

4145/90

32875/90

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

-54733-

52.112/PA

**ELJÁRÁS ÚJ, ANTIGENIKUSAN AKTÍV FEHÉRJÉK ÉS PEPTIDEK,
VALAMINT FERTŐZŐ MACSKA PERITONITISZ VÍRUS (FIPV) VAKCINÁK
ELŐÁLLÍTÁSÁRA**

DUPHAR INTERNATIONAL RESEARCH B.V, WEESP, HOLLANDIA

A bejelentés napja: 1990.07.09.

Elsőbbsége: 1989.07.12. (89001794) HOLLANDIA

KIVONAT

A találmány két új antigenikus fehérjére/peptidre vonatkozik, amelyeket macskák (Felinae) immunitásának stimulálására lehet alkalmazni fertőző macska peritonitisz vírus (FIPV) ellen; ez a két antigenikus fehérje az M-fehérje és az N-fehérje. A találmány foglalja magában továbbá az olyan vakcinákkal, amelyek ilyen antigenikus fehérjéket vagy peptideket tartalmaznak.

Az M-fehérje és N-fehérje aminosavszekvenciáját és az ezt kódoló nukleotidszekvenciát is ismerteti a találmány.

Alc...

4445/90

3057E/90

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

S.B.G. & K.
BUDAPESTI NEMZETKÖZI ÜGYVÉDI
ÉS SZABADALMI IRODA
1061 BUDAPEST, DALSZÍNHÁZ U. 10.
TELEFON: 153-3733

A

52.112/PA

-54733-

NS20₅:

C12D15/50

AG1K39/215

**ELJÁRÁS ÚJ, ANTIGENIKUSAN AKTÍV FEHÉRJÉK ÉS PEPTIDEK,
VALAMINT FERTŐZŐ MACSKA PERITONITISZ VÍRUS (FIPV) VAKCINÁK
ELŐÁLLÍTÁSÁRA**

DUPHAR INTERNATIONAL RESEARCH B.V, WEESP, HOLLANDIA

Feltalálók: VENNEMA Harry

ROTTIER Peter J., WEESP, HOLLANDIA

A bejelentés napja: 1990.07.09.

Elsőbbsége: 1989.07.12. (89001794) HOLLANDIA

A találmány az FIPV két szerkezeti fehérjéjéhez, az M-fehérjéhez és N-fehérjéhez tartozó gének klónozásával és bázisszekvenciájának megállapításával foglalkozik, ahol a nevezett fehérjék képesnek bizonyultak immunválasz kiváltására macskákban.

A találmány foglalkozik az M-fehérje és N-fehérje aminosavszekvenciájával (amely közvetlenül a nukleinsavszekvenciából származhat), ilyen módon magukkal a fehérjékkel és fragmentumaikkal is. A találmány foglalkozik továbbá olyan vakcinákkal, amelyek tartalmazzák az egyik vagy mindkét fehérjét és/vagy az egyik vagy mindkét fehérje származékait.

A fertőző macska peritonitisz fertőző betegség, amely általában halálos. A betegséget a fertőző macska peritonitisz vírus (FIPV) okozza. A természetes úton szerzett FIPV fertőzés klinikai tünetei kezdetben nem nagyon jellemzőek. A macskák vérszegények, és étvágytalanságot, teljesen rossz közérzetet és lázat mutatnak. A betegség későbbi stádiumában gyakran előfordul a has jól érzékelhető duzzadása. Az említett duzzadást az aszcitesz folyadék felgyülemzése okozza, néhány millilitertől akár egy literig is terjedő térfogatban. A boncoláskor mindig találunk jelentősen elterjedt peritonitist, míg a hasüregben levő szerveket gyakran fedi vastag, rostos izzadmány. Szürkés-fehér duzzاناتok formájában rendellenességek figyelhetők meg a májban, tüdőben, lépben, csepleszben, belekben és vesékben.

Az FIPV elleni humorális antitestek nem nyújtanak semmiféle védelmet a FIPV fertőzés ellen. Másrészt az a macska, amely antitesteket fejlesztett ki az FIPV ellen egy korábbi fertőzés eredményeképpen, sokkal gyorsabban fejleszti ki a klinikai tüneteket és elváltozásokat és sokkal rövidebb ideig él túl (a "korai pusztulás" szindróma), mint az a macska, amely először kapott fertőzést. Ennek a tünetnek a valódi magyarázata az úgynevezett antitest-függő fokozás ("antibody-dependent enhancement", ADE), vagyis egy olyan tünet, amelyet már megfigyeltek herpesz vírusoknál, Rhabdovírusoknál, himlő vírusoknál, Flavivírusoknál, Alfa-vírusoknál, Reovírusoknál és Bunyavírusoknál. A tünet valószínűleg azon alapul, hogy a vírus-antitest komplexek a makrofágok Fc-receptoraihoz kötődnek. Erről a kötésről elmondhatjuk, hogy sokkal hatékonyabb, mint a makrofágok és az antitestek intermedierje nélküli vírusok közti kötés. Ennek az eredménye azután az, hogy a fertőzés sokkal gyorsabban megy végbe és sokkal hatékonyabb, mint amikor a vírus nem komplexbe vitt formában kötődik.

Az FIPV ellen eddig még nem találtak aktív vakcinát, és a terápiás intézkedések is hatástalannak bizonyultak. Profilaktikus intézkedéseket sem lehet tenni, mivel az ismeretek a patogenezisről és arról az útról, amely segítségével a vírus átjut, nem elégségesek.

Nemrégiben fertőztek macskákat Vaccinia vírus élő rekombináns hordozóval, amelyben az FIVP Spike fehérjéje van

klónozva. Az összes fertőzött macska ADE által okozott "korai pusztulás"-t mutat, mintha ép-, élő FIPV-vel fertőzték volna korábban. Ez azt demonstrálja, hogy az FIVP Spike-fehérjéje szerepet játszik az ADE előfordulásában.

A fertőző macska peritonitisz vírus a Coronaviridae nemzetséghez tartozik. A Coronavírusok gömbalakú részecskék, amelyek átmérője mintegy 100 nm. Ezek spirális jellegű nukleokapszidból állnak, amelyek lipid-tartalmú burkolatba vannak burkolva. Három szerkezeti fehérje található itt: a nukleokapszid fehérje (N:40-50 K), és két membrán-fehérje: a Spike fehérje (S:180-200 K) és a mátrix fehérje (M:25-30 K). A vírusok a citoplazmában replikálódnak, ahol a mintegy 30 kb-s RNS-genom releváns génje(i) transzlatálódik(nak) RNS polimerázzá(okká). Ezután egy teljes hosszúságú negatív szál szintetizálódik, amely azután templátként szolgál új genom RNS és 5-7 szubgenomikus hírvivő RNS szintéziséhez. Ezek az m-RNS-eknek "sapka" szerkezete van, poliadenilezettek, és egy 3'- "fészek-készlet"-et képeznek. Ez azt jelenti, hogy az m-RNS-eknek azonos 3'-vége, de eltérő 5'-hosszúsága van.

Azok a fehérjék, amelyekre a jelen találmány vonatkozik, mindegyike legalább egy olyan területet tartalmaz, amely immunogén. Az ilyen fehérjéket vagy fragmentumaikat elvileg alkalmazhatjuk FIPV elleni vakcina komponenseiként. Amikor a teljes fehérje helyett fragmentumokat alkalmazunk, ezeket ismert hordozókhoz, pl. KLH-hoz (Keyhole Limpet Hemocyanin, kulcslyuk-kagyló hemocianin) vagy BSA-hoz (Bovine Serum Albumin, szarvasmarha szérum albumin) kapcsolva

alkalmazhatjuk.

A jelen találmány szerinti peptid-fragmentumokat vagy fehérjéket, amelyek legalább egy antigenikusan aktív peptid fragmentumot tartalmaznak, a peptidek és fehérjék előállításához ismert eljárásokkal állíthatjuk elő.

A peptideket elsősorban szintetikusan állíthatjuk elő ismert technikákkal, egyedi aminosavakból vagy kisebb peptid fragmentumokból kiindulva.

A peptideket és fehérjéket előállíthatjuk bioszintetikusan is, rekombináns DNS technikákat és kifejező rendszereket alkalmazva; ilyen eljárás pl. az alábbi:

- a) gazdasejtek transzformálása olyan kifejező vektorral, amely egy vagy több antigenikus determinánst (általában peptidet) kódoló DNS-t tartalmaz;
- b) a kifejező vektorba beiktatott genom kifejezése;
- c) a sejttenyészet kinyerése;
- d) a szintetizált peptid (fehérje) izolálása.

A találmány ennél fogva egy olyan DNS molekula előállítási eljárására is vonatkozik, amely a jelen találmány szerinti fehérjéket vagy peptideket kódolja. Egy ilyen eljárás az alábbi lépéseket foglalja magában:

- a) az FIP egyszálú RNS-ének izolálása;
- b) olyan cDNS szál szintetizálása, amely komplementer az a) pontban említett RNS szállal;
- c) egy második cDNS szál szintézise, templátként az első cDNS szálat alkalmazva.

Az ilyen módon kapott kettős szálú DNS-t önmagában ismert módon beiktathatjuk valamilyen kifejező vektorba, amelynek eredményeképpen rekombináns kifejező vektor keletkezik. A vektort azután megfelelő gazdasejtbe lehet bevinni, pl. transzformálással.

A fehérjéket vagy peptideket kifejezhetjük a cél-állatban is in vivo. Ebből a célból azokat a géneket, amelyek az N-fehérjét vagy M-fehérjét vagy részeit kódolják élő rekombináns hordozókba (Live Recombinant Carrier, LRC) építhetjük be, ilyenek lehetnek pl. az alábbiak.

- | | |
|--------------------------|--------------------|
| 1. Vaccinia-LRC | 5. Sindbis-LRC |
| 2. Herpesz-LRC | 6. Corona-LRC |
| 3. Adeno-LRC | 7. Bakteriális LRC |
| 4. Adeno-val társult LRC | |

Az így kialakított LRC beadása a cél-állatba a beiktatott génnek kifejezéséhez vezet az összes fertőzött sejtben (a hordozó fehérjék kifejezése mellett).

A találmányt az alábbiakban részletesen is leírjuk a mellékelt speciális példa segítségével.

PÉLDA

Vírus- és szövettenyésztet

Az FIPV 79-1146 törzset kétszer tisztítjuk fcwf-D sejteken végzett végpont-hígítás segítségével, majd vírus törzstenyésztet elkészítésére használjuk fel.

a) Vírus genom RNS izolálása

Fcwf-D sejteket fertőzünk FIPV 79-1146-tal 0,1 TCID₅₀ fertőzőési szaporítással. A fertőzés után 16 órával a tápközeget kinyerjük és 1000 xg-vel centrifugáljuk 10 percen át, hogy eltávolítsuk a sejttörmeléket. NaCl-t és polietilén-glikolt (BDH, Poole, Anglia) adunk hozzá 2,33% (tömeg/térfogat) és 10% (tömeg/térfogat) végső koncentrációban. A keveréket 4°C hőmérsékleten 10000 xg-nél centrifugáljuk 16 órán át. Az üledéket újra szuszpendáljuk TESV pufferban [0,02 mól/l trisz.HCl (pH 7,4), 1 mmól/l EDTA, 0,1 mól/l NaCl]. A 10000 xg-nél végzett 10 perces centrifugálás után a vírusszuspenziót 10%-os (tömeg/térfogat) szacharóz párnára visszük fel, amelyet egy 20-50%-os (tömeg/térfogat) szacharóz gradiens tetején helyezkedik el (a szacharóz oldatok TESV-ben vannak). A gradienst 16000 fordulat/perccel

centrifugáljuk, 4°C hőmérsékleten, 16 órán át, SW 27.0 rotorban. A vírus-csíkot kinyerjük és háromszorosára hígítjuk TESV-ben. A vírust centrifugálással üledékbe visszük 4°C hőmérsékleten, 250000 xg-nél 90 percen át, majd 37°C hőmérsékleten 30 percig inkubáljuk olyan keverékben, amely TESV-t, 5% SDS-t (nátrium-dodecilszulfát) és 0,5 mg/ml K proteinázt tartalmaz. Az RNS-t végül fenol-kloroformmal extraháljuk, amelyet éteres extrakció és etanolos kicsapás követ. Ezen a módon mintegy 5 µg genom RNS-t kaphatunk $2 \cdot 10^8$ fertőzött sejtéből.

b) Az FIPV genom RNS klónozása

A cDNS szintézisét úgy végezzük, amint ezt Gubler és Hoffman leírják [Gene 25, 263-269 (1983)]. Borjú timusz DNS pentamereket, mint "véletlenszerű" primereket és metil-merkuri-hidroxiddal denaturált FIPV genom DNS-t alkalmazunk. A kettős szálú cDNS-t dC-gyökökből álló farokkal látjuk el, majd PstI-gyel emésztett, dG-farokkal ellátott pUC9-be ligáljuk. Az így kapott rekombináns plazmidot használjuk fel E.coli JM109 törzs transzformálására, amint ezt Hanahan leírta [J.Mol.Biol. 166, 557-580 (1983)]. Ezen a módon 400 transzformánsból álló cDNS bankot kapunk. A plazmidok egy maximum 6 kb hosszúságú, 2,5 kb átlagos méretű beiktatásokat tartalmaznak.

N/M szekvenciákat tartalmazó rekombinánsok kiválasztása

Az N/M-re fajlagos szekvenciákat tartalmazó rekombinánsokat azt a tényt hasznosítva azonosíthatjuk, hogy az említett szekvenciák a genom 3' végén helyezkednek el [J.Gen.Virol. 68, 995-1002 (1987)]. A rekombináns plazmidok Southern-foltjai hibridizálnak azokkal a ³²P-jelzett RNS frakciókkal, amelyek fel vannak dúsulva az 1,4 kb-s FIPV RNS-ben. Az említett frakciókat úgy kapjuk meg, hogy elvégezzük az FIPV-vel fertőzött sejtek teljes poli(A)+RNS-ének izokinetikus szacharóz gradiens centrifugálását. A pUC-FIPV-1312, Cl2 és E7 plazmidok hibridizálnak ezzel a vizsgáló mintával, ezért ezeket felhasználjuk további elemzésre.

c) Klónozott szekvenciák jellemzése

A B12 cDNS klónról a hibridizálás és restrikciós enzimes emésztés után bebizonyosodott, hogy tartalmazza az M-gént és N-gént, ezért ezt felhasználjuk szekvenciaelemzésre. A restrikciós fragmentumokat agaróz gélen elkülönítjük, és NA45 membránok (Schleicher és Schuell) segítségével izoláljuk, majd M13 vektorokba szubklónozzuk. A szekvenciaelemzést a didezoxi-módszer szerint végezzük [Sanger és munkatársai: Proc.Natl.Acad. Sci. USA 74, 5463-5467 (1977)]. Mind az univerzális M13 primert, mind a belső szintetikus primereket (17-mer) alkalmazzuk.

Az adatokat DEC 20/60 számítógéppel elemezzük Staden

programmjait alkalmazva [Nucl.Acid.Res. 10, 4731-4751 (1982)].

d) Nukleotid szekvencia

Az M-gén nukleotid szekvenciáját az 1. ábrában mutatjuk be. Az M-gén kódoló szekvenciája egy ATG kodonnal kezdődik a 496-498. helynél és a TAA stop kodonnal végződik az 1282-1284. helynél. Az M gén kódoló része így 786 nukleinsavat tartalmaz és egy 262 aminosavas fehérjét kódol.

Az N-gén kódoló szekvenciája egy ATG kodonnal kezdődik az 1297-1299. helynél és egy TAA stop kodonnal végződik a 2428-2430. helynél. Az N-gén kódoló része így 1131 nukleinsavat tartalmaz és egy 377 aminosavas fehérjét kódol.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. A fertőző macska peritonitisz vírus (FIPV) M-fehérjéjét vagy N-fehérjéjét kódoló gének azzal jellemezve, hogy ezek az 1. ábrában található nukleotidszekvenciával bírnak.
2. Fehérje azzal jellemezve, hogy aminosavszekvenciája az 1. ábrában bemutatott aminosavszekvencia vagy annak egy része.
3. Immunogén azzal jellemezve, hogy valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet tartalmaz, kívánt esetben valamely hordozóhoz kötve.
4. Vakcina azzal jellemezve, hogy valamely 3. igénypont szerinti immunogén fehérjét vagy peptidet tartalmaz.
5. Eljárás valamely 2. igénypont szerinti fehérje vagy peptid előállítására, azzal jellemezve, hogy
 - a) a fehérjét vagy peptidet szintetikusan állítjuk elő önmagában ismert módon egyes aminosavakból és/vagy kisebb peptidek összekapcsolásával; vagy
 - b) egy gazdasejtet transzformálunk olyan kifejező vektorral, amely valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet kódoló DNS-t tartalmaz, és a kifejező

vektorba beiktatott genomot kifejezzük; vagy

c) cél-állatokban levő sejteket fertőzünk in vivo valamilyen LRC-vel, amely valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet kódoló DNS-t tartalmaz, és ezt a fehérjét vagy peptidet az említett gazdasejtekben kifejezzük.

6. DNS molekula azzal jellemezve, hogy valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet kódol, vagy olyan polipeptidet kódol, amely valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet tartalmaz.
7. Rekombináns DNS kifejező vektor azzal jellemezve, hogy valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet fejez ki, vagy ezek egy részét fejezi ki, és tartalmaz egy operont iniciátor szekvenciákkal és terminátor szekvenciákkal, valamint egy olyan nukleotid szekvenciát, amely az említett fehérjét vagy peptidet kódolja, ahol az említett nukleotid szekvencia az operon iniciátor szekvenciái és terminátor szekvenciái között van.
8. Élő rekombináns hordozó (LCR) azzal jellemezve, hogy tartalmaz valamely 7. igénypont szerint meghatározott kifejező vektort.
9. Gazdasejt azzal jellemezve, hogy tartalmaz egy, a 6-8. igénypontok bármelyike szerinti rekombináns DNS kifejező vektort és/vagy DNS molekulát.

10. Eljárás valamely 2. igénypont szerinti fehérjét vagy peptidet kódoló DNS molekula előállítására, azzal jellemezve, hogy

- a) egyszálú FIPV-RNS-t izolálunk;
- b) az említett RNS szállal komplementer cDNS szálát szintetizálunk;
- c) egy második cDNS szálát szintetizálunk az első cDNS szállal, mint templáttal.

S.B.G. & K.
BUDAPESTI NEMZETKÖZI ÜGYVÉDI
ÉS SZABADALMI IRODA
1061 BUDAPEST, DALSZÁNYI U. 10.
TELEFON: 453-3733

13 oldal
3 ábroldal

16

10. oldal
16. oldal

445/90

1. ábra

KÖZZÉTÉTEL 54733 -
PÉLDÁNY 371 22284/90

1	TAAATTATATGTTTGTGAATGACCTCACGTTGCATTTTGTAGACCCTATGCTTGTAAAGAA	60
61	TAGCAATACGTGGCTTAGCTGATGCTGATCTAACTGTTTTAGAGCAGTTGAACTTCTCA	120
121	ATGGTGATTTTATATATGTATTTTCACAGGAGCCCGTAGCCGGTGTTTACAATGCAGCCT	180
181	CTTCTCAGGCGGTTCTAAACGAAATTGACTTAAAAGAAGAAGAAGACCTAACTATGA	240
241	CGTTCCCTAGGGCATTACTATCATAGATGACCATGGCATGGTTGTTAGCGTCTTCTTCT	300
301	GGCTCCTGTTGATAATTATATTGATATTGTTTTCAATAGCATTGCTAAATGTTATTAAAT	360
361	TGTGCATGGTATGTTGCAATTTGGGTAAGACTATTATAGTACTACCTGCACGCCATGCAT	420
421	ATGATGCCTATAAGACCTTTATGCAAACCAAGGCATATAATCCCGACGAAGCATTTTTGG	480
	M K Y I L L I L A C I I A C V	
481	TTTGAACATAACAAAATGAAGTACATTTTGCTAATACTCGCGTGCATAATTGCATGCGTT	540
	Y G E R Y C A M Q D S G L Q C I N G T N	
541	TATGGTGAACGCTACTGTGCCATGCAAGACAGTGGCTTGCAGTGTATTAATGGCACAAAT	600
	S R C Q T C F E R G D L I W H L A N W N	
601	TCAAGATGTCAAACCTGCTTTGAACGTGGTGATCTTATTTGGCATCTTGCTAACTGGAAC	660
	F S W S V I L I V F I T V L Q Y G R P Q	
661	TTCAGCTGGTCTGTAATATTGATTGTTTTTATAACAGTGTACAAATATGGCAGACCACAA	720
	F S W L V Y G I K M L I M W L L W P I V	
721	TTTAGCTGGCTCGTTTATGGCATTAAAATGCTGATCATGTGGCTATTATGGCCTATTGTT	780
	L A L T I F N A Y S E Y Q V S R Y V M F	
781	CTAGCGCTTACGATTTTAAATGCATACTCTGAGTACCAAGTTTCCAGATATGTAATGTTC	840
	G F S V A G A V V T F A L W M M Y F V R	
841	GGCTTTAGTGTGTCAGGTGCAGTTGTAACGTTTGCACCTTTGGATGATGTATTTGTGAGA	900
	S V Q L Y R R T K S W W S F N P E T N A	
901	TCTGTTTCAGCTATATAGAAGAACCAAATCATGGTGGTCTTTAATCCTGAGACTAATGCA	960
	I L C V N A L G R S Y V L P L D G T P T	
961	ATTCTTTGTGTTAATGCATTGGGTAGAAGTTATGTGCTTCCCTTAGATGGTACTCCTACA	1020
	G V T L T L L S G N L Y A E G F K M A G	
1021	GGTGTTACCCTTACTCTACTTTCAGGAAATCTATATGCTGAAGGTTTCAAATGGCTGGT	1080
	G L T I E H L P K Y V M I A T P S R T I	
1081	GGTTTAACCATCGAGCATTTGCCTAAATACGTCATGATTGCTACACCTAGTAGAACCATC	1140
	V Y T L V G K Q L K A T T A T G W A Y Y	
1141	GTTTATACATTAGTTGGAAAACAATTAAAAGCAACTACTGCCACAGGATGGGCTTACTAC	1200
	V K S K A G D Y S T E A R T D N L S E H	
1201	GTAAAATCTAAAGCTGGTGATTACTCAACAGAAGCACGTACTGACAATTTGAGTGAACAT	1260

3/22284

	E K L L H M V	M A T Q G Q R V	
1261	GAAAAATTATTACATATGGTGTAACTAACTTTCAAATGGCCACACAGGGACAACGCGTC		1320
	N W G D E P S K R R G R S N S R G R K N		
1321	AACTGGGGAGATGAACCTTCCAAAAGACGTGGTCGTTCTAACTCTCGTGGTCGGAAGAAT		1380
	N D I P L S F Y N P I T L E Q G S K F W		
1381	AATGATATACCTTTGTTCATTCTACAACCCCATTAACCTCGAACAAGGATCTAAATTTTGG		1440
	N L C P R D L V P K G I G N K D Q Q I G		
1441	AATTTATGTCCGAGAGACCTTGTTCCCAAAGGAATAGGTAATAAGGATCAACAAATTGGT		1500
	Y W N R Q I R Y R I V K G Q R K E L A E		
1501	TATTGGAATAGACAGATTCGTTATCGTATTGTAAAAGGCCAGCGTAAGGAACCTCGCTGAG		1560
	R W F F Y F L G T G P H A D A K F K D K		
1561	AGGTGGTTCTTTTACTTCTTAGGTACAGGACCTCATGCTGATGCTAAATTCAAAGACAAG		1620
	I D G V F W V A R D G A M N K P T T L G		
1621	ATTGATGGAGTCTTCTGGGTGCAAGGGATGGTGCCATGAACAAGCCCACAACGCTTGGC		1680
	T R G T N N E S K P L R F D G K I P P Q		
1681	ACTCGTGGAACCAATAACGAATCCAAACCACTGAGATTTGATGGTAAGATACCGCCACAG		1740
	F Q L E V N R S R N N S R S G S Q S R S		
1741	TTTCAGCTTGAAGTGAACCGTTCTAGGAACAATTCAAGGTCTGGTTCTCAGTCTAGATCT		1800
	V S R N R S Q S R G R H H S N N Q N N N		
1801	GTTTCAAGAAACAGATCTCAATCTAGAGGAAGACACCATTCGAATAACCAGAATAATAAT		1860
	V E D T I V A V L E K L G V T D K Q R S		
1861	GTTGAGGATACAATTGTAGCCGTGCTTGAAAAATTAGGTGTTACTGACAAACAAAGGTCA		1920
	R S K P R E R S D S K P R D T T P K N A		
1921	CGTTCTAAACCTAGAGAACGTAGTGATTCCAAACCTAGGGACACAACACCTAAGAATGCC		1980
	N K H T W K K T A G K G D V T T F Y G A		
1981	AACAAACACACCTGGAAGAAAACCTGCAGGCAAGGGAGATGTGACAACCTTTCTATGGTGCT		2040
	R S S S A N F G D S D L V A N G N A A K		
2041	AGAAGTAGTTCAGCTAACTTTGGTGATAGTGATCTCGTTGCCAATGGTAACGCTGCCAAA		2100
	C Y P Q I A E C V P S V S S I I F G S Q		
2101	TGCTACCCTCAGATAGCTGAATGTGTTCCATCAGTGTCTAGCATAATCTTTGGCAGTCAA		2160
	W S A E E A G D Q V K V T L T H T Y Y L		
2161	TGGTCTGCTGAAGAAGCTGGTGATCAAGTGAAAGTCACGCTCACTCACACCTACTACCTG		2220
	P K D D A K T S Q F L E Q I D A Y K R P		
2221	CCAAAGGATGATGCCAAAACCTAGTCAATTCCTAGAACAGATTGACGCTTACAAGCGACCT		2280
	S E V A K D Q R Q R R S R S K S A D K K		
2281	TCTGAAGTGGCTAAGGATCAGAGGCAAAGAAGATCCCGTTCTAAGTCTGCTGATAAGAAG		2340

2341 P E E L S V T L V E A Y T D V F D D T Q CCTGAGGAGTTGTCTGTAACTCTTGTGGAGGCATACACAGATGTGTTTGATGACACACAG 2400

2401 V E M I D E V T N GTTGAGATGATTGATGAGGTTACGAACTAAACGCATGCTCGTTTTTCGTCCATGCTGTACT 2460

2461 TGTAACAGCTTTAATCTTACTACTAATTGGTAGAATCCAATTACTAGAAAGGTTGTT 2517