRISPR配列のコンポーネントをコードするベクターの形質移入などによって、対応する標的配列を有する宿主細胞に与えられ、その後、例えば本明細書に記載のSurveyorアッセイなどによって標的配列内の選択的切断が評価され得る。標的ポリヌクレオチド配列の切断は、標的配列、試験しようとするガイド配列を含むCRISPR複合体のコンポーネント及び試験ガイド配列とは異なる対照ガイド配列を準備し、試験用及び対照用のガイド配列の反応間の標的配列における結合または切断率を比較することによって、試験管内でも同様に評価され得る。他のアッセイも可能であり、当業者であれば考え付くであろう。

【0099】

ガイド配列は任意の標的配列を標的化するように選択され得る。いくつかの実施形態において、標的配列は細胞のゲノム内の配列である。例示的な標的配列としては、標的ゲノムに特有のものが挙げられる。例えば、*S. pyogenes* Cas9について、ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNXGGMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXAGAAW型のCas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGG(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる)はゲノム中で一度しか出現しない。ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGG型の*S. pyogenes* Cas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGG(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる)はゲノム中で一度しか出現しない。*S. thermophilus* CRISPR1 Cas9について、ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXAGAAW(配列番号7)型のCas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXAGAAW(配列番号8)(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる、WはAまたはTである)はゲノム中で一度しか出現しない。ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXAGAAW(配列番号9)型の*S. thermophilus* CRISPR1 Cas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXAGAAW(配列番号10)(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる、WはAまたはTである)はゲノム中で一度しか出現しない。*S. pyogenes* Cas9について、ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGGXG型のCas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGGXG(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる)はゲノム中で一度しか出現しない。ゲノム中の特有の標的配列には、MMMMMMMMMMMMMMMMNNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGGXG型の*S. pyogenes* Cas9標的部位が含まれ得るが、この場合、NNNNNNNNNNNNNNNNNNXXGGXG(NはA、G、T、またはCであり、Xはデオキシヌクレオチドとすることができる)はゲノム中で一度しか出現しない。これらの配列のそれぞれにおいて、「M」はA、G、T、またはCであってよく、配列を特有なものとして識別する際に考慮する必要はない。

【0100】

いくつかの実施形態において、ガイド配列内の二次構造の程度を減少させるようにガイド配列を選択する。二次構造は、任意の好適なポリヌクレオチドフォールディングアルゴリズムによって確認され得る。いくつかのプログラムは最小ギブス自由エネルギーの計算に基づいている。そのようなアルゴリズムの1つの例はmFoldであり、Zuker及びStiegler(Nucleic Acids Res. 9(1981), 133-148)によって記載されている。別の例のフォールディングアルゴリズムは、University of ViennaのInstitute for Theoretical Chemistryで開発された、重心構造予測アルゴリズムを用いたオンラインウェブサーバーRNAfoldである(例えばA. R. Gruber et al., 2008, Cell 106(1): 23-24;及びPA Carr and G

M Church, 2009, Nature Biotechnology 27(12): 1151-62を参照)。米国特許出願第61/836,080号(参照により本明細書に援用)にさらなるアルゴリズムが見出され得る。

【0101】

本主題の態様は、CRISPR/CRISPR/Prevotella及びFrancisella由来CRISPR(Cpf1)遺伝子編集複合体またはそのコンポーネント(例えばCpf1タンパク質)の送達に関する。ヒトコドン最適化Cpf1ファミリータンパク質の例を以下に示す。

【0102】

ヒトコドン最適化Cpf1ファミリータンパク質

10

Cpf1ファミリータンパク質配列の非限定例、及びCRISPR/Cpf1遺伝子編集の態様が、Zetsche et al., Cell 163, 759-771, October 22, 2015に記載されており、その内容全体を参照により本明細書に援用する。

【0103】

NLS及びHAタグを含むFrancisella tularensis subsp. Novicida U112(FnCpf1;pY004):

【0104】

MSIQEFVNKYSLSKTLRFELIPQGKTLENIKARGLILDDEKRAKDYKKAKQIIDKYHQFFI
EEILSSVCISEDLLQNYSDVYFKLKKSDDDNLQKDFKSAKDTIKKQISEYIKDSEKFKNLFN
QNLIDAKKGQESDLILWLKQSKDNGIELFKANSDITDIDEALEIISFKGWTTFYFKGFHEN
RKNVYSSNDIPTSIIRIVDDNLPKFLENKAKYESLKDKAPEAINYEQIKKDLAEELTFDID
YKTSEVNQRVFSLDEVFEIANFNLYLNQSGITKFNTIIGGKFVNGENTKRKGINEYINLYS
QQINDKTLKKYKMSVLFKQILSDTESKSFVIDKLEDDSDVVTMQSFYEQIAAFKTVEEKS
IKETLSLLFDDLKAQKLDLSKIYFKNDKSLTDLSQQVFDDYSVIGTAVLEYITQQIAPKNLD
NPSKKEQELIAKKTEKAKYLSLETIKLALAEFNKHRDIDKQCRFEEILANFAAIPMIFDEIA
QNKDNLAQISIKYQNGKKDLLQASAEDDVKAIKDLLDQTNLLHKLKIFHISQSEDKAN
ILDKDEHFYLVFEECYFELANIVPLYNKIRNYITQKPYSDEKFKLNFENSTLANGWDKNKE
PDNTAILFIKDDKYLLGVMNKKNNKIFDDKAIKENKGEYKKIVYKLLPGANKMLPKVFF
SAKSIKFYNPSEDILRIRNHSTHTKNGSPQKGYEKFEFNIEDCRKFIDFYKQSISKHPEWKD
FGFRFSDTQRYNSIDEFYREVENQGYKLTFENISESYIDSVVNQGKLYLFQIYNKDFSAYS
KGRPNLHTLYWKALFDERNLQDVVYKLNGEAEFYRKQSIPKKITHPAKEAIANKNDNP
KKESVFEYDLIKDKRFTEDKFFFHCPTINFKSSGANKFNDEINLLLKEKANDVHILSIDRG
ERHLAYYTLVDGKGNIIKQDTFNIIGNDRMKTNYHDKLAAIEKDRDSARKDWKKINNIKE
MKEGYLSQVVHEIAKLVEYNAIVVFEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKLEKMLIEKLNLYLV
FKDNEFDKTGGVLRAYQLTAPFETFKKMGKQTGIIYYVPAGFTSKICPVTGFVNQLYPKY
ESVSKSQEFFSKFDKICYNLDKGYFEFSFDYKNFGDKAAKGKWTIASFGSRLINFRNSDKN
HNWDTREVPYPTKELEKLLKDYSIEYGHGECIKAAICGESDKKFFAKLTSVLNTILQMRNSK
TGTELDYLISPVADVNGNFFDSRQAPKNMPQDADANGAYHIGLKGLMLLGRIKNNQEGK
KLNLVIKNEEYFEFVQNRNNKRPAAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPY
DVPDYA

20

30

40

(配列番号11)

【0105】

配列番号11は、核局在化シグナル(KRPAAATKKAGQAKKKK)(配列番号12)、その次にグリシン-セリンリンカー(GS)、その次にヒトインフルエンザヘマグルチニン(HA)タグ(YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA)(配列番号13)を含む。

【0106】

配列番号11は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【0107】

50

ATGAGCATCTACCAGGAGTTCGTCAACAAGTATTCACTGAGTAAGACACTGCGGTTCTGA
GCTGATCCACAGGGCAAGACACTGGAGAACATCAAGGCCCGAGGCCTGATTCTGGACG
ATGAGAAGCGGGCAAAAGACTATAAGAAAGCCAAGCAGATCATTGATAAATACCACCAG
TTCTTTATCGAGGAAATTCTGAGCTCCGTGTGCATCAGTGAGGATCTGCTGCAGAATTA
CTCAGACGTGTACTTCAAGCTGAAGAAGAGCGACGATGACAACCTGCAGAAGGACTTCA
AGTCCGCCAAGGACACCATCAAGAAACAGATTAGCGAGTACATCAAGGACTCCGAAAAG
TTTAAAAATCTGTTCAACCAGAATCTGATCGATGCTAAGAAAGGCCAGGAGTCCGACCT
GATCCTGTGGCTGAAACAGTCTAAGGACAATGGGATTGAACTGTTCAAGGCTAACTCCG
ATATCACTGATATTGACGAGGCACTGGAAATCATCAAGAGCTTCAAGGGATGGACCACA
TACTTTAAAGGCTTCCACGAGAACC GCAAGAACGTGTACTCCAGCAACGACATTCCTAC
CTCCATCATCTACCGAATCGTCGATGACAATCTGCCAAAGTTCTTGAGAACAAAGGCCA
AATATGAATCTCTGAAGGACAAAGCTCCCGAGGCAATTAATTACGAACAGATCAAGAAA
GATCTGGCTGAGGAACTGACATTTCGATATCGACTATAAGACTAGCGAGGTGAACCAGAG
GGTCTTTTCCCTGGACGAGGTGTTTGAAATCGCCAATTTCAACAATTACCTGAACCACT
CCGGCATTACTAAATTCAATACCATCATTGGCGGGAAGTTTGTGAACGGGGAGAATACC
AAGCGCAAGGGAATTAACGAATACATCAATCTGTATAGCCAGCAGATCAACGACAAAAC
TCTGAAGAAATACAAGATGTCTGTGCTGTTCAAACAGATCCTGAGTGATACCGAGTCCA
AGTCTTTTGTCAATTGATAAACTGGAAGATGACTCAGACGTGGTCACTACCATGCAGAGC
TTTTATGAGCAGATCGCCGCTTTCAAGACAGTGGAGGAAAAATCTATTAAGGAACTCT
GAGTCTGCTGTTTCGATGACCTGAAAGCCCAGAAGCTGGACCTGAGTAAGATCTACTTCA
AAAACGATAAGAGTCTGACAGACCTGTACAGCAGGTGTTTGATGACTATTCCGTGATT
GGGACCGCCGTCCTGGAGTACATTACACAGCAGATCGCTCCAAAGAACCTGGATAATCC
CTCTAAGAAAGAGCAGGAACTGATCGCTAAGAAAACCGAGAAGGCAAAATATCTGAGTC
TGGAACAATTAAGCTGGCACTGGAGGAGTTCAACAAGCACAGGGATATTGACAAACAG
TGCCGCTTTGAGGAAATCCTGGCCAACTTCGCAGCCATCCCCATGATTTTTTGATGAGAT
CGCCCAGAACAAAGACAATCTGGCTCAGATCAGTATTAAGTACCAGAACCAGGGCAAGA
AAGACCTGCTGCAGGCTTCAGCAGAAGATGACGTGAAAGCCATCAAGGATCTGCTGGAC
CAGACCAACAATCTGCTGCACAAGCTGAAAATCTTCCATATTAGTCAGTCAGAGGATAA
GGCTAATATCCTGGATAAAGACGAACACTTCTACCTGGTGTTTCGAGGAATGTTACTTCG
AGCTGGCAAACATTGTCCCCCTGTATAACAAGATTAGGAACTACATCACACAGAAGCCT
TACTCTGACGAGAAGTTTAAACTGAACTTCGAAAATAGTACCCTGGCCAACGGGTGGGA
TAAGAACAAGGAGCCTGACAACACAGCTATCCTGTTTCATCAAGGATGACAAGTACTATC
TGGGAGTGATGAATAAGAAAAACAATAAGATCTTCGATGACAAAGCCATTAAGGAGAAC
AAAGGGGAAGGATACAAGAAAATCGTGTATAAGCTGCTGCCCGGCGCAAATAAGATGCT
GCCTAAGGTGTTCTTCAGCGCCAAGAGTATCAAATTCTACAACCCATCCGAGGACATCC
TGCGGATTAGAAATCACTCAACACATACTAAGAACGGGAGCCCCCAGAAGGGATATGAG
AAATTTGAGTTCAACATCGAGGATTGCAGGAAGTTTATTGACTTCTACAAGCAGAGCAT
CTCCAAACACCCTGAATGGAAGGATTTTGGCTTCCGGTTTTCCGACACACAGAGATATA
ACTCTATCGACGAGTTCTACCGCGAGGTGGAAAATCAGGGGTATAAGCTGACTTTTTGAG
AACATTTCTGAAAGTTACATCGACAGCGTGGTCAATCAGGGAAAGCTGTACCTGTTCCA
GATCTATAACAAGATTTTTTCAGCATAACAGCAAGGGCAGACCAAACTGCATACACTGT
ACTGGAAGGCCCTGTTTCGATGAGAGGAATCTGCAGGACGTGGTCTATAAACTGAACGGA
GAGGCCGAACCTGTTTTACCGGAAGCAGTCTATTCTAAGAAAATCACTCACCCAGCTAA
GGAGGCCATCGCTAACAAGAACAAGGACAATCCTAAGAAAGAGAGCGTGTTTCGAATACG
ATCTGATTAAGGACAAGCGGTTACCGAAGATAAGTTCTTTTTCCATTGTCCAATCACC
ATTAAC TTCAAGTCAAGCGGCGCTAACAAGTTCAACGACGAGATCAATCTGCTGCTGAA
GGAAAAAGCAAACGATGTGCACATCCTGAGCATTGACCGAGGAGAGCGGCATCTGGCCT
ACTATACCCTGGTGGATGGCAAAGGGAATATCATTAAAGCAGGATACATTCAACATCATT
GGCAATGACCGGATGAAAACCAACTACCACGATAAACTGGCTGCAATCGAGAAGGATAG
AGACTCAGCTAGGAAGGACTGGAAGAAAATCAACAACATTAAGGAGATGAAGGAAGGC

10

20

30

40

50

TATCTGAGCCAGGTGGTCCATGAGATTGCAAAGCTGGTCATCGAATACAATGCCATTGT
 GGTGTTTCGAGGATCTGAACTTCGGCTTTAAGAGGGGGCGCTTTAAGGTGGAAAAACAGG
 TCTATCAGAAGCTGGAGAAAATGCTGATCGAAAAGCTGAATTACCTGGTGTTTAAAGAT
 AACGAGTTCGACAAGACCGGAGGCGTCCTGAGAGCCTACCAGCTGACAGCTCCCTTTGA
 AACTTTCAAGAAAATGGGAAAACAGACAGGCATCATCTACTATGTGCCAGCCGGATTCA
 CTTCCAAGATCTGCCCCGTGACCGGCTTTGTCAACCAGCTGTACCCTAAATATGAGTCA
 GTGAGCAAGTCCCAGGAATTTTTTCAGCAAGTTCGATAAGATCTGTTATAATCTGGACAA
 GGGGTACTTCGAGTTTTTCCTTCGATTACAAGAACTTCGGCGACAAGGCCGCTAAGGGGA
 AATGGACCATTGCCTCCTTCGGATCTCGCCTGATCAACTTTCGAAATTCCGATAAAAAC
 CACAATTGGGACACTAGGGAGGTGTACCCAACCAAGGAGCTGGAAAAGCTGCTGAAAGA
 CTACTCTATCGAGTATGGACATGGCGAATGCATCAAGGCAGCCATCTGTGGCGAGAGTG
 ATAAGAAATTTTTTCGCCAAGCTGACCTCAGTGCTGAATACAATCCTGCAGATGCGGAAC
 TCAAAGACCGGGACAGAACTGGACTATCTGATTAGCCCCGTGGCTGATGTCAACGGAAA
 CTTCTTCGACAGCAGACAGGCACCCAAAAATATGCCTCAGGATGCAGACGCCAACGGGG
 CCTACCACATCGGGCTGAAGGGACTGATGCTGCTGGGCCGGATCAAGAACAATCAGGAG
 GGGAGAAGCTGAACCTGGTCATTAAGAACGAGGAATACTTCGAGTTTGTCCAGAATAG
 AAATAACAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGA
 TCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATA
 CCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

10

(配列番号 1 4)

20

【 0 1 0 8 】

N L S 及び H A タグを含む *L a c h n o s p i r a c e a e* *b a c t e r i u m* M C
 2 0 1 7 (L b 3 C p f 1 ; p Y 0 0 5) :

【 0 1 0 9 】

MDYGNQGQFERRAPLTKTITLRLKPIGETRETIREQKLLEQDAAFRKLIVETVTPIVDDCIRKI
 ADNALCHFGTEYDFSLGNAISKNDKAIKKETEKVEKLLAKVLTENLPDGLRKVNDINSA
 AFIQDTLTSFVQDDADKRVLIQELKGKTVLMQRFLLTRITALTVWLPDRVFENFNIFIENA
 EKMRIILLDSPLNEKIMKFDPAEQYASLEFYGQCLSQKDIDSYNLIISGIYADDEVKNPGIN
 EIVKEYNQQIRGDKDESPLPKLKLHKQILMPVEKAFFVRVLSNDSARSILEKILKSTEM
 LPSKIIIEAMKEADAGDIAVYGSRLHELHSHVIYGDHGLSKIIYDKESKRISMETLSPKER
 KESKKRLEGLEEHIRKSTYTFDELNRYAEKNVMAAYIAAVEESCAEIMRKEKDRLTLLSKE
 DVKIRGNRHNTLIVKNYFNAWTVFRNLIRILRRKSEAEIDSDFYDVLDDSVLEVLSLTYSKE
 NLCRSYITKKIGSDLKPEIATYGSALRPNRWWSPGEKFNVKFHTIVRRDGRLYYFILPKG
 AKPVELEDMDGDIECLQMRKIPNPTIFLPKLVFKDPEAFFRDNPPEAEDEFVFLSGMKAPVT
 ITRETYEAYRYKLYTVGKL RDGEVSEEEYKRALLQVLTAYKEFLENRMIIYADLNFGFKDLE
 EYKDSSEFIKQVETHNTFMCWAKVSSSQLDDLKSGNGLLFEIWSERLESYYKYGNEKVL
 RGYEGVLLSILKDNLVSMRTLNSRPM LVYRPKESSKPMVVHRDGSRVVDRFDKDGKYI
 PPEVHDELYRFFNNLLIKEKLGEKARKILDNKKVKVKVLESERVKWSKFYDEQFAVTFSV
 KKNADCLDTTKDLNAEVMEQYSES NRLLIRNTTDILYYLVLDKNGKVLKQ RSLNIINDGA
 RDVDWKERFRQVTKDRNEGYNEW DYSRTSNDLKEVYLNALKEIAEAVIEYNAILIIEKM
 SNAFKDKYSFLDDVTFKGFETKLLAKLSDLHFRGIKDGEPCSFNTPLQLCQNDSNKILQDG
 VIFMVPNSMTRSLDPDTGFIFAINDHNI RTKKAKLNFLSKFDQLKVSSEGCLIMKYS GDSL
 PTHNTDNRVWNCCCNHPITNYDRETKKVEFIEEPVEELSRVLEENG IETDTELNKL NERE
 NVPGKVVD AIYSLVLN YLRGT VSGVAGQRAVYYSPVTGKKYDISFIQAMNLNRKCDYYRI
 GSKERGEWTD FVAQLINKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVP
 DYA

30

40

(配列番号 1 5)

【 0 1 1 0 】

配列番号 1 5 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P

50

D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 1 1 】

配列番号 1 5 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 1 2 】

ATGGATTACGGCAACGGCCAGTTTGTAGCGGAGAGCCCCCTGACCAAGACAATCACCCCT
GCGCCTGAAGCCTATCGGCGAGACACGGGAGACAATCCGCGAGCAGAAGCTGCTGGAGC
AGGACGCCGCCCTTCAGAAAGCTGGTGGAGACAGTGACCCCTATCGTGGACGATTGTATC
AGGAAGATCGCCGATAACGCCCTGTGCCACTTTGGCACCGAGTATGACTTCAGCTGTCT
GGGCAACGCCCATCTCTAAGAATGACAGCAAGGCCATCAAGAAGGAGACAGAGAAGGTGG
AGAAGCTGCTGGCCAAGGTGCTGACCGAGAATCTGCCAGATGGCCTGCGCAAGGTGAAC
GACATCAATTCCGCCGCCCTTTATCCAGGATACACTGACCTCTTTCGTGCAGGACGATGC
CGACAAGCGGGTGTGATCCAGGAGCTGAAGGGCAAGACCGTGCTGATGCAGCGGTTCC
TGACCACACGGATCACAGCCCTGACCGTGTGGCTGCCCGACAGAGTGTTTCGAGAACTTT
AATATCTTCATCGAGAACGCCGAGAAGATGAGAATCCTGCTGGACTCCCCTCTGAATGA
GAAGATCATGAAGTTTGTACCCAGATGCCGAGCAGTACGCCTCTCTGGAGTTCTATGGCC
AGTGCCTGTCTCAGAAGGACATCGATAGCTACAACCTGATCATCTCCGGCATCTATGCC
GACGATGAGGTGAAGAACCCTGGCATCAATGAGATCGTGAAGGAGTACAATCAGCAGAT
CCGGGGCGACAAGGATGAGTCCCCACTGCCCAAGCTGAAGAAGCTGCACAAGCAGATCC
TGATGCCAGTGAGAGAAGGCCTTCTTTGTGCGCGTGCTGTCTAACGACAGCGATGCCCGG
AGCATCCTGGAGAAGATCCTGAAGGACACAGAGATGCTGCCCTCCAAGATCATCGAGGC
CATGAAGGAGGCAGATGCAGGCGACATCGCCGTGTACGGCAGCCGGCTGCACGAGCTGA
GCCACGTGATCTACGGCGATCACGGCAAGCTGTCCCAGATCATCTATGACAAGGAGTCC
AAGAGGATCTCTGAGCTGATGGAGACACTGTCTCCAAAGGAGCGCAAGGAGAGCAAGAA
GCGGCTGGAGGGCCTGGAGGAGCACATCAGAAAGTCTACATACACCTTCGACGAGCTGA
ACAGGTATGCCGAGAAGAATGTGATGGCAGCATACATCGCAGCAGTGGAGGAGTCTTGT
GCCGAGATCATGAGAAAGGAGAAGGATCTGAGGACCCTGCTGAGCAAGGAGGACGTGA
AGATCCGGGGCAACAGACACAATACTGATCGTGAAGAACTACTTTAATGCCTGGACC
GTGTTCCGGAACCTGATCAGAATCCTGAGGCGCAAGTCCGAGGCGGAGATCGACTCTGA
CTTCTACGATGTGCTGGACGATTCCGTGGAGGTGCTGTCTCTGACATACAAGGGCGAGA
ATCTGTGCCGAGCTATATCACCAAGAAGATCGGCTCCGACCTGAAGCCCGAGATCGCC
ACATACGGCAGCGCCCTGAGGCCTAACAGCCGCTGGTGGTCCCCAGGAGAGAAGTTTAA
TGTGAAGTTCCACACCATCGTGCGGAGAGATGGCCGGCTGTACTATTTTCATCCTGCCCA
AGGGCGCCAAGCCTGTGGAGCTGGAGGACATGGATGGCGACATCGAGTGTCTGCAGATG
AGAAAGATCCCTAACCCAACAATCTTTCTGCCCAAGCTGGTGTTCAGGACCCTGAGGC
CTTCTTTAGGGATAATCCAGAGGCCGACGAGTTCGTGTTTCTGAGCGGCATGAAGGCC
CCGTGACAATCACCAGAGAGACATACGAGGCCTACAGGTATAAGCTGTATACCGTGCGC
AAGCTGCGCGATGGCGAGGTGTCCGAAGAGGAGTACAAGCGGGCCCTGCTGCAGGTGCT
GACCGCCTACAAGGAGTTTCTGGAGAACAGAATGATCTATGCCGACCTGAATTTCCGGCT
TTAAGGATCTGGAGGAGTATAAGGACAGCTCCGAGTTTATCAAGCAGGTGGAGACACAC
AACACCTTCATGTGCTGGGCCAAGGTGTCTAGCTCCCAGCTGGACGATCTGGTGAAGTC
TGGCAACGGCCTGCTGTTTCGAGATCTGGAGCGAGCGCCTGGAGTCCTACTATAAGTACG
GCAATGAGAAGGTGCTGCGGGGCTATGAGGGCGTGCTGCTGAGCATCCTGAAGGATGAG
AACCTGGTGTCCATGCGGACCCTGCTGAACAGCCGGCCCATGCTGGTGTACCGGCCAAA
GGAGTCTAGCAAGCCTATGGTGGTGCACCGGGATGGCAGCAGAGTGGTGGACAGGTTTG
ATAAGGACGGCAAGTACATCCCCCTGAGGTGCACGACGAGCTGTATCGCTTCTTTAAC
AATCTGCTGATCAAGGAGAAGCTGGGCGAGAAGGCCCGGAAGATCCTGGACAACAAGAA
GGTGAAGGTGAAGGTGCTGGAGAGCGAGAGAGTGAAGTGGTCCAAGTTCTACGATGAGC
AGTTTGGCGTGACCTTCAGCGTGAAGAAGAACGCCGATTGTCTGGACACCACAAAGGAC
CTGAATGCCGAAGTGATGGAGCAGTATAGCGAGTCCAACAGACTGATCCTGATCAGGAA
TACCACAGATATCCTGTACTATCTGGTGCTGGACAAGAATGGCAAGGTGCTGAAGCAGA

10

20

30

40

50

GATCCCTGAACATCATCAATGACGGCGCCAGGGATGTGGACTGGAAGGAGAGGTTCCGC
 CAGGTGACAAAGGATAGAAACGAGGGCTACAATGAGTGGGATTATTCCAGGACCTCTAA
 CGACCTGAAGGAGGTGTACCTGAATTATGCCCTGAAGGAGATCGCCGAGGCCGTGATCG
 AGTACAACGCCATCCTGATCATCGAGAAGATGTCTAATGCCTTTAAGGACAAGTATAGC
 TTCCTGGACGACGTGACCTTCAAGGGCTTCGAGACAAAGCTGCTGGCCAAGCTGAGCGA
 TCTGCACTTTAGGGGCATCAAGGACGGCGAGCCATGTTCTTCACAAACCCCTGCAGC
 TGTGCCAGAACGATTCTAATAAGATCCTGCAGGACGGCGTGATCTTTATGGTGCCAAAT
 TCTATGACACGGAGCCTGGACCCCGACACCGGCTTCATCTTTGCCATCAACGACCACAA
 TATCAGGACCAAGAAGGCCAAGCTGAACTTTCTGAGCAAGTTCGATCAGCTGAAGGTGT
 CCTCTGAGGGCTGCCTGATCATGAAGTACAGCGGCGATTCCCTGCCTACACACAACACC
 GACAATCGCGTGTGGAAGTGTGTTGCAATCACCAATCACAACTATGACCGGGAGAC
 AAAGAAGGTGGAGTTCATCGAGGAGCCCGTGGAGGAGCTGTCCCGCGTGCTGGAGGAGA
 ATGGCATCGAGACAGACACCGAGCTGAACAAGCTGAATGAGCGGGAGAACGTGCCTGGC
 AAGGTGGTGGATGCCATCTACTCTCTGGTGCTGAATTATCTGCGCGGCACAGTGAGCGG
 AGTGGCAGGACAGAGGGGCCGTGTACTATAGCCCTGTGACCGGCAAGAAGTACGATATCT
 CCTTTATCCAGGCCATGAACCTGAATAGGAAGTGTGACTACTATAGGATCGGCTCCAAG
 GAGAGGGGAGAGTGGACCGATTTCTGTGGCCCAGCTGATCAACAAAAGGCCGGCGGCCAC
 GAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATT
 ACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCGACTATGCC
 TAA

10

20

【 0 1 1 3 】

N L S 及び H A タグを含む *Butyrivibrio proteoclasticus* (B p C p f 1 ; p Y 0 0 6) :

【 0 1 1 4 】

MSIYQEFVNKYSLSKTLRFELIPQGKTLENIKARGLILDDEKRAKDYKKAKQIIDKYHQFFI
 EEILSSVCISEDLLQNYSDVYFKLKKSDDDNLQKDFKSAKDTIKKQISEYIKDSEKFKNLFN
 QNLIDAKKGQESDLILWLKQSKDNGIELFKANSDITDIDEALEIISFKGWTTYFKGFHEN
 RKNVYSSNDIPTSIIRIVDDNLPKFLENKAKYESLKDKAPEAINYEQIKKDLAEELTFDID
 YKTSEVNQRVFSLDEVFEIANFNLYLNQSGITKFNTIIGGKFVNGENTKRKGINEYINLYS
 QQINDKTLKKYKMSVLFKQILSDTESKSFVIDKLEDDSDVVTMQSFYEQIAAFKTVEEKS
 IKETLSLLFDDLKAQKLDLSKIYFKNDKSLTDLSQQVFDDYSVIGTAVLEYITQQIAPKNLD
 NPSKKEQELIAKKTEKAKYLSLETIKLALFEFNKHRDIDKQCRFEEILANFAAIPMIFDEIA
 QNKDNLAQISIKYQNQGKKDLLQASAEDDVKAIKDLLDQTNLLHKLKIFHISQSEDKAN
 ILDKDEHFYLVFEECYFELANIVPLYNKIRNYITQKPYSDEKFKLNFENSTLANGWDKNKE
 PDNTAILFIKDDKYLLGVMNKKNNKIFDDKAIKENKGEYKKIVYKLLPGANKMLPKVFF
 SAKSIKFYNPSEDILRIRNHSTHTKNGSPQKGYEKFEFNIEDCRKFIDFYKQSISKHPEWKD
 FGFRFSDTQRYNSIDEFYREVENQGYKLTFENISESYIDSVVNQGKLYLFQIYNKDFSAYS
 GRPNLHTLYWKALFDERNLQDVVYKLNGEAELFYRKQSIPKKITHPAKEAIANKNDNP
 KKEVSFEYDLIKDKRFTEDKFFFHCPITINFKSSGANKFNDEINLLLKEKANDVHILSIDRG
 ERHLAYYTLVDGKGNIQKQDTFNIIGNDRMKTNYHDKLAAIEKDRDSARKDWKKINNIKE
 MKEGYLSQVVHEIAKLVEIYNAIVVFEDLNFGFKRGRFKVEKQVYQKLEKMLIEKLNLYLV
 FKDNEFDKTGGVLRAYQLTAPFETFKKMGKQTGIIYYVPAGFTSKICPVTGFVNQLYPKY
 ESVSKSQEFFSKFDKICYNLDKGYFEFSFDYKNFGDKAAKGKWTIASFGSRLINFRNSDKN
 HNWDTREVPYPTKELEKLLKDYSIEYGHGECIKAAICGESDKKFFAKLTSVLNTILQMRNSK
 TGTELDYLISPVADVNGNFFDSRQAPKNMPQDADANGAYHIGLKGLMLLGRIKNNQEGK
 KLNLVIKNEEYFEFVQNRNNKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPY
 DVPDYA

30

40

(配列番号 1 7)

【 0 1 1 5 】

配列番号 1 7 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号

50

12)、その次にグリシン - セリンリンカー (GS)、その次にHAタグ (YPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA) (配列番号13)を含む。

【0116】

配列番号17は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【0117】

ATGAGCATCTACCAGGAGTTCGTCAACAAGTATTCCTGAGTAAGACACTGCGGTTCTGA
GCTGATCCACAGGGCAAGACACTGGAGAACATCAAGGCCCGAGGCCTGATTCTGGACG
ATGAGAAGCGGGCAAAAGACTATAAGAAAGCCAAGCAGATCATTGATAAATACCACCAG
TTCTTTATCGAGGAAATTCTGAGCTCCGTGTGCATCAGTGAGGATCTGCTGCAGAATTA
CTCAGACGTGTACTTCAAGCTGAAGAAGAGCGACGATGACAACCTGCAGAAGGACTTCA
AGTCCGCCAAGGACACCATCAAGAAACAGATTAGCGAGTACATCAAGGACTCCGAAAAG
TTTAAAAATCTGTTCAACCAGAATCTGATCGATGCTAAGAAAGGCCAGGAGTCCGACCT
GATCCTGTGGCTGAAACAGTCTAAGGACAATGGGATTGAACTGTTCAAGGCTAACTCCG
ATATCACTGATATTGACGAGGCACTGGAAATCATCAAGAGCTTCAAGGGATGGACCACA
TACTTTAAAGGCTTCCACGAGAACC GCAAGAACGTGTACTCCAGCAACGACATTCTCTAC
CTCCATCATCTACCGAATCGTCGATGACAATCTGCCAAAGTTCCTGGAGAACAAGGCCA
AATATGAATCTCTGAAGGACAAAGCTCCCGAGGCAATTAATTACGAACAGATCAAGAAA
GATCTGGCTGAGGAACTGACATTTCGATATCGACTATAAGACTAGCGAGGTGAACCAGAG
GGTCTTTTCCCTGGACGAGGTGTTTGAAATCGCCAATTTCAACAATTACCTGAACCAAGT
CCGGCATTACTAAATTCAATACCATCATTGGCGGGAAGTTTGTGAACGGGGAGAATACC
AAGCGCAAGGGAATTAACGAATACATCAATCTGTATAGCCAGCAGATCAACGACAAAAC
TCTGAAGAAATACAAGATGTCTGTGCTGTTCAAACAGATCCTGAGTGATACCGAGTCCA
AGTCTTTTGTGATTGATAAACTGGAAGATGACTCAGACGTGGTCACTACCATGCAGAGC
TTTTATGAGCAGATCGCCGCTTTCAAGACAGTGGAGGAAAAATCTATTAAGGAACTCT
GAGTCTGCTGTTTCGATGACCTGAAAGCCCAGAAGCTGGACCTGAGTAAGATCTACTTCA
AAAACGATAAGAGTCTGACAGACCTGTACAGCAGGTGTTTGATGACTATTCCGTGATT
GGGACCGCCGTCCTGGAGTACATTACACAGCAGATCGCTCCAAAGAACCTGGATAATCC
CTCTAAGAAAGAGCAGGAACTGATCGCTAAGAAAACCGAGAAGGCAAAATATCTGAGTC
TGGAACAATTAAGCTGGCACTGGAGGAGTTCAACAAGCACAGGGATATTGACAAACAG
TGCCGCTTTGAGGAAATCCTGGCCAACTTCGCAGCCATCCCCATGATTTTTTGATGAGAT
CGCCCAGAACAAAGACAATCTGGCTCAGATCAGTATTAAGTACCAGAACCAGGGCAAGA
AAGACCTGCTGCAGGCTTCAGCAGAAGATGACGTGAAAGCCATCAAGGATCTGCTGGAC
CAGACCAACAATCTGCTGCACAAGCTGAAAATCTTCCATATTAGTCAGTCAGAGGATAA
GGCTAATATCCTGGATAAAGACGAACACTTCTACCTGGTGTTTCGAGGAATGTTACTTTCG
AGCTGGCAAACATTGTCCCCCTGTATAACAAGATTAGGAACTACATCACACAGAAGCCT
TACTCTGACGAGAAGTTTAACTGAACTTCGAAAATAGTACCCTGGCCAACGGGTGGGA
TAAGAACAAGGAGCCTGACAACACAGCTATCCTGTTTCATCAAGGATGACAAGTACTATC
TGGGAGTGATGAATAAGAAAAACAATAAGATCTTCGATGACAAAGCCATTAAGGAGAAC
AAAGGGGAAGGATACAAGAAAATCGTGTATAAGCTGCTGCCCGGCGCAAATAAGATGCT
GCCTAAGGTGTTCTTCAGCGCCAAGAGTATCAAATTCTACAACCCATCCGAGGACATCC
TGCGGATTAGAAATCACTCAACACATACTAAGAACGGGAGCCCCCAGAAGGGATATGAG
AAATTTGAGTTCAACATCGAGGATTGCAGGAAGTTTATTGACTTCTACAAGCAGAGCAT
CTCCAAACACCCCTGAATGGAAGGATTTTGGCTTCCGGTTTTTCCGACACACAGAGATATA
ACTCTATCGACGAGTTCTACCGCGAGGTGGAAAATCAGGGGTATAAGCTGACTTTTGAG
AACATTTCTGAAAGTTACATCGACAGCGTGGTCAATCAGGGAAAGCTGTACCTGTTCCA
GATCTATAACAAAGATTTTTTCAGCATAACAGCAAGGGCAGACCAAACTGCATACACTGT
ACTGGAAGGCCCTGTTTCGATGAGAGGAATCTGCAGGACGTGGTCTATAAACTGAACGGA
GAGGCCGAACCTGTTTTACCGGAAGCAGTCTATTCTAAGAAAATCACTCACCCAGCTAA
GGAGGCCATCGCTAACAAGAACAAGGACAATCCTAAGAAAGAGAGCGTGTTTCGAATACG
ATCTGATTAAGGACAAGCGGTTACCGAAGATAAGTTCTTTTTCCATTGTCCAATCACC

10

20

30

40

50

ATTAAC TTCAAGTCAAGCGGCGCTAACAAGTTCAACGACGAGATCAATCTGCTGCTGAA
GGAAAAAGCAAACGATGTGCACATCCTGAGCATTGACCGAGGAGAGCGGCATCTGGCCT
ACTATACCCTGGTGGATGGCAAAGGGAATATCATTAAAGCAGGATACATTCAACATCATT
GGCAATGACCGGATGAAAACCAACTACCACGATAAACTGGCTGCAATCGAGAAGGATAG
AGACTCAGCTAGGAAGGACTGGAAGAAAATCAACAACATTAAGGAGATGAAGGAAGGC
TATCTGAGCCAGGTGGTCCATGAGATTGCAAAGCTGGTCATCGAATACAATGCCATTGT
GGTGTTCGAGGATCTGAACTTCGGCTTTAAGAGGGGGCGCTTTAAGGTGGAAAAACAGG
TCTATCAGAAGCTGGAGAAAATGCTGATCGAAAAGCTGAATTACCTGGTGTTTAAAGAT
AACGAGTTCGACAAGACCGGAGGCGTCCTGAGAGCCTACCAGCTGACAGCTCCCTTTGA
AACTTTCAAGAAAATGGGAAAACAGACAGGCATCATCTACTATGTGCCAGCCGGATTCA
CTTCCAAGATCTGCCCCGTGACCGGCTTTGTCAACCAGCTGTACCCTAAATATGAGTCA
GTGAGCAAGTCCCAGGAATTTTTTCAGCAAGTTCGATAAGATCTGTTATAATCTGGACAA
GGGGTACTTCGAGTTTTCTTCGATTACAAGAACTTCGGCGACAAGGCCGCTAAGGGGA
AATGGACCATTGCCTCCTTCGGATCTCGCCTGATCAACTTTCGAAATTCCGATAAAAAC
CACAATTGGGACACTAGGGAGGTGTACCCAACCAAGGAGCTGGAAAAGCTGCTGAAAGA
CTACTCTATCGAGTATGGACATGGCGAATGCATCAAGGCAGCCATCTGTGGCGAGAGTG
ATAAGAAATTTTTTCGCCAAGCTGACCTCAGTGCTGAATACAATCCTGCAGATGCGGAAC
TCAAAGACCGGGACAGAACTGGACTATCTGATTAGCCCCGTGGCTGATGTCAACGGAAA
CTTCTTCGACAGCAGACAGGCACCCAAAAATATGCCTCAGGATGCAGACGCCAACGGGG
CCTACCACATCGGGCTGAAGGGACTGATGCTGCTGGGCCGGATCAAGAACAAATCAGGAG
GGGAAGAAGCTGAACCTGGTCATTAAGAACGAGGAATACTTCGAGTTTGTCCAGAATAG
AAATAACAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGA
TCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATA
CCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 18)

【 0118 】

NLS及びHAタグを含む *Peregrinibacteria bacterium*
GW2011_GWA_33_10 (*PeCpf1* ; pY007) :

【 0119 】

MSNFFKNFTNLYELSKTLRFELKPVGDTLTNMKDHLEYDEKLQTFKLDQNIDDAYQALK
PQFDEIHEEFITDSLESKKAKEIDFSEYDLDFQEKKELNDSEKKLRNKIGETFNKAGEKWK
KEKYPQYEWKKGSKIANGADILSCQDMLQFIKYKNPEDEKIKNYIDDTLKGFITYFGGFN
QNRANYYETKKEASTAVATRIVHENLPKFCDNVIQFKHIIKRKKGDTVEKTERKTEYLNA
YQYLKNNNKITQIKDAETEKMIESTPIAEKIFDVYVFSSCLSQKQIEEYNRIIGHYNLLINL
YNQAKRSEGKHLSENEKKYKDLPKFKTLYKQIGCGKKKDLFYTIKCDTEEEANKSRNEGK
ESHVVEEIINKAQEAINKYFKSNNDNENINTVPDFINYILTKENYEGVYWSKAAMNTISDK
YFANYHDLQDRLKEAKVFQKADKKSEDDIKIPEAIELSGLFGVLDLADWQTTLFKSSILS
NEDKDKIITDSQTPSEALLKMIFNDIEKNMESFLKETNDIITLKKYKGNKEGTEKIKQWFD
YTLAINRMLKYFLVKENKIKGNSLDTNISEALKTLIYSDDAEWFKWYDALRNYLTQKPQD
EAKENKLKLNFDNPSLAGGWDVNKECSNFCVILKDKNEKKYLAIMKKGENTLFQKEWTE
GRGKNLTKKSNNPLFEINNCEILSKMEYDFWADVSKMIPKCSTQLKAVVNHFKQSDNEFIF
PIGYKVTSGEKFREECKISKQDFELNNKVFNKNELSVTAMRYDLSSTQEKQYIKAFQKEY
WELLFKQEKRDTKLTNNEIFNEWINFCNKKYSELLSWERKYKDALTNWINFCKYFLSKY
PKTTLFNYSFKESENYNSLDEFYRDVDICSYKLNINTTINKSILDRLEEGKLYLFEIKNQD
SNDGKSIGHKNNLHTIYWNAIFENFDNRPKLNGEAEIFYRKAISKDKLGIVKGKKTNGTE
IKNYRFSKEKFILHVPITLNFCSNNEYVNDIVNTKFYNFNLHFLGIDRGEKHLAYYSLVN
KNGEIVDQGTNLNLPFTDKDGNQRSIKKEKYFYNKQEDKWEAKEVDCWNYNDLLDAMAS
NRDMARKNWQRIGTIKEAKNGYVSLVIRKIADLAVNNERPFAFIVLEDLNTGFKRSRQKID
KSVYQKFELALAKKLNFLVDKNAKRDEIGSPTKALQLTPPVNNYGDIENKKQAGIMLYTR
ANYTSQTDPATGWRKTIYLKAGPEETTYKKDGKIKNKSVDQIIETFTDIGFDGKDYFFEY

10

20

30

40

50

DKGEFVDEKTGEIKPKKWRLYSGENGKSLDRFRGEREKDKYEWKIDKIDIVKILDDL FVNF
DKNISLLKQLKEGVELTRNNEHGTGESLRFAINLIQQIRNTGNNERDND FLS PVRDENGK
HFDSREYW D K E T K G E K I S M P S S G D A N G A F N I A R K G I I M N A H I L A N S D S K D L S L F V S D E E W
DLHLNNKTEWKKQLNIFSSRKAMAKRKKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPY
DVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 1 9)

【 0 1 2 0 】

配列番号 1 9 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P
D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

10

【 0 1 2 1 】

配列番号 1 9 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 2 2 】

ATGTCCAAC T T C T T T A A G A A T T T C A C C A A C C T G T A T G A G C T G T C C A A G A C A C T G A G G T T
T G A G C T G A A G C C C G T G G G C G A C A C C C T G A C A A A C A T G A A G G A C C A C C T G G A G T A C G A T G
A G A A G C T G C A G A C C T T C C T G A A G G A T C A G A A T A T C G A C G A T G C C T A T C A G G C C C T G A A G
C C T C A G T T C G A C G A G A T C C A C G A G G A G T T T A T C A C A G A T T C T C T G G A G A G C A A G A A G G C
C A A G G A G A T C G A C T T C T C C G A G T A C C T G G A T C T G T T T C A G G A G A A G A A G G A G C T G A A C G
A C T C T G A G A A G A A G C T G C G C A A C A A G A T C G G C G A G A C A T T C A A C A A G G C C G G C G A G A A G
T G G A A G A A G G A G A A G T A C C C T C A G T A T G A G T G G A A G A A G G G C T C C A A G A T C G C C A A T G G
C G C C G A C A T C C T G T C T T G C C A G G A T A T G C T G C A G T T T A T C A A G T A T A A G A A C C C A G A G G
A T G A G A A G A T C A A G A A T T A C A T C G A C G A T A C A C T G A A G G G C T T C T T T A C C T A T T T C G G C
G G C T T T A A T C A G A A C A G G G C C A A C T A C T A T G A G A C A A A G A A G G A G G C C T C C A C C G C A G T
G G C A A C A A G G A T C G T G C A C G A G A A C C T G C C A A A G T T C T G T G A C A A T G T G A T C C A G T T T A
A G C A C A T C A T C A A G C G G A A G A A G G A T G G C A C C G T G G A G A A A A C C G A G A G A A A G A C C G A
G T A C C T G A A C G C C T A C C A G T A T C T G A A G A A C A A T A A C A A G A T C A C A C A G A T C A A G G A C G
C C G A G A C A G A G A A G A T G A T C G A G T C T A C A C C C A T C G C C G A G A A G A T C T T C G A C G T G T A C
T A C T T C A G C A G C T G C C T G A G C C A G A A G C A G A T C G A G G A G T A C A A C C G G A T C A T C G G C C A
C T A T A A T C T G C T G A T C A A C C T G T A T A A C C A G G C C A A G A G A T C T G A G G G C A A G C A C C T G A
G C G C C A A C G A G A A G A A G T A T A A G G A C C T G C C T A A G T T C A A G A C C C T G T A T A A G C A G A T C
G G C T G C G G C A A G A A G A A G G A C C T G T T T T A C A C A A T C A A G T G T G A T A C C G A G G A G G A G G C
C A A T A A G T C C C G G A A C G A G G G C A A G G A G T C C C A C T C T G T G G A G G A G A T C A T C A A C A A G G
C C C A G G A G G C C A T C A A T A A G T A C T T C A A G T C T A A T A A C G A C T G T G A G A A T A T C A A C A C C
G T G C C C G A C T T C A T C A A C T A T A T C C T G A C A A A G G A G A A T T A C G A G G G C G T G T A T T G G A G
C A A G G C C G C C A T G A A C A C C A T C T C C G A C A A G T A C T T C G C C A A T T A T C A C G A C C T G C A G G
A T A G A C T G A A G G A G G C C A A G G T G T T T C A G A A G G C C G A T A A G A A G T C C G A G G A C G A T A T C
A A G A T C C C A G A G G C C A T C G A G C T G T C T G G C C T G T T C G G C G T G C T G G A C A G C C T G G C C G A
T T G G C A G A C C A C A C T G T T T A A G T C T A G C A T C C T G A G C A A C G A G G A C A A G C T G A A G A T C A
T C A C A G A T T C C C A G A C C C C C T C T G A G G C C C T G C T G A A G A T G A T C T T C A A T G A C A T C G A G
A A G A A C A T G G A G T C C T T T C T G A A G G A G A C A A C G A T A T C A T C A C C C T G A A G A A G T A T A A
G G G C A A T A A G G A G G G C A C C G A G A A G A T C A A G C A G T G G T T C G A C T A T A C A C T G G C C A T C A
A C C G G A T G C T G A A G T A C T T T C T G G T G A A G G A G A A T A A G A T C A A G G G C A A C T C C C T G G A T
A C C A A T A T C T C T G A G G C C C T G A A A A C C C T G A T C T A C A G C G A C G A T G C C G A G T G G T T C A A
G T G G T A C G A C G C C C T G A G A A A C T A T C T G A C C C A G A A G C C T C A G G A T G A G G C C A A G G A G A
A T A A G C T G A A G C T G A A T T T C G A C A A C C C A T C T C T G G C C G G C G G C T G G G A T G T G A A C A A G
G A G T G C A G C A A T T T T T G C G T G A T C C T G A A G G A C A A G A A C G A G A A G A A G T A C C T G G C C A T
C A T G A A G A A G G G C G A G A A T A C C C T G T T C C A G A A G G A G T G G A C A G A G G G C C G G G G C A A G
A A C C T G A C A A A G A A G T C T A A T C C A C T G T T C G A G A T C A A T A A C T G C G A G A T C C T G A G C A A
G A T G G A G A T A T G A C T T T T G G G C C G A C G T G A G C A A G A T G A T C C C C A A G T G T A G C A C C C A G C
T G A A G G C C G T G G T G A A C C A C T T C A A G C A G T C C G A C A A T G A G T T C A T C T T T C C T A T C G G C

20

30

40

50

TACAAGGTGACAAGCGGCGAGAAGTTTATAGGGAGGAGTGCAAGATCTCCAAGCAGGACTT
CGAGCTGAATAACAAGGTGTTTAATAAGAACGAGCTGAGCGTGACCGCCATGCGCTACG
ATCTGTCCTCTACACAGGAGAAGCAGTATATCAAGGCCTTCCAGAAGGAGTACTGGGAG
CTGCTGTTTAAGCAGGAGAAGCGGGACACCAAGCTGACAAATAACGAGATCTTCAACGA
GTGGATCAATTTTTTGAACAAGAAGTATAGCGAGCTGCTGTCCTGGGAGAGAAAGTACA
AGGATGCCCTGACCAATTGGATCAACTTCTGTAAGTACTTTCTGAGCAAGTATCCCAAG
ACCACACTGTTCAACTACTCTTTTAAGGAGAGCGAGAATTATAACTCCCTGGACGAGTT
CTACCGGGACGTGGATATCTGTTCTTACAAGCTGAATATCAACACCACAATCAATAAGA
GCATCCTGGATAGACTGGTGGAGGAGGGCAAGCTGTACCTGTTTGAGATCAAGAATCAG
GACAGCAACGATGGCAAGTCCATCGGCCACAAGAATAACCTGCACACCATCTACTGGAA
CGCCATCTTCGAGAATTTTGACAACAGGCCTAAGCTGAATGGCGAGGCCGAGATCTTCT
ATCGCAAGGCCATCTCCAAGGATAAGCTGGGCATCGTGAAGGGCAAGAAAACCAAGAAC
GGCACCGAGATCATCAAGAATTACAGATTACAGCAAGGAGAAGTTTATCCTGCACGTGCC
AATCACCTGAACTTCTGCTCCAATAACGAGTATGTGAATGACATCGTGAACACAAAGT
TCTACAATTTTTTCCAACCTGCACTTTCTGGGCATCGATAGGGGCGAGAAGCACCTGGCC
TACTATTCTCTGGTGAATAAGAACGGCGAGATCGTGGACCAGGGCACACTGAACCTGCC
TTTCACCGACAAGGATGGCAATCAGCGCAGCATCAAGAAGGAGAAGTACTTTTATAACA
AGCAGGAGGACAAGTGGGAGGCCAAGGAGGTGGATTGTTGGAATTATAACGACCTGCTG
GATGCCATGGCCTCTAACCAGGACATGGCCAGAAAGAATTGGCAGAGGATCGGCACCAT
CAAGGAGGCCAAGAACGGCTACGTGAGCCTGGTCATCAGGAAGATCGCCGATCTGGCCG
TGAATAACGAGCGCCCCGCCTTCATCGTGCTGGAGGACCTGAATACAGGCTTTAAGCGG
TCCAGACAGAAGATCGATAAGAGCGTGTACCAGAAGTTCGAGCTGGCCCTGGCCAAGAA
GCTGAACTTTCTGGTGGACAAGAATGCCAAGCGCGATGAGATCGGCTCCCTACAAAGG
CCCTGCAGCTGACCCCCCTGTGAATAACTACGGCGACATTGAGAACAAGAAGCAGGCC
GGCATCATGCTGTATACCGGGCCAATTATACCTCTCAGACAGATCCAGCCACAGGCTG
GAGAAAGACCATCTATCTGAAGGCCGGCCCCGAGGAGACAACATACAAGAAGGACGGCA
AGATCAAGAACAAGAGCGTGAAGGACCAGATCATCGAGACATTCACCGATATCGGCTTT
GACGGCAAGGATTACTATTTTCGAGTACGACAAGGGCGAGTTTGTGGATGAGAAAACCGG
CGAGATCAAGCCCAAGAAGTGGCGGCTGTACTCCGGCGAGAATGGCAAGTCCCTGGACA
GGTTCCGCGGAGAGAGGGGAGAAGGATAAGTATGAGTGAAGATCGACAAGATCGATATC
GTGAAGATCCTGGACGATCTGTTCTGTGAATTTTGAACAAGACATCAGCCTGCTGAAGCA
GCTGAAGGAGGGCGTGGAGCTGACCCGGAATAACGAGCACGGCACAGGCGAGTCCCTGA
GATTGCGCATCAACCTGATCCAGCAGATCCGGAATACCGGCAATAACGAGAGAGACAAC
GATTTTCATCCTGTCCCCAGTGAGGGACGAGAATGGCAAGCACTTTGACTCTCGCGAGTA
CTGGGATAAGGAGACAAAGGGCGAGAAGATCAGCATGCCAGCTCCGGCGATGCCAATG
GCGCCTTCAACATCGCCCGGAAGGGCATCATCATGAACGCCACATCCTGGCCAATAGC
GACTCCAAGGATCTGTCCCTGTTCTGTCTGACGAGGAGTGGGATCTGCACCTGAATAA
CAAGACCGAGTGGAAGAAGCAGCTGAACATCTTTTCTAGCAGGAAGGCCATGGCCAAGC
GCAAGAAGAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAGGG
ATCCTACCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCAT
ACCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 2 0)

【 0 1 2 3 】

N L S 及び H A タグを含む *Parcubacteria bacterium* GWC 2
0 1 1 _ GWC 2 _ 4 4 _ 1 7 (P b C p f 1 ; p Y 0 0 8) :

【 0 1 2 4 】

MENIFDQFIGKYSLSKTLRFELKPVGKTEDFLKINKVFEKDQTIDDSYNQAKFYFDSLHQQ
FIDAALASDKTSELSFQNFADVLEKQNKIILDKKREMGALRKRDKNVIGIDRLQKEINDAE
DIIQKEKEKIYKDVRTLFDNEAESWKTYQEREVDGKKITFSKADLKQKGADFLTAAGILK
VLKYEFP EEKEKEFQAKNQPSLFVEEKENPGQKRYIFDSFDKFAGYLTQFQQTKKNLYAA

10

20

30

40

50

DGTSTAVATRIADNFIIHQNTKVFRDKYKNNHTDLGFDEENIFEIERYKNCLLQREIEHIK
NENSYNKIIGRINKKIKEYRDQKAKDTKLTKSDFPFFKNLDKQILGEVEKEKQLIEKTREKT
EEDVLIERFKEFIENNEERFTAACKLMNAFCNGEFESEYEGIYLKNKAINTISRWFVSDR
DFELKLPQQKSKNKSEKNEPKVKKFISIAEIKNAVEELDGDIFKAVFYDKKIIAQGGSKLEQ
FLVIWKYEFEFYLFDRDIERENGEKLLGYDSCLKIAKQLGIFPQEKEAREKATAVIKNYADAG
LGIFQMMKYFSLDDKDRKNTPGQLSTNFYAEDGYKDFEFIKYYNEFRNFITKKPFDED
KIKLNFENGALLKGWDENKEYDFMGVILKKEGRLYLGIMHKNHRKLFQSMGNAKGDNA
NRYQKMIYKQIADASKDVPRLLLTSSKAMEKFKPSQEILRIKKEKTFKRESKNFSLRDLHA
LIEYYRNCIPQYSNWSFYDFQFQDTGKYQNIKEFTDDVQKYGYKISFRDIDDEYINQALNE
GKMYLFEVVNKDIYNTKNGSKNLHTLYFEHILSAENLNDPVFKLSGMAEIFQRQPSVNER
EKITTQKNQCILDKGDRAYKYRRYTEKKIMFHMSLVLTNGKGEIKQVQFNKIINQRISSD
NEMRVNVIGIDRGEKNLLYYSVVKQNGEIEQASLNEINGVNYRDKLIEREKERLKNRQS
WKPVVKIKDLKKGYSHVHKKICQLIEKYSAIVVLEDLNMRFKQIRGGIERSVYQQFEKALI
DKLGYLVFKDNRDLRAPGGVLNGYQLSAPFVSFEKMRKQTGILFYTQAEYTSKTDPTG
RKNVYISNSASLDKIKEAVKKFDAIGWDGKEQSYFFKYNPYNLADEKYKNSTVSKWEAIF
ASAPRIRRQKGEDGYWKYDRVKVNEEFKLLKVWNFVNPATDIKQEIKKKEAGDLQGE
KELDGRLRNFWHSFIYLFNLVLELRNSFSLQIKIKAGEVIAVDEGVDFIASPVKPFFTTPNP
YIPSNLCWLAVENADANGAYNIARKGVMILKKIREHAKKDPEFKLPLNFISNAEWDEAA
RDWGGYAGTTALNLDHKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVP
DYA

10

20

(配列番号 2 1)

【 0 1 2 5 】

配列番号 2 1 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 2 6 】

配列番号 2 1 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 2 7 】

ATGGAGAACATCTTCGACCAGTTTATCGGCAAGTACAGCCTGTCCAAGACCCTGAGATT
CGAGCTGAAGCCCGTGGGCAAGACAGAGGACTTCCTGAAGATCAACAAGGTGTTTGAGA
AGGATCAGACCATCGACGATAGCTACAATCAGGCCAAGTTCTATTTTGATTCCCTGCAC
CAGAAGTTTATCGACGCCGCCCTGGCCTCCGATAAGACATCCGAGCTGTCTTTCCAGAA
CTTTGCCGACGTGCTGGAGAAGCAGAATAAGATCATCCTGGATAAGAAGAGAGAGATGG
GCGCCCTGAGGAAGCGCGACAAGAACGCCGTGGGCATCGATAGGCTGCAGAAGGAGATC
AATGACGCCGAGGATATCATCCAGAAGGAGAAGGAGAAGATCTACAAGGACGTGCGCAC
CCTGTTTCGATAACGAGGCCGAGTCTTGGAACCTACTATCAGGAGCGGGAGGTGGACG
GCAAGAAGATCACCTTCAGCAAGGCCGACCTGAAGCAGAAGGGCGCCGATTTTCTGACA
GCCGCCGGCATCCTGAAGGTGCTGAAGTATGAGTTCCCCGAGGAGAAGGAGAAGGAGTT
TCAGGCCAAGAACCAGCCCTCCCTGTTCTGTTGAGGAGAAGGAGAATCCTGGCCAGAAGA
GGTACATCTTCGACTCTTTTGATAAGTTTCGCCGGCTATCTGACCAAGTTTCAGCAGACA
AAGAAGAATCTGTACGCAGCAGACGGCACCAGCACAGCAGTGGCCACCCGCATCGCCGA
TAACTTTATCATCTTCCACCAGAATAACCAAGGTGTTCCGGGACAAGTACAAGAACAATC
ACACAGACCTGGGCTTCGATGAGGAGAACATCTTTGAGATCGAGAGGTATAAGAATTGC
CTGCTGCAGCGCGAGATCGAGCACATCAAGAATGAGAATAGCTACAACAAGATCATCGG
CCGGATCAATAAGAAGATCAAGGAGTATCGGGACCAGAAGGCCAAGGATACCAAGCTGA
CAAAGTCCGACTTCCCTTTCTTTAAGAACCTGGATAAGCAGATCCTGGGCGAGGTGGAG
AAGGAGAAGCAGCTGATCGAGAAAACCCGGGAGAAAACCGAGGAGGACGTGCTGATCG
AGCGGTTCAAGGAGTTCATCGAGAACAATGAGGAGAGGTTTACCGCCGCCAAGAAGCTG
ATGAATGCCTTCTGTAACGGCGAGTTTGAGTCCGAGTACGAGGGCATCTATCTGAAGAA
TAAGGCCATCAACACAATCTCCCGGAGATGGTTCGTGTCTGACAGAGATTTTGAGCTGA

30

40

50

AGCTGCCTCAGCAGAAGTCCAAGAACAAGTCTGAGAAGAATGAGCCAAAGGTGAAGAAG
TTCATCTCCATCGCCGAGATCAAGAACGCCGTGGAGGAGCTGGACGGCGATATCTTTAA
GGCCGTGTTCTACGACAAGAAGATCATCGCCCAGGGCGGCTCTAAGCTGGAGCAGTTCC
TGGTCATCTGGAAGTACGAGTTTGAGTATCTGTTCCGGGACATCGAGAGAGAGAACGGC
GAGAAGCTGCTGGGCTATGATAGCTGCCTGAAGATCGCCAAGCAGCTGGGCATCTTCCC
ACAGGAGAAGGAGGCCCGCGAGAAGGCAACCGCCGTGATCAAGAATTACGCCGACGCCG
GCCTGGGCATCTTCCAGATGATGAAGTATTTTTCTCTGGACGATAAGGATCGGAAGAAC
ACCCCCGGCCAGCTGAGCACAAATTTCTACGCCGAGTATGACGGCTACTACAAGGATTT
CGAGTTTATCAAGTACTACAACGAGTTTAGGAACTTCATCACCAAGAAGCCTTTTCGACG
AGGATAAGATCAAGCTGAACTTTGAGAATGGCGCCCTGCTGAAGGGCTGGGACGAGAAC
AAGGAGTACGATTTTCATGGGCGTGATCCTGAAGAAGGAGGGCCGCCTGTATCTGGGCAT
CATGCACAAGAACCACCGGAAGCTGTTTCAGTCCATGGGCAATGCCAAGGGCGACAACG
CCAATAGATACCAGAAGATGATCTATAAGCAGATCGCCGACGCCTCTAAGGATGTGCCC
AGGCTGCTGCTGACCAGCAAGAAGGCCATGGAGAAGTTCAAGCCTTCCCAGGAGATCCT
GAGAATCAAGAAGGAGAAAACCTTCAAGCGGGAGAGCAAGAAGCTTTTCCCTGAGAGATC
TGCACGCCCTGATCGAGTACTATAGGAACTGCATCCCTCAGTACAGCAATTGGTCCTTT
TATGACTTCCAGTTTTCAGGATACCGGCAAGTACCAGAATATCAAGGAGTTCACAGACGA
TGTGCAGAAGTACGGCTATAAGATCTCCTTTTCGCGACATCGACGATGAGTATATCAATC
AGGCCCTGAACGAGGGCAAGATGTACCTGTTTCGAGGTGGTGAACAAGGATATCTATAAC
ACCAAGAATGGCTCCAAGAATCTGCACACACTGTACTTTGAGCACATCCTGTCTGCCGA
GAACCTGAATGACCCAGTGTTCAAGCTGTCTGGCATGGCCGAGATCTTTCAGCGGCAGC
CCAGCGTGAACGAAAGAGAGAAGATCACACACAGAAGAATCAGTGTATCCTGGACAAG
GGCGATAGAGCCTACAAGTATAGGCGCTACACCGAGAAGAAGATCATGTTCCACATGAG
CCTGGTGCTGAACACAGGCAAGGGCGAGATCAAGCAGGTGCAGTTTAATAAGATCATCA
ACCAGAGGATCAGCTCCTCTGACAACGAGATGAGGGTGAAATGTGATCGGCATCGATCGC
GGCGAGAAGAACCTGCTGTACTATAGCGTGGTGAAGCAGAATGGCGAGATCATCGAGCA
GGCCTCCCTGAACGAGATCAATGGCGTGAACCTACCGGGACAAGCTGATCGAGAGGGAGA
AGGAGCGCCTGAAGAACCGGCAGAGCTGGAAGCCTGTGGTGAAGATCAAGGATCTGAAG
AAGGGCTACATCTCCCACGTGATCCACAAGATCTGCCAGCTGATCGAGAAGTATTCTGC
CATCGTGGTGCTGGAGGACCTGAATATGAGATTCAAGCAGATCAGGGGAGGAATCGAGC
GGAGCGTGTACCAGCAGTTTCGAGAAGGCCCTGATCGATAAGCTGGGCTATCTGGTGTTT
AAGGACAACAGGGATCTGAGGGCACCAGGAGGCGTGCTGAATGGCTACCAGCTGTCTGC
CCCCTTTGTGAGCTTCGAGAAGATGCGCAAGCAGACCGGCATCCTGTTCTACACACAGG
CCGAGTATACCAGCAAGACAGACCCAATCACCGGCTTTTCGGAAGAAGCTGTATATCTCT
AATAGCGCCTCCCTGGATAAGATCAAGGAGGCCGTGAAGAAGTTTCGACGCCATCGGCTG
GGATGGCAAGGAGCAGTCTTACTTCTTTAAGTACAACCCTTACAACCTGGCCGACGAGA
AGTATAAGAAGCTCTACCGTGAGCAAGGAGTGGGCCATCTTTGCCAGCGCCCCAAGAATC
CGGAGACAGAAGGGCGAGGACGGCTACTGGAAGTATGATAGGGTGAAAGTGAATGAGG
AGTTCGAGAAGCTGCTGAAGGTCTGGAATTTTGTGAACCCAAAGGCCACAGATATCAAG
CAGGAGATCATCAAGAAGGAGAAGGCAGGCGACCTGCAGGGAGAGAAGGAGCTGGATG
GCCGGCTGAGAACTTTTGGCACTCTTTCATCTACCTGTTTAACCTGGTGCTGGAGCTG
CGCAATTCTTTCAGCCTGCAGATCAAGATCAAGGCAGGAGAAGTGATCGCAGTGGACGA
GGGCGTGGACTTCATCGCCAGCCCAGTGAAGCCCTTCTTTACCACACCCAACCTTACA
TCCCCTCCAACCTGTGCTGGCTGGCCGTGGAGAATGCAGACGCAAACGGAGCCTATAAT
ATCGCCAGGAAGGGCGTGATGATCCTGAAGAAGATCCGCGAGCACGCCAAGAAGGACCC
CGAGTTCAAGAAGCTGCCAAACCTGTTTATCAGCAATGCAGAGTGGGACGAGGCAGCCC
GGGATTGGGGCAAGTACGCAGGCACCACAGCCCTGAACCTGGACCACAAAAGGCCGGCG
GCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCC
AGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGACT
ATGCCTAA

10

20

30

40

50

(配列番号 2 2)

【 0 1 2 8 】

N L S 及び H A タグを含む *S m i t h e l l a* s p . S C _ K 0 8 D 1 7 (S s C p f 1 ; p Y 0 0 9) :

【 0 1 2 9 】

MQTLFENFTNQYPVSKTLRFELIPQGKTKDFIEQKGLLKKDEDRAEKYKKVKNIIDEYHK
DFIEKSLNGLKLDGLEKYKTLYLKQEKDDKDKKAFDKEKENLRKQIANAFRNNEKFKTLF
AKELIKNDLMSFACEEDKKNVKEFEAFTTYFTGFHQNRANMYVADEKRTAIASRLIHENL
PKFIDNIKIFEKMKKEAPELLSPFNQTLKDMKDVIKGTTLEEIFSLDYFNKTLTQSGIDIYN
SVIGGRTPEEGKTKIKGLNEYINTDFNQKQTDKKKRQPKFKQLYKQILSDRQSLSFIAEAF
KNDTEILEAIEKFYVNELLHFSNEGKSTNVLDIAKNAVSNLFSNLTMYFRSGASLTDVS
RKVFGEWSIINRALDNYYATTYPIKPREKSEKYEERKEKWLLKQDFNVSLIQTALIDEYDNET
VKGKNSGKVIADYFAKFCDDKETDLIQKVNENGYIAVKDLLNTPCPENEKLGSKNDQVKQI
KAFMDSIMDIMHFVRPLSLKDTDEKDETFYSLFTPLYDHLTQTIALYNKVRNYLTQKPY
STEKIKLNFENSTLLGGWDLNKETDNTAILRKDNLYLGMIDKRHNRIFRNVPKADKKD
FCYEKMVYKLLPGANKMLPKVFFSQSRIQEFTPSAKLLENYANETHKKGDNFNLNHCHK
LIDFFKDSINKHEDWKNFDFRFSATSTYADLSGFYHEVEHQGYKISFQSVADSFIDDLVNE
GKLYLFIYNKDFSPFSKGKPNLHTLYWKMLFDENNLKDVVYKLNGEAEVYRKKKSIAEK
NTTIHKANESIINKNPDNPATSTFNVDIVKDKRYTIDKFQFHIPITMNFKAEGIFNMNQR
VNQFLKANPDINIIGIDRGERHLLYYALINQKGKILKQDTLNVIANEKQKVDYHNLLDKKE
GDRATARQEWGVETIKELKEGYLSQVIHKLTDLMIENNAIIVMEDLNFGFKRGRQKVEK
QVYQKFEKMLIDKLNLYLVDKNKKANELGGLLNAFQLANKFESFQKMGKQNGFIFYVPAW
NTSKTDPATGFIDFLKPRYENLNQAKDFFEKFDISIRLNSKADYFEFAFDKFNTEKADGGR
TKWTVCTTNEDRYAWNRLNNNRGSQEKYDITAEKSLFDGKVDYKSGKDLKQQIASQE
SADFFKALMKNLSITLSLRHNNGEKGDNEQDYILSPVADSKGRFFDSRKADDDMPKNAD
ANGAYHIALKGLWCLEQISKTDLDLKKVKLAISNKEWLEFVQTLKGKRPAATKKAGQAKK
KKGSPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

10

20

(配列番号 2 3)

【 0 1 3 0 】

配列番号 2 3 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

30

【 0 1 3 1 】

配列番号 2 3 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 3 2 】

ATGCAGACCCTGTTTGAGAACTTCACAAATCAGTACCCAGTGTCCAAGACCCTGCGCTT
TGAGCTGATCCCCCAGGGCAAGACAAAGGACTTCATCGAGCAGAAGGGCCTGCTGAAGA
AGGATGAGGACCGGGCCGAGAAGTATAAGAAGGTGAAGAACATCATCGATGAGTACCAC
AAGGACTTCATCGAGAAGTCTCTGAATGGCCTGAAGCTGGACGGCCTGGAGAAGTACAA
GACCCTGTATCTGAAGCAGGAGAAGGACGATAAGGATAAGAAGGCCTTTGACAAGGAGA
AGGAGAACCTGCGCAAGCAGATCGCCAATGCCTTCCGGAACAATGAGAAGTTTAAGACA
CTGTTCCGCAAGGAGCTGATCAAGAACGATCTGATGTCTTTCCGCTGCGAGGAGGACAA
GAAGAATGTGAAGGAGTTTGAGGCCTTCACCACATACTTCACCGGCTTCACCAGAACC
GCGCCAATATGTACGTGGCCGATGAGAAGAGAACAGCCATCGCCAGCAGGCTGATCCAC
GAGAACCTGCCAAAGTTTATCGACAATATCAAGATCTTCGAGAAGATGAAGAAGGAGGC
CCCCGAGCTGCTGTCTCCTTTCAACCAGACCCTGAAGGATATGAAGGACGTGATCAAGG
GCACCACACTGGAGGAGATCTTTAGCCTGGATTATTTCAACAAGACCCTGACACAGAGC
GGCATCGACATCTACAATTCCGTGATCGGCGGCAGAACCCCTGAGGAGGGCAAGACAAA
GATCAAGGGCCTGAACGAGTACATCAATACCGACTTCAACCAGAAGCAGACAGACAAGA
AGAAGCGGCAGCCAAAGTTCAAGCAGCTGTATAAGCAGATCCTGAGCGATAGGCAGAGC

40

50

CTGTCCTTTATCGCCGAGGCCTTCAAGAACGACACCGAGATCCTGGAGGCCATCGAGAA
GTTTTACGTGAATGAGCTGCTGCACTTCAGCAATGAGGGCAAGTCCACAAACGTGCTGG
ACGCCATCAAGAATGCCGTGTCTAACCTGGAGAGCTTTAACCTGACCAAGATGTATTTTC
CGCTCCGGCGCCTCTCTGACAGACGTGAGCCGGAAGGTGTTTGGCGAGTGGAGCATCAT
CAATAGAGCCCTGGACAACCTACTATGCCACCACATATCCAATCAAGCCCAGAGAGAAGT
CTGAGAAGTACGAGGAGAGGAAGGAGAAGTGGCTGAAGCAGGACTTCAACGTGAGCCTG
ATCCAGACCGCCATCGATGAGTACGACAACGAGACAGTGAAGGGCAAGAACAGCGGCCAA
AGTGATCGCCGATTATTTTGCCAAGTTCTGCGACGATAAGGAGACAGACCTGATCCAGA
AGGTGAACGAGGGCTACATCGCCGTGAAGGATCTGCTGAATACACCCTGTCTTGAGAAC
GAGAAGCTGGGCAGCAATAAGGACCAGGTGAAGCAGATCAAGGCCTTTATGGATTCTAT
CATGGACATCATGCACTTCGTGCGCCCCCTGAGCCTGAAGGATACCGACAAGGAGAAGG
ATGAGACATTCTACTCCCTGTTCCACACCTCTGTACGACCACCTGACCCAGACAATCGCC
CTGTATAACAAGGTGCGGAACCTATCTGACCCAGAAGCCTTACAGCACAGAGAAGATCAA
GCTGAACTTCGAGAACAGCACCCCTGCTGGGCGGCTGGGATCTGAATAAGGAGACAGACA
ACACAGCCATCATCCTGAGGAAGGATAACCTGTACTATCTGGGCATCATGGACAAGAGG
CACAATCGCATCTTTCGGAACGTGCCCAAGGCCGATAAGAAGGACTTCTGCTACGAGAA
GATGGTGTATAAGCTGCTGCCTGGCGCCAACAAGATGCTGCCAAAGGTGTTCTTTTCTC
AGAGCAGAATCCAGGAGTTTACCCCTTCCGCCAAGCTGCTGGAGAACTACGCCAATGAG
ACACACAAGAAGGGCGATAATTTCAACCTGAATCACTGTCAACAAGCTGATCGATTTCTT
TAAGGACTCTATCAACAAGCACGAGGATTGGAAGAATTTGACTTTAGGTTTCAGCGCCA
CCTCCACCTACGCCGACCTGAGCGGCTTTTACCACGAGGTGGAGCACCAGGGCTACAAG
ATCTCTTTTTCAGAGCGTGGCCGATTCTTTCATCGACGATCTGGTGAACGAGGGCAAGCT
GTACCTGTTCCAGATCTATAATAAGGACTTTTCCCCATTCTCTAAGGGCAAGCCCAACC
TGCACACCCTGTACTGGAAGATGCTGTTTGTATGAGAACAATCTGAAGGACGTGGTGTAT
AAGCTGAATGGCGAGGGCCGAGGTGTTCTACCGCAAGAAGAGCATTGCCGAGAAGAACAC
CACAATCCACAAGGCCAATGAGTCCATCATCAACAAGAATCCTGATAACCCAAAGGCCA
CCAGCACCTTCAACTATGATATCGTGAAGGACAAGAGATACACCATCGACAAGTTTCAG
TTCCACATCCCAATCACAATGAACTTTAAGGCCGAGGGCATCTTCAACATGAATCAGAG
GGTGAATCAGTTCTCTGAAGGCCAATCCCGATATCAACATCATCGGCATCGACAGAGGGCG
AGAGGCACCTGCTGTACTATGCCCTGATCAACCAGAAGGGCAAGATCCTGAAGCAGGAT
ACCCTGAATGTGATCGCCAACGAGAAGCAGAAGGTGGACTACCACAATCTGCTGGATAA
GAAGGAGGGCGACCGCGCAACCGCAAGGCAGGAGTGGGGCGTGATCGAGACAATCAAG
GAGCTGAAGGAGGGCTATCTGTCCAGGTCATCCACAAGCTGACCGATCTGATGATCGA
GAACAATGCCATCATCGTGATGGAGGACCTGAACTTTGGCTTCAAGCGGGGGCAGACAGA
AGGTGGAGAAGCAGGTGTATCAGAAGTTTGAGAAGATGCTGATCGATAAGCTGAATTAC
CTGGTGGACAAGAATAAGAAGGCCAAACGAGCTGGGAGGCCTGCTGAACGCATTCCAGCT
GGCCAATAAGTTTGTAGTCCTTCCAGAAGATGGGCAAGCAGAACGGCTTTATCTTCTACG
TGCCCGCCTGGAATACCTCTAAGACAGATCCTGCCACCGGCTTTATCGACTTCTGAAG
CCCCGCTATGAGAACCTGAATCAGGCCAAGGATTTCTTTGAGAAGTTTGACTCTATCCG
GCTGAACAGCAAGGCCGATTACTTTGAGTTGCGCTTTGACTTCAAGAATTTACCGAGA
AGGCCGATGGCGGCAGAACCAAGTGGACAGTGTGCACCACAAACGAGGACAGATATGCC
TGGAATAGGGCCCTGAACAATAACAGGGGGCAGCCAGGAGAAGTACGACATCACAGCCGA
GCTGAAGTCCCTGTTTCGATGGCAAGGTGGACTATAAGTCTGGCAAGGATCTGAAGCAGC
AGATCGCCAGCCAGGAGTCCGCCGACTTCTTTAAGGCCCTGATGAAGAACCTGTCCATC
ACCCTGTCTCTGAGACACAATAACGGCGAGAAGGGCGATAATGAGCAGGACTACATCCT
GTCCCCTGTGGCCGATTCTAAGGGCCGCTTCTTTGACTCCCGGAAGGCCGACGATGACA
TGCCAAAGAATGCCGACGCCAACGGCGCCTATCACATCGCCCTGAAGGGCCTGTGGTGT
CTGGAGCAGATCAGCAAGACCGATGACCTGAAGAAGGTGAAGCTGGCCATCTCCAACAA
GGAGTGGCTGGAGTTCGTGCAGACACTGAAGGGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGG
CCGGCCAGGCCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTAT

10

20

30

40

50

CCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 2 4)

【 0 1 3 3 】

N L S 及び H A タグを含む A c i d a m i n o c o c c u s s p . B V 3 L 6 (A s C p f 1 ; p Y 0 1 0) :

【 0 1 3 4 】

MTQFEGFTNLYQVSKTLRFELIPQGKTLKHIQEQQGFIEEDKARNNDHYKELKPIIDRIYKTY
ADQCLQLVQLDWENLSAAIDSYRKEKTEETRNALIEEQATYRNAIHDFYFIGRTDNLDAI
NKRHAEIYKGLFKAELFNGKVLKQLGTVTTEHENALLRSFDKFTTYFSGFYENRKNVFS
AEDISTAIPHRIVQDNFPKFKENCHIFTRLITAVPSLREHFENVKKAIGIFVSTSIEEVFSFP
FYNQLLTQTQIDLYNQLLGGISREAGTEKIKGLNEVLNLAIQKNDETAHIIASLPHRFIPLF
KQILSDRNTLSFILEEFKSDEEVIQSFCKYKTLLRNNENVLETAELFNELSIDLTHIFISHK
KLETISSALCDHWDTLRNALYERRISELTGKITKSAKEKVQRSLKHEDINLQEIISAAGKEL
SEAFKQKTSEILSHAHAAALDQPLPTTLKKQEEKEILKSQLDSLLGLYHLLDWFVAVDESNE
VDPEFSARLTGIKLEMEPSLSFYNKARNYATKKPYSVEKFKNFQMPTLASGWDVNKEK
NNGAILFVKNGLYLGLIMPQKQGRYKALSFEPTTEKSEGFDKMYDYDFPDAKMIPKCST
QLKAVTAHFQTHHTPILLSNNFIEPLEITKEIYDLNNPEKEPKKFQTAYAKKTGDQKGYRE
ALCKWIDFTRDFLSKYTKTTSIDLSSLRPSSQYKDLGEYYAELNPLLYHISFQRIAEKEIMD
AVETGKLYLFQIYNKDFAKGHHGKPNLHTLYWTGLFSPENLAKTSIKLNGQAEFYRPKS
RMKRMAHRLGEKMLNKKLDQKTIPTDLYQELYDYVNHRLSHDLSDEARALLPNVITK
EVSHEIHKDRRFTSDKFFFHVPITLNYQAANSPSKFNQVRNAYLKEHPETPIIGIDRGERNL
IYITVIDSTGKILEQRSLNTIQQFDYQKKLDNREKERVAAARQAWSVVGTIKDLKQGYLSQV
IHEIVDLMIHYQAVVLENLNFGFKSKRTGIAEKAVYQQFEKMLIDKLNCLVLKDYPAEK
VGGVLNPYQLTDQFTSFAKMGTQSGFLFYVPAPYTSKIDPLTGFVDPFVWKTIKNHESRK
HFLEGFDLHYDVKTGDFILHFKMNRNLSFQRGLPGFMPAWDIVFEKNETQFDAKGTPFI
AGKRIVPVIEHRFTGRYRDLYPANELIALLEEKGIVFRDGSNILPKLLENDSDSHAITMV
ALIRSVLQMRNSNAATGEDYINSPVRDLNGVCFDSRFQNPWPMDADANGAYHIALKGGQ
LLLNHLKESKDLKLQNGISNQDWLAYIQELRNKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYA
YPYDVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 2 5)

【 0 1 3 5 】

配列番号 2 5 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 3 6 】

配列番号 2 5 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 3 7 】

ATGACACAGTTTCGAGGGCTTTACCAACCTGTATCAGGTGAGCAAGACACTGCGGTTTGA
GCTGATCCACAGGGCAAGACCCTGAAGCACATCCAGGAGCAGGGCTTCATCGAGGAGG
ACAAGGCCCGCAATGATCACTACAAGGAGCTGAAGCCCATCATCGATCGGATCTACAAG
ACCTATGCCGACCAGTGCCTGCAGCTGGTGCAGCTGGATTGGGAGAACCTGAGCGCCGC
CATCGACTCCTATAGAAAGGAGAAAACCGAGGAGACAAGGAACGCCCTGATCGAGGAGC
AGGCCACATATCGCAATGCCATCCACGACTACTTCATCGGCCGGACAGACAACCTGACC
GATGCCATCAATAAGAGACACGCCGAGATCTACAAGGGCCTGTTCAAGGCCGAGCTGTT
TAATGGCAAGGTGCTGAAGCAGCTGGGCACCGTGACCACAACCGAGCACGAGAACGCC
TGCTGCGGAGCTTCGACAAGTTTACAACCTACTTCTCCGGCTTTTATGAGAACAGGAAG
AACGTGTTTCAGCGCCGAGGATATCAGCACAGCCATCCCACACCGCATCGTGACGAGCAA
CTTCCCCAAGTTTAAAGGAGAATTGTACATCTTCACACGCCTGATCACCGCCGTGCCCA
GCCTGCGGGAGCACTTTGAGAACGTGAAGAAGGCCATCGGCATCTTCGTGAGCACCTCC
ATCGAGGAGGTGTTTTCTTCCCTTTTTATAACCAGCTGCTGACACAGACCCAGATCGA

CCTGTATAACCAGCTGCTGGGAGGAATCTCTCGGGAGGCAGGCACCGAGAAGATCAAGG
GCCTGAACGAGGTGCTGAATCTGGCCATCCAGAAGAATGATGAGACAGCCCACATCATC
GCCTCCCTGCCACACAGATTCATCCCCCTGTTTAAGCAGATCCTGTCCGATAGGAACAC
CCTGTCTTTCATCCTGGAGGAGTTTAAGAGCGACGAGGAAGTGATCCAGTCCTTCTGCA
AGTACAAGACACTGCTGAGAAACGAGAACGTGCTGGAGACAGCCGAGGCCCTGTTTAAC
GAGCTGAACAGCATCGACCTGACACACATCTTCATCAGCCACAAGAAGCTGGAGACAAT
CAGCAGCGCCCTGTGCGACCACTGGGATACACTGAGGAATGCCCTGTATGAGCGGAGAA
TCTCCGAGCTGACAGGCAAGATCACCAAGTCTGCCAAGGAGAAGGTGCAGCGCAGCCTG
AAGCACGAGGATATCAACCTGCAGGAGATCATCTCTGCCGCAGGCAAGGAGCTGAGCGA
GGCCTTCAAGCAGAAAACCAGCGAGATCCTGTCCCACGCACACGCCGCCCTGGATCAGC
CACTGCCTACAACCCTGAAGAAGCAGGAGGAGAAGGAGATCCTGAAGTCTCAGCTGGAC
AGCCTGCTGGGCCTGTACCACCTGCTGGACTGGTTTGGCGTGGATGAGTCCAACGAGGT
GGACCCCGAGTTCTCTGCCCGGCTGACCGGCATCAAGCTGGAGATGGAGCCTTCTCTGA
GCTTCTACAACAAGGCCAGAAATTATGCCACCAAGAAGCCCTACTCCGTGGAGAAGTTC
AAGCTGAACTTTCAGATGCCTACACTGGCCTCTGGCTGGGACGTGAATAAGGAGAAGAA
CAATGGCGCCATCCTGTTTGTGAAGAAGGCCCTGTACTATCTGGGCATCATGCCAAAGC
AGAAGGGCAGGTATAAGGCCCTGAGCTTCGAGCCCACAGAGAAAACCAGCGAGGGCTTT
GATAAGATGTACTATGACTACTTCCCTGATGCCGCCAAGATGATCCCAAAGTGCAGCAC
CCAGCTGAAGGCCGTGACAGCCCACTTTCAGACCCACACAACCCCCATCCTGCTGTCCA
ACAATTTTCATCGAGCCTCTGGAGATCACAAAGGAGATCTACGACCTGAACAATCCTGAG
AAGGAGCCAAAGAAGTTTCAGACAGCCTACGCCAAGAAAACCGGCGACCAGAAGGGCTA
CAGAGAGGCCCTGTGCAAGTGGATCGACTTCACAAGGGATTTTCTGTCCAAGTATACCA
AGACAACCTCTATCGATCTGTCTAGCCTGCGGCCATCCTCTCAGTATAAGGACCTGGGC
GAGTACTATGCCGAGCTGAATCCCCTGCTGTACCACATCAGCTTCCAGAGAATCGCCGA
GAAGGAGATCATGGATGCCGTGGAGACAGGCAAGCTGTACCTGTTCCAGATCTATAACA
AGGACTTTGCCAAGGGCCACCACGGCAAGCCTAATCTGCACACACTGTATTGGACCGGC
CTGTTTTCTCCAGAGAACCTGGCCAAGACAAGCATCAAGCTGAATGGCCAGGCCGAGCT
GTTCTACCGCCCTAAGTCCAGGATGAAGAGGATGGCACACCGGCTGGGAGAGAAGATGC
TGAACAAGAAGCTGAAGGATCAGAAAACCCCAATCCCCGACACCCTGTACCAGGAGCTG
TACGACTATGTGAATCACAGACTGTCCCACGACCTGTCTGATGAGGCCAGGGCCCTGCT
GCCCAACGTGATCACCAAGGAGGTGTCTCACGAGATCATCAAGGATAGGCGCTTTACCA
GCGACAAGTTCTTTTTCCACGTGCCTATCACACTGAACTATCAGGCCGCCAATTCCCCA
TCTAAGTTCAACCAGAGGGTGAATGCCTACCTGAAGGAGCACCCCGAGACACCTATCAT
CGGCATCGATCGGGGCGAGAGAAACCTGATCTATATCACAGTGATCGACTCCACCGGCA
AGATCCTGGAGCAGCGGAGCCTGAACACCATCCAGCAGTTTGATTACCAGAAGAAGCTG
GACAACAGGGAGAAGGAGAGGGTGGCAGCAAGGCAGGCCTGGTCTGTGGTGGGCACAA
TCAAGGATCTGAAGCAGGGCTATCTGAGCCAGGTCATCCACGAGATCGTGGACCTGATG
ATCCACTACCAGGCCGTGGTGGTGTGGAGAACCTGAATTTGGGCTTTAAGAGCAAGAG
GACCGGCATCGCCGAGAAGGCCGTGTACCAGCAGTTCGAGAAGATGCTGATCGATAAGC
TGAATTGCCTGGTGTGCTGAAGGACTATCCAGCAGAGAAAGTGGGAGGCGTGCTGAACCCA
TACCAGCTGACAGACCAGTTCACCTCCTTTGCCAAGATGGGCACCCAGTCTGGCTTCCT
GTTTTACGTGCCTGCCCCATATACATCTAAGATCGATCCCCTGACCGGCTTCGTGGACC
CCTTCGTGTGGAAAACCATCAAGAATCACGAGAGCCGCAAGCACTTCCTGGAGGGGCTTC
GACTTTCTGCACTACGACGTGAAAACCGGCGACTTCATCCTGCACTTTAAGATGAACAG
AAATCTGTCTTCCAGAGGGGCTGCCCGGCTTTATGCCTGCATGGGATATCGTGTTTCG
AGAAGAACGAGACACAGTTTGACGCCAAGGGCACCCCTTTTCATCGCCGGCAAGAGAATC
GTGCCAGTGATCGAGAATCACAGATTCACCGGCAGATACCGGGACCTGTATCCTGCCAA
CGAGCTGATCGCCCTGCTGGAGGAGAAGGGCATCGTGTTTCAGGGATGGCTCCAACATCC
TGCCAAAGCTGCTGGAGAATGACGATTCTCACGCCATCGACACCATGGTGGCCCTGATC
CGCAGCGTGCTGCAGATGCGGAACCTCCAATGCCGCCACAGGCGAGGACTATATCAACAG

10

20

30

40

50

CCCCGTGCGCGATCTGAATGGCGTGTGCTTCGACTCCCGGTTTCAGAACCCAGAGTGGC
CCATGGACGCCGATGCCAATGGCGCCTACCACATCGCCCTGAAGGGCCAGCTGCTGCTG
AATCACCTGAAGGAGAGCAAGGATCTGAAGCTGCAGAACGGCATCTCCAATCAGGACTG
GCTGGCCTACATCCAGGAGCTGCGCAACAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCC
AGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTAC
GACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 2 6)

【 0 1 3 8 】

N L S 及び H A タグを含む *L a c h n o s p i r a c e a e b a c t e r i u m M A*
2 0 2 0 (L b 2 C p f 1 ; p Y 0 1 1) :

10

【 0 1 3 9 】

MYYESLTKQYPVSKTIRNELIPIGKTLDNIRQNNILESDVVRKQNYEHVKGILDEYHKQLI
NEALDNCTLPSLKIAAEIYLKNQKEVSDREDFNKTQDLLRKEVVEKLKAHENFTKIGKKDI
LDLLEKLPSISEDYNALESFRNFYTYFTSYNKKVRENLYSDKEKSSTVAYRLINENFPKFL
DNVKSRYRFVKTAGILADGLGEEEQDSLFISETFNKTTLTQDGIDTYSQVKGINSSINLYNQ
KNQKANGFRKIPKMKMLYKQILSDREESFIDEFQSDVLDNVEYSGSVLIESLKSSKVSFAF
FDALRESKGNVYVKNDLAKTAMSNIVFENWRTFDDLLNQEYDLANENKKKDDKYFEKR
QKELKKNKSYSLEHLCLNLSDESCNLIENYIHQISDDIENIINNETFLRIVINEHDSRKLAK
NRKAVKAIKDFLDSIKVLRELKLINSSGQELEKDLIVYSAHEELLVELKQVDSLYNMTRN
YLTKKPFSTEKVKLNFNRRSTLLNGWDRNKETDNLGVLKLDGKYYLGIMNTSANKAFVN
PPVAKTEKVFKKVDYKLLPVPNQMLPKVFFAKSNIDFYNPSSEIYSNYKKGTHKKGNMFS
LEDCHNLIDFFKESISKHEDWSKFGFKFSDTASYNDISEFYREVEKQGYKLTYYTDIDETYIN
DLIERNELYLFIYNKDFSMYSKGLNLHTLYFMMLFDQRNIDDVVYKLNGEAEVYFYPRA
SISEDELIHKGEEIKNKNPNRARTKETSTFSYDIVKDKRYSKDKFTLHIPITMNFVDEV
KRFNDAVNSAIRIDENVNIGIDRGERNLLYVVVIDSKGNILEQISLNSIINKEYDIETDYH
ALLDEREGGRDKARKDWNTVENIRDLKAGYLSQVVNVVAKLVLYNAIICLEDLNFVFKR
GRQKVEKQVYQKFEKMLIDKLNLYVIDKSREQTSPKELGGALNALQLTSKFKSFKELGKQ
SGVIYYVPAVLTSLIDPTTGAFNLFYMKCENVEKSKRFFDGFDFIRFNALENVFEFGFDYR
SFTQRACGINSKWTVCTNGERIHKYRNPDKNNMFDEKVVVVVTDEMKNLFEQYKIPYEDG
RNVKDMIISNEEAFFYRRLYRLLQQTLMRNSTSDGTRDYIISPVKNKREAYFNSELSGGS
VPKDADANGAYNIARKGLWVLEQIRQKSEGEKINLAMTNAEWLEYAQTHLLKRPAATKK
AGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

20

30

(配列番号 2 7)

【 0 1 4 0 】

配列番号 2 7 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P
D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 4 1 】

配列番号 2 7 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 4 2 】

40

ATGTACTATGAGTCCCTGACCAAGCAGTACCCCGTGTCTAAGACAATCCGGAATGAGCT
GATCCCTATCGGCAAGACACTGGATAACATCCGCCAGAACAATATCCTGGAGAGCGACG
TGAAGCGGAAGCAGAACTACGAGCACGTGAAGGGCATCCTGGATGAGTATCACAAGCAG
CTGATCAACGAGGGCCCTGGACAATTGCACCCTGCCATCCCTGAAGATCGCCGCCGAGAT
CTACCTGAAGAATCAGAAGGAGGTGTCTGACAGAGAGGATTTCAACAAGACACAGGACC
TGCTGAGGAAGGAGGTGGTGGAGAAGCTGAAGGCCACGAGAACTTTACCAAGATCGGC
AAGAAGGACATCCTGGATCTGCTGGAGAAGCTGCCTTCCATCTCTGAGGACGATTACAA
TGCCCTGGAGAGCTTCCGCAACTTTTACACCTATTTACATCCTACAACAAGGTGCGGG
AGAATCTGTATTCTGATAAGGAGAAGAGCTCCACAGTGGCCTACAGACTGATCAACGAG
AATTTCCCAAAGTTTCTGGACAATGTGAAGAGCTATAGGTTTGTGAAAACCGCAGGCAT

50

CCTGGCAGATGGCCTGGGAGAGGAGGAGCAGGACTCCCTGTTTCATCGTGGAGACATTCA
ACAAGACCCTGACACAGGACGGCATCGATACCTACAATTCTCAAGTGGGCAAGATCAAC
TCTAGCATCAATCTGTATAACCAGAAGAATCAGAAGGCCAATGGCTTCAGAAAGATCCC
CAAGATGAAGATGCTGTATAAGCAGATCCTGTCCGATAGGGAGGAGTCTTTCATCGACG
AGTTTCAGAGCGATGAGGTGCTGATCGACAACGTGGAGTCTTATGGCAGCGTGCTGATC
GAGTCTCTGAAGTCCTCTAAGGTGAGCGCCTTCTTTGATGCCCTGAGAGAGTCTAAGGG
CAAGAACGTGTACGTGAAGAATGACCTGGCCAAGACAGCCATGAGCAACATCGTGTTCCG
AGAATTGGAGGACCTTTGACGATCTGCTGAACCAGGAGTACGACCTGGCCAACGAGAAC
AAGAAGAAGGACGATAAGTATTTTCGAGAAGCGCCAGAAGGAGCTGAAGAAGAATAAGA
GCTACTCCCTGGAGCACCTGTGCAACCTGTCCGAGGATTCTTGTAACTGATCGAGAAT
TATATCCACCAGATCTCCGACGATATCGAGAATATCATCATCAACAATGAGACATTCT
GCGCATCGTGATCAATGAGCACGACAGGTCCCGCAAGCTGGCCAAGAACCGGAAGGCCG
TGAAGGCCATCAAGGACTTTCTGGATTCTATCAAGGTGCTGGAGCGGGAGCTGAAGCTG
ATCAACAGCTCCGGCCAGGAGCTGGAGAAGGATCTGATCGTGTAATCTGCCCACGAGGA
GCTGCTGGTGGAGCTGAAGCAGGTGGACAGCCTGTATAACATGACCAGAAATTATCTGA
CAAAGAAGCCTTTCTCTACCGAGAAGGTGAAGCTGAACTTTAATCGCAGCACACTGCTG
AACGGCTGGGATCGGAATAAGGAGACAGACAACCTGGGCGTGCTGCTGCTGAAGGACGG
CAAGTACTATCTGGGCATCATGAACACAAGCGCCAATAAGGCCTTCGTGAATCCCCCTG
TGGCCAAGACCGAGAAGGTGTTTAAGAAGGTGGATTACAAGCTGCTGCCAGTGCCCAAC
CAGATGCTGCCAAAGGTGTTCTTTGCCAAGAGCAATATCGACTTCTATAACCCCTCTAG
CGAGATCTACTCCAATTATAAGAAGGGCACCCACAAGAAGGGCAATATGTTTTCCCTGG
AGGATTGTCACAACCTGATCGACTTCTTTAAGGAGTCTATCAGCAAGCACGAGGACTGG
AGCAAGTTCGGCTTTAAGTTCAGCGATACAGCCTCCTACAACGACATCTCCGAGTTCTA
TCGCGAGGTGGAGAAGCAGGGCTACAAGCTGACCTATACAGACATCGATGAGACATACA
TCAATGATCTGATCGAGCGGAACGAGCTGTACCTGTTCCAGATCTATAATAAGGACTTT
AGCATGTAATCCAAGGGCAAGCTGAACCTGCACACACTGTATTTTCATGATGCTGTTTGA
TCAGCGCAATATCGACGACGTGGTGTATAAGCTGAACGGAGAGGCAGAGGTGTTCTATA
GGCCAGCCTCCATCTCTGAGGACGAGCTGATCATCCACAAGGCCGGCGAGGAGATCAAG
ACAAGAATCCTAACCGGGCCAGAACCAAGGAGACAAGCACCTTCAGCTACGACATCGT
GAAGGATAAGCGGTATAGCAAGGATAAGTTTACCCTGCACATCCCATCACAATGAACT
TCGGCGTGATGAGGTGAAGCGGTTCAACGACGCCGTGAACAGCGCCATCCGGATCGAT
GAGAATGTGAACGTGATCGGCATCGACCGGGGCGAGAGAAATCTGCTGTACGTGGTGGT
CATCGACTCTAAGGGCAACATCCTGGAGCAGATCTCCCTGAACTCTATCATCAATAAGG
AGTACGACATCGAGACAGATTATCACGCACTGCTGGATGAGAGGGAGGGCGGCAGAGAT
AAGGCCCGGAAGGACTGGAACACCGTGGAGAATATCAGGGACCTGAAGGCCGGCTACCT
GAGCCAGGTGGTGAACGTGGTGGCCAAGCTGGTGTGCTGAAGTATAATGCCATCATCTGCC
TGGAGGACCTGAACTTTGGCTTCAAGAGGGGGCCGAGAGGAGGTGGAGAAGCAGGTGTAC
CAGAAGTTCGAGAAGATGCTGATCGATAAGCTGAATTACCTGGTCATCGACAAGAGCCG
CGAGCAGACATCCCCTAAGGAGCTGGGAGGCGCCCTGAACGCACTGCAGCTGACCTCTA
AGTTCAAGAGCTTTAAGGAGCTGGGCAAGCAGTCCGGCGTGATCTACTATGTGCCTGCC
TACCTGACCTCTAAGATCGATCCAACCACAGGCTTCGCCAATCTGTTTTATATGAAGTG
TGAGAACGTGGAGAAGTCCAAGAGATTCTTTGACGGCTTTGATTTTCATCAGGTTCAACG
CCCTGGAGAACGTGTTTCGAGTTCGGCTTTGACTACCGGAGCTTCACCCAGAGGGCCTGC
GGCATCAATTCCAAGTGGACCGTGTGCACCAACGGCGAGCGCATCATCAAGTATCGGAA
TCCAGATAAGAACAATATGTTTCGACGAGAAGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
ACCTGTTTGAGCAGTACAAGATCCCCTATGAGGATGGCAGAAATGTGAAGGACATGATC
ATCAGCAACGAGGAGGCGGAGTTCTACCGGAGACTGTATAGGCTGCTGCAGCAGACCT
GCAGATGAGAAACAGCACCTCCGACGGCACAAGGGATTACATCATCTCCCCTGTGAAGA
ATAAGAGAGAGGCCTACTTCAACAGCGAGCTGTCCGACGGCTCTGTGCCAAAGGACGCC
GATGCCAACGGCGCCTACAATATCGCCAGAAAGGGCCTGTGGGTGCTGGAGCAGATCAG

10

20

30

40

50

GCAGAAGAGCGAGGGCGAGAAGATCAATCTGGCCATGACCAACGCCGAGTGGCTGGAGT
ATGCCCAGACACACCTGCTGAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAA
AAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCC
TGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 2 8)

【 0 1 4 3 】

N L S 及び H A タグを含む C a n d i d a t u s M e t h a n o p l a s m a t e r
m i t u m (C M t C p f 1 ; p Y 0 1 2) :

【 0 1 4 4 】

MNNYDEFTKLYPIQKTIRFELKPQGRTEHLETFNFFFEEDRDRAEKYKILKEAIDEYHKKF
IDEHLTNMSLDWNSLKQISEKYYKSREEKDKKVFLSEQKRMREQEIVSEFKKDDRFDLFS
KKLFSSELLKEEIYKKGNHQEIDALKSFDKFSGYFIGLHENRKNMYSBGDEITAISNRIVNEN
FPKFLDNLQKYQEARKKYPEWIIKAESALVAHNIMDEVFSLEYFNKVLNQEGIQRYNLA
LGGYVTKSGEKMMLNDALNLAHQSEKSSKGRIHMTPLFKQILSEKESFSYIPDVFTEDS
QLLPSIGGFFAQIENDKDGNI FDRAL E L I S S Y A E Y D T E R I Y I R Q A D I N R V S N V I F G E W G T L G
GLMREYKADSINDINLERTCKKVDKWLDSKEFALSDVLEAIKRTGNND AFNEYISKMR TA
REKIDAARKEMKFISEKISGDEESIHIKTLLDSVQQFLHFFNLFKARQDIPLDGAFYAEFD
EVHSKLFAIVPLYNKVRNYLTKNLNTKKIKLNFKNPTLANGWDQNKVYDYASLIFLRD
GNYYLGIINPKRKKNIKFEQGSNGPFPYRKMVYKQIPGPNKNLPRVFLTSTKGKKEYKPS
KEIIEGYEADKHIRGDKFDLDFCHKLIDFFKESIEKHKDWKSNFYFSPTESYGDISEFYLD
VEKQGYRMHFENISAETIDEYVEKGD L F L F Q I Y N K D F V K A A T G K K D M H T I Y W N A A F S P E
NLQDVVVKLNGEAE L F Y R D K S D I K E I V H R E G E I L V N R T Y N G R T P V P D K I H K K L T D Y H N G R
TKDLGEAKEYLDKVRYFKAHYDITKDRRYLNDKIYFHVPLTLNFKANGKKNLNMVIEKF
LSDEKAHIIGIDRGERNLLYYSIIDRSGKIIDQQSLNVIDGFDYREKLNQREIEMKDARQSW
NAIGKIKDLKEGYLSKAVHEITKMAIQYNAIVVMEELNYGFKRGRFKVEKQIYQKFENMLI
DKMNYLVFKDAPDESPGGVLNAYQLTNPLESFAKL GKQTGILFYVPAAYTSKIDPTTGFV
NLFNTSSKTNAQERKEFLQKFESISYSAKDGGIFAFADYRKFGTSKTDHKNVWTAYTNG
ERMRYIKEKKRNE L F D P S K E I K E A L T S S G I K Y D G G Q N I L P D I L R S N N N G L I Y T M Y S S F I A A I
QMRVYDGKEDIYIISPIKNSKGFFRTDPKRRELPI D A D A N G A Y N I A L R G E L T M R A I A E K F D
PDSEKMAKLELKHKDWFEFMQTRGDKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVP
DYAYPYDVPDYA

10

20

30

(配列番号 2 9)

【 0 1 4 5 】

配列番号 2 9 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P
D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 4 6 】

配列番号 2 9 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 4 7 】

ATGAACAATTACGACGAGTTCACCAAGCTGTATCCTATCCAGAAAACCATCCGGTTTGA
GCTGAAGCCACAGGGCAGAACCATGGAGCACCTGGAGACATTCAACTTCTTTGAGGAGG
ACCGGGATAGAGCCGAGAAGTATAAGATCCTGAAGGAGGCCATCGACGAGTACCACAAG
AAGTTTATCGATGAGCACCTGACCAATATGTCCCTGGATTGGA ACTCTCTGAAGCAGAT
CAGCGAGAAGTACTATAAGAGCAGGGAGGAGAAGGACAAGAAGGTGTTCTGTCCGAGC
AGAAGAGGATGCGCCAGGAGATCGTGTCTGAGTTTAAAGAAGGACGATCGCTTCAAGGAC
CTGTTTTCCAAGAAGCTGTTCTCTGAGCTGCTGAAGGAGGAGATCTACAAGAAGGGCAA
CCACCAGGAGATCGACGCCCTGAAGAGCTTCGATAAGTTTTCCGGCTATTTTCATCGGCC
TGCACGAGAATAGGAAGAACATGTACTCCGACGGCGATGAGATCACCGCCATCTCCAAT
CGCATCGTGAATGAGA ACTTCCCAAGTTTCTGGATAACCTGCAGAAGTACCAGGAGGC
CAGGAAGAAGTATCCTGAGTGGATCATCAAGGCCGAGAGCGCCCTGGTGGCCCAATA

40

50

TCAAGATGGACGAGGTGTTCTCCCTGGAGTACTTTAATAAGGTGCTGAACCAGGAGGGC
ATCCAGCGGTACAACCTGGCCCTGGGCGGCTATGTGACCAAGAGCGGCGAGAAGATGAT
GGGCCTGAATGATGCCCTGAACCTGGCCCACCAAGTCCGAGAAGAGCTCCAAGGGCAGAA
TCCACATGACCCCCCTGTTCAAGCAGATCCTGTCCGAGAAGGAGTCCTTCTCTTACATC
CCCGACGTGTTTACAGAGGATTCTCAGCTGCTGCCTAGCATCGGCGGCTTCTTTGCCCA
GATCGAGAATGACAAGGATGGCAACATCTTCGACCGGGCCCTGGAGCTGATCTCTAGCT
ACGCCGAGTATGATACCGAGCGGATCTATATCAGACAGGCCGACATCAATAGAGTGTCC
AACGTGATCTTTGGAGAGTGGGGCACCCCTGGGAGGCCTGATGAGGGAGTACAAGGCCGA
CTCTATCAATGATATCAACCTGGAGCGCACATGCAAGAAGGTGGACAAGTGGCTGGATT
CTAAGGAGTTTGGCCTGAGCGATGTGCTGGAGGCCATCAAGAGGACCGGCAACAATGAC
GCCTTCAACGAGTATATCTCCAAGATGCGGACAGCCAGAGAGAAGATCGATGCCGCCCG
CAAGGAGATGAAGTTCATCAGCGAGAAGATCTCCGGCGATGAGGAGTCTATCCACATCA
TCAAGACCCTGCTGGACAGCGTGCAGCAGTTCCTGCACTTCTTTAATCTGTTTAAGGCA
AGGCAGGACATCCCACTGGATGGAGCCTTCTACGCCGAGTTTGACGAGGTGCACAGCAA
GCTGTTTGGCATCGTGCCCTGTATAACAAGGTGCGGAACCTATCTGACCAAGAACAATC
TGAACACAAAGAAGATCAAGCTGAATTTCAAGAACCCTACACTGGCCAATGGCTGGGAC
CAGAACAAGGTGTACGATTATGCCTCCCTGATCTTTCTGCGGGACGGCAATTACTATCT
GGGCATCATCAATCCTAAGAGAAAGAAGAACATCAAGTTCGAGCAGGGCTCTGGCAACG
GCCCTTCTACCGGAAGATGGTGTATAAGCAGATCCCCGGCCCTAATAAGAACCCTGCCA
AGAGTGTTCTGACCTCCACAAAGGGCAAGAAGGAGTATAAGCCCTCTAAGGAGATCAT
CGAGGGCTACGAGGCCGACAAGCACATCAGGGGCGATAAGTTCGACCTGGATTTTTGTG
ACAAGCTGATCGATTTCTTTAAGGAGTCCATCGAGAAGCACAAAGGACTGGTCTAAGTTC
AACTTCTACTTCAGCCCAACCGAGAGCTATGGCGACATCTCTGAGTTCTACCTGGATGT
GGAGAAGCAGGGCTATCGCATGCACTTTGAGAATATCAGCGCCGAGACAATCGACGAGT
ATGTGGAGAAGGGCGATCTGTTTCTGTTCCAGATCTACAACAAGGATTTTGTGAAGGCC
GCCACCGGCAAGAAGGACATGCACACAATCTACTGGAATGCCGCCTTCAGCCCCGAGAA
CCTGCAGGACGTGGTGGTGAAGCTGAACGGCGAGGCCGAGCTGTTTTATAGGGACAAGT
CCGATATCAAGGAGATCGTGACCCGCGAGGGCGAGATCCTGGTGAATAGGACCTACAAC
GGCCGCACACCAGTGCCCGACAAGATCCACAAGAAGCTGACCGATTATCACAATGGCCG
GACAAAGGACCTGGGCGAGGCCAAGGAGTACCTGGATAAGGTGAGATACTTCAAGGCC
ACTATGACATCACCAAGGATCGGAGATACCTGAACGACAAGATCTATTTCCACGTGCCT
CTGACCCTGAACTTCAAGGCCAACGGCAAGAAGAATCTGAACAAGATGGTCATCGAGAA
GTTCTGTCCGATGAGAAGGCCACATCATCGGCATCGACAGGGGCGAGCGCAATCTGC
TGTAATAATCCATCATCGACAGGTCTGGCAAGATCATCGATCAGCAGAGCCTGAATGTG
ATCGACGGCTTTGATTATCGGGAGAAGCTGAACCAGAGAGAGATCGAGATGAAGGATGC
CCGCCAGTCTTGGAACGCCATCGGCAAGATCAAGGACCTGAAGGAGGGCTACCTGAGCA
AGGCCGTGCACGAGATCACCAAGATGGCCATCCAGTATAATGCCATCGTGGTCATGGAG
GAGCTGAACTACGGCTTCAAGCGGGGCGGTTCAAGGTGGAGAAGCAGATCTATCAGAA
GTTGAGAATATGCTGATCGATAAGATGAACTACCTGGTGTTTAAGGACGCACCTGATG
AGTCCCCAGGAGGCGTGCTGAATGCCTACCAGCTGACAAACCCACTGGAGTCTTTGCC
AAGCTGGGCAAGCAGACCGGCATCCTGTTTTACGTGCCAGCCGCCTATACATCCAAGAT
CGACCCACACAGGCTTCGTGAATCTGTTTAACACCTCCTCTAAGACAAACGCCCAGG
AGCGGAAGGAGTTCCTGCAGAAGTTTGAGAGCATCTCCTATTCTGCCAAGGATGGCGGC
ATCTTTGCCTTCGCCTTTGACTACAGAAAGTTCGGCACCAGCAAGACAGATCACAAGAA
CGTGTGGACCGCCTATACAAACGGCGAGAGGATGCGCTACATCAAGGAGAAGAAGCGGA
ATGAGCTGTTTGACCCTTCTAAGGAGATCAAGGAGGCCCTGACCAGCTCCGGCATCAAG
TACGATGGCGGCCAGAACATCCTGCCAGACATCCTGAGGAGCAACAATAACGGCCTGAT
CTACACAATGTATTCTAGCTTCATCGCCGCCATCCAGATGCGCGTGTACGACGGCAAGG
AGGATTATATCATCAGCCCCATCAAGAACTCCAAGGGCGAGTTCTTTAGGACCGACCCC
AAGAGGCGCGAGCTGCCTATCGACGCCGATGCCAATGGCGCCTACAACATCGCCCTGAG

10

20

30

40

50

GGGAGAGCTGACAATGAGGGCAATCGCAGAGAAGTTGACCCTGATAGCGAGAAGATGG
CCAAGCTGGAGCTGAAGCACAAGGATTGGTTCGAGTTTATGCAGACCAGAGGCGACAAA
AGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCAT
ACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGAT
GTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 3 0)

【 0 1 4 8 】

N L S 及び H A タグを含む *E u b a c t e r i u m e l i g e n s* (E e C p f 1 ;
p Y 0 1 3) :

【 0 1 4 9 】

MNGNRSIVYREFVGVIPVAKTLRNLRPVGHQTQEHIIQNGLIQEDELREQKSTELKNIMD
DYYREYIDKSLSGVTDLDFTLLFELMNLVQSSPSKDNKKALEKEQSKMREQICTHLQSDS
NYKNIFNAKLLKEILPDFIKNYNQYDVKDKAGKLETLALFNGFSTYFTDFFEKRKNVFTKE
AVSTSIAYRIVHENSILFLANMTSYKKISEKALDEIEVIEKNNQDKMGDWELNQIFNPDFY
NMVLIQSGIDFYNEICGVVNAHMNLYCQQTKNNYNLFKMRKLHKQILAYTSTSFEVPMK
FEDDMSVYNAVNAFIDETEKGNIIIGKLKDIVNKYDELDEKRIYISKDFYETLSCFMSGNWN
LITGCVENFYDENIHAKGKSKEEKVKKAVKEDKYKSINDVNDLVEKYIDEKERNEFKNSN
AKQYIREISNIITDTETAHLEYDDHISLIESEEKADEMKKRLDMYMNMYHWAKAFIVDEV
LDRDEMFSYDIDDIYNILENIVPLYNRVRNYVTQKPYNSKKIKLNFQSPTLANGWSQSKE
FDNNAIILIRDNKYYLAIFNAKNKPKDKKIIQGNSDKNDNDYKKMVYNLLPGANKMLPKV
FLSKKGIETFKPSDYIISGYNAHKHIKTSNFDISFCRDLIDYFKNSIEKHAEWRYEFKFS
TDSYSDISEFYREVEMQGYRIDWTYISEADINKLDEEGKIYLFQIYNKDFAEINSTGKENLH
TMYFKNIFSEENLKDIIKLNGQAELFYRRASVKNPVKHKKDSVLVNKTYKNQLDNGDVV
RIPIPDIIYNEIYKMYNGYIKESDLSEAAKEYLDKVEVVRTAQKDIVKDYRYTVDKYFIHTPI
TINYKVTARNNVNDMVVKYIAQNDDIHVIGIDRGERNLIYISVIDSHGNIVKQKSYNINLN
YDYKKKLVEKEKTREYARKNWKSIGNIKELKEGYISGVVHEIAMLIVEYNAILAMEDLNYG
FKRGRFKVERQVYQKFESMLINKLNYFASKEKSVDEPGGLLKGYQLTYVPDNIKNLGKQC
GVIFYVPAAFTSKIDPSTGFISAFNFKSISTNASRKQFFMQFDEIRYCAEKDMFSFGFDYNN
FDTYNITMGKTQWTVYTNGERLQSEFNNARRTGKTKSINLTETIKLLLEDNEINYADGHD
IRIDMEKMDKDKSEFFAQLLSLYKLTVMRNSYTEAEQENGISYDKIISPVINDEGEFF
DSDNYKESDDKECKMPKDADANGAYCIALKGLYEVLIKSEWTEGDFDRNCLKLPHAEW
LDFIQNKRYEKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 3 1)

【 0 1 5 0 】

配列番号 3 1 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P
D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 5 1 】

配列番号 3 1 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 5 2 】

ATGAACGGCAATAGGTCCATCGTGTACCGCGAGTTCGTGGGCGTGATCCCCGTGGCCAA
GACCCTGAGGAATGAGCTGCGCCCTGTGGGCCACACACAGGAGCACATCATCCAGAACG
GCCTGATCCAGGAGGACGAGCTGCGGCAGGAGAAGAGCACCGAGCTGAAGAACATCATG
GACGATTACTATAGAGAGTACATCGATAAGTCTCTGAGCGGCGTGACCGACCTGGACTT
CACCCTGCTGTTTCGAGCTGATGAACCTGGTGCAGAGCTCCCCCTCCAAGGACAATAAGA
AGGCCCTGGAGAAGGAGCAGTCTAAGATGAGGGAGCAGATCTGCACCCACCTGCAGTCC
GACTCTAACTACAAGAATATCTTTAACGCCAAGCTGCTGAAGGAGATCCTGCCTGATTT
CATCAAGAACTACAATCAGTATGACGTGAAGGATAAGGCCGGCAAGCTGGAGACACTGG
CCCTGTTTAAATGGCTTCAGCACATACTTTACCGACTTCTTTGAGAAGAGGAAGAACGTG
TTCACCAAGGAGGCCGTGAGCACATCCATCGCCTACCGCATCGTGCACGAGAACTCCCT

10

20

30

40

50

GATCTTCCTGGCCAATATGACCTCTTATAAGAAGATCAGCGAGAAGGCCCTGGATGAGA
TCGAAGTGATCGAGAAGAACAATCAGGACAAGATGGGCGATTGGGAGCTGAATCAGATC
TTTAACCCTGACTTCTACAATATGGTGCTGATCCAGTCCGGCATCGACTTCTACAACGA
GATCTGCGGCGTGGTGAATGCCCACATGAACCTGTACTGTCAGCAGACCAAGAACAATT
ATAACCTGTTCAAGATGCGGAAGCTGCACAAGCAGATCCTGGCCTACACCAGCACCAGC
TTCGAGGTGCCCAAGATGTTTCGAGGACGATATGAGCGTGTATAACGCCGTGAACGCCTT
CATCGACGAGACAGAGAAGGGCAACATCATCGGCAAGCTGAAGGATATCGTGAATAAGT
ACGACGAGCTGGATGAGAAGAGAATCTATATCAGCAAGGACTTTTACGAGACACTGAGC
TGCTTCATGTCCGGCAACTGGAATCTGATCACAGGCTGCGTGGAGAACTTCTACGATGA
GAACATCCACGCCAAGGGCAAGTCCAAGGAGGAGAAGGTGAAGAAGGCCGTGAAGGAG
GACAAGTACAAGTCTATCAATGACGTGAACGATCTGGTGGAGAAGTATATCGATGAGAA
GGAGAGGAATGAGTTCAAGAACAGCAATGCCAAGCAGTACATCCGCGAGATCTCCAACA
TCATCACCGACACAGAGACAGCCCACCTGGAGTATGACGATCACATCTCTCTGATCGAG
AGCGAGGAGAAGGCCGACGAGATGAAGAAGCGGCTGGATATGTATATGAACATGTACCA
CTGGGCCAAGGCCCTTTATCGTGGACGAGGTGCTGGACAGAGATGAGATGTTCTACAGCG
ATATCGACGATATCTATAATATCCTGGAGAACATCGTGCCACTGTATAATCGGGTGAGA
AACTACGTGACCCAGAAGCCCTACAACCTCTAAGAAGATCAAGCTGAATTTCCAGAGCCC
TACACTGGCCAATGGCTGGTCCCAGTCTAAGGAGTTCGACAACAATGCCATCATCCTGA
TCAGAGATAACAAGTACTATCTGGCCATCTTCAATGCCAAGAACAAGCCAGACAAGAAG
ATCATCCAGGGCAACTCCGATAAGAAGAACGACAACGATTACAAGAAGATGGTGTATAA
CCTGCTGCCAGGCGCCAACAAGATGCTGCCCAAGGTGTTTCTGTCTAAGAAGGGCATCG
AGACATTCAAGCCCTCCGACTATATCATCTCTGGCTACAACGCCCCACAAGCACATCAAG
ACAAGCGAGAATTTTGATATCTCCTTCTGTGCGGGACCTGATCGATTACTTCAAGAACAG
CATCGAGAAGCACGCCGAGTGGAGAAAGTATGAGTTCAAGTTTTCCGCCACCGACAGCT
ACTCCGATATCTCTGAGTTCTATCGGGAGGTGGAGATGCAGGGCTACAGAATCGACTGG
ACATATATCAGCGAGGCCGACATCAACAAGCTGGATGAGGAGGGCAAGATCTATCTGTT
TCAGATCTACAATAAGGATTTCCGCCGAGAACAGCACCGGCAAGGAGAATCTGCACACAA
TGTAATTTAAGAACATCTTCTCCGAGGAGAATCTGAAGGACATCATCATCAAGCTGAAC
GGCCAGGCCGAGCTGTTTTATCGGAGAGCCTCTGTGAAGAATCCCGTGAAGCACAAAGAA
GGATAGCGTGCTGGTGAACAAGACCTACAAGAATCAGCTGGACAACGGCGACGTGGTGA
GAATCCCCATCCCTGACGATATCTATAACGAGATCTACAAGATGTATAATGGCTACATC
AAGGAGTCCGACCTGTCTGAGGCCGCCAAGGAGTACCTGGATAAGGTGGAGGTGAGGAC
CGCCCAGAAGGACATCGTGAAGGATTACCGCTATACAGTGGACAAGTACTTCATCCACA
CACCTATCACCATCAACTATAAGGTGACCGCCCCGCAACAATGTGAATGATATGGTGGTG
AAGTACATCGCCCAGAACGACGATATCCACGTGATCGGCATCGACCGGGGCGAGAGAAA
CCTGATCTACATCTCCGTGATCGATTCTCACGGCAACATCGTGAAGCAGAAATCCTACA
ACATCCTGAACAACCTACGACTACAAGAAGAAGCTGGTGGAGAAGGAGAAAACCCGGGAG
TACGCCAGAAAGAACTGGAAGAGCATCGGCAATATCAAGGAGCTGAAGGAGGGCTATAT
CTCCGGCGTGGTGCACGAGATCGCCATGCTGATCGTGGAGTACAACGCCATCATCGCCA
TGGAGGACCTGAATTATGGCTTTAAGAGGGGCGCTTCAAGGTGGAGCGGCAGGTGTAC
CAGAAGTTTGAGAGCATGCTGATCAATAAGCTGAACTATTTCCGCCAGCAAGGAGAAGTC
CGTGGACGAGCCAGGAGGCCTGCTGAAGGGCTATCAGCTGACCTACGTGCCCGATAATA
TCAAGAACCTGGGCAAGCAGTGCGGCGTGATCTTTTACGTGCCTGCCGCCTTCACCAGC
AAGATCGACCCATCCACAGGCTTTATCTCTGCCTTCAACTTTAAGTCTATCAGCACAAA
TGCTCTCGGAAGCAGTTCTTTATGCAGTTTGACGAGATCAGATACTGTGCCGAGAAGG
ATATGTTTCAAGCTTTGGCTTCGACTACAACAACCTTCGATACCTACAACATCACAATGGGC
AAGACACAGTGGACCGTGTATACAAACGGCGAGAGACTGCAGTCTGAGTTCAACAATGC
CAGGCGCACCGGCAAGACAAAGAGCATCAATCTGACAGAGACAATCAAGCTGCTGCTGG
AGGACAATGAGATCAACTACGCCGACGGCCACGATATCAGGATCGATATGGAGAAGATG
GACGAGGATAAGAAGAGCGAGTTCTTTGCCAGCTGCTGAGCCTGTATAAGCTGACCGT

10

20

30

40

50

50

TGCAGGCCGTGCTGAGAAAGGAGATCGTGAAGCCCATCGGCAATGGCGGCAAGTATAAG
GCCGGCTACGACAGGCTGTTTCGGCGCCAAGCTGTTTAAGGACGGCAAGGAGCTGGGCGA
TCTGGCCAAGTTTCGTGATCGCACAGGAGGGAGAGAGCTCCCCAAAGCTGGCCACCTGG
CCCACTTCGAGAAGTTTTCCACCTATTTACAGGCTTTACGATAACCGGAAGAATATG
TATTCTGACGAGGATAAGCACACCGCCATCGCCTACCGCCTGATCCACGAGAACCTGCC
CCGGTTTATCGACAATCTGCAGATCCTGACCACAATCAAGCAGAAGCACTCTGCCCTGT
ACGATCAGATCATCAACGAGCTGACCGCCAGCGGCCTGGACGTGTCTCTGGCCAGCCAC
CTGGATGGCTATCACAAGCTGCTGACACAGGAGGGCATCACCGCCTACAATACACTGCT
GGGAGGAATCTCCGGAGAGGCAGGCTCTCCTAAGATCCAGGGCATCAACGAGCTGATCA
ATTCTCACCACAACCAGCACTGCCACAAGAGCGAGAGAATCGCCAAGCTGAGGGCACTG
CACAAGCAGATCCTGTCCGACGGCATGAGCGTGTCTTCTGCCCCTCTAAGTTTGCCGA
CGATAGCGAGATGTGCCAGGCCGTGAACGAGTTCTATCGCCACTACGCCGACGTGTTTCG
CCAAGGTGCAGAGCCTGTTTCGACGGCTTTGACGATCACCAGAAGGATGGCATCTACGTG
GAGCACAAGAACCTGAATGAGCTGTCCAAGCAGGCCTTCGGCGACTTTGCACTGCTGGG
ACGCGTGCTGGACGGATACTATGTGGATGTGGTGAATCCAGAGTTCAACGAGCGGTTTG
CCAAGGCCAAGACCGACAATGCCAAGGCCAAGCTGACAAAGGAGAAGGATAAGTTCATC
AAGGGCGTGCACTCCCTGGCCTCTCTGGAGCAGGCCATCGAGCACTATACCGCAAGGCA
CGACGATGAGAGCGTGACGGCAGGCAAGCTGGGACAGTACTTCAAGCACGGCCTGGCCG
GAGTGGACAACCCCATCCAGAAGATCCACAACAATCACAGCACCATCAAGGGCTTTCTG
GAGAGGGAGCGCCCTGCAGGAGAGAGAGCCCTGCCAAAGATCAAGTCCGGCAAGAATCC
TGAGATGACACAGCTGAGGCAGCTGAAGGAGCTGCTGGATAACGCCCTGAATGTGGCCC
ACTTCGCCAAGCTGCTGACCACAAAGACCACACTGGACAATCAGGATGGCAACTTCTAT
GGCGAGTTTGGCGTGCTGTACGACGAGCTGGCCAAGATCCCCACCCTGTATAACAAGGT
GAGAGATTACCTGAGCCAGAAGCCTTTCTCCACCGAGAAGTACAAGCTGAACTTTGGA
ATCCAACACTGCTGAATGGCTGGGACCTGAACAAGGAGAAGGATAATTTCCGGCGTGATC
CTGCAGAAGGACGGCTGCTACTATCTGGCCCTGCTGGACAAGGCCCAACAAGAAGGTGTT
TGATAACGCCCTAATACAGGCAAGAGCATCTATCAGAAGATGATCTATAAGTACCTGG
AGGTGAGGAAGCAGTTCCCCAAGGTGTTCTTTTCCAAGGAGGCCATCGCCATCAACTAC
CACCTTCTAAGGAGCTGGTGGAGATCAAGGACAAGGGCCGGCAGAGATCCGACGATGA
GCGCCTGAAGCTGTATCGGTTTATCCTGGAGTGTCTGAAGATCCACCCTAAGTACGATA
AGAAGTTCGAGGGCGCCATCGGCGACATCCAGCTGTTTAAAGAAGGATAAGAAGGGCAGA
GAGGTGCCAATCAGCGAGAAGGACCTGTTTCGATAAGATCAACGGCATCTTTTCTAGCAA
GCCTAAGCTGGAGATGGAGGACTTCTTTATCGGCGAGTTCAAGAGGTATAACCCAAGCC
AGGACCTGGTGGATCAGTATAATATCTACAAGAAGATCGACTCCAACGATAATCGCAAG
AAGGAGAATTTCTACAACAATCACCCCAAGTTTAAAGAAGGATCTGGTGGGTACTATTA
CGAGTCTATGTGCAAGCACGAGGAGTGGGAGGAGAGCTTCGAGTTTTTCCAAGAAGCTGC
AGGACATCGGCTGTTACGTGGATGTGAACGAGCTGTTTACCGAGATCGAGACACGGAGA
CTGAATTATAAGATCTCCTTCTGCAACATCAATGCCGACTACATCGATGAGCTGGTGG
GCAGGGCCAGCTGTATCTGTTCCAGATCTACAACAAGGACTTTTCCCCAAAGGCCACG
GCAAGCCCAATCTGCACACCCTGTACTTCAAGGCCCTGTTTTCTGAGGACAACCTGGCC
GATCCTATCTATAAGCTGAATGGCGAGGCCCAGATCTTCTACAGAAAGGCCTCCCTGGA
CATGAACGAGACAACAATCCACAGGGCCGGCGAGGTGCTGGAGAACAAGAATCCCGATA
ATCCTAAGAAGAGACAGTTCGTGTACGACATCATCAAGGATAAGAGGTACACACAGGAC
AAGTTCATGCTGCACGTGCCAATCACCATGAACCTTTGGCGTGACGGGCATGACAATCAA
GGAGTTCAATAAGAAGGTGAACCAAGTCTATCCAGCAGTATGACGAGGTGAACGTGATCG
GCATCGATCGGGGCGAGAGACACCTGCTGTACCTGACCGTGATCAATAGCAAGGGCGAG
ATCCTGGAGCAGTGTTCCCTGAACGACATCACCACAGCCTCTGCCAATGGCACACAGAT
GACCACACCTTACCACAAGATCCTGGATAAGAGGGAGATCGAGCGCCTGAACGCCCGGG
TGGGATGGGGCGAGATCGAGACAATCAAGGAGCTGAAGTCTGGCTATCTGAGCCACGTG
GTGCACCAGATCAGCCAGCTGATGCTGAAGTACAACGCCATCGTGGTGCTGGAGGACCT

10

20

30

40

50

GAATTTTCGGCTTTAAGAGGGGCGCTTTAAGGTGGAGAAGCAGATCTATCAGAACTTCG
 AGAATGCCCTGATCAAGAAGCTGAACCACCTGGTGCTGAAGGACAAGGCCGACGATGAG
 ATCGGCTCTTACAAGAATGCCCTGCAGCTGACCAACAATTTACAGATCTGAAGAGCAT
 CGGCAAGCAGACCGGCTTCTGTGTTTTATGTGCCCCGCTGGAACACCTCTAAGATCGACC
 CTGAGACAGGCTTTGTGGATCTGCTGAAGCCAAGATACGAGAACATCGCCCGAGAGCCAG
 GCCTTCTTTGGCAAGTTCGACAAGATCTGCTATAATGCCGACAAGGATTACTTCGAGTT
 TCACATCGACTACGCCAAGTTTACCGATAAGGCCAAGAATAGCCGCCAGATCTGGACAA
 TCTGTTCCACGGCGACAAGCGGTACGTGTACGATAAGACAGCCAACCAGAATAAGGGC
 GCCGCCAAGGGCATCAACGTGAATGATGAGCTGAAGTCCCTGTTGCCCCGCCACCACAT
 CAACGAGAAGCAGCCCAACCTGGTCATGGACATCTGCCAGAACAATGATAAGGAGTTTC
 ACAAGTCTCTGATGTACCTGCTGAAAACCCTGCTGGCCCTGCGGTACAGCAACGCCTCC
 TCTGACGAGGATTTTCATCCTGTCCCCCGTGGCAAACGACGAGGGCGTGTCTTTAATAG
 CGCCCTGGCCGACGATACACAGCCTCAGAATGCCGATGCCAACGGCGCCTACCACATCG
 CCCTGAAGGGCCTGTGGCTGCTGAATGAGCTGAAGAACTCCGACGATCTGAACAAGGTG
 AAGCTGGCCATCGACAATCAGACCTGGCTGAATTTGCCCCAGAACAGGAAAAGGCCGGC
 GGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTC
 CAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGAC
 TATGCCTAA

(配列番号 3 4)

【 0 1 5 8 】

N L S 及び H A タグを含む *Leptospira inada i* (L i C p f 1 ; p Y
 0 1 5) :

【 0 1 5 9 】

MEDYSGFVNIYSIQKTLRFELKPVGKTLIEHIEKKGFLKKDKIRAEDYKAVKKIIDKYHRAYI
 EEVFDVLHQQKKKDKTRFSTQFIKEIKEFSELYYKTEKNIPDKERLEALSEKLRKMLVGA
 FKGEFSEEVAEKYKNLFSKELIRNEIEKFCETDEERKQVSNFKSFTTYFTGFHSNRQNIYSD
 EKKSTAIGYRIIHQNLPKFLDNLKIIESIQRFRKDFPWSDLKKNLKKIDKNIKLTEYFSIDGF
 VNVLNQKGIDAYNTILGGKSEESGEKIQGLNEYINLYRQKNNIDRKNLPNVKILFKQILGD
 RETKSFIPEAFPDDQSVLNSITEFAKYLKLDKKKKSIIAELKKFLSSFNRYELDGIYLANDN
 SLASISTFLFDDWSFIKKSVSFKYDESVGDPKKKIKSPLKYEKEKEKWLKQKYTTISFLND
 AIESYSKSQDEKRVKIRLEAYFAEFKSKDDAKKQFDLLERIEEAYAIVEPLLGAEYPRDRNL
 KADKKEVGKIKDFLDSIKSLQFFLKPLLSAEIFDEKDLGFYNQLEGYYEEIDSIGHLYNKVR
 NYLTGKIYSKEKFKLNFENSTLLKGWDENREVANLCVIFREDQKYVLGVMDKENNTILSD
 IPKVKPNELFYEKMVYKLIPTPHMQLPRIIFSSDNL SIYNPSKSILKIREAKSFKEGKNFKL
 KDCHKFIDFYKESISKNEDWSRDFKFSKTSSYENISEFYREVERQGYNLDFKKVSKFYIDS
 LVEDGKLYLFQIYNKDFSIFSKGKPNLHTIYFRSLFSKENLKDVCLKLNGEAEMFFRKK SIN
 YDEKKKREGHHPELFEKLKYPILKDKRYSEDKFQFHLPISLNFKSKERLNFNLKVNEFLKR
 NKDINIIGIDRGERNLLYLVMINQKGEILKQTLDSMQSGKGRPEINYKEKLQEKEIERDK
 ARKSWGTVENIKELKEGYLSIVIHQISKLMVENNAIVVLEDL NIGFKRGRQKVERQVYQKF
 EKMLIDKLNFLVFKENKPTEPGGVLKAYQLTDEFQSFEKLSKQTGFLFYVPSWNTSKIDP
 RTGFIDFLHPAYENIEKAKQWINKFDSIRFNSKMDWFEFTADTRKFSENLMLGKNRVWVI
 CTTNVERYFTSKTANSSIQYNSIQITEKLKELFVDIPFSNGQDLKPEILRKNDVFFKSLLF
 YIKTTLSLRQNNGKKGEEKDFILSPVVD SKGRFFNSLEASDDEPKDADANGAYHIALKGL
 MNLLVLNETKEENLSRPKWIKNKDWLEFVWERNRKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDV
 PDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 3 5)

【 0 1 6 0 】

配列番号 3 5 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P
 D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 6 1 】

配列番号 3 5 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 6 2 】

ATGGAGGACTATTCCGGCTTTGTGAACATCTACTCTATCCAGAAAACCTGAGGTTCTGA
GCTGAAGCCAGTGGGCAAGACACTGGAGCACATCGAGAAGAAGGGCTTCCTGAAGAAGG
ACAAGATCCGGGCCGAGGATTACAAGGCCGTGAAGAAGATCATCGATAAGTACACAGA
GCCTATATCGAGGAGGTGTTTGATTCCGTGCTGCACCAGAAGAAGAAGAAGGACAAGAC
CCGCTTTTCTACACAGTTCATCAAGGAGATCAAGGAGTTCAGCGAGCTGTACTATAAGA
CCGAGAAGAACATCCCCGACAAGGAGAGGGCTGGAGGGCCCTGAGCGAGAAGCTGCGCAAG
ATGCTGGTGGGCGCCTTTAAGGGCGAGTTCTCCGAGGAGGTGGCCGAGAAGTATAAGAA
CCTGTTTTCTAAGGAGCTGATCAGGAATGAGATCGAGAAGTTCTGCGAGACAGACGAGG
AGCGCAAGCAGGTGTCTAACTTCAAGAGCTTCACCACATACTTTACCGGCTTCCACTCC
AACAGGCAGAATATCTATTCCGACGAGAAGAAGTCTACAGCCATCGGCTACCGCATCAT
CCACCAGAACCTGCCTAAGTTCCTGGATAATCTGAAGATCATCGAGTCCATCCAGCGGC
GGTTCAAGGACTTCCCATGGTCTGATCTGAAGAAGAACCTGAAGAAGATCGATAAGAAT
ATCAAGCTGACCGAGTACTTCAGCATCGACGGCTTCGTGAACGTGCTGAATCAGAAGGG
CATCGATGCCTACAACACAATCCTGGGCGGCAAGTCCGAGGAGTCTGGCGAGAAGATCC
AGGGCCTGAACGAGTACATCAATCTGTATCGGCAGAAGAACAATATCGACAGAAAGAAC
CTGCCCAATGTGAAGATCCTGTTTTAAGCAGATCCTGGGCGATAGGGAGACAAAGAGCTT
TATCCCTGAGGCCTTCCCAGACGATCAGTCCGTGCTGAACTCTATCACAGAGTTCGCCA
AGTACCTGAAGCTGGATAAGAAGAAGAAGAGCATCATCGCCGAGCTGAAGAAGTTTCTG
AGCTCCTTCAATCGCTACGAGCTGGACGGCATCTATCTGGCCAACGATAATAGCCTGGC
CTCTATCAGCACCTTCCCTGTTTGACGATTGGTCCTTTATCAAGAAGTCCGTGTCTTTCAA
GTATGACGAGTCCGTGGGCGACCCCAAGAAGAAGATCAAGTCTCCCCTGAAGTACGAGA
AGGAGAAGGAGAAGTGGCTGAAGCAGAAGTACTATACAATCTCTTTTCTGAACGATGCC
ATCGAGAGCTATTCCAAGTCTCAGGACGAGAAGAGGGTGAAGATCCGCCTGGAGGCCTA
CTTTGCCGAGTTCAAGAGCAAGGACGATGCCAAGAAGCAGTTCGACCTGCTGGAGAGGA
TCGAGGAGGCCTATGCCATCGTGGAGCCTCTGCTGGGAGCAGAGTACCCAAGGGACCGC
AACCTGAAGGCCGATAAGAAGGAAGTGGGCAAGATCAAGGACTTCCTGGATAGCATCAA
GTCCCTGCAGTTCTTTCTGAAGCCTCTGCTGTCCGCCGAGATCTTTGACGAGAAGGATC
TGGGCTTCTACAATCAGCTGGAGGGCTACTATGAGGAGATCGATTCTATCGGCCACCTG
TATAACAAGGTGCGGAATTATCTGACCGGCAAGATCTACAGCAAGGAGAAGTTTAAGCT
GAACTTCGAGAACAGCACCCCTGCTGAAGGGCTGGGACGAGAACCAGGGAGGTGGCCAATC
TGTGCGTGATCTTCAGAGAGGACCAGAAGTACTATCTGGGCGTGATGGATAAGGAGAAC
AATACCATCCTGTCCGACATCCCCAAGGTGAAGCCTAACGAGCTGTTTTACGAGAAGAT
GGTGTATAAGCTGATCCCCACACCTCACATGCAGCTGCCCCGGATCATCTTCTCTAGCG
ACAACCTGTCTATCTATAATCCTAGCAAGTCCATCCTGAAGATCAGAGAGGCCAAGAGC
TTTAAGGAGGGCAAGAACTTCAAGCTGAAGGACTGTCACAAGTTTATCGATTTCTACAA
GGAGTCTATCAGCAAGAATGAGGACTGGAGCAGATTGCACTTCAAGTTCAGCAAGACCA
GCAGCTACGAGAACATCAGCGAGTTTTTACCGGGAGGTGGAGAGACAGGGCTATAACCTG
GACTTCAAGAAGGTGTCTAAGTTCTACATCGACAGCCTGGTGGAGGATGGCAAGCTGTA
CCTGTTCCAGATCTATAACAAGGACTTTTCTATCTTCAGCAAGGGCAAGCCCAATCTGC
ACACCATCTATTTTCGGTCCCTGTTCTCTAAGGAGAACCTGAAGGACGTGTGCCTGAAG
CTGAATGGCGAGGCCGAGATGTTCTTTCCGAAGAAGTCCATCAACTACGATGAGAAGAA
GAAGCGGGAGGGCCACCACCCCGAGCTGTTTGAGAAGCTGAAGTATCCTATCCTGAAGG
ACAAGAGATACAGCGAGGATAAGTTTTCAGTTCCACCTGCCCATCAGCCTGAACTTCAAG
TCCAAGGAGCGGCTGAACTTTAATCTGAAAGTGAATGAGTTCTGAAGAGAAACAAGGA
CATCAATATCATCGGCATCGATCGGGGCGAGAGAAACCTGCTGTACCTGGTCATGATCA
ATCAGAAGGGCGAGATCCTGAAGCAGACCCTGCTGGACAGCATGCAGTCCGGCAAGGGC
CGGCCTGAGATCAACTACAAGGAGAAGCTGCAGGAGAAGGAGATCGAGAGGGATAAGG

10

20

30

40

50

CCCGCAAGAGCTGGGGCACAGTGGAGAATATCAAGGAGCTGAAGGAGGGCTATCTGTCT
ATCGTGATCCACCAGATCAGCAAGCTGATGGTGGAGAACAATGCCATCGTGGTGCTGGA
GGACCTGAACATCGGCTTTAAGCGGGGCAGACAGAAGGTGGAGCGGCAGGTGTACCAGA
AGTTCGAGAAGATGCTGATCGATAAGCTGAACTTTCTGGTGTTCAGGAGAATAAGCCA
ACCGAGCCAGGAGGCGTGCTGAAGGCCTATCAGCTGACAGACGAGTTTCAGTCTTTTCA
GAAGCTGAGCAAGCAGACCGGCTTTCTGTTCTACGTGCCAAGCTGGAACACCTCCAAGA
TCGACCCCAGAACAGGCTTTATCGATTTCTGCACCTGCCTACGAGAATATCGAGAAG
GCCAAGCAGTGGATCAACAAGTTTGATTCCATCAGGTTCAATTCTAAGATGGACTGGTT
TGAGTTCACCGCCGATACACGCAAGTTTTCCGAGAACCTGATGCTGGGCAAGAATCGGG
TGTGGGTGCTGTCACCACAAATGTGGAGCGGTACTTCACCAGCAAGACCGCCAACAGC
TCCATCCAGTACAATAGCATCCAGATCACCGAGAAGCTGAAGGAGCTGTTTGTGGACAT
CCCTTTTCAGCAACGGCCAGGATCTGAAGCCAGAGATCCTGAGGAAGAATGACGCCGTGT
TCTTTAAGAGCCTGCTGTTTTACATCAAGACCACACTGTCCCTGCGCCAGAACAATGGC
AAGAAGGGCGAGGAGGAGAAGGACTTCATCCTGAGCCCAGTGGTGGATTCCAAGGGCCG
GTTCTTTAACTCTCTGGAGGCCAGCGACGATGAGCCCAAGGACGCCGATGCCAATGGCG
CCTACCACATCGCCCTGAAGGGCCTGATGAACCTGCTGGTGCTGAATGAGACAAAGGAG
GAGAACCTGAGCAGACCAAAGTGGAAGATCAAGAATAAGGACTGGCTGGAGTTCGTGTG
GGAGAGGAACCGCAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAA
AAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTA
TGCATACCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

10

20

(配列番号 3 6)

【 0 1 6 3 】

N L S 及び H A タグを含む *L a c h n o s p i r a c e a e b a c t e r i u m* N D
2 0 0 6 (L b C p f 1 ; p Y 0 1 6) :

【 0 1 6 4 】

MSKLEKFTNCYSLSKTLRFKAIPVGKTQENIDNKRLLVEDEKRAEDYKGVKKLLDRYYLSF
INDVLHSIKLKNLNNYISLFRKKTRTEKENKELENLEINLRKEIAKAFKGNEGYKSLFKKDI
IETILPEFLDDKDEIALVNSFNFTTAFTGFFDNRENMFSEEAKSTSIAFRCINENLTRYISN
MDIFEKVD AIFDKHEVQEIKEKILNSDYDVEDFFEGEFFNFVLTQEGIDVYNAIIGGFVTES
GEKIKGLNEYINLYNQKTKQKLPKFKPLYKQVLS DRESLSFYGEGYTSDEEVLEVFRNTLN
KNSEIFSSIKKLEKLFKNFDEYSSAGIFVKN GPAISTISKDIFGEWNVIRDKWNAEYDDIHL
KKKAVVTEKYEDDRRKSFKKIGSFSLEQLQEYADADLSVVEKLKEIIIQKVDEIYKVYGSSE
KLFDAD FVLEKSLKKNDAVVAIMKDLLDSVKS FENYIKAFFGEGKETNRDES FYGDFVLA
YDILLKVDHIYDAIRNYVTQKPYSKDKFKLYFQNPQFMGGWDKDKETDYRATILRYGSKY
YLAIMDKKYAKCLQKIDKDDVNGNYEKINYKLLPGPNKMLPKVFFSKKWMAYYNPSEDI
QKIYKNGTFFKKGDMFNLNDCHKLIDFFKDSISRYPKWSNAYDFNFSETEKYKDIAGFYRE
VEEQGYKVSFESASKKEVDKLVEEGKLYMFQIYNKDFSDKSHGTPNLHTMYFKLLFDEN
NHGQIRLSGGAELFMRRASLKKEELVVHPANSPIANKNPDPNPKTTTTLSYDVYKDKRFSE
DQYELHIPIAINKCPKNIFKINTEVRVLLKHDDNPYVIGIDRGERNLLYIVVVDGKGNIVEQ
YSLNEIINN FNIGIRIKTDYHSLLDKKEKERFEARQNWTSIENIKELKAGYISQVVHKICELV
EKYDAVIALEDLNSGFKNSRVKVEKQVYQKFEKMLIDKLNYMVDKKS NPCATGGALKGY
QITNKFESFKSMSTQNGFIFYIPAWLTSKIDPSTGFVNLLKTKYTSIADSKKFISSFDRIMY
VPEEDLFEFALDYKNFSRTDADYIKKWKLYSYGNRIRIFRNPKKNNVFDWEEVCLTSAYK
ELFNKYGINYQQGDIRALLCEQSDKAFYSSFMALMSLMLQMRNSITGRTDVDFLISPVKN
SDGIFYDSRNYEAQENAILPKNADANGAYNIARKVLWAIGQFKA AEDEKLDKVKIAISNKE
WLEYAQTSVKHKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

30

40

(配列番号 3 7)

【 0 1 6 5 】

配列番号 3 7 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P

50

D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 6 6 】

配列番号 3 7 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 6 7 】

ATGAGCAAGCTGGAGAAGTTTACAACTGCTACTCCCTGTCTAAGACCCTGAGGTTCAA
GGCCATCCCTGTGGGCAAGACCCAGGAGAACATCGACAATAAGCGGCTGCTGGTGGAGG
ACGAGAAGAGAGCCGAGGATTATAAGGGCGTGAAGAAGCTGCTGGATCGCTACTATCTG
TCTTTTATCAACGACGTGCTGCACAGCATCAAGCTGAAGAATCTGAACAATTACATCAG
CCTGTTCCGGAAGAAAACCAGAACCGAGAAGGAGAATAAGGAGCTGGAGAACCTGGAG
ATCAATCTGCGGAAGGAGATCGCCAAGGCCTTCAAGGGCAACGAGGGCTACAAGTCCCT
GTTTAAGAAGGATATCATCGAGACAATCCTGCCAGAGTTCCTGGACGATAAGGACGAGA
TCGCCCTGGTGAACAGCTTCAATGGCTTTACCACAGCCTTCACCGGCTTCTTTGATAAC
AGAGAGAATATGTTTTCCGAGGAGGCCAAGAGCACATCCATCGCCTTCAGGTGTATCAA
CGAGAATCTGACCCGCTACATCTCTAATATGGACATCTTCGAGAAGGTGGACGCCATCT
TTGATAAGCACGAGGTGCAGGAGATCAAGGAGAAGATCCTGAACAGCGACTATGATGTG
GAGGATTTCTTTGAGGGCGAGTTCTTTAACTTTGTGCTGACACAGGAGGGCATCGACGT
GTATAACGCCATCATCGGCGGCTTCGTGACCGAGAGCGGCGAGAAGATCAAGGGCCTGA
ACGAGTACATCAACCTGTATAATCAGAAAACCAAGCAGAAGCTGCCTAAGTTTAAGCCA
CTGTATAAGCAGGTGCTGAGCGATCGGGAGTCTCTGAGCTTCTACGGCGAGGGCTATAC
ATCCGATGAGGAGGTGCTGGAGGTGTTTAGAAACACCCTGAACAAGAACAGCGAGATCT
TCAGCTCCATCAAGAAGCTGGAGAAGCTGTTCAAGAATTTTGACGAGTACTCTAGCGCC
GGCATCTTTGTGAAGAACGGCCCCGCCATCAGCACAATCTCCAAGGATATCTTCGGCGA
GTGGAACGTGATCCGGGACAAGTGGAATGCCGAGTATGACGATATCCACCTGAAGAAGA
AGGCCGTGGTGACCGAGAAGTACGAGGACGATCGGAGAAAGTCCTTCAAGAAGATCGGC
TCCTTTTCTCTGGAGCAGCTGCAGGAGTACGCCGACGCCGATCTGTCTGTGGTGGAGAA
GCTGAAGGAGATCATCATCCAGAAGGTGGATGAGATCTACAAGGTGTATGGCTCCTCTG
AGAAGCTGTTTCGACGCCGATTTTGTGCTGGAGAAGAGCCTGAAGAAGAACGACGCCGTG
GTGGCCATCATGAAGGACCTGCTGGATTCTGTGAAGAGCTTCGAGAATTACATCAAGGC
CTTCTTTGGCGAGGGCAAGGAGACAAACAGGGACGAGTCCTTCTATGGCGATTTTGTGC
TGGCCTACGACATCCTGCTGAAGGTGGACCACATCTACGATGCCATCCGCAATTATGTG
ACCCAGAAGCCCTACTCTAAGGATAAGTTCAAGCTGTATTTTCAGAACCCTCAGTTCAT
GGGCGGCTGGGACAAGGATAAGGAGACAGACTATCGGGCCACCATCCTGAGATACGGCT
CCAAGTACTATCTGGCCATCATGGATAAGAAGTACGCCAAGTGCCCTGCAGAAGATCGAC
AAGGACGATGTGAACGGCAATTACGAGAAGATCAACTATAAGCTGCTGCCCCGGCCCTAA
TAAGATGCTGCCAAAGGTGTTCTTTTCTAAGAAGTGATGGCCTACTATAACCCCAGCG
AGGACATCCAGAAGATCTACAAGAATGGCACATTCAAGAAGGGCGATATGTTTAACCTG
AATGACTGTCACAAGCTGATCGACTTCTTTAAGGATAGCATCTCCCGGTATCCAAAGTG
GTCCAATGCCTACGATTTCAACTTTTCTGAGACAGAGAAGTATAAGGACATCGCCGGCT
TTTACAGAGAGGTGGAGGAGCAGGGCTATAAGGTGAGCTTCGAGTCTGCCAGCAAGAAG
GAGGTGGATAAGCTGGTGGAGGAGGGCAAGCTGTATATGTTCCAGATCTATAACAAGGA
CTTTTCCGATAAGTCTCACGGCACACCCAATCTGCACACCATGTACTTCAAGCTGCTGT
TTGACGAGAACAATCACGGACAGATCAGGCTGAGCGGAGGAGCAGAGCTGTTTCATGAGG
CGCGCCTCCCTGAAGAAGGAGGAGCTGGTGGTGCACCCAGCCAACTCCCCTATCGCCAA
CAAGAATCCAGATAATCCCAAGAAAACCACAACCCTGTCCTACGACGTGTATAAGGATA
AGAGGTTTTCTGAGGACCAGTACGAGCTGCACATCCCAATCGCCATCAATAAGTGCCCC
AAGAACATCTTCAAGATCAATACAGAGGTGCGCGTGCTGCTGAAGCACGACGATAACCC
CTATGTGATCGGCATCGATAGGGGCGAGCGCAATCTGCTGTATATCGTGGTGGTGGACG
GCAAGGGCAACATCGTGGAGCAGTATTCCCTGAACGAGATCATCAACAACCTTCAACGGC
ATCAGGATCAAGACAGATTACCACTCTCTGCTGGACAAGAAGGAGAAGGAGAGGTTTCGA
GGCCCGCCAGAAGTGGACCTCCATCGAGAATATCAAGGAGCTGAAGGGCGGCTATATCT

10

20

30

40

50

CTCAGGTGGTGCACAAGATCTGCGAGCTGGTGGAGAAGTACGATGCCGTGATCGCCCTG
GAGGACCTGAACTCTGGCTTTAAGAATAGCCGCGTGAAGGTGGAGAAGCAGGTGTATCA
GAAGTTCGAGAAGATGCTGATCGATAAGCTGAACTACATGGTGGACAAGAAGTCTAATC
CTTGTGCAACAGGCGGCGCCCTGAAGGGCTATCAGATCACCAATAAGTTCGAGAGCTTT
AAGTCCATGTCTACCCAGAACGGCTTCATCTTTTACATCCCTGCCTGGCTGACATCCAA
GATCGATCCATCTACCGGCTTTGTGAACCTGCTGAAAACCAAGTATACCAGCATCGCCG
ATTCCAAGAAGTTCATCAGCTCCTTTGACAGGATCATGTACGTGCCCGAGGAGGATCTG
TTCGAGTTTGCCCTGGACTATAAGAACTTCTCTCGCACAGACGCCGATTACATCAAGAA
GTGGAAGCTGTACTCCTACGGCAACCGGATCAGAATCTTCCGGAATCCTAAGAAGAACA
ACGTGTTTCGACTGGGAGGAGGTGTGCCTGACCAGCGCCTATAAGGAGCTGTTCAACAAG
TACGGCATCAATTATCAGCAGGGCGATATCAGAGCCCTGCTGTGCGAGCAGTCCGACAA
GGCCTTCTACTCTAGCTTTATGGCCCTGATGAGCCTGATGCTGCAGATGCGGAACAGCA
TCACAGGCCGACCGACGTGGATTTTCTGATCAGCCCTGTGAAGAACTCCGACGGCATC
TTCTACGATAGCCGGAACCTATGAGGCCAGGAGAATGCCATCCTGCCAAAGAACGCCGA
CGCCAATGGCGCCTATAACATCGCCAGAAAGGTGCTGTGGGCCATCGGCCAGTTCAAGA
AGGCCGAGGACGAGAAGCTGGATAAGGTGAAGATCGCCATCTCTAACAAGGAGTGGCTG
GAGTACGCCCAGACCAGCGTGAAGCACAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCA
GGCAAAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACG
ACGTGCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 3 8)

【 0 1 6 8 】

N L S 及び H A タグを含む *P o r p h y r o m o n a s c r e v i o r i c a n i s*
(P c C p f 1 ; p Y 0 1 7) :

【 0 1 6 9 】

MDSLKDFTNLYPVSKTLRFELKPVGKTLENIEKAGILKEDEHRAESYRRVKKIIDTYHKVF
IDSSLENMAKMGIEKAMQLSFCELYKKDHRTEGEDKALDKIRAVLRGLIVGAFTGVC
GRRENTVQNEKYESLFKEKLIKEILPDFVLSTEAESLPFSVEEATRSKEFDSFTSYFAGFY
ENRKNISTKPKQSTAIAYRLIHENLPKFIDNLFVQKIKEPIAKELEHIRADFSAGGYIKKDE
RLEDIFSLNYYIHVLSQAGIEKYNALIGKIVTEGDGEMKGLNEHINLYNQQRGREDRLPLF
RPLYKQILSDREQLSYLPESFEKDEELLRALKEFYDHIAEDILGRTQQLMTSISEYDLRIY
VRNDSQLTDISKMLGDWNAIYMARERAYDHEQAPKRITAKYERDRIKALKGEESISLAN
LNSCIAFLDNVRDCRVDTYLSTLGQKEGPHGLSNLVENVFASYHEAEQLLSFPYPEENNLI
QDKDNVVLKLNLLDNISDLQRFLKPLWGMGDEPDKDERFYGEYNYIRGALDQVIPLYNK
VRNYLTRKPYSTRKVKLNFGNSQLLSGWDNRNKEKDNSCVILRKGQNFYLAIMNNRHKRS
FENKMLPEYKEGEPYFEKMDYKFLPDPNKMLPKVFLSKGIEIYKPSPKLLEQYGHGTHK
KGDTFMSDDLHELIDFFKHSIEAHEDWKQFGKFSDTATYENVSSFYREVEDQGYKLSFR
KVSESYVYSLIDQGKLYLFQIYNKDFSPCSKGTPLNHTLYWRMLFDERNLADVYKLDGK
AEIFFREKSLKNDHPHPAGKPIKKKSQRQKKGESLFEYDLVKDRRYTMDKFQFHVPI
TMNFKCSAGSKVNDMVNAHIREAKDMHVIGIDRGERNLLYICVIDSRGTILDQISLNTINDID
YHDLLESRDKDRQQEHRNWQTIEGKELKQGYLSQAVHRIAELMVAYKAVVALEDLNMG
FKRGRQKVESVYQQFEKQLIDKLNLYLVDKKKRPEDIGLLRAYQFTAPFKSFKEMGKQN
GFLFYIPAWNTSNIDPTTGfVNLfHVQYENVDKAKSFFQKFDSISYNPKKDWFEFAFDYK
NFTKKAEGSRSMWILCTHGSRIKNFRNSQKNGQWDSEEFALTEAFKSLFVRYEIDYTADL
KTAIVDEKQKDFFDLLKFLKLTVMRNSWKEKDLDYLISPVAGADGRFFDTREGNKSLP
KADANGAYNIALKGLWALRQIRQTSEGGKLLAISNKEWLQFVQERSYEKDKRPAATK
KAGQAKKKKGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 3 9)

【 0 1 7 0 】

配列番号 3 9 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号
1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P

10

20

30

40

50

D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 7 1 】

配列番号 3 9 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 7 2 】

ATGGACAGCCTGAAGGATTTACCAACCTGTACCCCGTGTCCAAGACACTGCGGTTTGA
GCTGAAGCCTGTGGGCAAGACCCTGGAGAATATCGAGAAGGCCGGCATCCTGAAGGAGG
ATGAGCACAGAGCCGAGAGCTACCGGAGAGTGAAGAAGATCATCGATACATATCACAAG
GTGTTTCATCGACAGCTCCCTGGAGAACATGGCCAAGATGGGCATCGAGAATGAGATCAA
GGCCATGCTGCAGTCCTTTTGGCAGCTGTATAAGAAGGACCACAGGACCGAGGGAGAGG
ACAAGGCCCTGGATAAGATCAGGGCCGTGCTGAGGGGCGCTGATCGTGGGAGCCTTCACC
GGCGTGTGCGGCCGGCGGGAGAACACAGTGCAGAATGAGAAGTATGAGAGCCTGTTTAA
GGAGAAGCTGATCAAGGAGATCCTGCCAGATTTCTGTGCTGTCTACAGAGGCCGAGTCCC
TGCCCTTTTCTGTGGAGGAGGCCACCAGAAGCCTGAAGGAGTTTCTGACTCCTTTACATCT
TACTTCGCCGGCTTTTATGAGAACCGGAAGAATATCTACTCTACCAAGCCCCAGAGCAC
AGCCATCGCCTATAGACTGATCCACGAGAACCTGCCTAAGTTCATCGATAATATCCTGG
TGTTTCAGAAGATCAAGGAGCCAATCGCCAAGGAGCTGGAGCACATCAGGGCAGACTTC
AGCGCCGGCGGCTACATCAAGAAGGATGAGCGCCTGGAGGACATCTTTTCCCTGAACTA
CTATATCCACGTGCTGTCTCAGGCCGGCATCGAGAAGTACAATGCCCTGATCGGCAAGA
TCGTGACCGAGGGCGATGGCGAGATGAAGGGCCTGAACGAGCACATCAACCTGTATAAT
CAGCAGAGGGGCGCGAGGACCGGCTGCCACTGTTTCAGACCCCTGTATAAGCAGATCCT
GTCTGATAGGGAGCAGCTGTCCTATCTGCCAGAGTCTTTTCGAGAAGGACGAGGAGCTGC
TGAGGGCCCTGAAGGAGTTTTACGATCACATCGCAGAGGACATCCTGGGAAGGACCCAG
CAGCTGATGACAAGCATCTCCGAGTACGATCTGTCCCGGATCTATGTGAGAAACGATAG
CCAGCTGACCGACATCTCCAAGAAGATGCTGGGCGATTGGAATGCCATCTACATGGCCC
GGGAGAGAGCCTATGACCACGAGCAGGCCCCCAAGCGCATCACAGCCAAGTACGAGAGG
GACCGCATCAAGGCCCTGAAGGGCGAGGAGTCTATCAGCCTGGCCAACCTGAACAGCTG
CATCGCCTTCCTGGACAACGTGAGGGATTGTGCGTGGACACCTATCTGTCTACACTGG
GACAGAAGGAGGGACCTCACGGCCTGAGCAACCTGGTGGAGAACGTGTTGCGCTCCTAC
CACGAGGCCGAGCAGCTGCTGTCTTTTCCCTATCCTGAGGAGAACAATCTGATCCAGGA
CAAGGATAACGTGGTGCTGATCAAGAACCTGCTGGATAATATCAGCGACCTGCAGAGGT
TCCTGAAGCCACTGTGGGGCATGGGCGATGAGCCCGACAAGGATGAGAGGTTTTACGGC
GAGTACAATTATATCAGGGGCGCCCTGGACCAGGTCATCCCTCTGTATAACAAGGTGCG
GAATTATCTGACCCGCAAGCCATACTCCACACGCAAGGTGAAGCTGAACCTCGGCAATA
GCCAGCTGCTGTCCGGCTGGGATAGGAACAAGGAGAAGGACAATTCTTGCGTGATCCTG
CGCAAGGGCCAGAACTTCTACCTGGCCATCATGAACAATCGGCACAAGCGGAGCTTCGA
GAATAAGATGCTGCCCCGAGTATAAGGAGGGCGAGCCTTACTTCGAGAAGATGGATTATA
AGTTTCTGCCAGACCCCAACAAGATGCTGCCCAAGGTGTTCTGTCTAAGAAGGGCATC
GAGATCTACAAGCCTAGCCCAAAGCTGCTGGAGCAGTATGGCCACGGCACCCACAAGAA
GGGCGATACCTTCAGCATGGACGATCTGCACGAGCTGATCGACTTCTTTAAGCACTCCA
TCGAGGCCACGAGGATTGGAAGCAGTTCGGCTTTAAGTTCAGCGACACCGCCACATAC
GAGAACGTGAGCAGCTTCTACCGGGAGGTGGAGGACCAGGGCTACAAGCTGTCTTTTAG
AAAGGTGTCCGAGTCTTACGTGTATAGCCTGATCGATCAGGGCAAGCTGTACCTGTTCC
AGATCTATAACAAGGACTTTAGCCCTTGTTCCAAGGGCACCCCAAATCTGCACACACTG
TACTGGCGGATGCTGTTTCGATGAGAGAAACCTGGCCGACGTGATCTATAAGCTGGATGG
CAAGGCCGAGATCTTCTTTTCGGGAGAAGTCCCTGAAGAATGACCACCCAACCCACCCTG
CAGGCAAGCCCATCAAGAAGAAGAGCCGGCAGAAGAAGGGCGAGGAGAGCCTGTTTGA
GTACGATCTGGTGAAGGACCGGAGATATACCATGGATAAGTTTCAGTTCCACGTGCCAA
TCACAATGAACCTTAAGTGCTCTGCCGGCAGCAAGGTGAACGACATGGTGAATGCCAC
ATCAGGGAGGCCAAGGACATGCACGTGATCGGCATCGATAGGGGCGAGCGCAATCTGCT
GTATATCTGCGTGATCGACAGCCGCGGCACCATCCTGGATCAGATCTCCCTGAACACAA

10

20

30

40

50

TCAATGACATCGATTATCACGATCTGCTGGAGTCCAGGGACAAGGATCGCCAGCAGGAG
CACAGGAACTGGCAGACCATCGAGGGCATCAAGGAGCTGAAGCAGGGCTACCTGTCTCA
GGCCGTGCACCGCATCGCCGAGCTGATGGTGGCCTATAAGGCCGTGGTGGCCCTGGAGG
ACCTGAACATGGGCTTCAAGCGGGGCAGACAGAAGGTGGAGAGCAGCGTGTACCAGCAG
TTTGAGAAGCAGCTGATCGACAAGCTGAATTATCTGGTGGATAAGAAGAAGCGGCCCGA
GGACATCGGAGGCCTGCTGAGAGCCTACCAGTTCACCGCCCCTTTCAAGAGCTTTAAGG
AGATGGGCAAGCAGAACGGCTTTCTGTTCTATATCCCTGCCTGGAACACATCCAATATC
GACCCAACCACAGGCTTCGTGAACCTGTTTCACGTGCAGTACGAGAATGTGGATAAGGC
CAAGAGCTTCTTTTCAAGATTTCGACAGCATCTCCTACAACCCTAAGAAGGATTGGTTTG
AGTTTCGCCTTTGACTATAAGAAGCTTCACCAAGAAGGCCGAGGGCTCTAGGAGCATGTGG
ATTCTGTGCACCCACGGCTCCCGGATCAAGAAGCTTCAGAAATTCTCAGAAGAATGGCCA
GTGGGATAGCGAGGAGTTTGGCCCTGACCGAGGCCTTCAAGTCCCTGTTTGTGCGGTACG
AGATCGATTATACCGCCGACCTGAAAACCGCCATCGTGGACGAGAAGCAGAAGGATTTC
TTTGTGGACCTGCTGAAGCTGTTCAAGCTGACCGTGCAGATGAGAACTCCTGGAAGGA
GAAGGACCTGGATTACCTGATCTCTCCAGTGGCCGGCGCCGATGGCAGGTTCTTTGACA
CACGCGAGGGCAATAAGAGCCTGCCCAAGGACGCAGATGCAAACGGAGCCTATAATATC
GCCCTGAAGGGCCTGTGGGCACTGAGGCAGATCAGACAGACCTCCGAGGGCGGCAAGCT
GAAGCTGGCCATCTCTAACAAGGAGTGGCTGCAGTTTGTGCAGGAGAGATCCTACGAGA
AGGACAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCAAAAAAGAAAAGGGATC
CTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGTGCCTGATTATGCATACC
CATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

10

20

(配列番号 4 0)

【 0 1 7 3 】

N L S 及び H A タグを含む *Prevotella disiens* (P d C p f 1 ; p
Y 0 1 8) :

【 0 1 7 4 】

MENYQEFTNLFQLNKTLRFELKPIGKTCELLEEGKIFASGSFLEKDKVRADNVSYVKKEID
KKHKIFIEETLSSFSISNDLLKQYFDCYNELKAFKKDCKSDEEEVKKTALRNKCTSIQRAM
REAISQAFLKSPQKKLLAIKNLIENVFKADENVQHFSEFTSYFSGFETNRENFYSDDEEKSTS
IAYRLVHDNLPIFIKNIYIFEKLKEQFDAKTLSEIFENYKLYVAGSSLDEVFSLEYFNNTLT
QKGIDNYNAVIGKIVKEDKQEIQGLNEHINLYNQKHKDRRLPFFISLKKQILSDREALSWL
PDMFKNDSEVIKALKGFYIEDGFENNVLTPLATLLSSLDKYNLNGIFIRNNEALSSLSQNV
YRNFSIDEAIDANAELQTFNNYELIANALRAKIKKETKQGRKSFEKYEYIDKKVKAIDSLS
IQEINELVENYVSEFNSNSGNMPRKVEDYFSLMRKGDGFSNDLIENIKTKLSAAEKLLGTK
YQETAKDIFKKDENSCLKELLDATKQFQHFQFIKPLLGTGEEADRLVIFYGDFLPLYEKFEE
LTLNLYNKNVRNRLTQKPYSKDKIRLCFNKPKLMTGWVDSKTEKSDNGTQYGGYLFRKKNE
IGEYDYFLGISSKAQLFRKNEAVIGDYERLDYYQPKANTIYGSAYEGENSYKEDKKRLNKV
IIAYIEQIKQTNIKKSIIESISKYPNISDDDKVTPSSLLEKIKKVSIDSYNGILSFKSFQSVNKE
VIDNLLKTISPLKNKAFLDLINKDYQIFTEVQAVIDEICKQKTFIYFPISNVELEKEMGDK
DKPLCLFQISNKDLSFAKTFSANLRKKRGAENLHTMLFKALMEGNQDNLDLGSGAIFYRA
KSLDGNKPTHANEAIKCRNVANKDKVSLFTYDIYKNRRYMENKFLFHLISIVQNYKAAN
DSAQLNSSATEYIRKADDLHIIGIDRGERNLLYYSVIDMKGNIVEQDSLNIIRNNDLETDY
HDLLDKREKERKANRQNWEAVEGIKDLKKGYSQAVHQIAQLMLKYNIAIALEDLGQMF
VTRGQKIEKAVYQQFEKSLVDKLSYLVDKKRPYNELGGILKAYQLASSITKNNSDKQNGF
LFYVPAWNTSKIDPVTGFTDLLRPKAMTIKEAQDFFGAFDNISYNDKGYFEFETNYDKFK
IRMKSAQTRWTICTFGNRIKRKKDKNYWNYEEVELTEEFKKLFKDSNIDYENCNLKEEIQ
NKDNRKFFDDLIKLLQLTLQMRNSDDKGNDYIISPVANAEGQFFDSRNGDKKLPLDADAN
GAYNIARKGLWNIRQIKQTKNDKKLNLSISSTEWLDFVREKPYLKKRPAATKKAGQAKKK
KGSYPYDVPDYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

30

40

(配列番号 4 1)

50

【 0 1 7 5 】

配列番号 4 1 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 7 6 】

配列番号 4 1 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 7 7 】

```
ATGGAGA ACTATCAGGAGTTCACCAACCTGTTTCAGCTGAATAAGACACTGAGATTCTGA
GCTGAAGCCCATCGGCAAGACCTGCGAGCTGCTGGAGGAGGGCAAGATCTTCGCCAGCG
GCTCCTTTCTGGAGAAGGACAAGGTGAGGGCCGATAACGTGAGCTACGTGAAGAAGGAG
10 ATCGACAAGAAGCACAAGATCTTTATCGAGGAGACACTGAGCTCCTTCTCTATCAGCAA
CGATCTGCTGAAGCAGTACTTTGACTGCTATAATGAGCTGAAGGCCTTCAAGAAGGACT
GTAAGAGCGATGAGGAGGAGGTGAAGAAAACCGCCCTGCGCAACAAGTGTACCTCCATC
CAGAGGGCCATGCGCGAGGCCATCTCTCAGGCCTTTCTGAAGAGCCCCCAGAAGAAGCT
GCTGGCCATCAAGAACCTGATCGAGAACGTGTTCAAGGCCGACGAGAATGTGCAGCACT
TCTCCGAGTTTACCAGCTATTTCTCCGGCTTTGAGACAAACAGAGAGAATTTCTACTCT
GACGAGGAGAAGTCCACATCTATCGCCTATAGGCTGGTGCACGATAACCTGCCTATCTT
CATCAAGAACATCTACATCTTCGAGAAGCTGAAGGAGCAGTTCGACGCCAAGACCCTGA
GCGAGATCTTCGAGAACTACAAGCTGTATGTGGCCGGCTCTAGCCTGGATGAGGTGTTT
20 TCCCTGGAGTACTTTAACAATACCCTGACACAGAAGGGCATCGACA ACTATAATGCCGT
GATCGGCAAGATCGTGAAGGAGGATAAGCAGGAGATCCAGGGCCTGAACGAGCACATCA
ACCTGTATAATCAGAAGCACAAGGACCGGAGACTGCCCTTCTTTATCTCCCTGAAGAAG
CAGATCCTGTCCGATCGGGAGGCCCTGTCTTGGCTGCCTGACATGTTCAAGAATGATTC
TGAAGTGATCAAGGCCCTGAAGGGCTTCTACATCGAGGACGGCTTTGAGAACAAATGTGC
TGACACCTCTGGCCACCCTGCTGTCTCTCTGGATAAGTACAACCTGAATGGCATCTTT
ATCCGCAACAATGAGGGCCTGAGCTCCCTGTCCCAGAACGTGTATCGGAATTTTTCTAT
CGACGAGGCCATCGATGCCAACGCCGAGCTGCAGACCTTCAACAATTACGAGCTGATCG
CCAATGCCCTGCGCGCCAAGATCAAGAAGGAGACAAAGCAGGGCCGGAAGTCTTTTCGAG
AAGTACGAGGAGTATATCGATAAGAAGGTGAAGGCCATCGACAGCCTGTCCATCCAGGA
30 GATCAACGAGCTGGTGGAGAATTACGTGAGCGAGTTTAACTCTAATAGCGGCAACATGC
CAAGAAAGGTGGAGGACTACTTCAGCCTGATGAGGAAGGGCGACTTCGGCTCCAACGAT
CTGATCGAAAATATCAAGACCAAGCTGAGCGCCGAGAGAACTGCTGGGCACAAAGTA
CCAGGAGACAGCCAAGGACATCTTCAAGAAGGATGAGAACTCCAAGCTGATCAAGGAGC
TGCTGGACGCCACCAAGCAGTTCCAGCACTTTATCAAGCCACTGCTGGGCACAGGCGAG
GAGGCAGATCGGGACCTGGTGTCTACGGCGATTTTCTGCCCTGTATGAGAAGTTTGA
GGAGCTGACCCTGCTGTATAACAAGGTGCGGAATAGACTGACACAGAAGCCCTATTCCA
AGGACAAGATCCGCCTGTGCTTCAACAAGCCTAAGCTGATGACAGGCTGGGTGGATTCC
AAGACCGAGAAGTCTGACAACGGCACACAGTACGGCGGCTATCTGTTTCGGAAGAAGAA
TGAGATCGGCGAGTACGATTATTTTCTGGGCATCTCTAGCAAGGCCAGCTGTTTCAGAA
40 AGAACGAGGCCGTGATCGGCGACTACGAGAGGCTGGATTACTATCAGCCAAAGGCCAAT
ACCATCTACGGCTCTGCCTATGAGGGCGAGAACAGCTACAAGGAGGACAAGAAGCGGCT
GAACAAAGTGATCATCGCCTATATCGAGCAGATCAAGCAGACAAACATCAAGAAGTCTA
TCATCGAGTCCATCTCTAAGTATCCTAATATCAGCGACGATGACAAGGTGACCCCATCC
TCTCTGCTGGAGAAGATCAAGAAGGTGTCTATCGACAGCTACAACGGCATCCTGTCTTT
CAAGTCTTTTCAGAGCGTGAACAAGGAAGTGATCGATAACCTGCTGAAAACCATCAGCC
CCCTGAAGAACAAGGCCGAGTTTCTGGACCTGATCAATAAGGATTATCAGATCTTCACC
GAGGTGCAGGCCGTGATCGACGAGATCTGCAAGCAGAAAACCTTCATCTACTTTCCAAT
CTCCAACGTGGAGCTGGAGAAGGAGATGGGCGATAAGGACAAGCCCCTGTGCCTGTTCC
AGATCAGCAATAAGGATCTGTCTTCGCCAAGACCTTTAGCGCCAACCTGCGGAAGAAG
50 AGAGGCGCCGAGAATCTGCACACAATGCTGTTTAAGGCCCTGATGGAGGGCAACCAGGA
```

20

【 0 1 7 8 】

30

【 0 1 7 9 】

50

LWTLTTFGSRIAKSKKSGKWMVERIENLSLCFLELFEQFNIGYRVEKDLKKAILSQDRKEF
YVRLIYLFNLMMQIRNSDGEEDYILSPALNEKNLQFDSRLIEAKDLPVDADANGAYNVAR
KGLMVVQRIKRGDHESIHRIGRAQWLRVQEGIVEKRPAATKKAGQAKKKKGSYPYDVP
DYAYPYDVPDYAYPYDVPDYA

(配列番号 4 3)

【 0 1 8 0 】

配列番号 4 3 は、核局在化シグナル (K R P A A T K K A G Q A K K K K) (配列番号 1 2)、その次にグリシン - セリンリンカー (G S)、その次に H A タグ (Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A Y P Y D V P D Y A) (配列番号 1 3) を含む。

【 0 1 8 1 】

配列番号 4 3 は以下のヌクレオチド配列によってコードされ得る。

【 0 1 8 2 】

ATGAAAACCCAGCACTTCTTTGAGGACTTCACAAGCCTGTACTCTCTGAGCAAGACCAT
CCGGTTTGAGCTGAAGCCAATCGGCAAGACCCTGGAGAACATCAAGAAGAATGGCCTGA
TCCGGAGAGATGAGCAGAGACTGGACGATTACGAGAAGCTGAAGAAAGTGATCGACGAG
TATCACGAGGATTTTCATCGCCAACATCCTGAGCTCCTTTTCCTTCTCTGAGGAGATCCT
GCAGTCCTACATCCAGAATCTGAGCGAGTCCGAGGCCAGGGCCAAGATCGAGAAAACCA
TGCGCGACACACTGGCCAAGGCCTTCTCTGAGGATGAGAGGTACAAGAGCATCTTTAAG
AAGGAGCTGGTGAAGAAGGACATCCCCGTGTGGTGCCCTGCCTATAAGAGCCTGTGCAA
GAAGTTCGATAACTTTACCACATCTCTGGTGCCCTTCCACGAGAACAGGAAGAACCTGT
ATACCAGCAATGAGATCACAGCCTCTATCCCTTATCGCATCGTGACGTGAACCTGCCA
AAGTTTATCCAGAATATCGAGGCCCTGTGCGAGCTGCAGAAGAAGATGGGCGCCGACCT
GTACCTGGAGATGATGGAGAACCTGCGCAACGTGTGGCCCAGCTTCGTGAAAACCCAG
ACGACCTGTGCAACCTGAAAACCTATAATCACCTGATGGTGCAGTCTAGCATCAGCGAG
TACAACAGGTTTGTGGGCGGCTATTCCACCGAGGACGGCACAAAGCACCAGGGCATCAA
CGAGTGGATCAATATCTACAGACAGAGGAATAAGGAGATGCGCCTGCCTGGCCTGGTGT
TCCTGCACAAGCAGATCCTGGCCAAGGTGGACTCCTCTAGCTTCATCAGCGATACACTG
GAGAACGACGATCAGGTGTTTTGCGTGCTGAGACAGTTCAGGAAGCTGTTTTGGAATAC
CGTGTCCTCTAAGGAGGACGATGCCGCCTCCCTGAAGGACCTGTTCTGTGGCCTGTCTG
GCTATGACCCTGAGGCCATCTACGTGAGCGATGCCACCTGGCCACAATCTCCAAGAAC
ATCTTTGACAGATGGAATTACATCTCCGATGCCATCAGGCGCAAGACCGAGGTGCTGAT
GCCACGGAAGAAGGAGAGCGTGGAGAGATATGCCGAGAAGATCTCCAAGCAGATCAAG
AAGAGACAGTCTTACAGCCTGGCCGAGCTGGACGATCTGCTGGCCCACTATAGCGAGGA
GTCCCTGCCCCGAGGCTTCTCTCTGCTGAGCTACTTTACATCTCTGGGCGGCCAGAAGT
ATCTGGTGAGCGACGGCGAAGTGATCCTGTACGAGGAGGGCAGCAACATCTGGGACGAG
GTGCTGATCGCCTTCAGGGATCTGCAGGTCATCCTGGACAAGGACTTCACCGAGAAGAA
GCTGGGCAAGGATGAGGAGGCCGTGTCTGTGATCAAGAAGGCCCTGGACAGCGCCCTGC
GCCTGCGGAAGTTCTTTGATCTGCTGTCCGGCACAGGCGCAGAGATCAGGAGAGACAGC
TCCTTCTATGCCCTGTATACCGACCGGATGGATAAGCTGAAGGGCCTGCTGAAGATGTA
TGATAAGGTGAGAACTACCTGACCAAGAAGCCTTATTCCATCGAGAAGTTCAAGCTGC
ACTTTGACAACCCATCCCTGCTGTCTGGCTGGGATAAGAATAAGGAGCTGAACAATCTG
TCTGTGATCTTCCGGCAGAACGGCTACTATTACCTGGGCATCATGACACCCAAGGGCAA
GAATCTGTTCAAGACCCTGCCTAAGCTGGGCGCCGAGGAGATGTTTTATGAGAAGATGG
AGTACAAGCAGATCGCCGAGCCTATGCTGATGCTGCCAAAGGTGTTCTTTCCCAAGAAA
ACCAAGCCAGCCTTCGCCCCAGACCAGAGCGTGGTGGATATCTACAACAAGAAAACCTT
CAAGACAGGCCAGAAGGGCTTTAATAAGAAGGACCTGTACCGGCTGATCGACTTCTACA
AGGAGGCCCTGACAGTGACAGAGTGGAAGCTGTTTAACTTCTCCTTTTCTCCAACCGAG
CAGTATCGGAATATCGGCGAGTTCTTTGACGAGGTGAGAGAGCAGGCCTACAAGGTGTC
CATGGTGAACGTGCCCGCCTCTTATATCGACGAGGCCGTGGAGAACGGCAAGCTGTATC
TGTTCCAGATCTACAATAAGGACTTCAGCCCCTACTCCAAGGGCATCCCTAACCTGCAC

10

20

30

40

50

ACACTGTATTGGAAGGCCCTGTTTCAGCGAGCAGAATCAGAGCCGGGTGTATAAGCTGTG
CGGAGGAGGAGAGCTGTTTTATAGAAAGGCCAGCCTGCACATGCAGGACACCACAGTGC
ACCCCAAGGGCATCTCTATCCACAAGAAGAACCTGAATAAGAAGGGCGAGACAAGCCTG
TTCAACTACGACCTGGTGAAGGATAAGAGGTTTACCGAGGACAAGTTCTTTTTCCACGT
GCCTATCTCTATCAACTACAAGAATAAGAAGATCACCAACGTGAATCAGATGGTGC GCG
ATTATATCGCCCAGAACGACGATCTGCAGATCATCGGCATCGACCGCGGCGAGCGGAAT
CTGCTGTATATCAGCCGGATCGATACAAGGGGCAACCTGCTGGAGCAGTTCAGCCTGAA
TGTGATCGAGTCCGACAAGGGCGATCTGAGAACCGACTATCAGAAGATCCTGGGCGATC
GCGAGCAGGAGCGGCTGAGGCGCCGGCAGGAGTGGAAGTCTATCGAGAGCATCAAGGAC
CTGAAGGATGGCTACATGAGCCAGGTGGTGCACAAGATCTGTAACATGGTGGTGGAGCA
CAAGGCCATCGTGGTGGTGGAGAACCTGAATCTGAGCTTCATGAAGGGCAGGAAGAAGG
TGGAGAAGTCCGTGTACGAGAAGTTTGAGCGCATGCTGGTGGACAAGCTGAACTATCTG
GTGGTGGATAAGAAGAACCTGTCCAATGAGCCAGGAGGCCTGTATGCAGCATACCAGCT
GACCAATCCACTGTTCTCTTTTGAGGAGCTGCACAGATACCCCCAGAGCGGCATCCTGT
TTTTCGTGGACCCATGGAACACCTCTCTGACAGATCCCAGCACAGGCTTCGTGAATCTG
CTGGGCAGAACTCAACTACACCAATGTGGGCGACGCCCGCAAGTTTTTCGATCGGTTTTAA
CGCCATCAGATATGACGGCAAGGGCAATATCCTGTTTCGACCTGGATCTGTCCAGATTTG
ATGTGAGGGTGGAGACACAGAGGAAGCTGTGGACACTGACCACATTTCGGCTCTCGCATC
GCCAAATCCAAGAAGTCTGGCAAGTGATGGTGGAGCGGATCGAGAACCTGAGCCTGTG
CTTTCTGGAGCTGTTTCGAGCAGTTTAATATCGGCTACAGAGTGAGGAAGGACCTGAAGA
AGGCCATCCTGAGCCAGGATAGGAAGGAGTTCTATGTGCGCCTGATCTACCTGTTTAAC
CTGATGATGCAGATCCGGAACAGCGACGGCGAGGAGGATTATATCCTGTCTCCCGCCCT
GAACGAGAAGAATCTGCAGTTTCGACAGCAGGCTGATCGAGGCCAAGGATCTGCCTGTGG
ACGCAGATGCAAACGGAGCATACAATGTGGCCCCGCAAGGGCCTGATGGTGGTGCAGAGA
ATCAAGAGGGGCGACCACGAGTCCATCCACAGGATCGGAAGGGCACAGTGGCTGAGATA
TGTGCAGGAGGGCATCGTGGAGAAAAGGCCGGCGGCCACGAAAAAGGCCGGCCAGGCA
AAAAAGAAAAAGGGATCCTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTTATCCCTACGACGT
GCCTGATTATGCATACCCATATGATGTCCCCGACTATGCCTAA

(配列番号 4 4)

【 0 1 8 3 】

上記の非限定的な配列のいくつかは、核局在化シグナル及び / またはタグ配列 (例えば H A タグなど) などの配列を含む。様々な実施形態において、異なる核局在化シグナルが存在し得る。いくつかの実施形態において、核局在化シグナルを用いない。ある実施形態において、タグ (例えば H A タグ) を用いない。

【 0 1 8 4 】

タンパク質 (例えば遺伝子編集複合体中のタンパク質など) に関する様々な実施形態において、タンパク質は核局在化シグナルを含み得る。例えば、タンパク質 (例えば C a s タンパク質) は核局在化シグナル (N L S) を含み得る。そのようなシグナルは当該技術分野において公知であり、K a l d e r o n e t a l . , (1 9 8 4) C e l l 3 9 (3 P t 2) : 4 9 9 - 5 0 9 ; M a k k e r h e t a l . , (1 9 9 6) C u r r B i o l . 6 (8) : 1 0 2 5 - 7 ; 及び D i n g w a l l e t a l . , (1 9 9 1) T r e n d s i n B i o c h e m i c a l S c i e n c e s 1 6 (1 2) : 4 7 8 - 8 1 に非限定例が記載されており、それぞれの内容を参照により本明細書に援用する。核局在化シグナルの具体的な非限定例としては、G G S G P P K K K R K V (配列番号 5)、K R P A A T K K A G Q A K K K K (配列番号 1 2)、P K K K R K V (配列番号 4 5)、K R [P A A T K K A G Q A] K K K K (配列番号 4 6)、K R [X X X X X X X X X X] K K K K (配列番号 4 7)、K K X K (配列番号 4 8)、K R X K (配列番号 4 9)、K K X R (配列番号 5 0)、K R X R (配列番号 5 1)、A V K R P A A T K K A G Q A K K K K L D (配列番号 5 2)、M S R R R K A N P T K L S E N A K K L A K E V E N (配列番号 5 3)、P A A K R V K L D (配列番号 5 4)

、及び K L K I K R P V K (配列番号 55) が挙げられる。

【0185】

全般的な定義及び全般的な技術

別途具体的に定義しない限り、本明細書で用いるすべての科学技術用語は、当業者（例えば細胞培養、分子遺伝学、及び生化学における）によって一般に理解されるものと同じ意味を有するとみなすものとする。

【0186】

本明細書で用いる場合、数値または範囲との関連における用語「約」は、文脈上より限定された範囲に解釈されない限り、列挙または特許請求した数値または範囲の $\pm 10\%$ を意味する。

【0187】

上記の説明及び特許請求の範囲において、「の少なくとも1つ」または「の1つ以上」などの語句が要素または特徴の一連のリストの前に現れる場合がある。用語「及び/または」が2つ以上の要素または特徴のリストの中に現れる場合がある。用いられる文脈と暗示的または明示的に別途矛盾しない限り、そのような語句は、リストに挙げた要素もしくは特徴のいずれかを個別に、または列挙した要素もしくは特徴のいずれかを他の列挙した要素もしくは特徴のいずれかと併せて意味することを意図する。例えば、語句「A及びBの少なくとも1つ」、「A及びBの1つ以上」、ならびに「A及び/またはB」はすべて、「Aのみ、Bのみ、またはA及びBともに」を意味することを意図する。3つ以上の事項を含むリストについても同様の解釈を意図する。例えば、語句「A、B、及びCの少なくとも1つ」、「A、B、及びCの1つ以上」、ならびに「A、B、及び/またはC」はすべて、「Aのみ、Bのみ、Cのみ、A及びBともに、A及びCともに、B及びCともに、またはA及びB及びCともに」を意味することを意図する。さらに、上記及び特許請求の範囲における用語「に基づく」の使用は、「に少なくとも部分的に基づく」を意味することを意図し、そのため、列挙していない特徴または要素も許容される。

【0188】

用語「原形質膜」及び「細胞膜」は、本明細書では同じ意味で用いられ、細胞の外側の環境から細胞の内部を隔てる半透膜のことをいう。

【0189】

本明細書で用いる場合、「発現ベクター」は、1つ以上のポリヌクレオチドの発現を引き起こすことのできるDNAまたはRNAベクターである。発現ベクターは宿主細胞内で複製も可能であることが好ましい。発現ベクターは原核性または真核性のいずれかとしてことができ、典型的にはプラスミドである。本発明の発現ベクターには、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞、例えば原生動物、藻類、真菌、酵母、植物、動物、脊椎動物、無脊椎動物、節足動物、哺乳類、げっ歯類、霊長類、またはヒト細胞のうちの1つなどの本発明の宿主細胞において機能する（すなわち遺伝子発現を誘導する）任意のベクターが含まれる。本発明の発現ベクターは、調節配列、例えば転写制御配列、翻訳制御配列、複製起点、及び宿主細胞と適合性のあり、ポリヌクレオチドの発現を制御する他の調節配列などを含有する。特に、本発明の発現ベクターは転写制御配列を含む。転写制御配列は、転写の開始、伸長、及び終了を制御する配列である。特に重要な転写制御配列は、転写開始を制御するもの、例えばプロモーター、エンハンサー、オペレーター及びリプレッサー配列などである。好適な転写制御配列としては、本発明の細胞の少なくとも1つにおいて機能することのできる任意の転写制御配列が挙げられる。様々なそのような転写制御配列が当業者には公知である。好ましい実施形態において、本方法は、核酸分子またはコンストラクトを送達するためのウイルスベクター、例えばアデノウイルスなどの使用を含まない。

【0190】

パラメータ範囲を規定する場合、その範囲内のすべての整数及びその10分の1も本発明によって規定されることが理解される。例えば、「0.2~5mg」は、5.0mg以下の0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mgなどの開示である。

10

20

30

40

50

【0191】

用いられる文脈と暗示的または明示的に別途矛盾しない限り、細胞の「圧搾」、「圧搾すること」、「変形」などへの言及は、最小限の細胞傷害性で細胞のサイトゾル内に巨大分子を直接送達するために用いられるプロセスのことをいう。このアプローチの根底にある原理は、標的細胞の急速な機械的変形、または圧搾による一時的な膜破砕であり、これが液状媒体中の巨大分子の拡散による取込みを可能とし、その後、細胞膜修復が生じる（例えば2014年9月25日に公開された米国特許出願公開第2014/0287509号；2015年10月30日に出版されたPCT国際特許出願第PCT/US2015/058489号；及び2015年11月13日に出版されたPCT国際特許出願第PCT/2015/060689号を参照、それぞれの全内容を参照により本明細書に援用する）。

10

【0192】

本明細書で用いる場合、「gRNA」はCRISPR-CasシステムガイドRNAのことをいう。

【0193】

本明細書で用いる場合、用語「タンパク質複合体」は、結合パートナーとのタンパク質の特異的結合から生じる複合ユニットのことをいい、ここで前記結合パートナーは、前記タンパク質複合体を形成する1つ以上のタンパク質、1つ以上の核酸、または1つ以上のタンパク質及び1つ以上の核酸の組合せなどとしてすることができる。タンパク質複合体はタンパク質-タンパク質複合体、タンパク質-核酸複合体などであり得る。ある実施形態において、タンパク質複合体はタンパク質-タンパク質相互作用、例えば異なるタンパク質間の相互作用、または同じタンパク質の二量体、三量体、四量体もしくはより高位のオリゴマーを含み得る。タンパク質複合体のサブユニット間の（例えば2つ以上のタンパク質を含むタンパク質-タンパク質複合体もしくはタンパク質-核酸複合体における）またはタンパク質と核酸との間の（例えばタンパク質-核酸複合体における）相互作用は、一般に非結合性相互作用、例えば水素架橋、電子系、例えば（任意により共役）C-C二重結合または芳香環、例えばフェニル、及びヘテロ芳香環、例えばピロール、イミダゾール、インドール、ピリミジンもしくはプリン環などに起因する相互作用、ならびに金属原子と酸素、窒素または硫黄原子との間の相互作用などであるが、弱い、特に可逆的な共有結合性相互作用、例えば硫黄-硫黄架橋でもあり得る。

20

30

【0194】

「タンパク質-タンパク質複合体」は、タンパク質間の相互作用によって形成された2つ以上のタンパク質の組合せである複合ユニットを意味する。必ずしもこれに限らないが典型的には、「タンパク質複合体」は特異的な非共有結合性親和力を介した2つ以上のタンパク質同士の結合によって形成される。しかし、相互作用しているパートナー間で共有結合も存在し得る。例えば、2つの相互作用しているパートナーは、タンパク質複合体がより安定となるように共有結合で架橋される場合もある。

【0195】

同様に、「タンパク質-核酸複合体」は、タンパク質と核酸との間の相互作用を含む相互作用によって形成された少なくとも1つのタンパク質及び少なくとも1つの核酸の組合せである複合ユニットを意味する。典型的には、「タンパク質-核酸複合体」は非共有結合性親和力を介したタンパク質及び核酸の結合によって形成されるが、必ずしもこれに限らない。

40

【0196】

様々な実施形態において、遺伝子編集複合体はタンパク質-核酸複合体、例えばRNPなどである。RNPの非限定例はCasタンパク質及びgRNAを含むCRISPR-Cas RNPである。

【0197】

本明細書に記載の方法及びデバイスは、完全で機能的な遺伝子編集複合体を細胞内に送達する。遺伝子編集複合体のコンポーネントは送達中に解離することなく、細胞内への送

50

達後も機能を維持する。

【 0 1 9 8 】

完全で機能的な遺伝子編集複合体が細胞に送達されたかどうか判定するために、様々なアッセイが利用可能である。例えば、完全で機能的な遺伝子編集複合体が細胞に送達されたことを示すために、遺伝子編集複合体による遺伝子編集の検出が用いられ得る。代替としてまたは追加で、遺伝子編集複合体が送達された細胞は非変性条件（例えば非変性バッファまたはフレンチプレスなど）を用いて溶解され、非変性ゲルを用いてライセートが分析され、遺伝子編集複合体が細胞内で完全な状態であったかどうか判定され得る。代替としてまたは追加で、細胞は非変性条件を用いて溶解され、その後、免疫沈降を用いてライセートから遺伝子編集複合体が単離され得る（すなわち、免疫沈降を用いて複合体の1つのコンポーネントを別のコンポーネントと共単離できることを確認するため）。単離した遺伝子編集複合体は、遺伝子編集複合体が送達前/細胞圧搾前バッファ中に存在したかどうか、また、複合体がマイクロ流体/圧搾処理の後で処理した細胞内に存在し、完全及び/または機能的であるかどうか判定するために、非変性ゲルまたは変性アッセイ（例えばドデシル硫酸ナトリウム・ポリアクリルアミドゲル電気泳動など）を用いて、細胞への送達の前または後にアッセイすることができる。CRISPR-Cas9 RNPに関するいくつかの実施形態において、約145、150、155、または145~160 kDaの非変性ゲル上のバンドは、RNPが完全で機能的な遺伝子編集複合体として細胞内に送達されたことを示し得る。

10

【 0 1 9 9 】

本明細書で用いる場合、デバイス寸法は長さ、幅、及び任意により狭窄部の数を示す一連の数値で表される（例えば30 μ m - 6 m \times 5は長さ30 μ m、幅6 μ m、及び5つの狭窄部のデバイスを表す）。

20

【 0 2 0 0 】

例示の実施形態

本主題の態様は、溶液中の細胞を準備すること；細胞変形狭窄部を含むマイクロ流体チャネルに溶液を通過させること；狭窄部に細胞を通過させ、その結果、細胞に圧力が加わり、タンパク質及び核酸が透過するのに十分大きな細胞の摂動を引き起こすこと；ならびに細胞が狭窄部を通過する前、その最中、及び/またはその後に、細胞をタンパク質及び核酸と接触させることを含む、細胞内へのタンパク質及び核酸の送達方法を提供する。

30

【 0 2 0 1 】

いくつかの実施形態において、前記溶液は、細胞が狭窄部を通過する前、その最中、及び/またはその後にタンパク質及び核酸を含む。

【 0 2 0 2 】

いくつかの実施形態において、タンパク質及び核酸はタンパク質 - 核酸複合体を形成する。

【 0 2 0 3 】

いくつかの実施形態において、タンパク質及び核酸はタンパク質 - 核酸複合体のコンポーネントであるが、細胞への送達時には複合体化していない。

【 0 2 0 4 】

いくつかの実施形態において、タンパク質及び核酸は細胞内への送達後にタンパク質 - 核酸複合体を形成する。

40

【 0 2 0 5 】

いくつかの実施形態において、タンパク質及び核酸は細胞内への送達前にタンパク質 - 核酸複合体を形成する。

【 0 2 0 6 】

いくつかの実施形態において、タンパク質及び核酸は遺伝子編集コンポーネントを含む。

【 0 2 0 7 】

いくつかの実施形態において、前記タンパク質 - 核酸複合体はリボ核タンパク質（RNP）を含む。

50

【0208】

いくつかの実施形態において、(a)タンパク質はCasタンパク質またはCpf1タンパク質であり；(b)核酸はシングルガイドRNA(sgRNA)またはCRISPR RNA(crRNA)及びトランスアクチベティングcrRNA(tracrRNA)である。

【0209】

いくつかの実施形態において、複合体はCasタンパク質またはCpf1タンパク質及びsgRNAをふくむRNPであり、Casタンパク質またはCpf1タンパク質及びsgRNAは約0.5、2.0、2.5、または3.0モル濃度超(molar excess)のCasタンパク質またはCpf1タンパク質を用いて複合体化されている。

10

【0210】

いくつかの実施形態において、Casタンパク質はCas9タンパク質を含む。

【0211】

いくつかの実施形態において、前記タンパク質-核酸複合体は第1RNP及び第2RNPを含む。

【0212】

いくつかの実施形態において、第1RNP及び第2RNPは両方ともニッカーゼである。

【0213】

いくつかの実施形態において、第1RNPは第2RNPの標的配列とは異なる標的配列にニックを入れる。

20

【0214】

いくつかの実施形態において、前記タンパク質-核酸複合体はTALENタンパク質、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、またはCreリコンビナーゼを含む。

【0215】

いくつかの実施形態において、核酸はTALENタンパク質、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、メガヌクレアーゼ、またはCreリコンビナーゼをコードするmRNAを含む。

【0216】

いくつかの実施形態において、前記タンパク質-核酸複合体は、(a)静電引力を介してタンパク質と複合体化している核酸分子；(b)タンパク質に巻きついた核酸分子；(c)DNA及びヒストン；(d)リボ核タンパク質(RNP)；(e)リボソーム、酵素テロメラーゼ、ヴォールトリボ核タンパク質、RNase P、hnRNP、もしくは核内低分子RNP(snRNP)；または(f)タンパク質を含む染色体を含む。

30

【0217】

いくつかの実施形態において、溶液はドナーDNAをさらに含む。

【0218】

いくつかの実施形態において、溶液は、細胞が狭窄部を通過する前、その最中、及び/またはその後に、ドナーDNAをさらに含む。

【0219】

いくつかの実施形態において、前記細胞は哺乳類細胞を含む。

【0220】

いくつかの実施形態において、前記細胞はヒト細胞を含む。

40

【0221】

いくつかの実施形態において、狭窄部の直径は、タンパク質及び核酸が通過するのに十分大きな細胞膜の一時的な摂動を誘発するように選択される。

【0222】

いくつかの実施形態において、狭窄部の直径は細胞の直径の約20~99%である。

【0223】

いくつかの実施形態において、狭窄部の直径は細胞の直径の約60%である。

【0224】

いくつかの実施形態において、マイクロ流体チャネルはマイクロ流体システムにおける

50

複数の並列マイクロ流体チャネルのうちの1つである。

【0225】

いくつかの実施形態において、複数の並列マイクロ流体チャネルは少なくとも約2、5、10、20、25、30、40、45、50、75、100、500、1,000、または2~1,000のマイクロ流体チャネルを含む。

【0226】

いくつかの実施形態において、細胞は複数の細胞であり、複数の並列マイクロ流体チャネルのうちの1つに各細胞を通過させ、複数の並列マイクロ流体チャネルの各マイクロ流体チャネルは細胞変形狭窄部を含む。

【0227】

いくつかの実施形態において、(a)狭窄部の直径は約2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、2~10 μm 、もしくは10~20 μm であり；(b)狭窄部の長さは約10、15、20、24、30、40、50、60、70、80、90、100、10~40、10~50、10~60、もしくは10~100 μm であり；(c)マイクロ流体チャネルに溶液を通過させるために約10、20、30、40、50、60、70、80、90、100もしくは10~100 psi の圧力を用い；(d)細胞は約300、400、500、600、700、800、900、100~300、200~700、250~400、100~1000 mm/s 、1~1000 mm/s 、1 m/s 、2 m/s 、3 m/s 、4 m/s 、5 m/s 、6 m/s 、7 m/s 、8 m/s 、9 m/s 、10 m/s 、0.01~5 m/s 、5~10 m/s 、もしくは0.01~10 m/s の速度でマイクロ流体チャネルを通過し；(e)前記マイクロ流体チャネルは直列した複数の細胞変形狭窄部を含み；(f)前記マイクロ流体チャネルは単一の細胞変形狭窄部を含み；(g)細胞膜の摂動は約1~20、1~600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、もしくは600 nm の最大直径を含み；及び/または(h)約1~20、1~600、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、もしくは600 nm の最大直径を有する細胞膜の摂動は少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または1~10分間細胞膜上で持続する。

【0228】

いくつかの実施形態において、細胞にタンパク質及び核酸を送達した後、(a)細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する；または(b)細胞が複数の細胞であり、複数の細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する。

【0229】

いくつかの実施形態において、細胞にタンパク質及び核酸を送達した約1、2、5、12、24、1~12、6~12、6~18、12~24、または1~24時間後、(a)細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する；または(b)細胞が複数の細胞であり、複数の細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、75、80、85、90、95、もしくは99%もしくはこれより多く減少する。

【0230】

いくつかの実施形態において、細胞にタンパク質及び核酸を送達した後、(a)細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、25、50、75、100、250、

10

20

30

40

50

500%もしくはこれより多く増加する；または(b)細胞が複数の細胞であり、複数の細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、25、50、75、100、250、500%もしくはこれより多く増加する。

【0231】

いくつかの実施形態において、細胞にタンパク質及び核酸を送達した約1、2、5、12、24、1~12、6~12、6~18、12~24、または1~24時間後、(a)細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、25、50、75、100、250、500%もしくはこれより多く増加する；または(b)細胞が複数の細胞であり、複数の細胞における標的遺伝子の発現が少なくとも約5、10、25、50、75、100、250、500%もしくはこれより多く増加する。

10

【0232】

本主題の態様は、少なくとも1つのマイクロ流体チャネルを含み、前記チャネルが約30 μ mの狭窄部長さ及び約4 μ mの狭窄部幅を備える、細胞にタンパク質-核酸複合体を送達するためのデバイスを提供する。

【0233】

本発明のより完全な理解を容易にするために実施例を以下に提供する。以下の実施例は本発明を実行及び実施する例示的な様式を示す。しかし、同様の結果を得るために代替的方法を利用することができるので、本発明の範囲はこれらの実施例において開示する特定の実施形態に限定されず、これらは例示目的にすぎない。

【実施例】

20

【0234】

実施例1：CRISPR/Cas9遺伝子編集複合体を送達するためにCellSqueeze(SQZ)を用いた初代ヒトT細胞におけるB2M遺伝子座の編集

SQZプラットフォームのCas9リボ核タンパク質(RNP；シングルガイドRNAと複合体化した組換えCas9タンパク質)を送達し、モデル遺伝子座としてのMHCクラス1の β 2ミクログロブリンコンポーネント(B2M)の効率的なゲノム編集を達成する能力を実証するために、未刺激ヒトT細胞において一連の実験を行った。

【0235】

未刺激ヒトT細胞へのCas9 RNPの送達

標準的なFicollグラジエントを用いて新鮮なPBMCをヒト血液から単離した。次に、T細胞をネガティブセクション(ヒトT細胞富化キット(StemCell Technologies))、計数、洗浄して、送達のためにOptiMEM中に $10 \sim 20 \times 10^6$ 細胞/mLで再懸濁した。B2M遺伝子座を特異的に標的化するように設計された2.5モル濃度超の非改変gRNA(PNA Bio)と10 μ gの組換えCAS9(PNA Bio)を予め複合体化した。組換えCAS9を20mM HEPES、150mM KCl、1%スクロースの最終濃度の溶液に再構成する。CAS9溶液にgRNAを直接添加し、氷上で20分間インキュベートして複合体を形成させる。再懸濁した細胞に複合体を直接添加する。SQZ媒介送達の前にRNP複合体を氷上で20分間インキュベートした。送達効率の代理として用いた3kD-Cascade Blueデキストラン(0.15mg/mL)とともにRNP(2.2 μ M)を共送達した。2つの異なるチップ、10-4及び30-4を用いて60及び90psiの圧力で複合体を送達した。チップは同じ幅(4 μ m)の狭窄部を有するが、2つの異なる狭窄部長さ(30対10 μ m)を有する。

30

40

【0236】

送達の48時間後、FACSベースの読取りを用いてB2Mタンパク質レベルを測定した。B2M発現の減少を機能的な編集の尺度として用いた。1)CellSqueezeプロセスを用いた送達プロセスと同じ時間室温でRNP複合体とともにインキュベートしたT細胞(エンドサイトーシス対照；「endo対照」)、及び2)gRNAはなしでCas9タンパク質とともに圧搾したT細胞の2つの対照を用いた。4つの異なる細胞集団についてB2M発現対送達されたデキストランのプロットを示す(図4)。Cas9対

50

照における B 2 M 発現はエンドサイトーシス対照と有意差がなかった。90 p s i で 30 - 4 チップを用いた R N P の送達の結果、e n d o 対照と比較して B 2 M 発現は 54.4 % 減少した一方で、90 p s i で 10 - 4 チップの結果、B 2 M 発現の減少は 25.2 % となった。狭窄部が長いチップの方が、R N P 複合体の送達が多く、B 2 M 発現の減少が大きいという結果になった。

【0237】

低、中及び高送達集団の境界を定めるためにデキストラン送達を用いた。そして、B 2 M 染色の平均蛍光強度 (M F I) を用いて、これらの特定の集団についての B 2 M ノックダウンの効率の差を求めた。10 - 4 チップでは、中程度に送達された集団の 71, 173 及び低度または送達されなかった集団の 83, 676 に対して、高度に送達された集団の M F I は 18, 637 であった。この高送達集団での B 2 M 染色の 5 倍近い低下は、送達が R N P 活性に影響を及ぼす程度を実証している。同様に、30 - 4 チップでは、中程度に送達された集団の 44, 207 及び低度に送達された集団の 54, 159 に対して、高度に送達された集団の M F I は 16, 460 であった。これらのデータは、編集効率に対して、単一集団内でさえも、細胞のサイトゾルへの遺伝子編集複合体の細胞圧搾送達システムが重要性を有することを実証している。

【0238】

F A C S 読取りを確認するために、第 2 の配列ベースの分析も用いたが、この分析では、標的領域に隣接するプライマーを用いて D N A を抽出して増幅し、これにより次世代シーケンシング (N G S) 用の編集領域のアンプリコンを生成した。N G S 読取りから C R I S P R バリエーションを検出するように設計された単純なアルゴリズムを用いてシーケンシング結果を分析した。予想した通り、配列ベースの読取りはより高い編集効率を示した。実際に、シーケンシングにおいて同定されたインデルの中には依然として機能的な全長タンパク質が得られるものがあった (すなわち、得られるアミノ酸を変化させなかった一塩基置換)。

【0239】

【表 1】

表：10 - 4 編集実験からの F A C S 及び配列ベースの読取りの比較

	Endo	Cas9	RNP
FACS	0.3	8.15	20.4
シーケンシング	3.87	3.04	27.18

【0240】

これらのデータにより、C e l l S q u e e z e プラットフォームによって送達された場合における R N P 複合体の編集を成功させる能力が実証された。

【0241】

編集効率に対する R N P 複合体の量による影響

30 - 4 チップを用いて、1) 標準 1 × R N P 複合体 (10 u g C a s 9、2.5 モル濃度超の g R N A) 及び 2) 0.1 × 標準 R N P 複合体量の 2 つの異なる R N P 量で、未刺激ヒト T 細胞に R N P 複合体を送達した。送達の 48 時間後、F A C S ベースの読取りを用いて B 2 M タンパク質レベルを測定した。B 2 M 発現の減少を機能的な編集の尺度として用いた。4 つの異なる細胞集団について B 2 M 発現対送達されたデキストランのプロットを以下に示す。1) C e l l S q u e e z e プロセスを用いた送達プロセスと同じ時間室温で 1 × R N P 複合体でインキュベートした T 細胞 (エンドサイトーシス対照)、及び 2) g R N A はなしで C a s 9 タンパク質とともに圧搾した T 細胞の 2 つの対照を用いた (図 5)。

【 0 2 4 2 】

C a s 9 対照 (g R N A なし の C a s 9 タンパク質) における B 2 M 発現はエンドサイトーシス対照と有意差がない。多量の R N P 複合体 (1 × R N P 複合体 (1 0 u g C A S 9 、 2 . 5 モル濃度超の g R N A)) での B 2 M 陽性細胞の減少は 5 5 . 4 % であつたのに対して、少ない量の R N P 複合体 (0 . 1 × R N P) では B 2 M 陽性細胞の減少は 2 0 . 7 % となった。この実験は R N P の送達に直接関連する投与量依存的反応を実証している。

【 0 2 4 3 】

その他の実施形態

引用文献は参照により本明細書に援用される。援用した内容のいずれかが本開示と矛盾する場合には、本開示が優先するものとする。さらに、特許請求の範囲の有効性を維持するのに必要である場合、必要な範囲で、参照により本明細書に援用する内容は無視されるべきである。

10

【 0 2 4 4 】

さらに、上記の説明では本発明について言及しているが、説明は 2 つ以上の発明を含み得る。

【 0 2 4 5 】

本明細書に記載の主題は、所望の構成に応じて、システム、機器、方法、及び / または物品で具現化することができる。上述の説明で示した実施態様は、本明細書に記載の主題に合致するすべて実施態様を表すものではない。むしろ、記載した主題に関する態様と合致するいくつかの例にすぎない。上記では少数の変形しか詳細に記載していないが、他の修正または追加が可能である。特に、本明細書に記載のものに加えて、さらなる特徴及び / または変形がもたらされ得る。例えば、上記の実施態様は、開示した特徴の様々な組合せ及び部分的組合せ、及び / または上述のいくつかのさらなる特徴の組合せ及び部分的組合せを対象とすることができる。さらに、添付の図に示した及び / または本明細書に記載した論理の流れは、望ましい結果を得るためには、必ずしも示した特定の順序、または順番である必要はない。他の実施態様が以下の特許請求の範囲内であり得る。

20

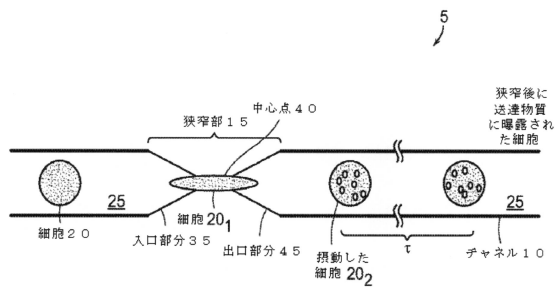
30

40

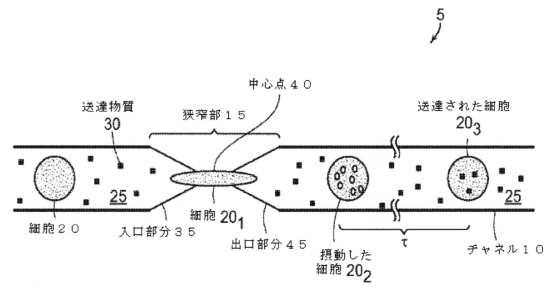
50

【図面】

【図 1 A】

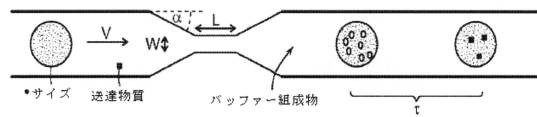


【図 1 B】

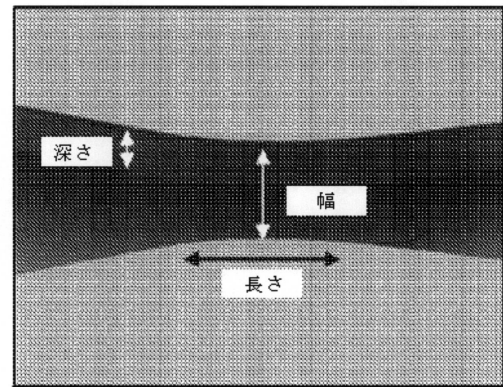


10

【図 2 A】



【図 2 B】



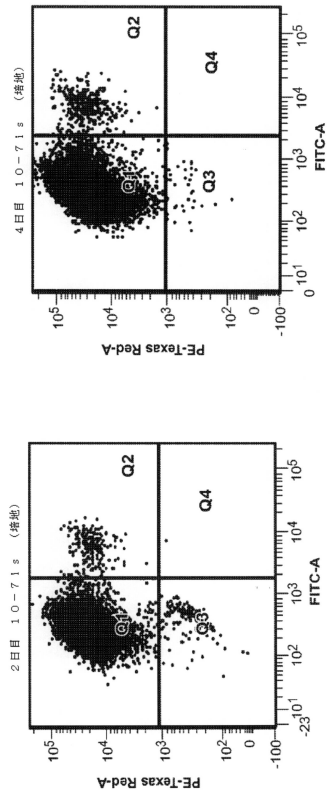
20

30

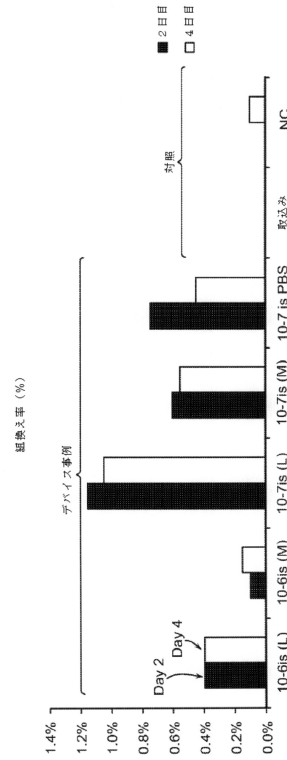
40

50

【図 3 A】



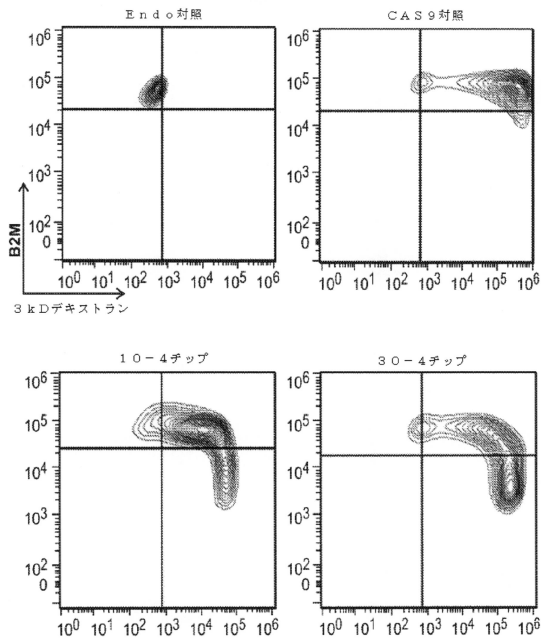
【図 3 B】



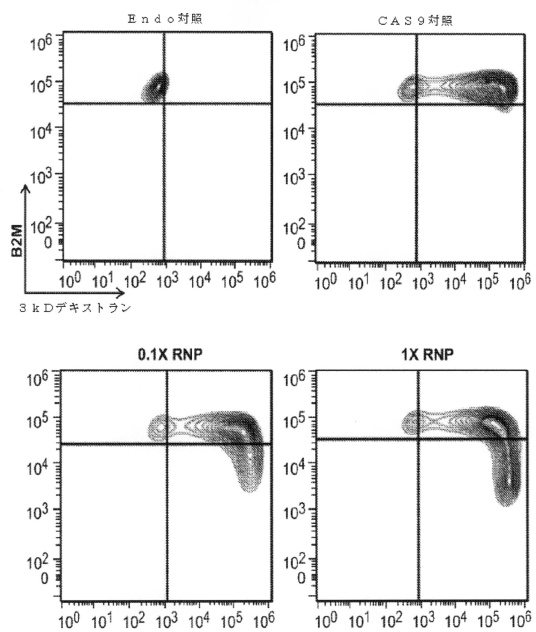
10

20

【図 4】



【図 5】



30

40

50

【 6 - 5 】

CCACTCAGACGACCGATGAATCTTTTGGTCCATGCTTGTAGTCACTGGGGCAAAATAGG
ACTCCAGAGAGAAATCCAGAGCAGCTCCGCAAGATGACAAACACAGCTGTGCGAGG
GTGAGGAGGCTAGAGAGCTGAGCTTCAAAACAGCTCTCACTGGAGGGGAAACAAAC
CATGCCCTTAGAGGACACATCCACACAGGGCTGTGTAGCTAGCTGTGTTCTTGGT
GGTGTGACCTCTGCACATGGGGCATGTGGGTATGTATGATGATCTGTGTTCTTGGT
GT
GGGATCTGCCAGCAATGCTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
TCGATATCTAT
CTGGCTTTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAGGCTTTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGCCTATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGGGGCAGAGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GTGGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AAGTCTGTGATCTATGACAGATGTTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGATTGGAGGCTCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAG
TAGTCCCATGAGCATGATGT
CCAGTAGGTGAGGTGACAGGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TAAAGATTACTGATCTCCATGAGCTCAGTTTCCATGATGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT
TAGCATCTAGTGTGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
ATCAGGAGGCTCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAG
TGGTGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGTCTCAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CGGGCTGGGCTTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGC
CGGGCTGGGCTTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGCTCCCGAGC

【 6 - 6 】

CAAGTCCCGAGATTCCTTGGCTGTGAGGAGGTAGGCTATTCTGAAATGCACTCTCTGGG
GGTCAAAAGGTGTCAGGCTCAGAGGCTGAAATCCAGCTCCAGCTCCAGAAAGCTCAGGTG
AGAACTTAAAGATGAGAAATGCAAAATCAGAAACACAGAGCTTTACAAAGCTATGTC
AAATGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AAATGAGGAGGCTGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GTCCCAACACAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GGTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GGCTGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCTACGGGCTGGGCTGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCAAATAGTGTAGTAAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATCCCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TCGTGTATATATAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GGGATTTGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCATCAAGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CT
CACACCACT
CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AGGCTCTCAACTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCATCTCAACTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGAGTTAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAG
GCATGGAATCT

10

20

【 6 - 7 】

CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGGCGGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAACCAAGTTTCACTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TTTGTGCCATTTCAAGT
TGGTGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTCAATTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGAAATCTGTCT
GCCTGTATCTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GACAGGCTCCGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCCTGGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AAGCTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
ACAGATCAAGCTCCGCTCTCAAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCAACTCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTGATCTG
GGCTGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CCATGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TTTCTCATGATGGAATCTAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TCAGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGGATTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TTAAATTAAGTGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCTGAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CCAGCTACTCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TGAGCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG

【 6 - 8 】

AAAAATAAAACATAAAATAAAAGTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCCTCTCCCTCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TGGTGTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TCCTTGTACTACAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CTTTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CCCCATATGGTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCCTCACGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
AAGTAAATTCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AGAGCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TACTCGGCTCTTCAAGCTCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ATGATCAACTTATGTAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
GAG
AGG
GGTAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CTCCAACTCTGCTCTGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
AAGCTGTCCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CCTAAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
CATAAATAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
TACTCTAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
ACGACCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
CAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GCATGGAATCT

30

40

50

[illegible]

CAGTGAACCAAGCCCAAGGCTGGCCACAGGCTCCCGCCTCAAGGTCACCCCAACATCAAGGTCAT
 GTCCGAGTGAAGCAGCCAGCGCGGGGAGCCTCTGCTCAGGCTCCTGCTGTGACCA
 GTGTGGTGGCAGGAGGGTCTGCTGGCTTGAATCAAGGCTGGGAGCCACAGGAG
 GAGAGCTCAAGTCTGTGAATGSCCTAATTTGGCTCCCCCAGGGTGGACGCTCAACAGT
 GGGTGGTTGGAGAGCTTCGACAGCCCTCAGCAAGCTGGTGGAGCATTTCAAGAGACGGG
 CATGTAGAGAGGCTCAGCGGCTTTGTCTACTTGGGACGTCAGGGCTGGGCGCCAGCTG
 CTTCCCCCATCTCCCTCAGCTCTTCCCTCAGATGTGAGCTTCTGGAGTCTGTGAGTTGCTG
 ACTTCTGCTCTTCCCAACCCAGCGGTACTATGTCCACAGAGGGTGAATCGGCTGACAT
 GAGAACCGAGTGTGGAACTGAACAGGACAGGAGTCCGAGGATACAGCAAGCTGGC
 TTTGGGAGGAGTTTGAAGTGCATGTGTGGGACCGGACGGCTGGGCACTGAGTGGT
 GGCAAGCGGCTGGGGCCCGCAGCGGACACTCTTCCCTCTTGTGCCACCTGTGCTCCTGAC
 CCACCCAGTGAAGTCCCCCGATGGATGCCCTCTTTGGGAGCTGATGCTCATTTCCCCA
 CCACTCTCAGATTGCAAGACGAGGAGTGAAGACTTGTCCACAGGCTTGGGAAG
 CAGCGCGGCAAGCAACAGGCGCAAGCGGTACAGACATTTCTCCCTGTGAGCACCCA
 GGCTGCCCATTCACCCAGGATACCGGCCCTGCCACAGTGCCTCCCTCATCTCACAGG
 TCTCCACCTCCACGCGAGGAGGCGCATCTCCCAACCCCCACAGAGCCTCCCTT
 CTCACAAAGGCTCTACTTCTCCAGAGTGCCTCCCAACACAGCAGCAGGTGGCC
 CTGTCTCCAACTCTCTGTGAATCCCTCACTCTCCATCAAGATGATCCCCCAACCC
 TGTGTGCCACAGTCCCCGCAAGCCTCATGGCTCTTGAGACAGAGTGGCTCTTAGTCT
 AGAGAGGCTGACCCAGTGTGTGAGTCCCTGGCTAACCCAGACCATCTCGGCTCCTCT
 CGCCCACTCCCAAGTTGACCAAGCGAGTGAATGCTGAGGAGGGGACAGTAACTCC
 GGGGTGCGACTACATCAATGCAACTACATCAAGGTACAGGTCAGGAGTGTGGGCCACGTTGGGAG
 GAGAGGCTGGGCCCTGGGAATTCCTCTGTGTGGGGGACCTTGAATCCAGAGCAGTGTG
 GGCAAGCGCGAAGTGCCTTCTGCACTGGGTGAGGTGGCAGTCTGACGGCCTGTGCT
 GGGCCAAAGGGGCTCACTGTCTTGGGTGCGTCTCTCCACGCTTGCCTCCAAACCAAGCTGTG

CTTAGGCCCTGATGAGAAAGCTTAAGACTACATCGCGACGACAGGTTCTCTGGAGGCCACG
GTCATAAGCTCTCGCATCGCGTGGCAGACAGCCGCTGTGATCGTATGCATACGACCA
CGAGAGGTGGAGAAAGCGCGGTAGGCGGCCGCCCTTCCCGGCATCGGCCCGCGTGCCT
CTGAGGTTGGTATGCCATTAACTCGAAGACGAGTCAGATGCCAGGCGAAGAGGATCTCAGGG
TCAGGGTCCGGCCCTTTGTTGGGAAACTGAGGCTAGTACAAAGTCTCGACTACACAAC
TGACCCCGAGATCCGTGCATCGCTGGCATCTTGGACTTCAGACCCAGCTCGGTTCCAG
GGCTGCTCTCTCTCCTACCCCTGCCCATCTGTGCATCCAGGCCCTCTCTGTCTC
CTCTGCCCATAGATCTCTCGAGTCTGCCCTTACCTCGAGGCTCCCGCTACACAGA
CCCTCTGTGTGCCATTGAAGTGATCCACTCGTGACAAACTGGTCAAGTTCCTTCTC
TTTCTGAAATCTTCCATGGCTCTGTGTACCTTTGGGATAAATCGACTTAAGGCC
TTGSCATTCAAGGCTGTGTGGCTTCCTTGACCGCAGCTTCTCTGAAGGCTCAACGCC
CCCCAGCAGCCCCAGCTCTTTAGGTTCCAGGCTTTCTTGACAAAGCTCATTTCTGC
TAGGAATAAGTCTCTCACATCTCGCTGGCAGTACCTCTTTTGAAGAGAGAG
GCCCGGAGGCTGCCCTCTCTGTGAATCCAGTCTTTCTCCAGGACCTAGAGGGAGA
TTTACGTCTTCCAGCCACGCTCTCTCAGCGGGTGTCTCCCGGTCACCTGTCTGT
GAGACTCTCGAGGACAGGGCAGACAGTGGTGTATTGTGTGAATGACAAACGGTGTG
TTTTCAGCAGTTCTGGGACAAATGCCCTGCCCTGGCACGCTTTGTGAATGACAAACGGATG
TTACCGGTGAAGTGGCTGGCCAGGCTCACACCTGTGTGGTGTGATCTGAGACGAGAG
CGAGTCTCTGCTCTCTGCCGCCATCGTCCATCCAAATTTGTTGGGCCGGTGC
CAGGACTCAGAAATAGACAGGACTGGATGGCCACCACTGCTCTGTGSCCTC
ATCCCAACCGCACCTCCCTTTCAGAAATGCGTCCGATACGTCAGGCGCGAGGTGGCA
TGCAGCTGCTTAGGGCCCTTACTCTGTGACCAACCTCGGGGAGCAATGACAAACCGAAT
ACAACTCCGTTCTTACAGGTCTCCCGCTGGCAATGTGAGTGGCCCGCCACGCGCTCG
CCATCTGGGATCCCTCCCTGGACTTTGTTCTCTCTCTGTGGTGGGTAGGATGATGG
ATGAGTGGTTCCGAGAGAGGGGGCACTGACCTTATGCTCTCGGCTTTGGGAGACCTTG

ATTCGGAGATCTGGCAATTACAGTAACCTGAGCTGGCCCGACACCTAGGGGTCCCCCAGTAGAG
CCTCGGGGTGCTCTCAGCTTCTGGACCAAGATCAACGACGGGACGGAAGTCTGCTCCAC
GGAGGGCCCCATCATCTGTGCACATGAGTGAAGTGAATCCTGATGGTAGTAGTGACAG
CTCTGAGAAGTAATCTGCTAAGTGCATGAGCTGTATAAGCAATATAAAGCTTAGTCTCG
CACAAATTAGTGCCCTCCGCTCACCCCGGCTTCTCTGTGGTCCCTATCAGGCTCAGAAAC
CCTCGGTGGTATCTGGCTGGAAACAGCCCACTTGGCCCTCTGCTCTGGGTATCTTCTC
TCAGAGCCCTCTCCGGATGTACATTCCGCCAACCTGCCAAATACAGAGGAGGAGCC
GGGAGCCAGATTGCTGGCAGGCCCAAGCTAGTCAGGSCAGGCGGCGAGCACCCACAG
TACAGGCAACATCTATGAGCATGTGTCCTCCCATCTCTCTGAGGTCACATTCTGTGGTTCCTCTC
GGGGTTCGGCTTCTTCTGACTTGGCCCTCTCCAGCTTCCCGAGGACGTGCCCATC
CTGTGCTTCTACCGCATGTTTGTGATCAGGAGCACTTGTAAGTGCAGAGTGGGGG
TGCAGAGGAGCAGTGGTGCAGGGCCCTCCGTTACAGCTGTGTGGTCTTGGACAATAACT
TAACTTTTCAACCTCAGCTTCTCATCTTAAATCAGGATCTCAGGTTGTGCTGAG
AACTCAATGAGCCCTATCGTTGGCTGGAATCCGTCAAGCCCTCAAAAATCGGGCGCT
TCTATGTAGTTAGTAATCATCAGCAGAGAATAGGGAATGGGAACCTGCCTTGCC
CGGTCCCTCCCACTCCCTCGTGGACCCAGGCCCTCGACGGCCCTCTGGCTTCTCTCT
TTTCTCCCAAGCATGTTTGTCTCGGACAGGCAAGTCGGCTGAATCTAGAGGTGCCCCC
TAGAGGTACCTCTCTGCTCAGCCGACACACATCTCACACATCTCTTGAAGAGCCCATG
GGCTTATTTAGACGTTACAGGAAGAACTGGGTGTGGGGGTATTTTTTCACAACTCTGG

50

【図 10 - 10】

TAGTATGTCGTGTTTTCTGAGCCTTGGCAATTCATTGCTTTTATTAATAGAAATGAAGGCT
TTTTTTTTTTTTTGGCTGAGATAGCACTGAACTCAGTGGGAGGAGCTGTGGGTTGTAAAG
TTGTCGCCCTGTGAATGAGGTGAATTAAGTTTCTGGTTTCCAAAGAAATGATTGATTT
AAAGACCTCAAAATGCAAGTTAGAACCTGACTTCAGTCTTGAGGTTTTTACCATTAA
TGAATTAATTAATTTATGGTAAATAAATGGTAATAAAGGTAAAAATGTAATAAATTTA
CCATTTAATGAATTTTTCTAAAAAGCAATTAATGATTTGATGAAAGGTGATGTTAAAT
TATCCAGATTATCAATCTTTTTTATTTAGCCCTGGATTTTGAGTCATAGAAAGCCTT
TCCTTATTTCTAAGGTTAACAAGCAATTCACCACTGTTTTCTCTAGTAATGCAATTTGTTT
ATCTTTTACGTTTATTTATTTTATTTTATTTTATTTTGGACAGGGTCTCACTGTGTCA
CTCAGGCTGGAGTGAGTGGAATGATCTTGGCTCACTGCAGCCTCTGCTCCCGCCTCC
GGGTTCAAGCGATTCTGCTGCCTCGGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGCACCTGCCA
CCGGCCTGGCTAAATTTTTGTATTTTTCTTTTATGATACAGATGGGTTTTGCTGTTGGCCA
GGCTGGTCTCGAATCTGACCTTAAGTGATCCACCGCCTTGGCCTCCAAAGTGCTGG
GATTACAGCATGAGCCACCGTCCCGCCTCAAAATTTATCTGATATGTGATATGATGT
ATGGTTCTAACTACTTTGTTACGGTGCAATATTTCTAAATGGTGTATGGATCTTTTAA
TATTTTGTTAGAAGTCTGCATCAATATTCATGAGTACATTTGGTCTCTGTGTTTTCT
TTGTCATCTTTATTTGATAGTATGATGATGATATATTTAGTTTGTAAAGGAAGTTGG
AAGTTTTCTTTCTTTTAGTACCTGAGGAATGATTTAAGAAATGAGACTATTGGTCTT
TGAAGGTTTGGTAAAGTCCATTGGGAATCCATCGGGCTGGTGAATTTCTGTGGGTA
GTTCCCTAATTTGTTTTCTCTATTTTTCTTTTATGAGGTAGCCTGTGAACAGAA
TAGGTTGAGAGGGCTCCCTCTAATTTTTTTTAAATCAAGTTGGTCTGCTAAGTTTCTT
ACTCTAATGGGTTAATTTTTTGTAGACTGCAATTTCCCTGAAATTAACAGTTTGTCTAG
GTTTTCTGACTTATTTCCAACTTTTTAGTCTTTCCCTCGGAATCATGCCCTTTTCCA
TAAACAGGACTCTGATGACTGAGGATTTTCACTATTTTCACTCTGGGTGGATTTCTGTTCTG
GGGTGGTTTTAGAGCAATTTAGGCTTCCCACTAGTACCTGTTCTCTACACCATGCT
GTTTTCTCAGAAATGCTCTCTTTTCCAAAGAGGCTGAGTAGGAGGTTGAGGAGTCACT
TCACTGAGCTTTGGTATATTTCTTTTTTTGCTTACAGGTAACTGGAAGTTTGGGCACT
TCTCTTTAAGTTGAGGCTGGTTTTCTCATGCTATTTTATTTGTTATTTGTTTTCTGTGT
GTGTTTTCTAGAGACAGGCTCCCACTCTTGGCTGGCTGGAGTGCAGTGGGCTCTGATC
ATAGCTTACTGCATCTCAGGCTGCTGGGCTTAGATGAACCTCCCACTCAGCTCTCTGA
CTAGCTGGGCTACAGGACACACACACATACCTAATTTTTTTTTTTTGGAGCGAAGTCT
TTGCTCTCTCCCGCAGATGGAGGTGATGTGGTGAATCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCC
TCCCGGGTTCAAGGATTTCTCTCACTCAGGCTCCCGGCTAGCTGAGACTGCAAGTGCAAT
GCCACCATACCGGCTAATTTTTGTATTTTTTAGTAGAAGAGGGTTCAACATGTTGGC
TAGGCTGGTCTCAAACTTTGACCTCAAGTGATCCACCACTCTGGCTCCCAAGTGCT

【図 10 - 12】

TAGGCATGAGTCACCGGCGCAGACTCAATCTTCTGACAAGCTCTCAGAGAGAGTAAAA
GCAATGAATATTTCTAATTTTTGATCTGAGCTTTAGATATTTCTCTTTCTTTCTTTTT
TTTTTTTTTTTTGAGATGGAGTTTTGGCTTGTTGGCCAGGCTAGAGTGCAAGTGGTGGGAT
CTTGGCTCACCGACCTCTGCTCTCCCGGGTTCAAGGATCTTCTGCTCAGGCTCTCG
AGTAAGTGGGATTCAGGGCATGCGCACCATGCTCCCGGCTGATTTGTATTTTTAGTAGGG
ACAGGGTTTTCTCATGTTGGTCAGGCTGGCTTAAGCTCCGACCTCAGGTGATCCACCT
GCTCGGCTCCCAAGTGGCTGGGATTACAGGATGAGCCACCTTCCCGAGCCTTTTTTT
TTTTAAATCTGAGAAAGGCTTGTGCTGATTTGCCTAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATCTC
TGCTCACTGATCTCTGCTCCCGACACTCAAGCAATCTCCCACTTAGCCTCTGATCT
AGCTGGGACTACAGGCATATGCCACACACCTGGCTAATGTTGTTATTTTTTGTAGAGA
CAGGGTTTTGCCATTTTGGCCAGGCTGGCTTTGACCTCTGACCTCAGGCTGATCTCCCA
CCTTGGCTCCCAAGTGGTGGGATTACAGGTTGAGGCTAGTGGCTGGTCTGCTCTCAC
TGTGTAGAGTACTTGATTTGGGCTCAATTTTGTGAGAGTCTCTTAAAGTTCACTTG
ATTGTCACTAGTACAGTCTACATTTAATATTTGACATATCTGGGAGCAATTTAGAGCA
TTCTATAGCTTAGAAGGCTCAGGATATTTGACTTTAGAGGTTACTGTTACATGAAT
CTCAATGACTTTTGAATCCATGAAGAAATATCTTTTTTTTTTTTTTGGAGCGAGTCTCA
CTCTGTCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTATCTGGGCTCACTGCAAGCTCCCGCTACTG
GGTTCAAGCCTATCTCTGCTCAGGCTCCCGAGTGGGATTACAGGCATGCGCAC
CAGGCTGGCTAATTTTTTTGCAATTTTGTAGAGAGGGGGTTTCACTGTGTAGCCAGG
ATGGTCTCGATCTCTGACCTTGTGATCCCGCGCTCGGCTCCCAAGTGGTGGGATT
ACAGGGCTGAGCCACCGCGCTCCCAAGAAATATCTTTTTTGTGTTTACAGAGGAGT
CCTCTGAGCAGATGCAATTCATGATGATTTTCACTATTTATGGGTTTTAAAAACAATTT
TATTTTGAATTAATTTCAAAATTTAAATGAAGTTGCAAAATAGTACAAATTAATCTGTGTT
AACTTTTCACTCAGGATTTACAAGTCAACCTTATACAGGTTGAGTATCCCTTATCCAAAT
GCTTGGGACAGAGTGTGTTGGATTGAGATTTTTCGAATTTTGGAAATATTTTATATA
TATACTTAAGCATCTCTAATCCCAAACTCAAACTGAAATATCTGAAATGCTATGATG
AGCATTTCTTTGAGGTGATGTTGGGCACTTTTTAAATTTATTTAATTAATTTATTTT
GAGATGGAGATTGCTCCATCAGCAGGCTGGAGTGCAGTGGGATCTTGGCTTATTTGC
AAGCTTCACTCTCTGGGTTCAAGTATCTCTCTGCTCAGCCCTCTGAGTGGGAT
ATAGGCTCTTCCCAAGCAGGCGGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGCAGGGTTTCACT
CGTGTGGCAGGCTGGTCTCGAATCTGACCTCAGGTTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT
CAAGTGGTGGGATTACAGGAGTGAACCCCGCGCTGGGCTAGGATTTTGGAGCATTTT
AGATTTGGGATCTCAACCTGTACCAATGTTTACTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TAT
ACTACACAT

【図 10 - 11】

GGGATTACAGGCTTGAGCCACTGTGCTGGTCCCTGGCTAATTTTTTAATTTTTTTGTAGA
GATGGGATCTTGCTATGTTGCCAGGCTGGCTCTGAACACCTTGGGCTTAAGCAATCTCC
CACCTAGCCTGCCAAACACTGGGATTTACAGGATGAACCACTTGTGCTGGCTGTTT
TGTTTTTAATTTCTATGTTGTTTTGAAGGATGTATGGGAGAGATGGAATTAGGCAATCA
TCGTTGCTCTTGGCTACCTGAAGTCCAGGCACTCTCTAGATACCTTTATAAATATTAAC
TCATTTTATCTCTCAACACACTATGACATGGGACTGTTACACCTTCCATTTTATAGG
ACTTAACAGAGAGGTTAATATGTAGGCCAGGCTACAGAGAGCTGGGCTCAGACCAAG
ACAATCTGGCACCAGAGTCTATGTGGCTACCCCTAAGGCTTTGCCACCATTGTTAGTAGTA
TTCTCAGCCTGTCAATTTGGGAGGGGATTTGCCCTTTTTTTTAAACTTTTTAAAAAATTTA
TTCTTATTTTATTAATTTTTTGAAGCAGAGTCTCCCTCTTTTGGCAGGCTGGAGTGGAG
TGGTGTGATTTCACTCACTGTAACTCTGCTCTGGGCTTCAAGTGAATCTCATGGCTC
AGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGTTGCCAGCCACCATGCCAGCTAATTTTTGTATTT
ATTATTAATTAATTTTGAAGCAGGATCTGGCTCTTTTGTTCAGGCTGGAGTGCAGTGGT
TGATCTCGGCTCTCTGAACCTCTGCTCTGGTTCAGGTGATTTCTCTGCTCAGCCT
CCGGAGTAGCTGGGACTATAGGCGCGCACCACTACTTGGCTAATTTTTTGTATTTTTTA
GTAGAGACGGGTTTCACTATGTTGGCAGGCTGCTCTGCAACTCTGCACTCAGGCTCAGT
CTACCTGCTTGGCTTCCAAAGTCTGGGATTACAGGTGTGAGCCACCATGCATGGCTG
GATTGTCTTTTTTAAAAAARACAAAAACAAAAAACCACCAACTAAACCCA
ATATCTGAAGATTTGGTCTCCACACCTGTGTTATATAAATTAATTTTTTCCATTTTT
TTCTCTTTGGTAGAGGCAATATGCCACTGATTTCCAGGTTGCCACACCACTAATCAAT
AATTTGTTTTGAGCCAAAGCAAAAGAGAGTTGACATTTTAAATAGCTTATGTAGGTAGA
CAAAATGAGGCTAATGTAGAGGTTTCAATTAACCTTTTTTGAAGAACTATAATAGCTAG
AAGCCAGTTGCTACTTTTTGATTTCTTAGAATTTCTGGGCTCTTTTCTGGAACCA
CAGATGAAGAGAGCTGCAAGGAGAGATTTTTTTCTTAAAGCAATAGTTTAACTAATCTG
AATGCAAAAGTATTTGATGCTAGAAATAATAGTATCAATAAATGAGGTTGAGGTTTTT
CCGGGTGAATCTTATTTCTGTCTCAATTTTCTTTCTTTTGGAGCGGATCTTGGCTGT
TCGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGATCTGGCTCACTGCAAGCTCACTCTGGGT
TCATGCCATTTCTGCTCAGCCTCCCGAGTATGCTGGGATTACAGGGGCTGCCAACAC
ACCCAGCTAATTTTTTGTATTTTGTAGAGAGCGGGTTTCCAGGATGCTCTCAATCT
CTGACCTGTGATCCGCTGCTGGGCTCCCAAGTGGCGGGATTACAGGGCTGAGGCT
ACTGTGCTGGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGCAGAGTCTGCTTTG
TTGCTAGGCTGGAGCGAGTGGCATGATCTCAGCTTATTTGCAACCTCCGCTCCCGGGT
TCAAGTGAATTTCTGCTCAGCCTCCCGAGTATCTGAGATACAGATGTTGCCACCAT
GCTTGGCTAATTTTTGTATTTTTTAGTAGAGATGAGGTTTTGCCATGTTGCCAGGCTGG
CTCAACTCTGACCTCAGTATATCTCTGCTCAGCTCTTCCCAAGTGGTGGGATTA

【図 10 - 13】

AAATACACATGTATATATACATGTGTACATATATGTGCTCTATATTTAAGTTTTTGTGG
AACCACTTGAGGTAAGTTGACAGACTGGGCTCTCAATTTGCTCAAAATATCTCAGTGTGT
ATTTCTTAATACAGGAGCACTTGGTTACATAAACCAGATATATACCAATGTATATTA
TAAACAGACTACCATCAATCTTATATCTCTTTCAAAATTTGTTTGTATATATCTCTATA
GCAAAAGCAAAACCAACCAAAAGCTTCCCTTTTATTTTGTGTTTGTGCTCAATTA
TATGTCAGGTTATGCAATTAATGCTGTTGTTTACTGCTAGGCTCTGTTACTGGCTTTTA
ATTAGGATATTTCTTGTGCTCCCGCAACCTCTCTTCAATGTTGTATCTTTTTTTTTTT
TTTTGGAGATGGAATTTGCTATGTTTGGCAGGCTGGAGTATATATGATGAGTCTTGGC
TCACTGCAACCTCCGCTCTCCCGGTTCAAGGATTTCTCTGCTCAGGCTCCGAGTAAAC
TGGGATTGAGGCTCGGCCACTTGGCCAGCTAATTTTGGAAATTTTGGAGATTTTGGAGCGGGTT
TTGCCATGTTGGTCAAGTCTGCAACTCTGACCTCATGATCGGCGCGCTTTGGCCT
CCCAACTGTTGGGATTACAGGTTGAGGCACTGTGGCGGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
GAGAGAGGTTCTATTTCTGTTGGCTGGGCTGGAGTGGAGTATGATCTTGGAGTCTGGGAC
CAACCTGGACCTCTGGGCTCAGGCTGCTCCCAAGTGGAGTGGATGATCTTGGAGTCTGGGAC
TATAGGCAACACCACTGATGATGGCTAATTTTTATATTTTTTTTGTAGAGAGTGGGTTT
GCCATGTTGCCAAGCTGGTCTGAACTCTGGGCTCAAGTATCAACCTGCTGCTGCTGCT
CCCAAAATGCTAGGATTACAGGTGTAAGCCACTGCGCTGGCCTAATTTTTTGCATTTTT
TGTAGAGATGGGTTTCACTATATTTGCCAGGCTGCTTTGAACTCTGGGCTCAAGTGA
TCTTCCCATCAGGCGGCTTAAAGTGTGAGGATATAGGCGTGAACCACTGCTGCTGGCT
GAGGATTAAATTTCAACCTCAGGCGGAGGCGCACTCAAACTATAGCATTTGCTTTTAGTGA
CTGGCTTAGTTCACTTAGAATGTTTGTCTTATCTATCCATCTATAGACATGTTTTCTTCT
ACCTTTTGGCTTTGCAAAATGATGCTGCTGAATATGAGTTATAGAAAAATACCAATTTG
AATCGGTGTTTCAATTACTTTGAGTATATACCTTGAAGTGAATTTTGGATCATATGG
TACTTCCAGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGAGCAAGGCTCACTCTGTCAACCGAGGCTG
GAGTGTAGTGGCAGCACTTGGCTCACTGCAACCTCCGCTCCCGGTTCAAGCGATTTCT
CCTGCTCAGGCTCTCAAGTAGCTGGGATTACAGGCAAGGCGGCAACCAACGCGCACTAAT
TTGATTTTTTAGTAGAGTGGGTTCTCTCATGTTGTGAGGCTGCTCCGCACTCCGAC
CTCAGGTGATCTGCTGCTCAGGCTCCCAAAATTTCTGGGATTACAGGTTGAGGCGGCG
CAGCTGGCTCCATGTTCAATTTTTTAAACCAACCAATTTTAAAAAATAGGAACCTAA
GAGAAATGAATATTTCTGTTTTTATCAGTGGGTTATAATCTGTTACTACTCATTTGTTAT
TTTGGAGTACAATTTGCTCTACTTTGGCAGCAGAGGATCTGCAATTTGCTCTCTCTCT
TCTTTTCAATGCTCTTGTGGATCTTACTTGGCCCAAGATAGGATGTTCCAAAGTTCA
TCTCTTACTTTTACTGCCCCAAGCTGGGATGACCACTGCACTTCTTCAAGGAGGCACTTCC
TTTCATTGGAGAAATGAAAACCAAACTAGTGAAGCAAGATAGAGGTTTGGGTGTGAT
TGTACTGGAGTGTGATGCTTCCAAACCTTTTCAAGAGAGACTAGGAAATGTTGTGTT

10

20

30

40

50

【図 10 - 14】

GTGTGTATATATATGTGTGTGTGTGTGTATATATAAAGACATACACATACACAT
ACCCCGAAGCATGTATTTCTGTATTTATTTATTTTGGAGTGGAGTCTTGCTGTGTC
GCCAGGCTGGAGTACAGTGGCAGATCATGGCTACTGCAACCTCTGCTCTCTGGATTC
AAGCAATTCCTCTGTCTCAGCCTCTGAGTAGCTGGAGTACAGGTTGCCACCAACGC
CCACCTAATTTTTGTATTTTATAGTAGAGATGGGGTTTCACACATTTGGCCAGGATGGTCT
TGAACCTCTGACGTCAAGTGATCTGCCGCCCTCGGCCCTCCAAAGTGTCTGGGATTATAGG
CGTGAAGCACTGTTCCATCCAGAGCATACATATCTATTTCTATATCTACATTTCTGTCT
TTTACATGTATATATATAAAATACAGTTTGCACATAACCTCCAAATACAATCTAACAT
CATGGGATTTATTTCTGGCTTTCTCCCTCTCATATTTGTGTCTCCCAACAGTGAGAAAC
CTGGCTTGTATCTCAACATGGTAACCTTTATTTAAGAACTTATTTCTTTTCTTTT
TTTTTCTGAGATTGAGTTTCTGCTTTGTGGCCAGCTGGAGTGCAGTGGTGTGATCTT
GGCTCACCGCAACCTCTGCTCTGGGTTCAGGGATTCTCTGCTCAAGCTTCTCAAGT
AGCTGGGATTACAGGATGACCCACCATGCCCAAGTATTTCTGATTTTATAGTAGATG
GGTTCTCCATGTTGGTCAAGCTGCTCTGGAATCCCGAGCCAGCTGATCTGCTGCT
CGGCCCTCCAAAGTCTGGGATTACAGGCTGAGCCAGCTGCTGCTCTAGTTTAT
TATTTTTTATCCATGTGCTCAGTCTTGGAGCACTGGTCTGTTCTTGGGCTGGGCC
CTCAGTGCACTGCTTAAATACCTAGCCCCAGTCCCTCTGATCATATCCCGAGACCC
CTACTGAATCCAGGCTCTCTACCAAGGAAGGAGGAGGAGGCAATTGACCAAGGAGA
AGAGGGGGAAGGAGGAGGAGGAGGTTGATTTGTATTTCTAAAAATTTCTACTCTGCTC
ATAATGCTCTTAGCTCTAGCTGTGTTGGTGTGGAAAGTAGCTGACAGTGTCTGTTTAT
TACTTACTTTGTCTTTCTTTTAACTGGTTTCACCCAAATATCAGTGTGGAGGAG
AATACTACTCTTGAACAGAGAGTGTATGAGCACTTTTGGCAAGGCTAGTAAAGTA
ACCTTGAAGACTTCACACTTTCGCTTGAAGTTTGAATGAAAGAGAGGATCTTGAGA
GTGTTTCTAGAGTGGAGTGTAAACCATGCTTGGATAGCTTGTGCTGCTGCAITTTGA
GTTTGAAGGCTTATCTGAGCCCTGGGCTGCTCAGGTTTGGGAGTGGCTCTGGA
CATTAGCAGAGAGGAGTAAAGAGGCGCTCTCTCTGCTCTGAGACCTCATGGAAGGT
GAGTTGAGAGGCTCATGAGATTTCTTAAAGCCTCCAGTCTTGAAGTTTGGCAGGTT
CTTGAACCTGCTTCTGCAATTTCTCTTCTCTCTGCTGATTTATTTAAATTTTAT
TTCTTTCAATTTTTTTTTTTTTTAAATAGAGTGGGATCTTCAATGTTGGCAGGTT
GGCTTGAACCTCTGGCCTCAAGCAATCTGCTCTGGCTCCCAAGTGTAGGATTACA
GGCTGAGCCACTATGCTGGCTTTCTTTTGAAGCAAGCTGTGCTGTGGCCAG
GCTGGAGTGCAGTGGTAGATCACAGCTTACAGGCTGGAACCTCTGGCTTAAAGTA
TCTCTCCGCTCAGGCTCCGCGTAGCTGGGATCCAGGCTTGTGCCACATGCTCAGCA
TTTTTAAATATTTTTTTGTAGAGTAGGTTCTCACTGTATACCAAGCTGATCTTAA
ACTCTTAGCTCAAGTGTGATCTGCTGCTCAGCTCCCAAGTGTGGGATTACAGGAT

【図 10 - 15】

GAGCCACCACACTCAGACTTTGTGACTTCTTAATAAGAAAAATCTTTAAGAGTTTC
TTCAGATCACITTCCTTTATCAACAAGTAACATGACTGAGGAAGTTGTGGTCCCTTT
GCTTCCCTGCCCCAGGCCGTTTCCCTCCCTTTTCCCAAGAGGAAACCAAGAGGTTG
GCATATATCTTCTGAAAGCTGTTTTATAGTTGTACTGCACTTGTACTGTGTATGAACA
ATATAAGTTGGTTGTGTGTTTTAAAAATTCACATACATGGATTTATATGTATGTATC
ATTTTGAACCTTAAAAATTTTTTTTGGAGCTCCATGCTGATTGATAACGATCTATTTTT
TTTTTGGAGTGGAGTTTCAGTCTTATTTGCCAGGCTGAAGTGCATGGCTGATCTCAG
CTCACTGCAACCTCAGCCTCTCGGGTTCAAGTATTTCTGCTGCTCAGCCTCCGAGGTTG
CTGGGATTACAGGTGCATGCCACATGCCAGCTAATTTTGTATTTTAGTAGAGATGG
GGTTCCACATGTGACCAAGGCTGGTCTCAAACTCTGACCTCAGGTGATCTGCTGCT
TGGCCTCCCAAGTCTGGAATACAGGATGAGCTACCATGCTGGCTTTTTTTTTTT
TTTTTTTGAAGCAAGTCTGCTCTTTTCCAGGCTGAGTGCAGTGGCCCAATCT
GGCTCACTGCAACCTCTGCTCTGAGTTCAAGCACTTCTGCTGCTCAGCTCTGAGT
AGCTGGGATTACAGCATGTACCAACCTCCCAAGTAAATTTTGTATTTTGTAGAGAC
TAGGTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGCTGCACTCTGACTCTTAAAGTATCCATCTGC
CTTGGCTTCCCAAGTGTGGGTTACAGGATGAGCTATGCCGCTGGCTGAGAAATC
TCATTTTACTCTACTCTCTGACACTATCTCCATCTGTGATAGCAATTTCTATTA
ATTTCTTGTTTACCTCTCTGTCTCTCTCATTTCTTTCTTTTTTTTTTTTTTTT
GAGACAATCTTGTCTGTGCCCCAGACTGGAGTGCAGTGTGATCTGGCTCAGCCGA
ACCTCCACTCTCGGGTTCAAGTGAATTTCTGACTCAGCCACCTAAGTAGTTGGAGTA
CAGCGCTGGGTACACTACCAACCCGCTAATTTGTATTTTGTAGTAGAGTGGGT
TTCACCATGTTGTCCAGGCTAATCTCCACTCTTGGCTCAAGGATCTGCTGTCTCAG
CCTCCCAAGTGTGGGATTAGGCAAGGACCACTGCTGGCCTATGTTCTTTTT
ATAAAAATAGCAAAATTAATATTTTACTACTATTTCTGCTTTTATTTTACACATCAAGT
AGAACATTAATATATTTCTCTGAATTTTTTCAAGTACCTAATCTTTAGTGATCTC
TCTCATCTTTTAAATCAGCTGATGCAATCTCATGATGAATATTTTAACTCTATTA
TACTGTACCCAGCAGTAGCAATTTAGTTGTGTCTAATATTTTAAATGATATATAGC
CTCAATGAATATAGTAACCTTTGCATATATGTTTCTGCTTTGGGATACACTGCTC
GTATTGGAACCTGTCTATTACATGTGCTTTAAATTTACATGTGCTTTTATTTTTAT
TTTTATTTTTTGAAGTGGAGTTTCACTCTGTTGCCAGGCTGAGTGCAGTGGTGA
ATCTGGCCGAGCTGCAACTTCCGCTCCCGGGTTCAAGCAATTTCTGCTGCTGAGCTCC
CCAGTAGGTGAGATTACAGTGGCTGCCACACGCCCACTAATTTTTGTATTTTAGTA
GGGAGGGGTTTCAACATGTTGGCCAGGCTGATCGTCTGCTGACCTCAGGTGATCTC
CCCACTCAGCTCCCAAGTGTGGGATTACAGGCTGAGCCACCATGCTGGCCATCA
CTTTTTTTTTTTCTTAATGCTGCATAGTGGCCGGGACAGTGGCTCAGGCTGTAAATC

10

20

【図 10 - 16】

CCAGCACTTTGGAGGCCAAGGAGGCGCGGATCATGAGTTCAGGAGCAACATACCATC
CTGGCTACATGCTGAAACCCCGCTCTCATTAATAATACAAAAATTTAGCTGGGCTC
GTGGGCGGCGCTGTAGTCCAGCTACTTGGAGGTTGAGCGAGGAGATGGTGAAC
CGGACGCTGGAGCTTGCAGTGCAGCCAGGATGCAACACTGCACTCCAGCCTGGGTGATGG
AGTGAAGCTGTGCTCAAAACAAACAAACAAACAAATTTGCTGCATAGTATCCAT
TGTATGAGTAGTAACACAAATTTTTATATAGCATAGTATTCATTTGTATGATAGTAA
TGTAGCACTATTTGTTTATACATTTTTATGATTTAAAAACAAATGTTTCTATTTATGA
ATAAAGTGGCAATGAATATTTTTGTACAAGTGTTTGGTAGCTATACAGTTATTTGCACT
TAATATATGCATTTGATAGGCCAGTCAATCAAAATAGAGATATACAAGTAGGCCGG
CGTGGTGGCTCAGGCTGTAAATCTCAGCACTTTGGAGGCGGAGTGGGTGGATCACTG
TGGTTAGGAGTTTCAGAGCAGCGTGCACCAATGGAGAACTCATCTCTACAAATA
CAAAAGTAGCTGAGGCTGGTGGCATCTCTGTAATCCAGCTCTTTGGGAGGCTGAGGT
AGGAGATCACTTGAACCTGATTTATATGATGTATGTAATCCAGCGGAAGTGTGGGTG
AACCAGAGTACGCTATTGCACTCCAGCTGGGCAATAGAGCGAACTCCATCTCAAAA
AAAAAAGAGATGATGCAAGGTAAAGTACTAATAAGACCTTTGTGTGAGTGGTT
GACATGGTTTATTTACACCATCTGATTTCTTATAGGGAATAGGTAAATGCTTCTTGG
GTTTCTTCAACACTTAGTAAATCCAGCTGGAGATGAGATCTGATTTACTGGTGT
AACTCTTATTTGTCCCTTGGCTCCCTTCCCAATGGACTATTTAGAGAAATGAGCT
GTCAGCCACATCAAGATTAGAACACTGGTGTATGATGACCTGTATGGAGGGAGAAA
TTTTGCCACTTTGGCTGAGTTGGTCCAGTATTACATGGAACTACGGGCAATTAAGAG
AAGAAAGAGATGCTTACAGCTTAAATATCTCTGAACCTGTGAGATCTTAACCTCTGA
AGTCACTACATTTTATGAGCACCAAGATCTGCTGCTCTGCTGCTGCTGAGTGTGAGA
AATGATGACGGCTGTGTATGACTCTGCTGCTCCAAAGGCTTGTGACTGTTTTTGGC
TGTATCTTTAAGAAATTAAGATGAGACTAATAGCATCAAAATTTTTCAGAGTACC
TTTTTCTGCAAAAGTTTTAATCAGTGTACTTACACTCATCTATAGGGGTGCATACC
ATTCTGCAATACTTGGTCACTGTATGAGTTTAAAGACTTATTGAACCTTCAGGAGATAA
TCTTTGAGGTTTATGAGGAAACAAATGATATGAGGACACCAAAATAGCAGCAGTT
TCTATGGTGGCTCTGACAGCTTATTCAGCAATGTACCACAGAGATGTCAGTTTAAAGCTC
AGAAGTGGAAAGCAGAGGCTCAGAGGCTCAGCTTTTTCATCAGTCTTTTATGTAT
CACCACAAATATGTGAGATGACCTGCTAGAGAAATATGTATTTTTCAGAGTCTTT
CCCCGTGTGTGGAACAGGCTGATGAAGCATGGGCTTACATATTTATTTGATTTGAT
CGTTTTGTACATTTCCAAATCTCTCTGCTGCTTGGTCAAAATCAGGATCTCTTAGTTAG
TTGTATATTTTGTGCTTCAAGTATGATTTTTTCACTTATACCTTTATGTGAGTGT
TTATGTGCTGATAATTTGTTCTCTAGCTACCAAGCTGAGCTTCAGGCAAAAGGCTGAG
CCACTCTGTACAGTTTATTTTAAATTTTACTGTCTTCAAGTGTGATGGATGAAGAT

【図 10 - 17】

AACCTCAAGTTTATCTTTTGTGATGAGCCCTTACACACACTGCCATGATGACTGTG
CTTCTGACCAAGATCTGAGGGAAGAGCCACTTTATTAATAGAACTATGTTAGATGC
TTCACAAAAACATGGAGAGTATGCTCAAGCTCTGCTTGGATGGCTTTGGATGCC
TACATCAGGACTGTCTGATGCTGCTGTTAAATGAGATTCGGGCTCATTCAGACTT
ACATGTATTGATATTTGCTGGTTTGGAGGCTGGGATTCATATTTTAGCAAAATCCCTC
ATTTTTACTCCAGTCTTATGTCATTAACAGTTTGAAGATGATCAGCAGATATAGTC
CAAGACACTGGAGGCTGTTGAATATAGGTTGTATATGAAAGGTTGGAAATTTG
AATTAATTTATATAGAGATCTTTTTAATGAGTGTTCACATGCCAGGACAGGACAAA
CATTCAAAATGATTTCTGCTCTGTTACAACTTTTCTTCTTTTTTAAATTTATTA
TTTGAATGGAGTCTCACTCTGTCAACAGGCTGAGTCAAGTACGCGATCTGCGCTCA
CTACAACCTCGCGCTCCAGATCAAGTAAATCTCTGCTGCTCAGCCTCCGAGTAGCTGG
GACTCAGGCACTGTGCCACCATGCCAGTAAATTTTGTATTTTATGAGAGAGAGGTT
TTGCTGATTTTGGCAGGCTGCTCAAACTCTGACTCAGGTGATGCCGCCACTTGCAC
CTCTCAAGTGTGGGATTATAGGCTGAGCCACCGCTGCTCTATTACAACTTTTT
ATTACAACTCTTATTTTACTTTATTTTACAAATTTATTTATTTTTTTTGGAT
GGAGTTTCTGCTGCTCAGGCTGGAGTGAATGCTGCTGCTCAGCTCACTGCCAATCT
CGGCTCCAGGTTCAAGTGAATCTCTGCTCAGCTCAGCTCTGAGTGGGATTACAGG
CACTTGGCCACACACCGGCCAATTTTGTATTTTAGCAGAGACAGGTTTCAACATGTT
GGTCAAGCTTGGCTCGAATTTCTGACTCAGGTGATGCACTGCTGCTGCCCTCCCAAGT
GTTGGGATTACAGGATGAGCCACAGCTCGGCGGCACTTTATTTTTTTTTTCTTGAGAC
AGGCTCTTGTCTGTCAACCAAGCTGGAGTGGGCTGGCATGATCAGCGCATGCAAGC
TGAACCTCTGAGCTCAAGTATCTCTGCTCGGCTGTGTATAGCTGGGATTACAG
GCAGTTGCCACCATGCCAGCTAATTTTAAATTTTGTGTGAGAGTGGGATTTCACTGT
GTTGCCAGACTGCTTGAACCTCTGCTGCTCAAGTATCTCTGCTTGGCTTCCAA
AGTGTGGGATTACAGGCAAGCCACTATGCAATGCTGATCTTTTAAATGCTAT
AATTAACAGTTGGTCTTTTAAAGTTGGGCAATGAGCAATGGCAAAATGCAATTTTTAA
AAGAGGAGGATTTAAGAAAGCAAGGAGGATTTGGGCTATTGCTCTAAGAGCTGTG
GACTCATTTAAGAGTTTATGTTGATCTTACCACTTTTGGGTTTTCTGCTGCTGAT
GGGATGAGATTTTCTGCTCAGGTGGGATGATCAATCCCTTGGAGGATGCTGTACT
TTTTAATTTGTTTATGAGGAGCTGACTGTATACAGTAGTTTTTGAAGAACCAATGAA
CCCATAGTAGAGTAAATCTTTTTTAACTTTTAAAACTTAGTGTGTTTCAAGGACT
CTCTCTGGGAAGAGCAGAGAAATTTAATCACTGAAGAGGAAACATGGATGTTTCTT
GTACAGAGAGGCAAGGCCACCTGGAGATTTTGTCTTTCTTCTGCGCACTGCTGATGAC
AAGGAGGAGCAATGACGGCAAGTCAAGTGAACCATGTTATGATCTGCTGCTGATA
AATCTCAGTTGAAGATGGGCTGGGCAAGTGTACCTTTGGGATGTTTTCTGCTGAC

30

40

50

【図 10 - 22】

GATTTTACTAAOCTCATTGATCTTACCCATGATCTCTCTTCTCTAAAGCCAAAAATCC
TACTTCTTGAAGCCATTAAGAGATTATCATTTGTTTATCCACATTACACACAAAT
CTTAGAATAATGACTTCCCATATATATGATTACTGAAACAGTTTAAATTTTTTGGCCT
TTTCAAAAAATCCTCAGAGATGTGAGTCAAGTACTGATTTCTGCTGGCCACAGTGG
CTCAGCCTTAATCCTCAGTACTTTGGGAGGACAAAGAGGAGATGCTGGACCTCAGG
AGTTTGAAGCCAGCCGAGCAATATAGTGAGACCTGCTCTTACAAAAGAAAAATAAAA
TTAACAGACATGGTGGCATGTCCCTATAGTCCACAGTATTGAGAGGCTGTGGCGAGAGT
AGGCTTAAAGCCAGGAGTTGAAGCTGCAGTGAATACGATTTGTGACACTGTACTCTAGG
GTGACAGAGCAGGAGCCTGTTTTAAAAAAGAAAAATGAAAAAATCTCTGTGCTTAG
ACTCATTTGTATCTGCTCTCTCTGCTGCTATATGCTATCTAGCTGGTATATGGTTAGT
TTATTTGTTTCAATTAATAATCTCTCTGTTAAGTTTATTTATTAATTAACAAATAC
TGGCTTTGATAGTCAAAATGAAAAACAAAGTGTATCAAGAAAGTCACTCTCTATCTCT
TGCTCTTCTCTATGTTTATAGCATAGTATAAAAGTATGTTTATCATATATATTTCAAA
AATATAAGAAATATTTCCCATCTCCACTTTTCTTAAGCATAGCATAACTTACATAC
TTTTTCTAACTGCTTTTTTAAATATCTGGACATCTGGATATCCATATATAGTGTCT
AGAGATAGTCTTCAITCTTTTTTACTGTATAGTATCTCACTGTGTACTTGTACCATAGT
TTATTCACCTTATTGATGGCATTTGGTAGTTTCCAAATGTATACAGAGAGGATTACA
GTGAATAGCTTGTGTATGATCTCTGCTTACTTTTGTGCTGACTAGTGAATATTAAGAT
TTTTTATGTTCTGTATTTAAAAAATGGTGTATTTATTCATCTATAAATTTTATTATACA
TGACTTTGGTAGCATTTTAACTTTTAACTTTAGCATTAACATTTGCAAGCTACTTGTTTAAAT
TAAATTTTGGTTAAATGTAAAAAATAGTGAAGTATTTGTAATCTAGATTCAATAGAAAT
CTTATACTTCTTTACAAATGATAGTGAAGTGTATTTGTGTAATGACTGTGAATCT
AAAAATACAGCATTTTTTAAATAAATTTTTTAACTTTTAAATATTTTAAATAAAT
AGACACACAAAGTAAAGAGAGAAAAAAGAGACAGGCTTGTCTATGTTGCCA
GGCTGGTCTCAAACTCCAGCTCAAAATGATCTCTGCTTGGCTCTCAAGTGTAAAG
CCACACACATTTGGCAAAAAATAGTTTCTTAAACAAAAACATTACAGGTTATCTGTGATC
CATGGTAGCTCTTTAACTAGTTTCACTTAAAGCAAGCTTAGGAACAAAGTCAAGT
TTCAACAAAGAGCTGTGTGGCATGGGTATTTTTTGGCAAAATCAATTTGTGGGTCAAG
ATGTGAGTTTAAAGGAACTTTAGCTGATCTTGTGGCATGGAAAGATGGTTGCT
TCTAAATGCTGAOCTGTGATTTTAACTGTACATCTCAAAATGGTGTATTTTATA
CATTTATTAACAAAGAGGAAATTTAGTTGAGTGTGACTTTAAAGAGAGTGGAAATTAAGCA
GATCAGATGTGACTCTACAGGCTCTCCACAGAGGTGAGACTGAGTGGTAAATTTGTG
TGCACTAAATAGGGCATTAAGCTTTTCAATGAGAACTGAAGCTATATCTAAATAGCTGATG
GCCCTGCTTTAGATCTCTATATACATCTGCTTCTCAAAATCAAGTCTGTTTAAAAAATG
CCCTTTGAGGTTGGAAACAGCGAAATAGGCTGAACACAGATTAAGCCATTATTTGAAAAA

【図 10 - 24】

TCAGTCTTTATCTTTATAGAGGTACAGTCAAGTGGGAGAGACAGGCAATAAACAAAGAA
ACAGTTCAATATTCATCTGTGAGATGTGATTAAGTGTACAGAGAAAAAATAGTGT
AAGATAAAAGGGTGTTTGATAGGCTTTACTATTTAGGTCTCTTTGATAGGTGGCAT
TTGAACAAAGCTCTGAAGCAATATAAGGAGCCAAACATCATATACCTCAGGAGAACCA
TTCTAGGTAGAGGAAACAGCAAGTGCAGAGGCTCAAGTGGGGTGTGTTTACCTTGT
GCACAACTGACACAGAGCCAGTACAACTGGAAATGAGTGGAAATGTAAGAGAGAGAGT
TGAAGAGGCTCAGGTGCAAGTGGCTCATGCTCAATCCAGCAATTTGGGAGGCTGAAGTG
GGAGGAATTTGAGATCAGGCTGGGCAACAGAACAGCACTCGGCTAATTTTTGTATTTT
TAGTAGAGACAGGGTTTACCATATTTGGCCAGGCTGATCTCAAACTCTGAOCTCAGGTG
ATCTCTCTGCTCAGCTCCCAAGGTGTAGGATTTACAGGTGTGAGGCTTGGCCCGCAGC
CGTATCTTTGTCTTAAAAATTAATCTCTGCTGCTGGTAGGCCAAGAAATTTAAATATATA
AAATTTAAGAAAGAAAAAATAGTAAGTAACTATACAGGTTGGCTTGGCCGTAAATGG
TGAGTGTCAATTTTTTCTCCCTAGGTTATTTGGCTGTGTTGCTCAGAGCAGTGCAGGC
GAAATGGTCATTAGGCGCATGCTATGGTGGCTGGGATGCTGCTCAGCCAGTTTATTT
TCTGTCTGCTCTCTCTCTGGTCTTTCTCTCACTTTTCAATCATGAATTTTGTAGTCAAG
AGCTGGTCCAGTGGTTTCAATCCAGAGGCTTTGGAAGGCTCTGGGGTCTATTTTGGTC
ATTGCACTCACTGGGCTGCTCTCTGGCATTTAGTGTGGCAGGGCTGGGCTGGGAAG
CAGGAATGTTCACTGGCCATTAATGTAAGGTTTGGTCTTACATTTACATAAGGAGACAA
TGAAGAACTTAATCTCTCCACAGTAGTGAGTAGTGGCGTTGGTACTCAGAGTCAGTAGT
GCCGTTGGGTACTCAGATGACAACTGATCAGGACATGACTTCTGTGGATACCTTT
TAATAGTTTATAGATGTGTTAGGCTGTTTGGCATGCTCAAGAAATATCTGAGTCTA
GGTAATTTATAAGAGACAGAGGTTTAACTGGCTCATGTTCTGAAGGCTGTACAGCATG
GCTCCAGCATCTGCTTCTGGTAGGGCTCAGGAAGCTTCCGCTCATATGGAAGGCCAAA
AGGAGGGCAGAGCATACATGGCCGAGTGGTGGCAAGGTTGGGTTGGAGCCAGCTCT
TTTTTTAAATTTTATTTTAAATTTGAGACAGTCTCACTCTTTTGGCCAGCTGGAGTGA
GTGGCGTATCTCAGCTCACTGCAAGCTCTGCTCCAGGTTCAAGCAATTTCTGCTGCT
CAGCTCTGAGTAGTTGGGACTACAGGCGGCAATCAATGCTCCAGTGTATTTGTAT
TTTTAGCAGAGCAGGGTTTCCCATGTTGGCCAGGCTGGTCTGGGATCTGATCTCAA
GTATCTGCTGCTGCTGCCCTCCCAAGTGTGGTGAATACAGGATGAGGCACTGGGCAC
GGCCACCACTGCTTTTAAACAAACAGATTTCAAGTGAACCTTAGAGTGAAGTCACTGT
GAGGATGGCAACAAACATTTCAAGAGGATCCCACTCTCTTAAAGGCCCACTCCAA
CACTGGAGGTCAATTTCAACTTGAATTTGAGAGGGACAGCATCCAAACCGATATATT
AAATTTAATAGTTTATGAGTTTCTTGGCTGTAGATCTGTTTAGACTCTGCAAGTCA
GTGTCTGAATCAGGCTCTGGCTCTTTTGAAGTTCALAGTTTGGTGCAACCCCTTGG
ATGTATTTATTTGGGAAATGGGATATCTGGCAGCTGTGCTCTGCTTTACATTAATCTT

【図 10 - 23】

ATTAGGAACCTTGAAGCAGATCTCATAATCTAAATCTCTGAAGCTAAAGTTTGAATCCA
CAATAGCAAGCATTATCATTTTAGTGATTGTACCTTAGTTGTTTCTGGCAGGTGATAA
ATTGGGATCACTTTCTCTTACAGTGTGCTCTGATAGTCTTTAAACAAACAGAGCTC
TAATTTGATAGCCATTGGTAATTTAACTCTGATTTGTCTATGCTGTCTCTGGTGT
TCTGTAAATTTTACAGCTCATTTCAGGTATCACTATCTCAGAGAGAGCTACTTTGCTCT
TGATGCACTTTAAATGTGAAGTCTCTGTGAAGCTCTTTGGTTATTTTCTCTTGTCTG
CTGAAATAAATTCAGGTTGATGATTTCTGTGATGATATTTGTGTGATCTAGACATTCG
AAACCCAGTCTTTGATTTTTTTTTTCTCTACAGATTTGCTGTTTCTTTTATTTAAAT
TTTTATTAGTTATTTATTTTGGATGGAGTCTCACTCTGTCAACCCAGGCTGGAGTGA
GAGGTGTGATAGCTCACTGCAACCTCCAGCTCCGGGTTCTGTGCTCAGCCACCCAGG
TAGCTGGGATTACAGGCAAGTACCACACTCTCAGCTAATTTTTTGTATTTTATAGAG
GATGGGATTTCTCATGTTGGCCAGGCTGATCTCAAACTCTGACCTTAAGTGAATCTTCC
TGCTTTGGTCTGTGAAGTGTGGGATACAGGTGTGAGGCACTGTGCTGGCCAGTTAT
TAATTTTTTTAAAGAGATGGGTCTCACTATCTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCTCTT
TACAGGCACTGTTGATGTGACTGCAAGCTTGAACCTCTGGGCTCAAGTATCTCTCTGA
GAGGCTGGAAATACAGGCAACACACTGTGTCCAAACAGATTTGCCATTTGTGATGTGTG
TAAATATCTCTCACTTCTCTGCAATCTCTGTCAAGATGTAAAGAGATGGATAATATT
TTTAGATTTGTTGAACAAAGTAAAGTCTGTCTCAATGAGATGACATTAATTAATGA
AAAGGCCGTTTATAATTTCTGTAATTTTGTGCTGCAATTTGTGTGTTTATGTACACTTGA
ATCGGCCCTGTGCAATTTGGGCGAGGTGCATATTCATTTGATTGTTAAAGGTTAGTTGG
GCCGGGCTGGTGGTCAACCTGTAATCCAGCAATTTGGAGGCTGAGGAGCTGGAT
TACCTGAGGTTAGGAGTTCAAGACAGGCTGGCCAACTGTTGAACCTCTGTTCTAGTA
AAAAATACAAAAATTAGCTGGGTGTGTTGGTGGCTGTAATACCGCTACTAGGGA
GGCTAAGGCGAGGAAATGCTTAAACCTGGGAGGCAAGTTGCGAGTGAAGTGAATTTG
TGCCACTGCACTCCAGCTGAGTGTATCAAAAAAAGAAAGGTTTGGCTCTCT
CTCTGTGCTGTGCTCTCTGTTGAGTCTATAGGCTGAGCTGCAAGGGGTACTGTGG
GCTGAGACTGGCAATTTCAACCGACTGCAAGGCAAGGTTGGACCCAGGTTGGATGGAC
TGCTCTGTGGGCTTTCTTTCTGCAATCTCTCTGCTCAACTCTCTCTGATCTCAAG
TATCTCTGCTCTCTCACTGCTGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TGACTTCAAACTCTACTCTCTGAGCTCTCTGAGCTCTCTGAGCTCTCTGATCTCAAG
TGTACCAAGTCTCAGAGATCTCTCTGAGTGGGATGCCATCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CAATCTCAAGGACATGAACATGTGGACCAAGTGTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
AATAGTTTTCAGTGTGAGGCTGTGAGTGAAGTGGGCAAGTATCCCAAAATATCTGCA
AAACTATAGCACTCTGCTGAGTGAAGTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TTGAACCCAGCTGTATGTCTGAGTCTATCTCTAGGTTTGGGGGTGAGGAGTGAACAAA

【図 10 - 25】

TTTGTGCTGCCCAAGGCTCTCTCTAGCATCTCTGCCAAGGCTGAGGAGAGGATG
GAGATGGGCTGACATTTAGCTGTGACAGGTCTTACAGCTTTTGTGCTTGGGATGCTG
GGTGGGAGGAGGTTTGGAAATGAACCTGACAGGAATGTATTTCTCTGAGGCGAGG
GTTTATTTGATATTTTCTGGAGTTAGAACCAATAGGCTGGTGTGGGAGGAGGCGCC
CTTAGCATTTTGTAGGCTCTGTGGGAGAGCATGAAGATCACAATTTCTGAATTTGTTG
TATTTTCACTCTCACTCTAGATGGATGCTCTCTGCTATGGAAATGAAGATTTTATA
GGCACTTGAATCCAGGTGACAGTGGGCTTAATTTGGTGCATAGGGAAGGAGGCT
GGGGAGAGATGTGCTGTAGCTATTAATCTCTGTGACACTGTGAGTGTGTCAGCTT
AGCACCACCTGAGGCTGGGATGCAAGGCTGCTCTCTGCTCTCTGTGGAAGGCTCTGG
ACCCAGCAGCCTCTTGAAGTGTGCAAGCTGTCAAGGCCAAGTCCGCTGGAAGAGGTGAT
TGAGAACTTACTGCAGGATGAAGAAAGGCGAGGACAGGTGAGTGGCTCAAGGCTGTAAAT
CTCAGTCTTTGGGAGGCTGAGGCGGAGGAGGCTGAGGCTTGAAGTGTGAGGAGGAGG
CTGGGCAACATAGTGAGACCTGCTTTACAAAAGGAAAGAAATAGGCAAGATGTTGGT
GTGCTGCTGTGAGTCCAGGCACTCAAGAGGCTGAGGTGAGGAGGATCACTGAGCCAG
GAGTTTGAAGTTACAGTGAAGTATGATCATCACTGCACTTCCAGGCTGGTGAAGAGC
ATGACTCTGTCCCAACCAAAAAAAGATTAAGGAAGCTCTGCGAGAGCTGATGAT
GGGTGGCCAGGCAAAATGAGTATGATGAGGATTTCCCTGCTCTGGAATCTGTAATTTA
GTCTGGCAAGTATCTCTTGTGTTGAGATGATTTCTGTTGTTTACCCATCAAGGTA
GGTAAGATGAATAGCAAGTGAAGAGGCTTCTCTTTTCACTCTTATCTAGTCCGTAG
ATGAAGGCTGAAGAGGCTCTCATATGTTAGTAGTAGTGTAAATCTACCTCTAACA
CTTGCTGTGCTCTTTTTTTTTTGGAAAGCTCAGGAGTGGCCAGTATCTAGGATGAAT
TTGATAATATTTCAATTTTTGTATATCTCTTTCTGTTTACCTCTATATACAGCAAAA
TGAAGAAATTTTAAATTTTGTGCAAGTGAAGGCAATTTCTTTTCTTTCTTTTCTTTT
TTGAGACAGGCTTCTGCTGGCACCCAGGCTGAGGTGAGTGAACAACTCTGCTCTCAG
TGCAACCTCTGCTCTGGGTTAAGGATCTCTCTGCTCAGGCTTCCAGTAGGTGGG
ATTACAGGTGCTGCCACCACTCCAGGTAAATTTTCAATATTTTAGTAGAGACAGGTTT
TGCCATGTTGACTGGGCTGGTCTGAACTCTGAACTCAGTGTGATCTCCAGCTTGGCC
TCCCAAGGTGCTGGGATTAAGGTTGAGGCTGAGGCTGGCTGGGAGGAGTCTCTTTTT
GAAATATATTTTGTGAAGAGAAAGAGGAGTCAAGTTTAAAGAAACAAATGAGATAG
AGGTGGTATGAGAGATGCCAAAGCTCTGAAGGTGCTTTTTTTTTTGGAAACAGAGTCT
TTGCTCTATTGCCAGTCTGCTGCAAGTGGTGAATAGGTTCTCTGCAAGCTTGACC
TTCTGGGCTCAAGTAATCTCCCACTCAGGCTCTCAAGTGTGGGATCAGAGATGAT
GCCATATGCTGGCTAACTTTAAATTTTTTGTGAAGGCCAGCTCTCAACATCTGGCC
AGGCTGGTCTGAGCTCTGCTCTCTGAGCAAAAAACAGGATTTGATTAAGTCTGGGTA
GGAGCTGGGCTGGGATCTTAACAGCTCCAGGTTGGTGTATAGTGTGCTGTCTACAGA

10

20

30

40

50

50

【図 10 - 30】

AGAAGTGTAAATGTCATCTATAGCTTTCCITTTAACATGTGTAGCATTTCCCTTACCTTT
TGAATGTATGAGATTTCTGTTGTTGTTTTGTTGTTTGTAGAGACAGGGTCTCGGTCTG
TTGCCAGGCGGAGTGCATGGCATGATCTCAGCTCAGTGCAGCCTCTGCGTCCCGGTT
CAAAATGATTCTCAGCTCAGCCTCCCAATAGTGGGACACAGGTGCGTGCACCCAGC
CCTGGCTAATTTTGTATTTTGTAGAGATGGGGTTTGCATGTTGGCCAGGCTGGT
TTGGAACCCCTGAGCTTAGGTATCCACCTTCCCTGACCTCCCAAGTGTGGGATTATA
GGTGTGAGCCACCATGCTGGCCATGTTGCTGTTTTAATTAACCTGCTAACTGTCTCT
CCCAATGGTGTGCTGAGTGTCTCAGTCCACCCAGCAGACCTGCTAGGACTCATTAATCTC
CATACTCTTCAAGACACTTCAGATTAATAAATAAATTTGATACACCCACACCTACAGAA
GAGCGGACAGATCTTATTGACTGACAGCCCTGTGTATCTCAAAGTGAGGCCACCATG
GTGGTTTTTTTTTAAATATGGAAGTCTGTGTTTTGTTGTTGTTCTAGTGAAGT
CTTTTTAGATATCCTTTAATTTGTTTATATAAGATTTTATGTGAATGTAGCAGTATA
CCTATAAATTAACCTAAGGACAGATGGAGACTTTGGAGTTGAGCCTTCTACTGTAAAT
TTCATATTGGATGTGAAGGCGAGTGTGAATTTCAATAGACTTCATTGTTGTACTCTTAG
TTGGTATACTTCTGAATACCTTTGAGGCCAGTCTGCTCATCTGAAACAAAGGTTTCT
TCAGCAATGCGCTGGTAACTTAGTGTCTTGAATTAATGGAACCAATGAACATCT
TTGTAGTTTCTGCTCAGGCAAGGGTTTTTTCGCTAAATGTGGATAGGAAGATGAAGC
CCTTCATCTCTCTTTTGCTGATTATAGCTATAGGAGGTTCACTGTCTCAGAGAGACA
TAGGAGTTGTGAGAGAGGGGCTTTGTGTGCTCAGAGGATCAGTATCAGTCCCTTTTC
AGAAGCTCTCTGATAGACAGGAGATTAGGGCAAACTCACTCTGCCACCCCTCACAC
CATGTCTTACTCTCTGCTCCCTGCTCATTTCTCTCTTTACCTTTGGTGGTCCGAGAGG
ATGACATGATGGTATTGATTTCTCCACAGACCTTCTGACATCTACTTCTCAGTATCC
CCCCAGTGCACAGAGACAGCCAGACCTGTGAGACTGTGTTGATTCTCGGCTCTATTTT
AAAAGACAGTGTATTTAGTTTCTCAGATTTAGATTTTGTGCCAAGGTTCCACGGGAGT
TTAGAACTAGGGGGAGGGCTGATGTTTAAAGTGTAGTAAATGTCTTTTCAGGGTCA
GATTTAATTTTATATCTCTGCTGAGTCCCTATAGTGACTGGGAGCACTCCTCAGTCTT
GATTTGGCCAGTGACATGATAGATCAATTAATATTAGGAGTGTCTATTGGGAAACTCA
AAATTTGCATCAATCTGTCCAGATCTTGTGATCTACAAATACCGGAGGGAAGTGA
ATTGAGAACTCATATAAATAAAGACCATCTGTTCTTTTTTTTTTTTTTTGGGACT
GTATCTGCTCTGCTCAGCTGAGGTGCACTGCACTGAGTATCTGGATCACTGCGAGCT
CCGCTCCCGGATTCAAGCGATTTCCTGCTCAGTGGCTGAGTAGCTGGGATTACAGGC
GTGTGCCACTACACTGGCTAATTTTTGTAATTTTAGTAGAGACAGGTTTCCACATGTTG
GCCAGGCTGGTCTCAATCTCTGCTCAAGTATCCACCGGCTTCCCAAGTGTGGG
ATTACAGGCTGAGGCACTGCGCCCAACAGACCATCTCTTTATTGAACGTTCTCTCC
TACCATTGTTTCTTTTCTTTCAATTAATCATTTAGCTATTGACTCTCAGCTGTTGATGT

【図 10 - 32】

GCAGACACCACAAAGCTGGAAGGAGAACTGATGTGGGAGTGATTTGTTTTCTTGGG
TGTGTTCACTGGGGCTGATGAACAGTCACTGTGACATCTCATCTAATCAGAGATATT
TGTTCATGACCTCTTGCTTCTGGCAACATGCTGCTTCTGGAGATAGAGTGGGGAC
AAAACAGATGGAATCCCTGCACTCCCAAGTGTACACTATACTGGCCAGTAACTACCAGC
CCAGTAATTGCACATATAATATATCAATTATAAATCTGAATCAGGCTAGAAAGAAAAA
TGCGAGGAGTTAGGGTTCAATTTGAGGGGAGAGGAGGACTTTTTTTTTTTTTTTGAAAC
AGAACTTTGTTCTGTCAACCCAGACTGGAAGTCACTGGTCACTTCAAGGCTCACTGCAGCC
ACAACCTCCTAAGCTCAAGTGAATCTCTCACTCAGGCTCCCATGTAGCTGGGGCTACA
GGTGTGTCGCCACATGCCCCCAATTTGTAATTTTTATAGAGACGGTGTCTCATTA
TGTGCCCCAGGCTGGTCTGAGCTCTGGGCTTTAGCGATTTAGCGAATCTGCTGCCACATGCAGCT
CCCAAGTGTGTGAATTTAGCGGCTGAGCGAGCGACCCGCCAAGGGAGGGAGGTTCT
TAAGGCAATAGGGAGCAATGTGTTTGAAGTCAAGAAAGAGGTTTGGGGGTTTGTCTTAAG
TGTGTTAAGCAGCAGAGTTGGATTAAAGTTTAAAGATTTCCCTCCACCTGTAGAG
ACTGGAGGGGCGAGGAGTTTCTTAGGATTTAGGACCAATTTAGAGGTATGCGAGCGCTC
AGAGTAAATAATAGGGATTGAATAGGCCAGTCCCGAGGTTGCTGAAAGAGAGGA
CCAGTAGAGCTGACTGGAGGACAGACTGCGAGGATTCAGTAGAGAGGTACCAAGGGC
GAGGCTGTGTGAGGCTGACTGCAATTTTCTAGCTTGAAGAGGTCGCGGGGATGGC
AGTGGAGTTGAGGAGCTGGGAGGATCAAGGACTTTTGTGAACACACAAAGTTTGA
TGCCTTGGACATTTGAATGGAGGGTCAAGGAGCAAGGTTGGAGTGGGATGCGAG
GGGAGGTGGGATGAGAGGCTGCTGATGATGAGTTTGTCTGATAGAGGGACATGTTT
TTCCTGGCAGAGGAGGCGCAAGAGGAGAGGTTGCCACAGATGCCGATAGATGAGCTGA
GAGTGAATGATTTCCCTATCTCTCGGAAGTTTGAAGCAAGGATCAACAGACATCAG
AGGGAATAAGAGAGATAGATATATGAAGAGAGGAGAGAAAGATGAATCTGTAATTGT
TAGCAGGGCAAGAGCTCCAGAAATTTCTGTGTGTGCGAAGTTTCCAGTTGAGGGGTGA
ACATGAATAATATCTGATACCAATGCTCTGGTTTTCTGCAAGGACACTTGGCTCTAGG
GCACAAACAGAAATACGTTGGTTTGTCCAGGCGAGGGGCTTGATAGTTGCACTGGAT
GGAGAGGAGGTCAAGGAATGGAGGACATGTTGATGAGAGACTGTCCCGAGAGCAGGGG
ACTCTTGGCGGATGAGGGGACAGGGGAGGAGGAGGCTGGAAGTAGAGGAGGG
CTCAGTGTCTGAGGCTACAGAGACTGAGCGGGGACAGAGAGGAGCTGGAACAGTGT
TGGTGTGGCCAGGCTGGGATGTTTGGATTTCGTAGTCAAGAGGCTCCAGTCTCTCT
GATGATGGGAGGGGTGGAGGCTGATCTATGTTAGAGATAGTGAGAGAACTGGAACAA
CAGCATATTGGGAGGCTGAGGACAGAGGATCGTTGTAGCTAGGAGTTCTGGGCTGATT
GAGCTGTGATTGTGCACTGCACTCAGCTTGGCAACAGAGTGGCCAGTTAAATAA
AATAAATAAATAAATAAATAAATAAAGAGAGAAAGAGAGAAAGTGTCTCT

【図 10 - 31】

CTGTAGCTGCTCTCTTATTCCAGTTTATAGCTGTAAATTTCTCTGTCTCTAAGATA
CAAGGTAAATTTCTCTGCTCATATTGGTGGTTTTGGAAGTGAGTGGTGGATGACTG
CCAGAAACACAGAACACAAAGACCTCTCTGCCACAGACACATCAACAAATAGATA
AACTCATCTCTTACTGAGTGAATAGCTTCCTTTTTGGCAGCAAGAAATGATTTTCTGG
TGCCATATTTTCAATCCGCTGCTCTTGAAGCCAGACATATTGACAGCTTGGCATTC
CAGGCCACCGAGTTAAGGGAAAGTGAOCTGTAGAGGAGGTATCAGATGGTCTGGATATAG
AAAAAGCAGCTGGTCAAAACCCCTAGGGCTGCTTCTCTGTATAGAGTTATTACACTT
GGGTTAGATAAGGCACAGAGTCTCTTACACTGGTGGGAAATGAACAGACAGTCTGGC
TGTGTTGGCAGCTAGCCTCTCCAGAAATCTGTGCTGGCTTCCCTATGGAGTGAATGGT
AGATCTTAGAATTCAGACCTCAGTGGTGTCTAGCCAGCACTCTCAGATTGGTGGCTCT
CTCTCGCATCTTTGATTCTTTAGAGATAGATAAAACAGACAGCACTCTCTTTGACAT
GTGCTTGGACAGACACCTGCACGAGTGGCTTCTGCTCCCACTTCTGCTGGCTTCTCC
AAACACTGCTTTTCTGTTGAACCTCTCTTTTTTTTTTGGACAGAACTCTCTCTGT
CACCAGGCTGGAGTGCAGTGGCATGAOCTCAGCTCAGTGCACCTCTGCTCCAGGTT
CAAAATAATTTCTCTGCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGGTGCTGCTATCAGC
CCTGGCTAATTTTGTATTTTAGTAGAGACAGGTTTCACTTCTGAGGAGGTTGGTCT
CAAACTCTGGTCTCAAGTGAATGCTGCGCGCTCGGCCACCGAAGTCTGGGATTACAGG
CATGAGCCACTGCGGCCAGCTGATTCTTACAGATTAACAAACATTTGACTGTGCTTGA
CATGTGCTGGATCAGTAACTGCACAGCTGCTTCTCTCCCACTTCTGCTGGTCTC
TCCGAATGCTGCTTTTCTTATTGAACCTCTCTGCTGCTTCTGAAACCTAACAGATG
CGAAACAGGCACTTTTCCATGTTGGTGGTTATTAAGCAAGCTTGAACATTTGTTGTTG
CTTGTGTTAGGCTTTTATTTCAGAGTTCACAGAAATTAATTTCTTTTTCTGTATCTCTC
CAGAGTAAATGTGCAAACTCTGGCTGATGAGTAGTCTTAAAGAAATAGGGCTGATG
CTGTAGAGCTCAAGAAAGCGGCCCTCATGATACCTTACAGCTTACAGAACTTAACTT
TCAAGGTTGAGCAAGTAAATATTTGCTGATTTAGAGACTTTGGAACTGTTGATGG
TGTGTAGGAATTCAGGCTCTTGGCTTACTCATGTTTGCATACATGATGATTCGCTCA
CTCATTTGATTCAGTACCAATTTATAGCTTCTCTTATGTCAGGAGTACAGTTTAAAGCA
TACTGGTACATTTGAGCAAGGAGGAGTGTCTTCTGCTCTCTGAGAGCTAGGAGATA
GACAAATTAATAACAAATTAAGTGGCCAGGCGCTGGCTCAGGCTGTAAATCCAGCACT
TTGGAGGCTCAGGTGGTGGATGCTTGAAGCGGGAGGTTGAGAGGAGGCTGGTGG
GAGCTGGGATAGGTTGCTGAGTGGCTTACAGGCTGTGTAGGAGGCTCCCGAGGGG
CTATGTTGATGGCTCTCTCCAAATACCAAGACTTCAAGCACTTCAAGAGTTGTTCTTTTGT
CTTCTTTGGAATGGAATATTTATATAAATGGCAGAAATTAAGTGGAGAGAGAGATAGA
TGTGAGAGGTGCGCGGGGTGAATCTGAGAGGTGCGGGATGTTTGGCTTTTGGAGGA
GGAGAGGGGATTCAGACACATTTAGAGGTTTGAATCTGAGCGAGGAGGTTGGTGTG

【図 10 - 33】

TTACATCCCTTTTAAATGTCACTTAAAGCTGGGCAAGTGGCTGATGCTGTAATCCC
TGCACTTTGGAGGCTGAAGTGGTGGATTACTTAGGTTGAGGATCAAGACAGGCTCT
GCCAATAGCGGAACTCTCTCTACTAAATAGCTGGATGGTGGATGCTGCTGATG
CCCACTACTCGGAGTCTGAGTCTGAGGCCAAGAAATGCTGAATCGGGAGGCTAGG
TTGAGTGGCTGATGATCAGCTCACTGTGCAACAGCTGGATGACAGAGTGAGACTCTGT
CTCAAAAAAAAGTCACTTAGCTTAGATTTGCTTACATATATAGGAAGAGTGTAGG
AATGAATGGTGTCTGCTACAAATAGCTCATCTGGATAGACCCAGAAACATGATATTTT
GTTTCTGTAGGCTTGGTGGCTATGTTGATCTTTTAAATTAATCAATATCTCAAAATAG
CCATAATGTGCTGAGTCTCTCTTATTTGCTGGCAGAGGCTGAGTATTTCAGCGAGCT
AGTAGCTCTTAAATTTGCAATATGATAGAGAGAAAGATTAATTTTGAATTTGCAAA
AATGAAGAAATGAGGTTTAGAGATACCAAGGGCCAGTGAAGTGTGAGTGTGGAAT
GGAGCTTAAATCTAGTCACTGATAGCAAGGCTGTTTCTTATCTGCTTTGCAATTAAT
ATAAGTTTAAATAGAACAAATAGTGGCCAGGCTGGTGGCTCAGGCTGTAATCCAGCA
CTTTGGAGGCTGAGGCAAGGACATCACTGAGTCAAGGATTTGCAACAGGCTGGCCA
ATATGGCGAAGAAACCCCATCGCTACTAAAAATACAAAAATAGCCAGGATGTGATG
TGTGCTGTAATCCAGCTACTTGGAGGCTGAGGAGGAGATGGCTGAACCCGGAG
CGAGAGGTTGAGTGAAGCAAGATCAAGGCACTGCACTCCAGGCTGGGCAAGAGATAG
ACTCTGCTTTGGAAAAAAGAAAAAAGAAATGATACTATAGTCTGTGTTATGATGTGG
GGAGGTTGAGTATCAAAAAATACAAAGAGGAATGAATGTTTAAAGTAATGCTGTT
TCCCATCTGCTCTCTCTCTGCTGGAGGAGAGCTTGAATCCCTAGAGGTTTCAAGTTG
CCTCAGAGCTGAGTGCACAGGAGTGCAGGCGAATAGGAGTTTACCTGTGCTGGTAA
TTCAGAGAGATGATTCAGGTTATAGTTACCTGAAGAAACAAATGGCATGCCAGGCTCT
TGGTTCTTATGACAGGCGAAGAGTTGCTCCAGGATGCCCAAGAGAGAGGATCT
GGGACCTCAAGAGAGGAGCTTTCAAGTGAACCTGGGAGAGTTCTCTCTCTCTCAATTG
GATTTAGAAAGCTTAGAAGCGGAGTATCTCAACCTCTGATTTATTAATCTTTTCT
TGGTTTTCTTGGCTCTACTCCAGGGAAATGAGAGAGAGGCTTGGCAATACCACTTT
GGAGCTGGCCGAGAGCAGAGGCTGCCCCAGGAGCTTGGGGGCTGCTGGAGTTCTGGAG
GAGGCTGAGCAATAAGAGAGAGAGAGCTAGATGATGAGGAGGCGGCTGGTGGCTGAGG
TGACAGCTCTGCTGGCGCTTAGGCCACAGGCTGTCCCTGTGCTGAGGCGGAGGCT
TGTCTTACCTAACCCTCTCTAGCTCTTAACTGATAGGAGAAATTAATCTGATTAGAG
GATAGAGCAACTGCAATTGAGGAGCAATTTGATGCAAGGATATTCTCTGATAGCCTTA
CAGCACTGCAATTGGCCATGCGCATGGCAGCACTGCTGATTTAAACAGCAAGCAATGAT
CAGCATTAATCTGAGTCCACCAAGAGTTGTGCAATTAACCACTTCACTCTGCTCTGCA
GTTTCTCTTATCTCTCATGAGTTTGTCTTGTAGCTGTGACTGCTTTGTAGGATTTGA
GGTGGTGGGGTGTGTGGAAATAGGCTGACTCTGAGAGTCCCTTAAGTCAATTTTGG

50

【☒ 1 1】

MTSRWFHPNITGVEAENLLTRGVDSFLARPSKSNPGDFTLSVRRNGAVTHIKIONTG
DYDLYGGEKFATLAELVQYMEHHGQLEKNGDVIELKYPINCADPTSEWFWHGHLSGK
EAEKLLTEKGKHSFLVRESQSHPGDFVLSVRTGDDKGESNDGSKSVTHVMIRCQELKYD
VGGGERFDSLTDLVEHYKKNPMVETLGTIVLQKQPLNNTTTRINAAEIESRVRELSKLAETT
DKVKQGFWEETFLOQQECKLYSRKEGQRQENKNRKNILPFDHTRVVLHGDGDNPEP
VSDYINANIIMPEFETKCNSKPKKSYIATQGCLONTVNDFWRMVFEQENSRIVMTTKEV
ERGSKCKVYWPDEYALKEYGVMRVNRNKSAAHDYTLREIKLSKVGGQGNERTVWQYHF
RTWPDHGVPSDFGGVLDLEEVEHHKQESIMDAGPVVVHC\$AGIGRTGTFIVIDILIDIIR
EKGVDCDIDVPKTIQMVRSQSRGMVQTEAQYRFIYMAVQHYIETLQRRIEEEQKSRKRGH
EYTNIKYSLADQTSGDQSPLPCTFTPPCA\$MREDSARVYENVGLMQQKQKSF

配列番号 6 1

10

20

【配列表】

0007278027000001.app

30

40

50

フロントページの続き

- 弁理士 廣田 鉄平
(74)代理人 100096482
弁理士 東海 裕作
(74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真
(74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子
(74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一
(74)代理人 100221958
弁理士 篠田 真希恵
(74)代理人 100192441
弁理士 渡辺 仁
(72)発明者 シャレイ アーモン アール .
アメリカ国 マサチューセッツ 0 2 1 4 4 サマービル ハイランドアベニュー 3 3 3
(72)発明者 ラジョイー マーク
アメリカ国 ワシントン シアトル マイナーアベニューイー 2 3 3 1
(72)発明者 ジェンセン クラウス エフ .
アメリカ国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1 レキシントン アウトルックドライブ 1 0 3
(72)発明者 ランガー ロバート エス .
アメリカ国 マサチューセッツ 0 2 4 5 9 ニュートン モントベールロード 9 8
- 合議体
審判長 長井 啓子
審判官 福井 悟
審判官 川合 理恵
- (56)参考文献 特表 2 0 1 4 - 5 3 3 9 3 6 (J P , A)
特表 2 0 1 4 - 5 0 9 1 9 5 (J P , A)
特表 2 0 1 2 - 5 3 1 9 0 9 - (J P , A)
国際公開第 2 0 1 4 / 0 6 5 5 9 6 (W O , A 1)
米国特許第 6 1 3 3 5 0 3 (U S , A)
Genome Biology (2 0 1 5) Vol . 1 6 , No . 2 5 1 , pp . 1 - 3
(Published online 2 0 1 5 . 1 1 . 1 7)
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , DB名)
C12N15/00
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S / W P I X (S T N)