(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2012-196234
(P2012-196234A)
(43)公開日　平成24年10月18日(2012.10.18)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	102	4B065
C07K 16/00	(2006.01)	C07K	16/00	ZNA	4H045
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 155 頁）　最終頁に続く

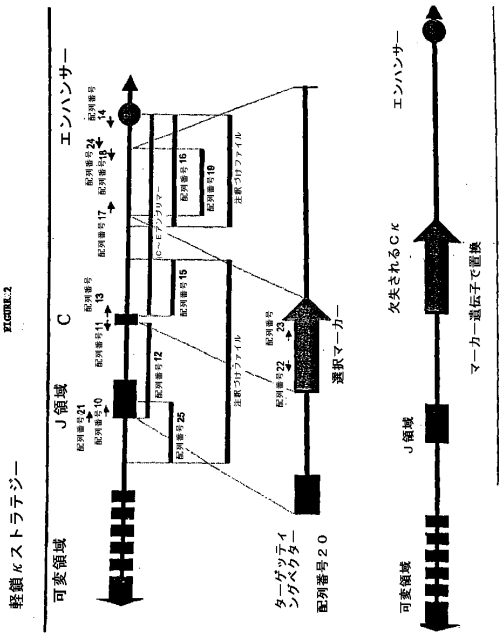
(21)出願番号　特願2012-161653 (P2012-161653)
(22)出願日　平成24年7月20日 (2012.7.20)
(62)分割の表示　特願2007-538187 (P2007-538187)の分割
原出願日　平成17年10月24日 (2005.10.24)
(31)優先権主張番号　60/621,433
(32)優先日　平成16年10月22日 (2004.10.22)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　504364367
レビビコア，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　バージニア　２４０６０，　ブラックスバーグ，　クラフト　ドライブ　１７００，　スイート　２４００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(72)発明者　ケビン　ウェールズ
アメリカ合衆国　バージニア　２４０７３，　クリスチャンズバーグ，　カメオ　コート　６３５

最終頁に続く

(54)【発明の名称】遺伝子改変された免疫系を有する有蹄動物

(57)【要約】
【課題】遺伝子改変された免疫系を有する有蹄動物の提供。
【解決手段】本発明は、機能的内因性免疫グロブリン遺伝子座の発現を欠く、有蹄動物、組織、および器官、ならびにこのような動物、組織、および器官由来の細胞および細胞株を提供する。本発明はまた、外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子座を発現する、有蹄動物、組織、および器官、ならびにこのような動物、組織、および器官由来の細胞および細胞株を提供する。本発明は、さらに、有蹄動物（ブタなど）のブタの重鎖および軽鎖免疫グロブリンのゲノムＤＮＡ配列を提供する。このような動物、組織、器官、および細胞を、研究および医学療法で使用し得る。さらに、このような動物、器官、組織、および細胞の調製方法を提供する。
【選択図】図２



【特許請求の範囲】
【請求項１】
本願明細書に記載された発明。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２００４年１０月２２日出願の米国特許仮出願番号６０／６２１，４３３号（その全体が本明細書中で参考として援用される）の優先権を主張する。
【０００２】
（発明の分野）
本発明は、機能的内因性免疫グロブリン遺伝子座の発現を欠く、有蹄動物、組織、および器官、ならびにこのような動物、組織、および器官由来の細胞および細胞株を提供する。本発明はまた、外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子座を発現する、有蹄動物、組織、および器官、ならびにこのような動物、組織、および器官由来の細胞および細胞株を提供する。本発明は、さらに、有蹄動物（ブタなど）のブタの重鎖および軽鎖免疫グロブリンのゲノムＤＮＡ配列を提供する。このような動物、組織、器官、および細胞を、研究および医学療法で使用し得る。さらに、このような動物、器官、組織、および細胞の調製方法を提供する。
【背景技術】
【０００３】
（発明の背景）
抗原は、身体によって「外来物」として認識し得る因子または物質である。多くの場合、抗原として作用するより大きな外来物質（例えば、細菌の細胞壁成分）のたった１つの比較的小さな化学基である。ほとんどの抗原はタンパク質であるが、炭水化物も弱い抗原として作用し得る。細菌、ウイルス、および他の微生物は、一般に、多数の抗原を含み、花粉、チリダニ、カビ、食品、および他の物質も同様である。身体は、抗体の作製によって抗原に反応する。抗体（免疫グロブリン（Ｉｇ）とも呼ばれる）は、免疫系細胞によって生成され、抗原または外来タンパク質と結合するタンパク質である。血液の血清中の抗体は、外来抗原を検出するために循環し、血液タンパク質のγグロブリン部分を構成する。これらの抗体は、ジグソーパズルの２片のような高特異的様式で抗原と化学的に相互作用し、抗原／抗体複合体（すなわち、免疫複合体）を形成する。この結合により、抗原が中和されるか、破壊される。
【０００４】
脊椎動物が最初に抗原に遭遇した場合、一次体液性免疫応答を示す。数日後に動物が同一の抗原に遭遇した場合、より迅速かつより大きな規模で免疫応答が起こる。最初の遭遇により、特異的免疫細胞（Ｂ細胞）クローンが増殖し、分化する。子孫リンパ球には、エフェクター細胞（抗体生成細胞）だけでなく、記憶細胞クローンも含まれ、これは、元の抗原によるその後の刺激の際にエフェクター細胞および記憶細胞の両方を生成する能力を保持する。エフェクター細胞は、数日間しか生存しない。記憶細胞は、一生生存し、同一抗原での第２の刺激によって再活性化し得る。したがって、抗原に２回遭遇した場合、その記憶細胞は、迅速にエフェクター細胞を生成し、それにより、迅速に大量の抗体を生成する。
【０００５】
抗体が高特異的様式で抗原と相互作用する固有の能力の活用によって、診断および治療への適用の両方のために製造および使用し得る分子としての抗体が開発されている。抗原エピトープに結合するその固有の能力のために、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を使用して、このエピトープを保有する分子を同定するか、エピトープ自体または他の部分と組み合わせて、診断または治療のための特異的部位に指向させることができる。実質的に任意の病原体または生物標的に対するポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を生成し得る。用語「ポリクローナル抗体」は、通常、種々のアイソタイプおよび

特異性を有する病原体特異的抗体を含む免疫血清をいう。対照的に、モノクローナル抗体は、１つの免疫グロブリン型からなり、１つの特異性を有する１つのアイソタイプを意味する。

【０００６】

１８９０年に、北里柴三郎およびＥｍｉｌ　Ｂｅｈｒｉｎｇは、免疫動物から非免疫動物への血清の移入により、証明された免疫をある動物から別の動物に伝達し得るという基礎研究を行った。この画期的な実験は、臨床段階（ｃｌｉｎｉｃａｌ　ｐｒａｃｔｉｃｅ）への受動免疫の導入の基礎となった。しかし、外因性血清投与に関連する毒性および有効な抗菌化学療法の導入のために、１９４０年代に多くの血清療法が放棄された。現在、このようなポリクローナル抗体療法は、比較的少数の状況における感染症の治療（免疫グロブリン欠損患者の代償療法、数種のウイルス（例えば、狂犬病、麻疹、Ａ型肝炎およびＢ型肝炎、水痘）に対する曝露後予防、および毒素の中和（ジフテリア毒素、破傷風毒素、およびボツリヌス毒素）など）で必要とされている。血清療法での使用に制限されているにもかかわらず、米国では、静脈内抗体療法のために毎年１６メートルトンのヒト抗体が必要である。最も高度な工業国でも同程度のレベルで使用されており、開発途上国での受容が急速に高まると予想し得る。現在、受動免疫用のヒト抗体を、プールされたドナー血清から得ている。したがって、治療的および予防的療法に利用可能なヒト抗体の量には固有の限界がある。

【０００７】

生物戦争因子に対する受動免疫のための抗体の使用は、非常に有望な防衛ストラテジーである。このような因子に対する最終的な防衛線は、曝露個体の免疫系である。生物兵器に対する現在の防衛ストラテジーには、強化された疫学的監視、ワクチン接種、および抗菌薬の使用などの手段が含まれる。生物戦争および生物テロの潜在的な脅威は、標的集団の免疫者数に反比例し、生物因子は、集団中の実質的に感受性を示す人々のみに対する潜在的な兵器である。

【０００８】

防御応答を誘導し得る安全なワクチンが存在する場合、ワクチン接種により、特定の脅威に対する集団の感受性を軽減し得る。不運なことに、ワクチン接種による防御応答の誘導には、曝露から疾患の発症までよりも長い時間がかかり得る。さらに、多数のワクチンは、防御免疫応答を達成するために複数回投与する必要があり、非常時の攻撃後の迅速な予防に役立てるには限度があるであろう。さらに、推奨された免疫化スケジュールを受けた後でさえも、すべてのワクチンレシピエントが防御応答を生じるわけではない。

【０００９】

薬物を一定の因子への曝露後に投与した場合、薬物によって防御し得るが、生物戦争の多数の潜在的な因子に対して利用できない。現在、予め形成された毒素の曝露後に疾患を防止するのに利用可能な小分子薬物はない。迅速に免疫状態を得ることができる現在利用可能な唯一の介入は、防御抗体での受動免疫である（Ａｒｔｕｒｏ　Ｃａｓａｄｅｖａｌｌ「Ｐａｓｓｉｖｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎ（Ｉｍｍｅｄｉａｔｅ　Ｉｍｍｕｎｉｔｙ）ａｓ　ａ　Ｓｐｅｃｉｆｉｃ　Ｄｅｆｅｎｓｅ　Ａｇａｉｎｓｔ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｗｅａｐｏｎｓ」Ｅｍｅｒｇｉｎｇ　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ，Ｐｏｓｔｅｄ　０９／１２／２００２）。

【００１０】

防御免疫を得ることに加えて、現代の抗体ベースの療法は、新たに出現した病原性の細菌、真菌、ウイルス、および寄生虫に対して潜在的に有用なオプション（ｏｐｔｉｏｎ）から構成される（Ａ．ＣａｓａｄｅｖａｌｌおよびＭ．Ｄ．Ｓｃｈａｒｆｆ，Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ　１９９５；１５０）。悪性腫瘍および癌患者の療法（Ｃ．Ｂｏｔｔｉら、Ｌｅｕｋｅｍｉａ　１９９７；Ｓｕｐｐｌ　２：Ｓ５５－５９；Ｂ．Ｂｏｄｅｙ，Ｓ．Ｅ．Ｓｉｅｇｅｌ，ａｎｄ　Ｈ．Ｅ．Ｋａｉｓｅｒ，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　１９９６；１６（２）：６６１）、移植臓器のステロイド耐性拒絶療法、および自己免疫疾患療法も、モノクローナル抗体またはポリクローナル

抗体の調製物の使用によって実現し得る（Ｎ．Ｂｏｎｎｅｆｏｙ－ＢｅｒａｒｄおよびＪ．Ｐ．Ｒｅｖｉｌｌａｒｄ，Ｊ Ｈｅａｒｔ Ｌｕｎｇ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ １９９６；１５（５）：４３５－４４２；Ｃ．Ｃｏｌｂｙ，ら、Ａｎｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒ １９９６；３０（１０）：１１６４－１１７４；Ｍ．Ｊ．Ｄｕｇａｎ，ら、Ａｎｎ Ｈｅｍａｔｏｌ １９９７；７５（１－２）：４１ ２；Ｗ．Ｃｅｎｄｒｏｗｓｋｉ，Ｂｏｌｌ Ｉｓｔ Ｓｉｅｒｏｔｅｒ Ｍｉｌａｎ １９９７；５８（４）：３３９－３４３；Ｌ．Ｋ．Ｋａｓｔｒｕｋｏｆｆ，ら、Ｃａｎ Ｊ Ｎｅｕｒｏｌ Ｓｃｉ １９７８；５（２）：１７５１７８；Ｊ．Ｅ．Ｗａｌｋｅｒら、Ｊ Ｎｅｕｒｏｌ Ｓｃｉ １９７６；２９（２－４）：３０３３０９）。

【００１１】

最近の抗体生成テクノロジーにおける利点により、ヒト血清療法に関連する毒性を回避しながらヒト抗体試薬を生成する手段が得られる。抗体ベースの療法の利点には、汎用性、低毒性、病原体特異性、免疫機能の増強、および好ましい薬物動態学が含まれる。

【００１２】

モノクローナル抗体療法の臨床用途は、最近出現したばかりである。モノクローナル抗体は、現在、移植、癌、感染症、心血管疾患、および炎症の治療法として承認されている。広範な疾患を治療するためのさらに多くのモノクローナル抗体が臨床試験の最終段階にある。結果として、モノクローナル抗体は、現在開発中の薬物の最も大きなクラスの１つに相当する。

【００１３】

最近、治療薬としてモノクローナル抗体が注目されているにもかかわらず、その使用にはいくらか障害がある。例えば、モノクローナル抗体を多数の治療に応用するには、特に、自己免疫または癌などの慢性疾患において繰り返し投与する必要がある。マウスは免疫化に便利であり、ほとんどのヒト抗原を外来物として認識するので、治療的潜在性を有するヒト標的に対するモノクローナル抗体は、典型的には、マウスに由来する。しかし、マウスモノクローナル抗体は、ヒトへの治療法として固有の欠点を有する。例えば、ヒト抗体よりもヒトにおける循環半減期が短いので、治療レベルのモノクローナル抗体を維持するために、これらをより頻繁に投与する必要がある。より重要には、マウス免疫グロブリンの反復投与により、ヒト免疫系がマウスタンパク質を外来物として認識し、ヒト抗マウス抗体応答を生じ、重篤なアレルギー反応を引き起こす可能性がある。この有効性および安全性が減少する可能性により、マウスモノクローナル抗体の免疫原性を減少させるための多数のテクノロジーが開発されている。

【００１４】

ポリクローナル抗体は、複数の抗原標的に対して極めて強力である。これらは、複雑な疾患に関連する複数の「進化型標的（ｅｖｏｌｖｉｎｇ ｔａｒｇｅｔ）」をターゲッティングして死滅させる固有の能力を有する。また、全薬物クラスのうち、ポリクローナルは、抗原変異事象で活性を保持する可能性が最も高い。さらに、モノクローナルは、感染因子に対する治療活性が制限されている一方で、ポリクローナルは、毒素を中和し、免疫応答を指示して、生物戦争因子だけでなく病原体も排除し得る。

【００１５】

生成能力についての将来的需要を満たすためのポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の生成プラットフォームの開発は、現在、多数の研究対象となっている有望な分野である。１つの特に有望なストラテジーは、マウスまたは大型家畜へのヒト免疫グロブリン遺伝子の導入である。このテクノロジーの拡大には、その内因性免疫グロブリン遺伝子の不活化が含まれるであろう。大型動物（ヒツジ、ブタ、およびウシなど）は、現在、ヒトに使用するための血漿由来の生成物（超免疫血清および凝固因子など）の生成で使用されている。これにより、安全性および倫理的観点からこのような種由来のヒトポリクローナル抗体の使用が支持されるであろう。これらの各種は、天然に、血清およびミルクの両方に相当な量の抗体を生成する。

【００１６】

（免疫グロブリンをコードする遺伝子の配置）

抗体分子を、可変遺伝要素の組み合わせからアセンブリし、生殖系列中の多数の可変遺伝要素の組み合わせから得られる可能性により、宿主が非常に多数の抗原に対する抗体を合成し得る。各抗体分子は、２つのポリペプチド鎖クラス（軽（Ｌ）鎖（カッパ（κ）Ｌ鎖またはラムダ（λ）Ｌ鎖のいずれかであり得る）および重（Ｈ）鎖）からなる。重鎖および軽鎖が連結して、エピトープのための結合領域が決定される。１つの抗体分子は、同一コピーの２つのＬ鎖および２つのＨ鎖を有する。各鎖は、可変領域（Ｖ）および定常領域（Ｃ）から構成される。可変領域は、分子の抗原結合部位の構成要素となる。多様な抗原認識を達成するために、可変領域をコードするＤＮＡが遺伝子再配列する。定常領域のアミノ酸配列は、抗体を生成する宿主だけでなく抗体の特定のアイソタイプに特異的であり、それにより、再配列を受けない。

【００１７】

ＤＮＡの再配列機構は、重鎖および軽鎖の遺伝子座の可変領域で類似しているが、軽鎖遺伝子の生成にはたった１つの連結事象しか必要でないのに対して、完全な重鎖遺伝子の生成には２つが必要である。最も一般的な再配列様式は、２つの遺伝子セグメント間のＤＮＡのループアウト（ｌｏｏｐｉｎｇ－ｏｕｔ）および欠失を含む。２つの遺伝子セグメントのコード配列がＤＮＡ中で同方向で存在する場合にこれが起こる。第２の組換え様式は、逆の転写方向を有する２つの遺伝子セグメント間で起こり得る。この組換え様式は、あまり一般的ではないが、このような再配列は、全V_{κ}－J_{κ}結合の半分の割合を占め得る。ヒトV_{κ}遺伝子セグメントの半分の転写方向は、J_{κ}遺伝子セグメントの逆である。

【００１８】

完全なＶ領域をコードするＤＮＡ配列を、個別の遺伝子セグメントの体細胞組換えによって生成する。免疫グロブリンの重鎖または軽鎖のＶ領域（すなわち、Ｖドメイン）は、１つを超える遺伝子セグメントによってコードされる。軽鎖について、Ｖドメインは、２つの個別のＤＮＡセグメントによってコードされる。第１のセグメントは、軽鎖の最初の９５～１０１アミノ酸をコードし、ほとんどのＶドメインをコードするので、Ｖ遺伝子セグメントと呼ばれる。第２のセグメントは、Ｖドメインの残り（１３アミノ酸まで）をコードし、連結遺伝子セグメントまたはＪ遺伝子セグメントと呼ばれる。Ｖ遺伝子セグメントとＪ遺伝子セグメントとの連結により、軽鎖Ｖ領域全体をコードする連続エクソンが得られる。完全な免疫グロブリン軽鎖伝令ＲＮＡを作製するために、転写後のＲＮＡスプライシングによって、Ｖ領域のエクソンをＣ領域配列に連結する。

【００１９】

３つの遺伝子セグメント中の重鎖Ｖ領域がコードされる。ＶおよびＪ遺伝子セグメント（軽鎖V_{L}およびJ_{L}と区別するためにV_{H}およびJ_{H}と示す）に加えて、多様性（ｄｉｖｅｒｓｉｔｙ）またはD_{H}遺伝子セグメントと呼ばれる第３の遺伝子セグメントが存在し、これは、V_{H}遺伝子セグメントとJ_{H}遺伝子セグメントとの間に存在する。完全な重鎖Ｖ領域を生成する組換えプロセスは、２つの個別の段階で起こる。第１に、D_{H}遺伝子セグメントをJ_{H}遺伝子セグメントに連結し、次いで、V_{H}遺伝子セグメントをDJ_{H}に再配列して完全なV_{H}領域エクソンを作製する。軽鎖遺伝子と同様に、ＲＮＡスプライシングにより、アセンブリしたＶ領域配列を隣接するＣ領域遺伝子に連結する。

【００２０】

抗体レパートリーの多様化は、以下の２つの段階で起こる：最初の骨髄中に存在するＢ細胞前駆体中でのＩｇＶ、Ｄ、およびＪ遺伝子セグメントの再配列（「Ｖ（Ｄ）Ｊ組換え」）、ならびにその後の成熟Ｂ細胞が活性化された場合のこれらの再配列Ｉｇ遺伝子の体細胞変異およびクラススイッチ組換え。免疫グロブリン体細胞変異およびクラススイッチは、免疫応答の成熟および「記憶」応答の生成の中核をなす。

【００２１】

抗体のゲノム遺伝子座は非常に巨大であり、これらは、異なる染色体上に存在する。免疫グロブリン遺伝子セグメントは、以下の３つのクラスターまたは遺伝子座に組織化される：κ、λ、および重鎖遺伝子座。それぞれ、わずかに異なって組織化される。例えば、

ヒトでは、免疫グロブリン遺伝子は、以下のように組織化される。λ軽鎖遺伝子座は、第２２染色体上に存在し、V_{λ}遺伝子セグメントのクラスターの後に、それぞれ１つのC_{λ}遺伝子に連結した４組のJ_{λ}遺伝子セグメントが続く。κ軽鎖遺伝子座は、第２染色体上に存在し、V_{κ}遺伝子セグメントのクラスターの後にJ_{κ}遺伝子セグメントのクラスターが続き、その後に１つのC_{κ}遺伝子が続く。第１４染色体上での重鎖遺伝子座の組織化は、κ遺伝子座の組織化と類似しており、V_H、D_H、およびJ_H遺伝子セグメントの個別のクラスターの後にC_H遺伝子が続く。重鎖遺伝子座は、以下の１つの重要な様式が異なる。１つのＣ領域の代わりに、次々に整列した一連のＣ領域を含み、それぞれ異なるアイソタイプに対応する。以下の５つの免疫グロブリン重鎖アイソタイプが存在する：ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＥ、およびＩｇＤ。一般に、細胞は、一度に１つのアイソタイプしか発現せず、ＩｇＭから出発する。他のアイソタイプ（ＩｇＧなど）の発現は、アイソタイプスイッチングによって起こり得る。

【００２２】

種々のＶ、Ｄ、およびＪ遺伝子の連結は完全に無作為な事象であり、それにより、ＶＤＪ（Ｈ）では約５０，０００通りの組み合わせが得られ、ＶＪ（Ｌ）では約１，０００通り得られる可能性がある。Ｈ鎖およびＬ鎖のその後の無作為な対合により、抗体特異性の総数は、約10^7通りになる。異なる遺伝子セグメントの不正確な連結によって多様性がさらに増大する。両ＤＮＡ鎖で再配列が起こるが、転写されるのは１つの鎖のみである（対立遺伝子排除による）。ＤＮＡの不可逆的欠失により、Ｂ細胞の一生で一度だけ再配列が起こる。したがって、各成熟Ｂ細胞は、１つの免疫特異性を維持し、子孫またはクローンに維持される。これは、クローン選択の分子基盤を構成する。すなわち、各抗原決定基が特定の受容体分子を保有するＢリンパ球の既存のクローンの応答を誘発する。Ｖ（Ｄ）Ｊ組換えによって確立されたＢ細胞の一次レパートリーは、主に、２つの密接に関連する遺伝子（組換え活性化遺伝子（ＲＡＧ）－１および（ＲＡＧ）－２）によって調節される。

【００２３】

過去１０年間で、脊椎動物間でのＩｇ遺伝子の多様性および抗体レパートリー発生における相当な多様性が明らかになった。げっ歯類およびヒトは、５つの重鎖クラス（ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、およびＩｇＡ）を有し、それぞれが４つのＩｇＧサブクラスおよび１つまたは２つのＩｇＡサブクラスを有する一方で、ウサギは、１つのＩｇＧ重鎖遺伝子を有するが、異なるＩｇＡサブクラスについて１３の遺伝子を有する（Ｂｕｒｎｅｔｔ，Ｒ．Ｃら、ＥＭＢＯ Ｊ ８：４０４７；Ｈｏｎｊｏ，Ｉｎ Ｈｏｎｊｏ，Ｔ，Ａｌｔ．Ｆ．Ｗ．Ｔ．Ｈ．ｅｄｓ，Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｇｅｎｅｓ １２３頁 Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）。ブタは少なくとも６つのＩｇＧサブクラスを有するが（Ｋａｃｓｋｏｖｉｃｓ，Ｉら、１９９４ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １５３：３５６５）、ＩｇＤを持たない（Ｂｕｔｌｅｒら、１９９６ Ｉｎｔｅｒ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ８：１８９７－１９０４）。ＩｇＤをコードする遺伝子は、げっ歯類および霊長類のみで説明されている。レパートリー発生機構の多様性は、げっ歯類および霊長類で認められるパターンと、ニワトリ、ウサギ、ブタ、および食用ウシについて報告されているパターンとの対比によって例示される。前者は７～１０のファミリーに属する多数のV_H遺伝子を有するのに対して（Ｒａｔｈｂｕｎ，Ｇ．Ｉｎ Ｈｏｎｇｏ，Ｔ．Ａｌｔ．Ｆ．Ｗ．ａｎｄ Ｒａｂｂｉｔｔｓ，Ｔ．Ｈ．，ｅｄｓ，Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｇｅｎｅｓ，６３頁，Ａｃａｄｅｍｉｃ ｐｒｅｓｓ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）、後者の群の各メンバーのV_H遺伝子は１つのV_H遺伝子ファミリーに属する（Ｓｕｎ，Ｊ．ら、１９９４ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ １５５３：５６１１８；Ｄｕｆｏｕｒ，Ｖら、１９９６，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５６：２１６３）。ウサギを除いて、このファミリーは、２５個未満の遺伝子から構成される。げっ歯類および霊長類が４～６つのJ_Hセグメントを使用し得るのに対して、ニワトリでは、レパートリー発生のために１つのJ_Hしか利用できない（Ｒｅｙｎａｕｄら、１９８９ Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．５７：３５３）。同様に、Ｂｕｔｌｅｒら（１９９６ Ｉｎｔｅｒ．Ｉｍｍｕｎｏｌ ８：１８９７－１９０４）は

、ブタはたった１つのＪ$_H$遺伝子を有するニワトリと類似し得ると仮定した。これらの種は、一般に、より少ないＶ、Ｄ、およびＪ遺伝子を有し、ブタおよびウシでは、２０未満の遺伝子セグメントからなる１つのＶＨ遺伝子ファミリーが存在する（Ｂｕｔｌｅｒら、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｓｗｉｎｅ ｉｎ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，ｅｄｓ：Ｔｕｍｂｌｅｓｏｎ ａｎｄ Ｓｃｈｏｏｋ，１９９６；Ｓｉｎｃｌａｉｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５９：３８８３，１９９７）。より少数のＪおよびＤ遺伝子セグメントを合わせて、これにより、遺伝子再配列によって得られる多様性は著しく少ない。しかし、これらの種においては、軽鎖遺伝子数がより多いようである。ヒトおよびマウスに類似して、これらの種は、１つのκ軽鎖を発現するが、複数のλ軽鎖遺伝子を発現する。しかし、これらは、再配列によって得られる制限された多様性に影響を与えないようである。

【００２４】

１００個を超えるＶ$_H$、２０～３０個のＤ$_H$、および４～６個のＪ$_H$遺伝子セグメントの組み合わせ連結が、ヒトにおける抗体レパートリーの主な生成機構であるので、より少ないＶ$_H$、Ｄ$_H$、またはＪ$_H$セグメントを有する種は、より小さなレパートリーを生成するか、別のレパートリー発生機構を使用しなければならない。反芻動物、ブタ、ウサギ、およびニワトリは、抗体多様性を得るために数種の機構を使用する。これらの種では、回腸パイエル板などの高度に特化されたリンパ様組織で起こる二次レパートリーの発生が重要なようである（Ｂｉｎｎｓ ａｎｄ Ｌｉｃｅｎｃｅ，Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．１８６：６６１，１９８５）。これらの種では、体細胞変異プロセスによって二次レパートリーが発生し、これは無作為に起こり、完全に理解されていないプロセスである。このレパートリー多様化機構は、テンプレート化された変異（すなわち、遺伝子変換（Ｓｕｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５３：５６１８，１９９４）および体細胞超変異）のようである。

【００２５】

遺伝子変換は、いくつかの高等脊椎動物（ニワトリ、ウサギ、およびウシなど）における抗体多様化に重要である。しかし、マウスでは、内因性抗体遺伝子間の変換事象は稀なようである。遺伝子変換は、ドナー抗体Ｖ遺伝子セグメントからアクセプターＶ遺伝子セグメントへの相同配列の移入によって特徴づけられる明確な多様化機構である。ドナーセグメントおよびアクセプターセグメントの配列が多数異なる場合、遺伝子変換により、１つの事象によって１組の配列のＶ領域への変化を導入し得る。種に依存して、Ｂ細胞分化中の抗原曝露の前および／または後で遺伝子変換事象が起こり得る（Ｔｓａｉら、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．１４，Ｎｏ．１，５５－６４，Ｊａｎｕａｒｙ ２００２）。

【００２６】

体細胞超変異により、すべての高等脊椎動物種で抗体遺伝子が多様化する。これは、抗体Ｖ（Ｄ）Ｊセグメントへの１つの点変異の導入に代表される。一般に、超変異は、抗原刺激によってＢ細胞で活性化されるようである。

【００２７】

（ヒト化免疫系を有する動物の生成）

ヒト治療のためにマウスで生成された抗体の免疫原性を減少させるために、現在ではヒト化として公知のプロセスで、マウスタンパク質配列をヒトタンパク質配列と置換する種々の試みが行われている。免疫化の際にマウスがヒト抗体を生成するように、マウス自体の免疫グロブリン遺伝子をヒト免疫グロブリン遺伝子と機能的に置換したトランスジェニックマウスを構築した。マウスＩｇ遺伝子の再配列および発現プロセスに関与する重要なシス作用配列を欠失させるための遺伝子ターゲッティングテクノロジーの使用による胚幹（ＥＳ）細胞中でのマウスＩｇ遺伝子の不活化によってマウス抗体生成が排除された。これらの変異マウス中でのＢ細胞の発生を、ヒト生殖系列の高次構造ＨおよびκＬ鎖ミニ遺伝子座（ｍｉｎｉｌｏｃｕｓ）導入遺伝子を含むメガベースサイズのＹＡＣの導入によって修復し得る。これらのトランスジェニックマウス中の完全なヒト抗体の発現が支配的で

あり、血中レベルが数百μｇ／ｌであった。この発現レベルは、ヒトＩｇ遺伝子を発現する野生型マウスで検出された発現レベルの数百倍であり、マウスによるヒト抗体生成の増強には内因性マウスＩｇ遺伝子の不活化が重要であることを示す。

【００２８】

第１のヒト化は、組換え抗体を構築するための分子生物学技術を使用して試みられている。例えば、ハプテンに特異的なマウス抗体由来の相補性決定領域（ＣＤＲ）を、ヒト抗体フレームワークにグラフティングし、ＣＤＲ置換を行った。新規の抗体は、ＣＤＲ配列によって伝達された結合特異性を保持していた（Ｐ．Ｔ．Ｊｏｎｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６））。次のレベルのヒト化は、全マウスＶＨ領域とγなどのヒト定量領域との組み合わせを含んでいた（Ｓ．Ｌ．Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，８１，６８５１－６８５５頁（１９８４））。しかし、これらのキメラ抗体は、依然として３０％を超える外因性配列を含み、完全に外因性の抗体よりもわずかしか免疫原性が低くないことがある（Ｍ．Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１７０，２１５３－２１５７頁（１９８９））。

【００２９】

その後に、マウスへのヒト免疫グロブリン遺伝子の導入が試みられ、それにより、ヒト配列を有する抗体を有する抗原に応答し得るトランスジェニックマウスが作製された（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：６７０９－６７１３（１９８９））。ヒト免疫グロブリンゲノム遺伝子座のサイズが大きいために、これらの試みは、利用可能なクローニング伝達体によって安定に維持し得るＤＮＡ量に制限されると考えられた。結果として、多くの研究者は、限られた数のＶ領域を含み、天然または生殖系列の立体配置と比較して遺伝子間の空間的距離が変化したミニ遺伝子座の生成に集中した（例えば、米国特許第５，５６９，８２５号を参照のこと）。これらの研究は、マウス中でヒト配列を有する抗体を生成することは可能であるが、抗体療法の高まる需要を満たすためには、これらのトランスジェニック動物から十分に多様な結合特異性およびエフェクター機能（アイソタイプ）を得ることに関して重大な障害が残されていることを示した。

【００３０】

さらなる多様性を得るために、トランスジェニック哺乳動物にヒトＩｇ遺伝子座の巨大な生殖系列フラグメントを負荷する研究が行われている。例えば、ヒトゲノムの非再配列生殖系列ならびにヒトＣμおよびＣδ定常領域中で見出された間隔を有するように配置された大部分のヒトＶ、Ｄ、およびＪ領域の遺伝子を、酵母人工染色体（ＹＡＣ）クローニングベクターを使用してマウスに導入した（例えば、ＷＯ９４／０２６０２号を参照のこと）。ヒトγ－２定常領域をコードする配列およびクラススイッチ組換えに必要な上流配列を含む２２ｋｂのＤＮＡフラグメントを、その後に上記導入遺伝子に付加した。さらに、Ｖκ、Ｊκ、およびＣκ領域の遺伝子を含み、かつヒトゲノムの非再配列生殖系列で見出される間隔と実質的に同一の間隔で配置したヒトκ遺伝子座の一部を、ＹＡＣＳを使用してマウスに導入した。遺伝子ターゲッティングを使用して、マウスＩｇＨおよびκ軽鎖の免疫グロブリン遺伝子座を不活化し、このようなノックアウト株を、上記トランスジェニック株と交配して、不活化マウス免疫グロブリンバックグラウンドにヒトＶ、Ｄ、Ｊ、Ｃμ、Ｃδ、およびＣγ$_2$定常領域ならびにヒトＶκ、Ｊκ、およびＣκ領域の遺伝子のすべてを有するマウス株を得た（例えば、ＫｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉらのＰＣＴ特許出願ＷＯ９４／０２６０２号；Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）も参照のこと）。

【００３１】

内因性遺伝子座の遺伝子ターゲッティングおよびトランスジェニックマウス株の交配と組み合わせたクローニングベクターとしての酵母人工染色体により、抗体多様化に関する問題に対する１つの解答が得られた。このアプローチによっていくつかの利点が得られた。１つの利点は、ＹＡＣを使用して、何百キロベースものＤＮＡを宿主細胞に移入し得ることであった。したがって、ＹＡＣクローニング送達体の使用により、すべてのヒトＩｇ

重鎖領域および軽鎖領域の実質的部分をトランスジェニックマウスに含め、これにより、ヒトで利用可能な潜在的多様性レベルに近づけることが可能である。このアプローチの別の利点は、マウス免疫グロブリン生成が欠損したマウスにおいて多数のＶ遺伝子がＢ細胞発生を完全に修復することを示したことである。これにより、任意の所与の免疫原に対して強いヒト抗体応答を得るために必要な細胞が備わったこれらの再構築マウスが得られることを裏付けた（例えば、ＷＯ９４／０２６０２号；Ｌ．ＧｒｅｅｎおよびＡ．Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８）を参照のこと）。さらなる利点は、酵母における高頻度相同組換えの使用によって配列を欠失するか、ＹＡＣに挿入し得ることである。

【００３２】

さらに、Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３－２１（１９９４）は、ヒト重鎖遺伝子座およびκ軽鎖遺伝子座の２４５ｋｂおよび１９０ｋｂサイズの生殖系列の立体配置フラグメント（コア可変領域配列および定常領域配列を含む）をそれぞれ含むＹＡＣの生成を記載している。Ｇｒｅｅｎらの研究は、最近、ヒト重鎖遺伝子座およびκ軽鎖遺伝子座のメガベースサイズの生殖系列立体配置ＹＡＣフラグメントの導入よる約８０％を超えるヒト抗体レパートリーの導入に拡大され、それにより、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（商標）が得られている。例えば、Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７），ＧｒｅｅｎおよびＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８），欧州特許第ＥＰ０４６３１５１Ｂ１号、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／０２６０２号、ＷＯ９６／３４０９６号、およびＷＯ９８／２４８９３号を参照のこと。

【００３３】

ヒト抗体を生成する哺乳動物の生成についてのいくつかのストラテジーが存在する。特に、ＧｅｎＰｈａｒｍ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．およびＭｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｏｕｎｃｉｌの研究に代表される「ミニ遺伝子座」アプローチ、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．（以前はＣｅｌｌ Ｇｅｎｅｓｙｓ）の研究に代表されるＩｇ遺伝子座の巨大かつ実質的に生殖系列のフラグメントのＹＡＣ導入が存在する。すべてまたは実質的にすべての遺伝子剤の導入は、Ｋｉｒｉｎ Ｂｅｅｒ Ｋａｂｕｓｈｉｋｉ Ｋａｉｓｈａの研究に代表される微小核融合を使用する。

【００３４】

ミニ遺伝子座アプローチでは、Ｉｇ遺伝子座由来の小片（各遺伝子）の封入によって外因性Ｉｇ遺伝子座を模倣する。しがって、動物への挿入のために、１つ以上の$Ｖ_{Ｈ}$遺伝子、１つ以上の$Ｄ_{Ｈ}$遺伝子、１つ以上の$Ｊ_{Ｈ}$遺伝子、μ定常領域、および第２の定常領域（γ定常領域など）を構築物に形成する。例えば、米国特許第５，５４５，８０７号、同第５，５４５，８０６号、同第５，６２５，８２５号、同第５，６２５，１２６号、同第５，６３３，４２５号、同第５，６６１，０１６号、同第５，７７０，４２９号、同第５，７８９，６５０号、同第５，８１４，３１８号、同第５，５９１，６６９号、同第５，６１２，２０５号、同第５，７２１，３６７号、同第５，７８９，２１５号、同第５，６４３，７６３号；欧州特許第０５４６０７３；ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／０３９１８号、ＷＯ９２／２２６４５号、ＷＯ９２／２２６４７号、ＷＯ９２／２２６７０号、ＷＯ９３／１２２２７号、ＷＯ９４／００５６９号、ＷＯ９４／２５５８５号、ＷＯ９６／１４４３６号、ＷＯ９７／１３８５２号、およびＷＯ９８／２４８８４号；Ｔａｙｌｏｒら、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２０：６２８７－６２９５（１９９２），Ｃｈｅｎら、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５：６４７－６５６（１９９３），Ｔｕａｉｌｌｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：６４５３－６４６５（１９９５），Ｃｈｏｉら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ４：１１７－１２３（１９９３），Ｌｏｎｂｅｒｇら、Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６－８５９（１９９４），Ｔａｙｌｏｒら、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ６：５７９－５９１（１９９４），Ｔｕａｉｌｌｏｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：６４５３－６４６５（１９９５），およびＦｉｓｈｗｉｌｄら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．１４：８

４５－８５１（１９９６）を参照のこと。
【００３５】
微小核融合アプローチでは、ヒト染色体の一部または全部を、マウスに導入し得る（例えば、欧州特許出願番号ＥＰ０８４３９６１Ａ１を参照のこと）。このアプローチを使用して生成しかつヒトＩｇ重鎖遺伝子座を含むマウスは、一般に、１つを超える、潜在的には、全部のヒト定常領域遺伝子を有する。したがって、このようなマウスは、多数の異なる定常領域を有する特定の抗原に結合する抗体を生成する。
【００３６】
マウスは、ヒトにおけるヒト免疫グロブリン発現について最も開発された動物でありつづけているが、最近の技術的進歩により、これらの技術が他の動物（ウシなど）に適用され始めている。マウスでの一般的アプローチは、マウスの胚性幹細胞を遺伝子改変してマウス免疫グロブリンをノックアウトし、次いで、ヒト免疫グロブリンを含むＹＡＣをＥＳ細胞に挿入した。しかし、ＥＳ細胞は、ウシまたは他の大型動物（ヒツジおよびブタなど）に利用できない。したがって、ノックアウトされ、かつヒト抗体を発現する免疫グロブリン遺伝子を有する大型動物を生成し得る前でさえ、基本的な開発を行うべきであった。遺伝子改変された動物を作製するための別のＥＳ細胞操作法は、遺伝子改変された体細胞を使用したクローニングである。核移植のための遺伝子改変された体細胞を使用したクローニングがごく最近になって行われた。
【００３７】
１９９７年の成体体細胞からのドリー（クローンヒツジ）誕生の発表以来（Ｗｉｌｍｕｔ，Ｌ，ら（１９９７）Ｎａｔｕｒｅ ３８５：８１０－８１３）、有蹄動物（ウシ（Ｃｉｂｅｌｌｉ，Ｊら、１９９８ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８０：１２６６－１２５８；Ｋｕｂｏｔａ，Ｃ．ら、２０００ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ９７：９９０－９９５）、ヤギ（Ｂａｇｕｉｓｉ，Ａ．ら、（１９９９）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １７：４５６－４６１）、およびブタ（Ｐｏｌｅｊａｅｖａ，Ｉ．Ａ．，ら、２０００ Ｎａｔｕｒｅ ４０７：８６－９０；Ｂｅｔｔｈａｕｓｅｒ，Ｊ．ら、２０００ Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １８：１０５５－１０５９）が含まれる）がクローン化されている。
【００３８】
次の技術的利点は、遺伝子改変された動物を生成するための核移植前に細胞を遺伝子改変する技術の開発であった。ＰＰＬ ＴｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓのＰＣＴ公開番号ＷＯ００／５１４２４号は、核移植のための体細胞のターゲッティングされた遺伝子改変を記載する。
【００３９】
基本的開発後、遺伝子の単一および二重の対立遺伝子ノックアウトおよびこれらの修飾を有する生きた動物の誕生が報告されている。２００２年～２００４年に、３つの独立したグループ（Ｉｍｍｅｒｇｅ Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｍｉｓｓｏｕｒｉとの共同開発）（Ｌａｉら（Ｓｃｉｅｎｃｅ（２００２）２９５：１０８９－１０９２）＆ Ｋｏｌｂｅｒ－Ｓｉｍｏｎｄｓら（ＰＮＡＳ．（２００４）１０１（１９）：７３３５－４０））、Ａｌｅｘｉｏｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｒａｍｓｏｏｎｄａｒら（Ｂｉｏｌ Ｒｅｐｒｏｄ（２００３）６９：４３７－４４５）、およびＲｅｖｉｖｉｃｏｒ，Ｉｎｃ．（Ｄａｉら（Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（２００２）２０：２５１－２５５）＆ Ｐｈｅｌｐｓら（Ｓｃｉｅｎｃｅ（２００３）Ｊａｎ １７；２９９（５６０５）：４１１－４））が、遺伝子欠損がターゲッティングされた体細胞からの遺伝子移入によってα－１，３－ＧＴ遺伝子の一方の対立遺伝子または両方の対立遺伝子を欠くブタを生成した。２００３年に、Ｓｅｄａｉら（Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ（２００３）７６：９００－９０２）は、ウシにおけるα－１，３－ＧＴ遺伝子の一方の遺伝子座のターゲッティングされた破壊およびその後の遺伝子改変された細胞の核の首尾のよい核移植およびトランスジェニック胎児の生成を報告した。

【００４０】
したがって、大型動物における免疫グロブリン遺伝子のノックアウトおよびその細胞へのヒト免疫グロブリン遺伝子座の挿入の実現可能性が最近調査され始めている。しかし、免疫グロブリン遺伝子の複雑さおよび種差により、Ｉｇκ、λ、および重鎖のゲノム配列および配置は、ほとんどの種であまり理解されていないままである。例えば、ブタでは、部分的なゲノム配列および組織化により、重鎖定常α、重鎖定常μ、および重鎖定常δについてしか説明されていない（ＢｒｏｗｎおよびＢｕｔｌｅｒ Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９４ Ｊｕｎ；３１（８）：６３３－４２，Ｂｕｔｌｅｒら、Ｖｅｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｐａｔｈｏｌ．１９９４ Ｏｃｔ；４３（１－３）：５－１２，およびＺｈａｏら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００３ Ａｕｇ １；１７１（３）：１３１２－８）。

【００４１】
ウシでは、免疫グロブリン重鎖遺伝子座がマッピングされており（Ｚｈａｏら、２００３ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７８：３５０２４－３２）、ウシκ遺伝子のｃＤＮＡ配列が公知である（例えば、米国特許出願番号２００３／００３７３４７号を参照のこと）。さらに、約４．６ｋｂのウシμ重鎖遺伝子座が配列決定されており、ウシμ重鎖の一方または両方の対立遺伝子の破壊によって重鎖免疫グロブリン発現が減少したトランスジェニックウシが作製されている。さらに、ヒトＩｇＨ鎖およびκＬ鎖のすべての非配置配列を含む哺乳動物人工染色体（ＭＡＣ）ベクターを、ウシ胎児線維芽細胞の微小核媒介染色体移入および核移植テクノロジーを使用してウシ（ＴＣウシ）に導入されている（例えば、Ｋｕｒｏｉｗａら、２００２ Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０：８８９，Ｋｕｒｏｉｗａら、２００４ Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ．Ｊｕｎ ６ Ｅｐｕｂ，米国特許公開番号２００３／００３７３４７号、同第２００３／００５６２３７号、同第２００４／００６８７６０号、および特許文献１を参照のこと）。

【００４２】
ヒト免疫グロブリンを発現するウシの生成が著しく進歩している一方で、他の大型動物（ヒツジ、ヤギ、およびブタなど）ではほとんど達成されていない。ヒツジ、ヤギ、およびブタの免疫グロブリンについてのｃＤＮＡ配列情報はＧｅｎＢａｎｋで既に利用可能であるにもかかわらず、大きな再配列するという免疫グロブリン遺伝子座に特有の性質により、ｍＲＮＡ（またはｃＤＮＡ）中に存在することが公知の配列を超えて特徴づける必要がある。免疫グロブリン遺伝子座がモジュラーであり、かつコード領域が冗長であるので、既知のコード領域の欠失により、遺伝子座の機能の変化は確定的ではない。例えば、重鎖可変領域のコード領域を欠失させれば、何百もの他の機能可変遺伝子が遺伝子座中に留まるので、遺伝子座の機能が有意に変化するであろう。したがって、潜在的な「弱点」を同定するために、遺伝子座を最初に特徴づけなければならない。

【００４３】
ウシにおけるヒト抗体の発現はいくらか進歩しているにもかかわらず、内因性ウシＩｇ遺伝子の不活化、ヒト抗体の発現レベルの増加、および他の大型動物（ブタなど）（免疫グロブリン遺伝子の配列および配置がほとんど知られていない）におけるヒト抗体発現の生成についてより大きな課題が残されている。

【先行技術文献】
【特許文献】
【００４４】
【特許文献１】国際公開第０２／０７６４８号パンフレット
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００４５】
したがって、本発明の目的は、有蹄動物免疫グロブリン生殖系列の遺伝子配列の配置を提供することである。

【００４６】

本発明の別の目的は、新規の有蹄動物の免疫グロブリンゲノム配列を提供することである。

【００４７】

本発明のさらなる目的は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリン遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く細胞、組織、および動物を提供することである。

【００４８】

本発明の別の目的は、ヒト免疫グロブリンを発現する有蹄動物を提供することである。

【００４９】

本発明のなおさらなる目的は、新規の有蹄動物の免疫グロブリン遺伝子配列の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く細胞、組織、および動物を生成し、そして／またはヒト免疫グロブリンを発現する方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【００５０】

（発明の概要）

本発明は、有蹄動物の免疫グロブリン生殖系列遺伝子配列の配置および新規のそのゲノム配列を初めて提供する。さらに、重鎖または軽鎖免疫グロブリン遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く新規の有蹄動物細胞、組織、および、動物を提供する。この発見に基づいて、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリン遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を完全に欠く有蹄動物を生成し得る。さらに、これらの有蹄動物を、外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するようにさらに改変し得る。

【００５１】

本発明の１つの局面では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、有蹄動物は、内因性重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠くことができる。軽鎖免疫グロブリンは、κおよび／またはλ免疫グロブリンであり得る。さらなる実施形態では、内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンが、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖またはその任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンの発現を、内因性免疫グロブリンの発現を防止するための内因性免疫グロブリン遺伝子座の遺伝子ターゲッティングによって行うことができる。１つの実施形態では、相同組換えによって遺伝子ターゲッティングを行うことができる。別の実施形態では、トランスジェニック有蹄動物を、核移植によって生成し得る。

【００５２】

他の実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現するようにさらに遺伝子改変し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を含むブタ動物を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントであり得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、κ鎖遺伝子座またはそのフラグメントおよび／またはλ鎖遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを

、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【００５３】

本発明の別の局面では、外因性免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンを、内因性有蹄動物染色体内に組み込まれた免疫グロブリン遺伝子座から発現し得る、トランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、トランスジェニック動物由来の有蹄動物細胞を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、子孫に遺伝し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、雄生殖系列を介して子孫に遺伝し得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【００５４】

本発明の別の局面では、有蹄動物免疫グロブリンの重鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、例えば、配列番号２９に示す、少なくとも１つの可変領域、少なくとも２つの多様性領域（ｄｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｒｅｇｉｏｎ）、少なくとも４つの連結領域、および少なくとも１つの定常領域（μ定常領域など）を含む、ブタ重鎖をコードする単離ヌクレオチド配列を提供する。別の実施形態では、例えば、配列番号４に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の少なくとも４つの連結領域および少なくとも１つの定常領域（μ定常領域など）を含む単離ヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の第１の連結領域の５’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。なおさらに、例えば、配列番号４の３‘領域に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の第１の連結領域の３’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、配列番号１、４、または２９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号１、４、または２９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号１、４、または２９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。１つの実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号４の少なくとも１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドまたは配列番号２９の残基１～９，０７０を含む。別の実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号２９の残基９，０７０～１１０３９を含む。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号１、４、または２９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【００５５】

別の実施形態では、有蹄動物免疫グロブリンのκ軽鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。本発明は、有蹄動物κ軽鎖領域の第１の報告されたゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、ブタκ軽鎖遺伝子座をコードする核酸配列を提供する。別の実施形態では、核酸配列は、κ軽鎖の少なくとも１つの連結領域、１つの定常領域、および／または１つのエンハンサー領域を含み得る。さらなる実施形態では、ヌクレオチド配列は、例えば、配列番号３０に示す、少なくとも５つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含み得る。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１２に

示す、ブタゲノムκ軽鎖の少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つまたは５つの連結領域および連結領域に対する３’隣接領域を含む単離ヌクレオチド配列を提供する。別の実施形態では、例えば、配列番号２５に示す、第１の連結領域の５’隣接配列を含むブタゲノムκ軽鎖の単離ヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１５、１６、および／または１９に示す、ブタゲノムκ軽鎖の定常領域の３’隣接配列および任意選択的にエンハンサー配列の５’部分を含む単離ヌクレオチド配列を提供する。

【００５６】

さらなる実施形態では、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【００５７】

別の実施形態では、有蹄動物免疫グロブリンのλ軽鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。本発明は、有蹄動物λ軽鎖領域の第１の報告されたゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、ブタλ軽鎖ヌクレオチドは、Ｊ単位～Ｃ単位のコンカテマーを含む。特定の実施形態では、単離ブタλヌクレオチド配列（配列番号２８に示すものなど）を提供する。１つの実施形態では、例えば、配列番号３２に示す、ブタλ軽鎖ゲノム配列の第１のλＪ／Ｃ領域の５’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。なおさらに、ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列（例えば、λＪ／Ｃの約２００塩基対下流）を含むヌクレオチド配列（配列番号３３に示すものなど）を提供する。あるいは、例えば、配列番号３４、３５、３６、３７、３８、および／または３９に示す、ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、例えば、配列番号３１に示す、少なくとも１つの連結領域－定常領域対および／または少なくとも１つの可変領域を含み得る、ウシλ軽鎖遺伝子座をコードする核酸配列を提供する。さらなる実施形態では、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９に示す単離ヌクレオチドを提供する。配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【００５８】

別の実施形態では、核酸ターゲッティングベクター構築物も提供する。細胞中で相同組換えが行われるようにターゲッティングベクターをデザインし得る。これらのターゲッティングベクターを、相同組換えによって有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子をターゲッティングするために哺乳動物細胞に形質転換し得る。１つの実施形態では、ターゲッティングベクターは、有蹄動物の重鎖のゲノム配列、κ軽鎖、またはλ軽鎖のゲノム配列（例えば、上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１）のゲノム配列に相同な３’組換えアームおよび５’組換えアーム（すなわち、隣接配列）を含み得る。相同ＤＮＡ配列は、ゲノム配列に相同な少なくとも１５ｂｐ、２０ｂｐ、２５ｂｐ、５０ｂｐ、１００ｂｐ、５００ｂｐ、１ｋｂｐ、２ｋｂｐ、４ｋｂｐ、５ｋｂｐ、１０ｋｂｐ、１５ｋｂｐ、２０ｋｂｐ、または５０ｋｂｐの配列を含み得る。３’および５’組換えアームを、これらが、ゲノム配列の少なくとも１つの機

能的可変領域、連結領域、多様性領域、および／または定常領域の３’末端および５’末端に隣接するようにデザインし得る。機能的領域のターゲッティングによってこれを不活化し、それにより、細胞が機能的免疫グロブリン分子を生成できなくする。別の実施形態では、相同ＤＮＡ配列は、１つ以上のイントロン配列および／またはエクソン配列を含み得る。核酸配列に加えて、発現ベクターは、選択マーカー配列（例えば、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）遺伝子配列など）、開始配列および／もしくはエンハンサー配列、ポリＡテール配列、ならびに／または原核および／もしくは真核宿主細胞中で構築物を発現させる核酸配列を含み得る。選択マーカーは、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在し得る。

【００５９】

１つの特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ免疫グロブリン重鎖遺伝子座のＪ６領域の３’および５’隣接配列の相同配列を含む５’および３’組換えアームを含み得る。Ｊ６領域がブタ免疫グロブリン重鎖遺伝子座の機能的連結領域のみであるので、これにより、機能的ブタ重鎖免疫グロブリンの発現が防止される。特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、Ｊ６領域の５’側のゲノム配列（Ｊ１～４が含まれる）に相同な配列を含む５’組換えアームおよびＪ６領域（μ定常領域が含まれる）の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る（「Ｊ６ターゲッティング構築物」）（例えば、図１を参照のこと）。さらに、このＪ６ターゲッティング構築物はまた、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在する選択マーカー遺伝子を含み得る（例えば、配列番号５および図１を参照のこと）。他の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ重鎖遺伝子座の多様性配列の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアーム、および多様性配列の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。さらなる実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ重鎖遺伝子座のμ定常領域の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアーム、およびμ定常領域の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。

【００６０】

別の特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ免疫グロブリン重鎖遺伝子座の定常領域の３’および５’隣接配列の相同配列を含む５’および３’組換えアームを含み得る。ブタ免疫グロブリンκ軽鎖遺伝子座の定常領域が１つしか存在しないことが本発明で発見されたので、これにより、機能的ブタκ軽鎖免疫グロブリンの発現が防止される。特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、定常領域の５’側のゲノム配列（任意選択的に、連結領域が含まれる）に相同な配列を含む５’組換えアームおよび定常領域の３’側のゲノム配列（任意選択的に、エンハンサー領域の少なくとも一部が含まれる）に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る（「κ定常ターゲッティング構築物」）（例えば、図２を参照のこと）。さらに、このκ定常ターゲッティング構築物はまた、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在する選択マーカー遺伝子を含み得る（例えば、配列番号２０および図２を参照のこと）。他の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタκ軽鎖遺伝子座の連結領域の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアーム、および連結領域の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。

【００６１】

別の実施形態では、ターゲッティングベクターの３’配列および５’配列を生成するためのプライマーを提供する。オリゴヌクレオチドプライマーは、ブタ免疫グロブリンゲノム配列（上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１など）とハイブリダイズし得る。特定の実施形態では、プライマーは、ストリンジェントな条件下で、上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１とハイブリダイズする。別の実施形態は、ブタ重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の核酸配列（上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１など）とハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドプローブを提供

する。ポリヌクレオチドプライマーまたはプローブは、本発明のポリヌクレオチドとハイブリダイズする少なくとも１４塩基、２０塩基、３０塩基、または５０塩基を有し得る。プローブまたはプライマーは、少なくとも１４ヌクレオチド長、特定の実施形態では、少なくとも１５、２０、２５、２８、または３０ヌクレオチド長であり得る。

【００６２】

１つの実施形態では、機能的連結領域（Ｊ６領域）を含むブタＩｇ重鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。１つの制限されない実施形態では、重鎖の増幅フラグメントを配列番号４に示すことができ、このフラグメントを増幅するために使用されるプライマーは、５’組換えアームを生成するためにＪ領域（配列番号２などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり、３’組換えアームを生成するためにＩｇ重鎖μ定常領域（配列番号３などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり得る。別の実施形態では、ブタＩｇ重鎖領域（配列番号４などであるが、これに制限されない）をサブクローン化し、ターゲッティングベクターにアセンブリし得る。

【００６３】

他の実施形態では、定常領域を含むブタＩｇκ軽鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。別の実施形態では、Ｊ領域を含むブタＩｇκ軽鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。１つの制限されない実施形態では、このフラグメントを増幅するために使用されるプライマーは、５’組換えアームを生成するためにＪ領域（配列番号２１または１０などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり、３’組換えアームを生成するために定常領域（配列番号１４、２４、または１８などであるが、これに制限されない）の３’側のゲノム配列に相補的であり得る。別の実施形態では、ブタＩｇ重鎖（配列番号２０などであるが、これに制限されない）をサブクローン化し、ターゲッティングベクターにアセンブリし得る。

【００６４】

本発明の別の局面では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子座の機能的領域の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く有蹄動物細胞を提供する。相同組換えの結果としてこれらの細胞を得ることができる。特に、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子の不活化により、有蹄動物抗体の発現能力が減少した細胞を生成し得る。他の実施形態では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の両方の対立遺伝子を欠く哺乳動物細胞を、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成し得る。さらなる実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した遺伝子ターゲッティング事象によって、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化されたブタ動物を提供する。本発明の別の局面では、遺伝子ターゲッティング事象によって、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の両方の対立遺伝子が不活化されたブタ動物を提供する。相同組換えによって遺伝子をターゲッティングし得る。

【００６５】

他の実施形態では、遺伝子を破壊し（すなわち、遺伝コードの一部を変化させることができる）、それにより、その遺伝子のセグメントの転写および／または翻訳に影響を与えることができる。例えば、置換、欠失（「ノックアウト」）、または挿入（「ノックイン」）技術によって、遺伝子破壊が起こり得る。既存の配列の転写を調整する望ましいタンパク質または調節配列のさらなる遺伝子を挿入し得る。有蹄動物免疫グロブリン遺伝子の複数の遺伝子改変を達成するために、１つの実施形態では、複数の遺伝子が改変されるように細胞を連続的に改変し得る。他の実施形態では、動物を交配させて、免疫グロブリン遺伝子の複数の遺伝子が改変された動物を生成し得る。例として、有蹄動物重鎖遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠く動物を、さらに遺伝子改変するか、κ軽鎖遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く動物と交配し得る。

【００６６】

本発明の実施形態では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子の対立遺伝子を、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって不活化させ、その結果、機能的有蹄動物免疫グロブリンをもはや生成することができない。１つの実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、ＲＮＡに転写し得るが、タンパク質に翻訳することができない。別の実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、不活性な短縮形態に転写し得る。このような短縮ＲＮＡは、翻訳することができないか、非機能的タンパク質に翻訳し得る。別の実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、遺伝子が転写されないような方法で不活化し得る。さらなる実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、転写し、次いで、非機能的タンパク質に翻訳し得る。

【００６７】

本発明さらなる局面では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子の１つの対立遺伝子、任意選択的に両方の対立遺伝子を欠く有蹄動物（ブタまたはウシなど）の細胞を、レシピエントへの核移植のドナー細胞として使用して、クローン化されたトランスジェニック動物を生成し得る。あるいは、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子ノックアウトを胚性幹細胞中で作製し、次いで、これを使用して子孫を生成し得る。本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した機能的な有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の１つの対立遺伝子を欠く子孫を交配して、メンデル型遺伝によって両対立遺伝子の機能性を欠く子孫をさらに生成し得る。

【００６８】

本発明の１つの局面では、（ｉ）有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖のゲノム遺伝子座の生殖系列立体配置を分析すること、（ｉｉ）遺伝子座の少なくとも１つの機能的領域の５’末端および３’末端に隣接するヌクレオチド配列の位置を決定すること、ならびに（ｉｉｉ）隣接配列を含むターゲッティング構築物を細胞にトランスフェクトすることによる、有蹄動物免疫グロブリン遺伝子の発現の破壊方法であって、首尾良く相同組換えされた場合、免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも１つの機能的領域を破壊し、それにより、免疫グロブリン遺伝子の発現を減少または防止する方法を提供する。１つの実施形態では、ブタ重鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。例えば、図１に示すように、ブタ重鎖遺伝子座は、少なくとも４つの可変領域、２つの多様性領域、６つの連結領域、および５つの定常領域を含む。特定の実施形態では、６つの連結領域（Ｊ６）のうちのたった１つが機能的である。別の実施形態では、ブタκ軽鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。例えば、図２に示すように、ブタκ軽鎖遺伝子座は、少なくとも６つの可変領域、６つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含む。さらなる実施形態では、ブタλ軽鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。

【００６９】

さらなる局面では、本発明は、ヒト抗体（すなわち、免疫グロブリン（Ｉｇ））遺伝子座の少なくとも一部を発現するようにさらに改変された、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成された、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子座の機能的領域の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く有蹄動物および有蹄動物細胞を提供する。さらなる実施形態では、外因性免疫グロブリンを発現するブタ動物を提供する。このヒト遺伝子座は、再配列されて、有蹄動物中で多様なヒト抗体分子集団を発現し得る。これらのクローン化されたトランスジェニック有蹄動物は、ヒト抗体（ポリクローナル抗体など）を補給可能に、理論的には無限大に供給し、治療、診断、精製、および他の臨床に関連する目的のために使用し得る。１つの特定の実施形態では、人工染色体（ＡＣ）（酵母または哺乳動物の人工染色体（ＹＡＣＳまたはＭＡＣＳ））を使用して、有蹄動物細胞または動物でヒト免疫グロブリン遺伝子を発現させることができる。ヒト免疫グロブリン遺伝子（Ｉｇ重鎖遺伝子（ヒト第４１４染色体）、Ｉｇκ鎖遺伝子（ヒト第２染色体）、および／またはＩｇλ鎖遺伝子（ヒト第２２染色体）など）の全部または一部を人工染色体に挿入し、次いで、有蹄動物細胞に挿入し得る。さらなる実

施形態では、再配列されて多様なヒト抗体分子集団を発現する、少なくとも１つのヒト抗体遺伝子座の一部または全部を含む有蹄動物および有蹄動物細胞を提供する。

【００７０】

さらなる実施形態では、外因性抗体を生成する方法であって、（ａ）１つ以上の目的の抗原を、その細胞が１つ以上の人工染色体を含み、かつ機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠く有蹄動物に投与する工程であって、それぞれの人工染色体が、再配列して１つ以上の抗原に対する外因性抗体を生成する１つ以上の外因性免疫グロブリン遺伝子座を含む工程、および／または（ｂ）有蹄動物から前記外因性抗体を回収する工程を含む方法を提供する。１つの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子座は、Ｂ細胞中で再配列し得る。

【００７１】

本発明の１つの局面では、本発明の任意の局面の方法によって、有蹄動物（ブタまたはウシなど）を調製し得る。これらのクローン化されたトランスジェニック有蹄動物（例えば、ブタおよびウシ動物）は、ヒトポリクローナル抗体を補給可能に、理論的には無限大に供給し、治療、診断、および精製の目的のために使用し得る。例えば、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成したトランスジェニック動物は、血流中にヒトポリクローナル抗体を生成し、これを使用して、所望の抗原に特異的な異なる抗体のアレイを生成し得る。感染症の治療および予防、生物戦争因子に対するワクチン接種、免疫系の調整、癌細胞などの望ましくないヒト細胞の除去、および特定のヒト分子の調整のために、大量のポリクローナル抗体を使用することもできる。

【００７２】

他の実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した、機能的免疫グロブリンの発現を欠く動物または細胞は、異種抗原の発現を排除するためのさらなる遺伝子改変を含み得る。このような動物を、α－１，３－ガラクトシルトランスフェラーゼ遺伝子（例えば、ＵＳＳＮ　１０／８６３，１１６号を参照のこと）、ｉＧｂ３シンターゼ遺伝子（例えば、米国特許出願６０／５１７，５２４号を参照のこと）、および／またはＦｏｒｓｓｍａｎシンターゼ遺伝子（例えば、米国特許出願６０／５６８，９２２号を参照のこと）の少なくとも１つの対立遺伝子の発現を排除するように改変し得る。さらなる実施形態では、本明細書中に開示の動物はまた、フコシルトランスフェラーゼおよび／またはシアリルトランスフェラーゼを発現するための遺伝子改変を含み得る。これらのさらなる遺伝子改変を達成するために、１つの実施形態では、複数の遺伝子が改変されるように細胞を改変し得る。他の実施形態では、動物を交配させて、複数の遺伝子を改変し得る。１つの特定の実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した機能的免疫グロブリンの発現を欠く動物（ブタなど）を、α－１，３－ガラクトシルトランスフェラーゼ発現を欠く動物（ブタなど）と交配し得る（例えば、ＷＯ０４／０２８２４３号に記載）。

例えば、本願発明は以下の項目を提供する。

（項目１）

機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、トランスジェニック有蹄動物。

（項目２）

前記有蹄動物が、内因性重鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物。

（項目３）

前記有蹄動物が、内因性軽鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物。

（項目４）

前記有蹄動物が、内因性κ鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、項目３に記載のトランスジェニック有蹄動物。

（項目５）

前記有蹄動物が、内因性λ鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、項目３に記載のトラ

ンスジェニック有蹄動物。
（項目６）
前記有蹄動物が、ブタ、ウシ、ヒツジ、およびヤギからなる群から選択される、項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目７）
前記有蹄動物がブタである、項目６に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目８）
前記有蹄動物が、核移植によって生成される、項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目９）
前記有蹄動物が、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現する、項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１０）
前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、項目９に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１１）
前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、項目９に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１２）
前記軽鎖遺伝子座が、κ鎖遺伝子座またはそのフラグメントである、項目１１に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１３）
前記軽鎖遺伝子座が、λ鎖遺伝子座またはそのフラグメントである、項目１１に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１４）
前記外因性遺伝子座が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、項目９に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１５）
人工染色体が、前記外因性免疫グロブリンを含む、項目９に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１５）
前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、項目１５に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１６）
前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントのうちの１つ以上を含む、項目１５に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１７）
内因性λ鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠く、トランスジェニック哺乳動物。
（項目１８）
外因性免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するトランスジェニック有蹄動物であって、前記免疫グロブリンが、内因性有蹄動物染色体内に組み込まれた免疫グロブリン遺伝子座から発現される、トランスジェニック有蹄動物。
（項目１９）
前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２０）
前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、子孫に遺伝する、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２１）

前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、雄生殖系列を介して子孫に遺伝する、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２２）
前記有蹄動物が、ブタ、ヒツジ、ヤギ、またはウシである、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２３）
前記有蹄動物がブタである、項目２２に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２４）
前記有蹄動物が、核移植を介して生成される、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２５）
前記免疫グロブリン遺伝子座がＢ細胞において発現されて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成する、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２６）
前記人工染色体が、外因性免疫グロブリンを含む、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２７）
前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２８）
前記人工染色体が、酵母人工染色体を含む、項目２７に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目２９）
前記人工染色体が、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントのうちの１つ以上を含む、項目２６に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目３０）
項目１に記載のトランスジェニック有蹄動物に由来する、トランスジェニック有蹄動物の細胞、組織、または器官。
（項目３１）
項目１８に記載のトランスジェニック有蹄動物に由来する、トランスジェニック有蹄動物の細胞、組織、または器官。
（項目３２）
前記細胞が、体細胞、生殖細胞、または胚細胞である、項目３０または項目３１に記載の細胞。
（項目３３）
前記細胞が、Ｂ細胞である、項目３２に記載の細胞。
（項目３４）
前記細胞が、線維芽細胞である、項目３３に記載の細胞。
（項目３５）
外因性免疫グロブリン遺伝子座を含む、ブタ動物。
（項目３６）
人工染色体が、前記外因性遺伝子座を含む、項目３５に記載のブタ。
（項目３７）
前記人工染色体が、再配列する１つ以上の外因性免疫グロブリン遺伝子座を含み、かつ該人工染色体は、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る、項目３６に記載のブタ。
（項目３８）
項目３５に記載の動物に由来する、ブタ細胞。

（項目３９）
前記細胞が、体細胞、Ｂ細胞、または線維芽細胞である、項目３６に記載のブタ細胞。
（項目４０）
前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリンである、項目３５に記載のブタ。
（項目４１）
前記１つ以上の人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、項目３６に記載のブタ。
（項目４２）
前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントのうちの１つ以上を含む、項目４１に記載のブタ。
（項目４３）
外因性抗体を生成する方法であって、該方法は、
（ａ）１つ以上の目的の抗原を有蹄動物に投与する工程であって、有蹄動物の細胞は、１つ以上の人工染色体を含み、かつ機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠き、それぞれの人工染色体は、再配列して該１つ以上の抗原に対する外因性抗体を生成する１つ以上の外因性免疫グロブリン遺伝子座を含む、工程；および
（ｂ）該有蹄動物から該外因性抗体を回収する工程；
を包含する、方法。
（項目４４）
前記免疫グロブリン遺伝子座が、Ｂ細胞中で再配列する、項目４３に記載の方法。
（項目４５）
前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、項目４３に記載の方法。
（項目４６）
前記外因性免疫グロブリン遺伝子座が、軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントである、項目４３に記載の方法。
（項目４７）
前記外因性遺伝子座が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、項目４３に記載の方法。
（項目４８）
人工染色体が、前記外因性免疫グロブリンを含む、項目４３に記載の方法。
（項目４９）
前記人工染色体が、哺乳動物人工染色体を含む、項目４８に記載の方法。
（項目５０）
前記哺乳動物人工染色体が、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントのうちの１つ以上を含む、項目４９に記載の方法。
（項目５１）
ブタ重鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントを含む単離ヌクレオチド配列であって、該重鎖免疫グロブリンは、少なくとも１つの連結領域および少なくとも１つの免疫グロブリン定常領域を含む、単離ヌクレオチド配列。
（項目５２）
前記重鎖免疫グロブリンが、少なくとも１つの可変領域、少なくとも２つの多様性領域、少なくとも４つの連結領域、および少なくとも１つの定常領域を含む、項目５１に記載のヌクレオチド配列。
（項目５３）
前記重鎖免疫グロブリンが、配列番号２９を含む、項目５２に記載のヌクレオチド配列。
（項目５４）
前記重鎖免疫グロブリンが、配列番号４を含む、項目５１に記載のヌクレオチド配列。
（項目５５）
前記配列が、配列番号４または配列番号２９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同である、項目５３または項目５４に記載のヌクレオチド配

列。
（項目５６）
前記配列が、配列番号４の少なくとも１７個、２０個、２５個、または３０個連続するヌクレオチドまたは配列番号２９の残基１～９，０７０を含む、項目５３または項目５４に記載のヌクレオチド配列。
（項目５７）
前記配列が、配列番号２９の残基９，０７０～１１０３９を含む、項目５３または項目５４に記載のヌクレオチド配列。
（項目５８）
配列番号４または配列番号２９とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。
（項目５９）
ターゲッティングベクターであって、
（ａ）配列番号２９と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第１のヌクレオチド配列、
（ｂ）選択マーカー遺伝子；および
（ｃ）前記第１のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号２９と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第２のヌクレオチド配列；
を含む、ターゲッティングベクター。
（項目６０）
前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、項目５９に記載のターゲッティングベクター。
（項目６１）
前記第１のヌクレオチド配列が、５’組換えアームに相当する、項目５９に記載のターゲッティングベクター。
（項目６２）
前記第２のヌクレオチド配列が、３’組換えアームに相当する、項目５９に記載のターゲッティングベクター。
（項目６３）
項目５９に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。
（項目６４）
ブタ重鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化されている、項目６３に記載の細胞。
（項目６５）
項目６４に記載の細胞を含む、ブタ動物。
（項目６６）
有蹄動物のκ軽鎖免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含む、単離ヌクレオチド配列。
（項目６７）
前記有蹄動物がブタである、項目６６に記載のヌクレオチド配列。
（項目６８）
前記有蹄動物のκ軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、少なくとも１つの連結領域、１つの定常領域、および／または１つのエンハンサー領域を含む、項目６６に記載のヌクレオチド配列。
（項目６９）
前記ヌクレオチド配列が、少なくとも５つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含む、項目６６に記載のヌクレオチド配列。
（項目７０）
配列番号３０を含む、項目６９に記載のヌクレオチド配列。
（項目７１）
配列番号１２を含む、項目６９に記載のヌクレオチド配列。

（項目７２）
前記配列が、配列番号１２または配列番号３０の少なくとも１７個、２０個、２５個、または３０個連続するヌクレオチドを含む、項目７０または項目７１に記載のヌクレオチド配列。
（項目７３）
配列番号１２または配列番号３０とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。
（項目７４）
ターゲッティングベクターであって、
（ａ）配列番号３０と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第１のヌクレオチド配列；
（ｂ）選択マーカー遺伝子；および
（ｃ）前記第１のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号３０と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第２のヌクレオチド配列；
を含む、ターゲッティングベクター。
（項目７５）
前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、項目７４に記載のターゲッティングベクター。
（項目７６）
前記第１のヌクレオチド配列が、５’組換えアームに相当する、項目７４に記載のターゲッティングベクター。
（項目７７）
前記第２のヌクレオチド配列が、３’組換えアームに相当する、項目７４に記載のターゲッティングベクター。
（項目７８）
項目７４に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。
（項目７９）
κ鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化されている、項目７８に記載の細胞。
（項目８０）
項目７９に記載の細胞を含む、ブタ動物。
（項目８１）
有蹄動物のλ軽鎖免疫グロブリン遺伝子座を含む、単離ヌクレオチド配列。
（項目８２）
前記有蹄動物がブタである、項目８１に記載のヌクレオチド配列。
（項目８３）
前記有蹄動物がウシである、項目８１に記載のヌクレオチド配列。
（項目８４）
前記有蹄動物のλ軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、Ｊ単位～Ｃ単位のコンカテマーを含む、項目８１に記載のヌクレオチド配列。
（項目８５）
前記有蹄動物のλ軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、例えば、配列番号３１に示す、少なくとも１つの連結領域－定常領域対および／または少なくとも１つの可変領域を含む、項目８１に記載のヌクレオチド配列。
（項目８６）
配列番号２８を含む、項目８２に記載のヌクレオチド配列。
（項目８７）
配列番号３１を含む、項目８３に記載のヌクレオチド配列。
（項目８８）
前記配列が、配列番号２８または配列番号３１の少なくとも１７個、２０個、２５個、または３０個連続するヌクレオチドを含む、項目８６または項目８７に記載のヌクレオチド

配列。
（項目８９）
配列番号２８または配列番号３１とハイブリダイズする、単離ヌクレオチド配列。
（項目９０）
ターゲッティングベクターであって、
（ａ）配列番号２８または配列番号３１と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第１のヌクレオチド配列；
（ｂ）選択マーカー遺伝子；および
（ｃ）該第１のヌクレオチド配列と重複しない、配列番号２８または配列番号３１と相同な少なくとも１７個連続する核酸を含む、第２のヌクレオチド配列；
を含む、ターゲッティングベクター。
（項目９１）
前記選択マーカーが、抗生物質耐性遺伝子を含む、項目９０に記載のターゲッティングベクター。
（項目９２）
前記第１のヌクレオチド配列が、５’組換えアームに相当する、項目９０に記載のターゲッティングベクター。
（項目９３）
前記第２のヌクレオチド配列が、３’組換えアームに相当する、項目９０に記載のターゲッティングベクター。
（項目９４）
項目９０に記載のターゲッティングベクターでトランスフェクトされた、細胞。
（項目９５）
λ鎖免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化された、項目９４に記載の細胞。
（項目９６）
項目９５に記載の細胞を含む、ブタ動物。
（項目９７）
少なくとも１００ｋｂのＤＮＡを環状化する方法であって、
その後、該ＤＮＡを部位特異的リコンビナーゼによって宿主ゲノムに組み込み得る、
方法。
（項目９８）
少なくとも１００ｋｂ、２００ｋｂ、３００ｋｂ、４００ｋｂ、５００ｋｂ、１０００ｋｂ、２０００ｋｂ、５０００ｋｂ、１０，０００ｋｂのＤＮＡを環状化し得る、項目９７に記載の方法。
（項目９９）
前記ＤＮＡの環状化が、前記ＤＮＡ配列の各末端にて部位特異的リコンビナーゼ標的部位を結合すること、およびその後、該ＤＮＡ配列への部位特異的リコンビナーゼを適用すること、によって行われ得る、項目９７に記載の方法。
（項目１００）
前記部位特異的リコンビナーゼ標的部位が、Ｌｏｘである、項目９７に記載の方法。
（項目１０１）
人工染色体が、前記ＤＮＡ配列を含む、項目９７に記載の方法。
（項目１０２）
前記人工染色体が、酵母人工染色体または哺乳動物人工染色体である、項目１０１に記載の方法。
（項目１０３）
前記人工染色体が、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントをコードするＤＮＡ配列を含む、項目１０１に記載の方法。
（項目１０４）

前記ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントが、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、および／またはヒト第２２染色体を含む、項目１０３に記載の方法。
（項目１０５）
内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって、該免疫グロブリンは、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物。
（項目１０６）
外因性免疫グロブリンが発現される、項目１０５に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１０７）
項目１０６に記載のトランスジェニック有蹄動物を生成するための方法であって、
内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物が、外因性免疫グロブリンを発現する有蹄動物と交配させられ、該内因性免疫グロブリンは、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、方法。
（項目１０８）
前記有蹄動物が、ブタである、項目１０５～項目１０７のうちいずれか１項に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１０９）
前記外因性免疫グロブリンが、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントである、項目１０６または項目１０７に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１１０）
人工染色体が、前記ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含む、項目１０９に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１１１）
項目１０５に記載の有蹄動物に由来する、細胞。
（項目１１２）
異種抗原の発現を消失させるためのさらなる遺伝子改変をさらに含む、項目１、項目１８、項目１０５、または項目１０６に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１１３）
前記有蹄動物が、α－１，３－ガラクトシルトランスフェラーゼ遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠く、項目１１２に記載のトランスジェニック有蹄動物。
（項目１１４）
前記有蹄動物がブタである、項目１１２に記載のトランスジェニック有蹄動物。
【図面の簡単な説明】
【００７３】
【図１】図１は、ブタ重鎖免疫グロブリン遺伝子の連結領域の発現を破壊するターゲッティングベクターのデザインを示す。
【図２】図２は、ブタκ軽鎖免疫グロブリン遺伝子の連結領域の発現を破壊するターゲッティングベクターのデザインを示す。
【図３】図３は、Ｊ～Ｃ配列のコンカテマーおよびＪＣ領域の５’側に可変領域を含む隣接領域を含む、ブタλ免疫グロブリン遺伝子座のゲノム組織化を示す。細菌人工染色体（ＢＡＣ１およびＢＡＣ２）は、ＢＡＣライブラリーから得ることができるブタ免疫グロブリンゲノムのフラグメントを示す。
【図４】図４は、ブタλ軽鎖免疫グロブリン遺伝子のＪＣクラスター領域の発現を破壊するターゲッティングベクターのデザインを示す。「ＳＭ」は、ターゲッティングベクターで使用し得る選択マーカー遺伝子を示す。
【図５】図５は、ブタλ免疫グロブリン遺伝子座のＪＣクラスター領域の５’側の領域に部位特異的リコンビナーゼ標的部位または認識部位を挿入するためのターゲッティングストラテジーを示す。「ＳＭ」は、ターゲッティングベクターで使用し得る選択マーカー遺伝子を示す。「ＳＳＲＲＳ」は、特異的リコンビナーゼ標的部位または認識部位を示す。

【図６】図６は、ブタλ免疫グロブリン遺伝子座のＪＣクラスター領域の３’側の領域に部位特異的リコンビナーゼ標的部位または認識部位を挿入するためのターゲッティングストラテジーを示す。「ＳＭ」は、ターゲッティングベクターで使用し得る選択マーカー遺伝子を示す。「ＳＳＲＲＳ」は、特異的リコンビナーゼ標的部位または認識部位を示す。
【図７】図７は、宿主ゲノムへのＹＡＣの部位特異的リコンビナーゼ媒介移入を示す。「ＳＳＲＲＳ」は、特異的リコンビナーゼ標的部位または認識部位を示す。
【発明を実施するための形態】
【００７４】
（詳細な説明）
本発明は、有蹄動物の免疫グロブリン生殖系列遺伝子配列の配置および新規のそのゲノム配列を初めて提供する。さらに、重鎖または軽鎖免疫グロブリン遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く新規の有蹄動物細胞、組織、および、動物を提供する。この発見に基づいて、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリン遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子を完全に欠く有蹄動物を生成し得る。さらに、これらの有蹄動物を、外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するようにさらに改変し得る。
【００７５】
本発明の１つの局面では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、有蹄動物は、内因性重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠くことができる。軽鎖免疫グロブリンは、κおよび／またはλ免疫グロブリンであり得る。さらなる実施形態では、内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンが、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖またはその任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンの発現を、内因性免疫グロブリンの発現を防止するための内因性免疫グロブリン遺伝子座の遺伝子ターゲッティングによって行うことができる。１つの実施形態では、相同組換えによって遺伝子ターゲッティングを行うことができる。別の実施形態では、トランスジェニック有蹄動物を、核移植によって生成し得る。
【００７６】
他の実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現するようにさらに遺伝子改変し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を含むブタ動物を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントであり得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、κ鎖遺伝子座またはそのフラグメントおよび／またはλ鎖遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。
【００７７】
本発明の別の局面では、外因性免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンを、内因性有蹄動物染色体内

に組み込まれた免疫グロブリン遺伝子座から発現し得る、トランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、トランスジェニック動物由来の有蹄動物細胞を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、子孫に遺伝し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、雄生殖系列を介して子孫に遺伝し得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【００７８】

（定義）

用語「組換えＤＮＡテクノロジー」、「ＤＮＡクローニング」、「分子クローニング」、または「遺伝子クローニング」は、細胞または生物へのＤＮＡ配列の移入プロセスをいう。一方の生物由来のＤＮＡフラグメントを、自己複製遺伝因子（例えば、細菌プラスミド）に移入することができ、これにより、他方の多くの生物でＤＮＡ（またはＲＮＡ）配列の任意の特定の部分のコピーが選択され、量的に無制限に生成し得る。プラスミドおよび人工染色体などの他のクローニングベクター型を使用して、遺伝子および他の染色体片をコピーし、さらなる研究のために十分な同一の材料を生成し得る。２０ｋｂまでの外来ＤＮＡを輸送し得る細菌プラスミドに加えて、他のクローニングベクターには、ウイルス、コスミド、および人工染色体（例えば、細菌人工染色体（ＢＡＣ）または酵母人工染色体（ＹＡＣ））が含まれる。染色体ＤＮＡのフラグメントが研究室内で最終的にそのクローニングベクターと連結される場合、「組換えＤＮＡ分子」と呼ぶ。組換えプラスミドを適切な宿主細胞に導入した直後に、新規に挿入したセグメントは、宿主細胞ＤＮＡと共に再生される。

【００７９】

「コスミド」は、４５ｋｂまでの外来ＤＮＡを輸送する人為的に構築されたクローニングベクターである。これらを、大腸菌細胞への感染のために、λファージ粒子にパッケージングし得る。

【００８０】

本明細書中で使用される、用語「哺乳動物」（「遺伝子改変された（または変化した）哺乳動物」）は、任意の非ヒト哺乳動物（ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウシ（ウシ）、シカ、ラバ、ウマ、サル、イヌ、ネコ、ラット、マウス、トリ、ニワトリ、爬虫類、魚類、および昆虫類が含まれるが、これらに限定されない）が含まれることを意味する。本発明の１つの実施形態では、遺伝子が変化したブタおよびその生成方法を提供する。

【００８１】

用語「有蹄動物」は、蹄のある哺乳動物をいう。偶蹄類は、偶数の脚の指を有する（蹄が割れた）有蹄動物であり、アンテロープ、ラクダ、ウシ、シカ、ヤギ、ブタ、およびヒツジが含まれる。奇蹄類は、奇数の脚の指を有する有蹄動物であり、ウマ、シマウマ、サイ、およびバクが含まれる。本明細書中で使用される、用語「有蹄動物」は、成体、胚、または胎児の有蹄動物をいう。

【００８２】

本明細書中で使用される、用語「ブタ（ｐｏｒｃｉｎｅ）」、「ブタ動物」、「ブタ（ｐｉｇ）」、および「ブタ（ｓｗｉｎｅ）」は、性別、サイズ、または品種を問わない同

一の動物型をいう一般名である。
【００８３】
「相同ＤＮＡ配列または相同ＤＮＡ」は、基準ＤＮＡ配列と、少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％同一であるＤＮＡ配列である。相同配列は、ストリンジェントな条件下で標的配列とハイブリダイズする。ストリンジェントなハイブリダイズ条件には、配列が少なくとも８５％、少なくとも９５％、または９８％同一である場合にハイブリダイズが起こる条件が含まれる。
【００８４】
「同遺伝子系（ｉｓｏｇｅｎｉｃ）または実質的に同遺伝子系のＤＮＡ配列」は、基準ＤＮＡ配列と同一またはほぼ同一のＤＮＡ配列である。用語「実質的に同遺伝子系の」は、基準ＤＮＡ配列と少なくとも約９７～９９％同一であるか、基準ＤＮＡ配列と少なくとも約９９．５～９９．９％同一であるか、一定の用途では、基準ＤＮＡ配列と１００％同一であるＤＮＡをいう。
【００８５】
「相同組換え」は、配列相同性に基づいたＤＮＡ組換えプロセスをいう。
【００８６】
「遺伝子ターゲッティング」は、一方が染色体上に存在し、他方が存在しない２つのＤＮＡ配列間での相同組換えをいう。
【００８７】
「非相同性組込みまたは無作為な組込み」は、相同組換えに関係なくＤＮＡをゲノムに組み込む任意のプロセスをいう。
【００８８】
「選択マーカー遺伝子」は、その発現によって遺伝子を含む細胞が同定される遺伝子である。選択マーカーは、その遺伝子を持たない細胞の成長を妨げるか遅延させる培地で細胞を増殖させる遺伝子であり得る。例には、抗生物質耐性遺伝子および選択された代謝産物で成長させる遺伝子が含まれる。あるいは、この遺伝子は、細胞に容易に同定される表現型を付与することによって形質転換体の視覚的スクリーニングを容易にし得る。このような同定可能な表現型は、例えば、発光もしくは有色化合物の生成、または細胞周囲の培地の検出可能な変化であり得る。
【００８９】
用語「連続する」を、本明細書中でその標準的な意味で使用する（すなわち、中断しないことまたは途切れないこと）。
【００９０】
「ストリンジェントな条件」は、（１）洗浄に低イオン強度および高温を使用する条件（例えば、０．０１５Ｍ　ＮａＣｌ／０．００１５Ｍ　クエン酸ナトリウム／０．１％　ＳＤＳ、５０℃）、または（２）ハイブリダイズ時に変性剤（例えば、ホルムアミドなど）を使用する条件をいう。当業者は、明瞭かつ検出可能なハイブリダイズシグナルを得るために、ストリンジェンシー条件を適切に決定し、変更し得る。例えば、ストリンジェンシーを、一般に、ハイブリダイズおよび洗浄時に存在する塩含有量の増加、温度の低下、またはその組み合わせによって低下させることができる。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｕｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｕｒ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，（１９８９）を参照のこと。
【００９１】
（Ｉ．免疫グロブリン遺伝子）
本発明の１つの局面では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、有蹄動物は、内因性重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンのいかなる発現も欠くことができる。軽鎖免疫グロブリンは、κおよび／またはλ免疫グロブリンであり得る。さらなる実施形態では、内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって

、免疫グロブリンが、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖またはその任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物を提供する。１つの実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンの発現を、内因性免疫グロブリンの発現を防止するための内因性免疫グロブリン遺伝子座の遺伝子ターゲッティングによって行うことができる。１つの実施形態では、相同組換えによって遺伝子ターゲッティングを行うことができる。別の実施形態では、トランスジェニック有蹄動物を、核移植によって生成し得る。

【００９２】

本発明の別の局面では、（ｉ）有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖のゲノム遺伝子座の生殖系列立体配置を分析すること、（ｉｉ）遺伝子座の少なくとも１つの機能的領域の５’末端および３’末端に隣接するヌクレオチド配列の位置を決定すること、ならびに（ｉｉｉ）隣接配列を含むターゲッティング構築物を細胞にトランスフェクトすることによる有蹄動物免疫グロブリン発現の破壊方法であって、首尾良く相同組換えされた場合、免疫グロブリン遺伝子座の少なくとも１つの機能的領域が破壊され、それにより、免疫グロブリン遺伝子の発現が減少または防止される方法を提供する。

【００９３】

１つの実施形態では、ブタ重鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。例えば、図１に示すように、ブタ重鎖遺伝子座は、少なくとも４つの可変領域、２つの多様性領域、６つの連結領域、および５つの定常領域を含む。特定の実施形態では、６つの連結領域（Ｊ６）のうちのたった１つが機能する。

【００９４】

別の実施形態では、ブタκ軽鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。例えば、図２に示すように、ブタκ軽鎖遺伝子座は、少なくとも６つの可変領域、６つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含む。

【００９５】

さらなる実施形態では、ブタλ軽鎖遺伝子座の生殖系列立体配置を提供する。

【００９６】

配列番号１～３９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号１～３９のいずれか１つと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号１～３９のいずれか１つの少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号１～３９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【００９７】

ヌクレオチドレベルまたはアミノ酸配列レベルでの相同性または同一性を、配列類似性検索のために作製されたｂｌａｓｔｐ、ｂｌａｓｔｎ、ｂｌａｓｔｘ、ｔｂｌａｓｔｎ、およびｔｂｌａｓｔｘプログラム（例えば、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｓ．Ｆ．ら（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ２５：３３８９－３４０２およびＫａｒｌｉｎら（１９００）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７，２２６４－２２６８を参照のこと）によって使用されるアルゴリズムを使用したＢＬＡＳＴ（Ｂａｓｉｃ Ｌｏｃａｌ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ｓｅａｒｃｈ Ｔｏｏｌ）によって決定し得る。ＢＬＡＳＴプログラムによって使用されるアプローチは、ギャップを使用するか使用せずに、クエリー配列およびデータベース配列の間の類似のセグメントを最初に考慮し、次いで、同定された全適合物の統計的有意性を評価し、最後に、予め選択した有意性の閾値を満たす適合物のみをまとめることである。例えば、Ａｌｔｓｃｈｕｌら（１９９４）（Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ６，１１９－１２９）を参照のこと。ヒストグラム、記述、アラインメント、期待値（すなわち、データベース配列に対する適合物の報告のための統計的有意性の閾値）、カットオフ、行列、およびフィルター（ｌｏｗ ｃｏ Ｍ’ｐｌｅｘｉｔｙ）についての検索パラメーターは、デフォルト値である。ｂｌａｓｔｐ、ｂｌａｓｔｘ、ｔｂｌａｓｔｎ、およびｔｂｌａｓｔｘによって使用されるデフォルトスコアリング行列は、８５（ヌクレオチド塩基またはアミノ酸）を超えるクエリー配列長に推奨さ

れるＢＬＯＳＵＭ６２行列（Ｈｅｎｉｋｏｆｆら（１９９２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９，１０９１５－１０９１９）である。

【００９８】

（ブタ重鎖）

本発明の別の局面では、有蹄動物免疫グロブリンの重鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、例えば、配列番号２９に示す、少なくとも１つの可変領域、少なくとも２つの多様性領域、少なくとも４つの連結領域、および少なくとも１つの定常領域（μ定常領域など）を含む、ブタ重鎖をコードする単離ヌクレオチド配列を提供する。別の実施形態では、例えば、配列番号４に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の少なくとも４つの連結領域および少なくとも１つの定常領域（μ定常領域など）を含む、単離ヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の第１の連結領域の５’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。なおさらに、例えば、配列番号４に示す、ブタ重鎖ゲノム配列の第１の連結領域の３’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、配列番号１、４、または２９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号１、４、または２９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号１、４、または２９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【００９９】

さらに、配列番号１、４、または２９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。１つの実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号４の少なくとも１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドまたは配列番号２９の残基１～９，０７０を含む。他の実施形態では、配列番号２９の少なくとも５０、１００、１，０００、２，５００、４，０００、４，５００、５，０００、７，０００、８，０００、８，５００、９，０００、１０，０００、または１５，０００個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。別の実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号２９の残基９，０７０～１１０３９を含む。

【０１００】

さらなる実施形態では、配列番号１、４、または２９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号１、４、または２９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号１、４、または２９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号１、４、または２９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【０１０１】

１つの実施形態では、例えば、配列番号２９に示す、少なくとも１つの可変領域、少なくとも２つの多様性領域、少なくとも４つの連結領域、および少なくとも１つの定常領域（μ定常領域など）を含む、ブタ重鎖をコードする単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号２９では、重鎖の多様性領域を、例えば、残基１０８９～１０９９（Ｄ（偽））に示し、重鎖の連結領域を、例えば、残基１８８７～３３５２（例えば、Ｊ（偽）：１８８７～１９３１、Ｊ（偽）：２３６４～２４１１、Ｊ（偽）：２７５６～２８０４、Ｊ（機能的Ｊ）：３２９６～３３５２）に示し、組換えシグナルを、例えば、残基３００１～３２６１（ノナマー）、３２９２～３２９８（ヘプタマー）に示し、定常領域を、以下の残基に示す：３３５３～９０７０（Ｊ～Ｃμイントロン）、５５２２～８７００（スイッチ領域）、９０７１～９３８８（μエクソン１）、９３８９～９４６９（μイントロンＡ）、９４７０～９８０２（μエクソン２）、９８３０～１００６９（μイントロンＢ）、１００７０～１０３８７（μエクソン３）、１０３８８～１０５１７（μイントロンＣ）、１０８１５～１１０５２（μエクソン４）、１１０３４～１１０３９（ポリ（Ａ）シグナル）。

【０１０２】
【化１】

配列番号２９	tctagaagacgctggagagaggccagacttcctcggaacagctcaaagag ctctgtcaaagccagatcccatcacacgtgggcaccaataggccatgcca gcctccaagggccgaactgggttctccacggcgcacatgaagcctgcagc ctggcttatcctcttccgtggtgaagaggcaggcccgggactggacgagg ggctagcagggtgtggtaggcaccttgcgcccccccacccccggcaggaacc agagacccctggggctgagagtgagcctccaaacaggatgcccccaccctte aggccacctttcaatccagctacactccacctgccattctcctctgggca cagggcccagcccctggatcttggccttggctcgacttgcacccacgcgc acacacacacttcctaacgtgctgtccgctcacccctcccccagcgtggtc catgggcagcacggcagtgcgcgtccggcggtagtgagtgcagaggtccc ttcccctcccccaggagcccccaggggtgtgtgcagatctgggggctcctg tcccttacaccttcatgcccctcccctcataccacccctccaggcgggag gcagcgagacctttgcccagggactcagccaacgggcacacgggaggcca gcccicagcagctggctcccaaagaggaggtgggaggtaggtccacagct gccacagagagaaaccctgacggacccccacagggccacgccagccggaa ccagctcccicgtgggtgagcaatggccagggcccccgccggccaccacgg ctggccttgcgccagctgagaactcacgtccagtgcagggagactcaaga cagcctgtgcacacagcctcggatctgctcccatttcaagcagaaaaagg aaaccgtgcaggcagcccicagcatttcaaggattgtagcagcggccaac tattcgtcggcagtggccgattagaatgaccgtggagaagggcggaaggg tctctcgtgggctctgcggccaacaggcccctggctccacctgcccgctgc cagcccgaggggcttgggccgagccaggaaccacagtgctcaccgggacc acagtgactgaccaaactcccggccagagcagccccaggccagccgggct ctcgccctggaggactcaccatcagatgcacaaggggcgagtgtggaag agacgtgtcgcccgggccatttgggaaggcgaagggaccttccaggtgga caggaggtgggacgcactccaggcaagggactgggtcccaaggcctggg

【０１０３】

【化２】

	gaaggggtactggcttgggggttagcctggccagggaacggggagcgggg cgggggggctgagcagggaggacctgacctcgtgggagcgaggcaagtcag gcttcaggcagcagccgcacatcccagaccaggaggctgaggcaggaggg gcttgcagcggggcgggggcctgcctggctccgggggctcctgggggacg ctggctcttgtttccgtgtcccgcagcacagggccagctcgctgggccta tgcttaccttgatgtctgggggccggggcgtcagggtcgtcgtctcctcag gggagagtcccctgaggctacgctgggg*ggggactatggcagctccacc aggggcctggggaccaggggcctggaccaggctgcagccccggaggacggg cagggctctggctctccagcatctggccctcggaaatggcagaaccccctg gcgggtgagcgagctgagagcgggtcagacagacaggggccggccggaaa ggagaagttgggggcagagcccgccagggccagggcccaaggttctgtgt gccagggcctgggtgggcacattggtgtggccatggctacttagattcgt ggggccagggcatcctggtcaccgtctcctcaggtgagcctggtgtctga tgtccagctaggcgctggtgggccgcgggtgggcctgtctcaggctaggg cagggggctgggatgtgtatttgtcaaggagggcaacagggtgcagactg tgccccctggaaacttgaccactggggcagggcgtcctggtcacgtctcc tcaggtaagacggccctgtgcccctctctcgcgggactggaaaaggaatt ttccaagattccttggtctgtgtggggccctctggggccccccggggtgg ctccctcctgcccagatggggcctcggcctgtggagcacgggctgggca cacagctcgagtctagggccacagaggcccgggctcagggctctgtgtgg cccggcgactggcaggggctcgggttttggacacccccctaatgggggc cacagcactgtgaccatcttcacagctgggccgaggagtcgaggtcacc gtctcctcaggtgagtcctcgtcagccctctctcactctctgggggttt tgctgcattttgtgggggaaagaggatgcctgggtctcaggtctaaaggt ctagggccagcgccgggcccaggaagggccgagggccaggctcggct cggccaggagcagagcttccagacatctcgcctcctggcggctgcagtca ggcctttggccgggggggtctcagcaccaccaggcctcttggctcccgag gtccccggcccccggctgcctcaccaggcaccgtgcgcggtgggcccgggc tcttggtcggccacccctttcttaactgggatccgggcttagttgtcgcaa tgtgacaacgggctcgaaagctggggccaggggaccctagtctacgacgc ctcgggtgggtgtcccgcacccctccccacttttcacggcactcggcgaga cctggggagtcaggtgttgggacactttggaggtcaggaacgggagctg gggagagggctctgtcagcggggtccagagatgggccgccctccaaggac gccctgcgcggggacaagggcttcttggcctggcctggccgcttcacttg ggcgtcaggggggggcttcccggggcaggcggtcagtcgaggcgggttgga attctgagtctgggttcggggttcggggttcggccttcatgaacagacag cccaggcgggccgttgttggcccctgggggcctggttggaatgcgaggt ctcgggaagtcaggagggagcctggccagcagagggttcccagccctgcg gccgagggacctggagacgggcagggcattggccgtcgcagggccaggcc acaccccccaGGTTTTTGTggggcgagcctggagattgcacCACTGTGAT TACTATGCTATGGATCTCTGGGGCCCAGGCGTTGAAGTCGTCGTGTCCTC AGgtaagaacggccctccagggccttttaatttctgctctcgtctgtgggc ttttctgactctgatcctcgggaggcgtctgtgcccccccccgggggatgag gccggcttgccaggaggggtcagggaccaggagcctgtgggaagttctga cgggggctgcaggcgggaagggccccaccgggggggcgagccccaggccgc tgggcggcaggagacccgtgagagtgcgccttgaggagggtgtctgcgga accacgaacgcccgccgggaagggcttgctgcaatgcggtcttcagacgg gaggcgtcttctgccctcaccgtctttcaagcccttgtgggtctgaaaga gccatgtcggagagagaagggacaggcctgtcccgacctggccgagagcg ggcagcccc gggggagagcggggcgatcggcctgggctctgtgaggccag gtccaagggaggacgtgtggtcctcgtgacaggtgcacttgcgaaaccrt agaagacggggtatgttggaagcggctcctgatgtttaagaaaagggaga ctgtaaagtgagcagagtcctcaagtgtgttaaggttttaaaggtcaaag tgttttaaaccttgtgactgcagttagcaagcgtgcggggagtgaatgg ggtgccagggtggccgagaggcagtacgagggccgtgccgtcctctaatt cagggcttagttttgcagaataaagtcggcctgttttctaaaagcattgg

【０１０４】

【化３】

	tggtgctgagctggtggaggaggccgcgggcagccctggccacctgcagc aggtggcaggaagcaggtcggccaagaggctattttaggaagccagaaaa cacggtcgatgaatttatagcttctggtttccaggaggtggttgggcatg gctttgcgcagcgccacagaaccgaaagtgcccactgagaaaaaacaact cctgcttaatttgcatttttctaaaagaagaaacagaggctgacggaaac tggaaagttcctgttttaactactcgaattgagttttcggtcttagctta tcaactgctcacttagattcattttcaaagtaaacgtttaagagccgagg cattcctatcctcttctaaggcgttattcctggaggctcatttcaccgcca gcacctccgctgcctgcaggcattgctgtcaccgtcaccgtgacggcgcg cacgattttcagttggcccgcttcccctcgtgattaggacagacgcgggc actctggcccagccgtcttggctcagtatctgcaggcgtccgtctcggga cggagctcagggaagagcgtgactccagttgaacgtgatagtcggtgcg ttgagaggagacccagtcgggtgtcgagtcagaaggggcccggggcccga ggccctgggcaggacggcccgtgccctgcatcacgggcccagcgtcctag aggcaggactctggtggagagtgtgagggtgcctggggcccctccggagc tggggccgtgcggtgcaggttgggctctcggcgcggtgttggctgtttct gcgggatttggaggaattcttccagtgatgggagtcgccagtgaccgggc accaggctggtaagagggaggccgccgtcgtggccagagcagctgggagg gttcggtaaaaggctcgcccgtttccttttaatgaggacttttcctggagg gcatttagtctagtcgggaccgttttcgactcgggaagagggatgcggag gagggcatgtgcccaggagccgaaggcgccgcggggagaagcccagggct ctcctgtcccccacagaggcgacgccactgccgcagacagacagggccttt ccctctgatgacggcaaaggcgcctcggctcttgcgggggtgctgggggg agtcgcccccgaagccgctcacccagaggcctgaggggtgagactgaccga tgcctcttggccgggcctggggccggaccgaggggactccgtggaggca gggcgatggtggctgcgggagggaaccgaccctgggccgagcccggcttg gcgattcccgggcgagggccctcagccgaggcgagtgggtccggcggaac cacccttctggccagcgccacagggctctcgggactgtccggggcgacg ctgggctgcccgtggcaggccTGGGCTGACCTGGACTTCACCAGACAGAA CAGGGCTTTCAGGGCTGAGCTGAGCCAGGTTTAGCGAGGCCAAGTGGGGC TGAACCAGGCTCAACTGGCCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGACCTGGGC TGAGCTGAGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGAC TGGCTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCT GGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGTTGAGCTGGGTTGATCT GAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCT GGTTTGAGTTGGGTTGAGCTGAGCTGAGCTGGGCTGTGCTGGCTGAGCTA GGCTGAGCTAGGCTAGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTG GGCTGATTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCGTTGAGCTGGCTGG GCTGGATTGAGCTGGCTGAGCTGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGT TGAGCTGAGCTGGACTGGTTTGAGCTGGGTCGATCTGGGTTGAGCTGTCC TGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTCAGC AGAGCTGGGTTGGGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCC TGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGTGTTGAGC TGGGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGGATTGAGCTGGGTTGAGCTGAGC TGGGCTGGGCTGTGCTGACTGAGCTGGGCTGAGCTAGGCTGGGGTGAGCT GGGCTGAGCTGATCCGAGCTAGGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGAGCT GAGCTAGGCTGGATTGATCTGGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTG AGCTGGTCTGAGCTGGCCTGGGTCGAGCTGAGCTGGACTGGTTTGAGCTG GGTCGATCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTG AGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGGGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAAC TAGCCTAGCTAGGTTGGGCTGAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGAGCT GAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGGCCTGGGGTG AGCTGGGCTAGGTGGAGCTGAGCTGGGTCGAGCTGAGTTGGGCTGAGCTG GCCTGGGTTGAGGTAGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTG GCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGTTGA GCTGGGCTCGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCCGACCTAGGCTGGGATGA

【０１０５】

【化４】

GCTGGGCTGATTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGG
CTGAGCTGGGCCTGGAGCCTGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTGCGCT
GAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTG
GGCCGAGCTGGCCTGGGATGAGCTGGGCCGGTTTGGGCTGAGCTGAGCTG
AGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGGTGA
GCTGGGCTGAGCTAAGCTGAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGGCTGAG
CTGGGTCCTGCTGAGCTGGGCTGAGCTGACCAGGGGTGAGCTGGGCTGAG
TTAGGCTGGGCTCAGCTAGGCTGGGTTGATCTGGCAGGGCTGGTTTGCGC
TGGGTCAAGCTCCCGGGAGATGGCCTGGGATGAGCTGGGCTGGTTTGGGC
TGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCT
GAGCTGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGGGTGGAGCTGAGCTGGGCTGAACT
GGGCTAAGCTGGCTGAGCTGGATCGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTG
GGGTTAGCTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGCTGG
GCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGG
GCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAGCTGA
GCTAGGCTGCATTGAGCTGGCTGGGATGGATTGAGCTGGCTGAGCTGGCT
GAGCTGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTG
AGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTCAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTG
GGTTGAGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTG
GGTTGAGCTGGGCTCGAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCT
GGGCTCAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCT
AGCTGGGCTCAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAACTGGGCTG
AGCTGGGCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGAGCTG
GGCTGAGCAGAGCTGGGTTGGTCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTG
GGCTGAGCAGAGTTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTCAGCTGGGCTGAGCTA
GGCTGGGTTGAGCTGGGTTGAGTTGGGCTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCGG
AGCTGGGCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCGGAACTGGGTTGATCTG
AATTGAGCTGGGCTGAGCCGGGCTGAGCCGGGCTGAGCTGGGCTAGGTTG
AGCTTGGGTGAGCTTGCCTCAGCTGGTCTGAGCTAGGTTGGGTGGAGCTA
GGCTGGATTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTGATCTGGCCTCAGCTGGGCTG
AGGTAGGCTGAACTGGGCTGTGCTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCCAGTTTG
AGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTGTGTTGATCTTTCCTGAACTG
GGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTAGCTGGATTGAACGGGGGTAAGCTGG
GCCAGGCTGGACTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGAGCTGAGTTGAATTGG
GTTAAGCTGGGCTGAGATGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGTTGAGCCAG
GTCGGACTGGGTTACCCTGGGCCACACTGGGCTGAGCTGGGCGGAGCTCG
attaacctggtcaggctgagtcgggtccagcagacatgcgctggccaggc
tggcttgacctggacacgttcgatgagctgccttgggatggttcacctca
gctgagccaggtggctccagctgggctgagctggtgaccctgggtgacct
cggtgaccaggttgtcctgagtccgggccaagccgaggctgcatcagact
cgccagacccaaggcctgggccccggctggcaagccaggggcggtgaagg
ctgggctggcaggactgtcccggaaggaggtgcacgtggagccgcccgga
ccccgaccggcaggacctggaaagacgcctctcactccccttctcttct
gtccccctctcgggtcctcagAGAGCCAGTCTGCCCCGAATCTCTACCCCC
TCGTCTCCTGCGTCAGCCCCCCGTCCGATGAGAGCCTGGTGGCCCTGGGC
TGCCTGGCCCGGGACTTCCTGCCCAGCTCCGTCACCTTCTCCTGGAACTA
CAAGAACAGCAGCAAGGTCAGCAGCCAGAACATCCAGGACTTCCCGTCC
G
TCCTGAGAGGCGGCAAGTACTTGGCCTCCTCCCGGGTGCTCCTACCCTCT
GTGAGCATCCCCCAGGACCCAGAGGCCTTCCTGGTGTGCGAGGTCCAGCA
CCCCAGTGGCACCAAGTCCGTGTCCATCTCTGGGCCAGgtgagctgggct
ccccctgtggctgtggcgggggcggggccgggtgccgccggcacagtgac
gcccegttcctgcctgcagTCGTAGAGGAGCAGCCCCCCGTCTTGAACAT
CTTCGTCCCCACCCGGGAGTCCTTCTCCAGTACTCCCCAGCGCACGTCCA
AGCTCATCTGCCAGGCCTCAGACTTCAGCCCCAAGCAGATCTCCATGGCC
TGGTTCCGTGATGGGAAACGGGTGGTGTCTGGCGTCAGCACAGGCCCCGT

【０１０６】

【化５】

	GGAGACCCTACAGTCCAGTCCGGTGACCTACAGGCTCCACAGCATGCTGA CCGTCACGGAGTCCGAGTGGCTCAGCCAGAGCGTCTTCACCTGCCAGGTG GAGCACAAAGGGCTGAACTACGAGAAGAACGCGTCCTCTCTGTGCACCTC CAgtgagtgcagccccteggggccgggcggcggggcggcgggagccacaca cacaccagctgctcccctgagccttggcttccgggagtggccaaggcgggg aggggctgtgcagggcagctggagggcactgtcagctggggcccagcacc ccctcaccccggcagggcccgggctccgaggggcccgcagtcgcaggcc ctgctcttgggggaagccctacttggccccttcagggcgctgacgctccc cccacccaccccgcctagATCCCAACTCTCCCATCACCGTCTTCGCCAT CGCCCCCTCCTTCGCTGGCATCTTCCTCACCAAGTCGGCCAAGCTTTCCT GCCTGGTCACGGGCCTCGTCACCAGGGAGAGCCTCAACATCTCCTGGACC CGCCAGGACGGCGAGGTTCTGAAGACCAGTATCGTCTTCTCTGAGATCTA CGCCAACGGCACCTTCGGCGCCAGGGGCGAAGCCTCCGTCTGCGTGGAGG ACTGGGAGTCGGGCGACAGGTTCACGTGCACGGTGACCCACACGGACCTG CCCTCGCCGCTGAAGCAGAGCGTCTCCAAGCCCAGAGgtaggcctgccc tgcccctgcctccgcccggcctgtgccttggccgccggggcgggagccga gcctggccgaggagcgcccteggcccccccgcggtcccgacccacacccct cctgctctcctccccagGGATCGCCAGGCACATGCCGTCCGTGTACGTGC TGCCGCCGGCCCCGGAGGAGCTGAGCCTGCAGGAGTGGGCCTCGGTCACC TGCCTGGTGAAGGGCTTCTCCCCGGCGGACGTGTTCGTGCAGTGGCTGCA GAAGGGGGAGCCCGTGTCCGCCGACAAGTACGTGACCAGCGCGCCGGTG C CCGAGCCCGAGCCCAAGGCCCCCGCCTCCTACTTCGTGCAGAGCGTCCTG ACGGTGAGCGCCAAGGACTGGAGCGACGGGGAGACCTACACCTGCGTCG T GGGCCACGAGGCCCTGCCCCACACGGTGACCGAGAGGACCGTGGACAAG T CCACCGGTAAACCCACCCTGTACAACGTCTCCCTGGTCCTGTCCGACACG GCCAGCACCTGCTACTGACCCCCTGGCTGCCCGCCGCGGCCGGGGCCAGA GCCCCCGGGCGACCATCGCTCTGTGTGGGCCTGTGTGCAACCCGACCCTG TCGGGGTGAGCGGTCGCATTTCTGAAAATTAGAaataaaAGATCTCGTGC CG
配列番号１	TCTAgAAGACGCTGGAGAGAGGCCagACTTCCTCGGAACAGCTCAAAGAG CTCTGTCAAAGCCAGATCCCATCACACGTGGGCACCAATAGGCCATGCCA GCCTCCAAGGGCCGAACTGGGTTCTCCACGGCGCACATGAAGCCTGCAGC CTGGCTTATCCTCTTCCGTGGTGAAGAGGCAGGCCCGGGACTGGACGAGG GGCTAGCAGGGTGTGGTAGGCACCTTGCGCCCCCCACCCCGGCAGGAACC AGAGACCCTGGGGCTGAGAGTGAGCCTCCAAACAGGATGCCCCACCCTTC AGGCCACCTTTCAATCCAGCTACACTCCACCTGCCATTCTCCTCTGGGCA CAGGGCCCAGCCCCTGGATCTTGGCCTTGGCTCGACTTGCACCCACGCGC ACACACACACTTCCTAACGTGCTGTCCGCTCACCCCTCCCCAGCGTGGTC CATGGGCAGCACGGCAGTGCGCGTCCGGCGGTAGTGAGTGCAGAGGTCCC TTCCCCTCCCCCAGGAGCCCCAGGGGTGTGTGCAGATCTGGGGGCTCCTG TCCCTTACACCTTCATGCCCCTCCCCTCATACCCACCCTCCAGGCGGGAG GCAGCGAGACCTTTGCCCAGGGACTCAGCCAACGGGCACACGGGAGGCC A GCCCTCAGCAGCTGGG
配列番号４	GGCCAGACTTCCTCGGAACAGCTCAAAGAGCTCTGTCAAAGCCAGATCCC ATCACACGTGGGCACCAATAGGCCATGCCAGCCTCCAAGGGCCGAACTGG GTTCTCCACGGCGCACATGAAGCCTGCAGCCTGGCTTATCCTCTTCCGTG GTGAAGAGGCAGGCCCGGGACTGGACGAGGGGCTAGCAGGGTGTGGTAG GCACCTTGCGCCCCCCACCCCGGCAGGAACCAGAGACCCTGGGGCTGAGA G

【０１０７】

【化６】

	TGAGCCTCCAAACAGGATGCCCCACCCTTCAGGCCACCTTTCAATCCAGC TACACTCCACCTGCCATTCTCCTCTGGGCACAGGGCCCAGCCCCTGGATC TTGGCCTTGGCTCGACTTGCACCCACGCGCACACACACACTTCCTAACGT GCTGTCCGCTCACCCCTCCCCAGCGTGGTCCATGGGCAGCACGGCAGTGC GCGTCCGGCGGTAGTGAGTGCAGAGGTCCCTTCCCCTCCCCCAGGAGCCC CAGGGGTGTGTGCAGATCTGGGGGCTCCTGTCCCTTACACCTTCATGCCC CTCCCCTCATACCCACCCTCCAGGCGGGAGGCAGCGAGACCTTTGCCCAG GGACTCAGCCAACGGGCACACGGGAGGCCAGCCCTCAGCAGCTGGCTCCC AAAGAGGAGGTGGGAGGTAGGTCCACAGCTGCCACAGAGAGAAACCCTG ACGGACCCCACAGGGGCCACGCCAGCCGGAACCAGCTCCCTCGTGGGTGA GCAATGGCCAGGGCCCCGCCGGCCACCACGGCTGGCCTTGCGCCAGCTGA G AACTCACGTCCAGTGCAGGGAGACTCAAGACAGCCTGTGCACACAGCCTC GGATCTGCTCCCATTTCAAGCAGAAAAAGGAAACCGTGCAGGCAGCCCTC AGCATTTCAAGGATTGTAGCAGCGGCCAACTATTCGTCGGCAGTGGCCGA TTAGAATGACCGTGGAGAAGGGCGGAAGGGTCTCTCGTGGGCTCTGCGGC CAACAGGCCCTGGCTCCACCTGCCCGCTGCCAGCCCGAGGGGCTTGGGCC GAGCCAGGAACCACAGTGCTCACCGGGACCACAGTGACTGACCAAACTCC CGGCCAGAGCAGCCCCAGGCCAGCCGGGCTCTCGCCCTGGAGGACTCACC ATCAGATGCACAAGGGGGCGAGTGTGGAAGAGACGTGTCGCCCGGGCCA T TTGGGAAGGCGAAGGGACCTTCCAGGTGGACAGGAGGTGGGACGCACTC C AGGCAAGGGACTGGGTCCCCAAGGCCTGGGGAAGGGGTACTGGCTTGGG G GTTAGCCTGGCCAGGGAACGGGGAGCGGGGCGGGGGGCTGAGCAGGGAG G ACCTGACCTCGTGGGAGCGAGGCAAGTCAGGCTTCAGGCAGCAGCCGCAC ATCCCAGACCAGGAGGCTGAGGCAGGAGGGGCTTGCAGCGGGGCGGGGG C CTGCCTGGCTCCGGGGGCTCCTGGGGGACGCTGGCTCTTGTTTCCGTGTC CCGCAGCACAGGGCCAGCTCGCTGGGCCTATGCTTACCTTGATGTCTGGG GCCGGGGCGTCAGGGTCGTCGTCTCCTCAGGGGAGAGTCCCCTGAGGCTA CGCTGGGG*GGGGACTATGGCAGCTCCACCAGGGGCCTGGGGACCAGGG G CCTGGACCAGGCTGCAGCCCGGAGGACGGGCAGGGCTCTGGCTCTCCAGC ATCTGGCCCTCGGAAATGGCAGAACCCCTGGCGGGTGAGCGAGCTGAGA G CGGGTCAGACAGACAGGGGCCGGCCGGAAAGGAGAAGTTGGGGGCAGAG C CCGCCAGGGGCCAGGCCCAAGGTTCTGTGTGCCAGGGCCTGGGTGGGCAC ATTGGTGTGGCCATGGCTACTTAGATTCGTGGGGCCAGGGCATCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGGTGAGCCTGGTGTCTGATGTCCAGCTAGGCGCTGGTG GGCCGCGGGTGGGCCTGTCTCAGGCTAGGGCAGGGGCTGGGATGTGTATT TGTCAAGGAGGGGCAACAGGGTGCAGACTGTGCCCCTGGAAACTTGACCA CTGGGGCAGGGGCGTCCTGGTCACGTCTCCTCAGGTAAGACGGCCCTGTG CCCCTCTCTCGCGGGACTGGAAAAGGAATTTTCCAAGATTCCTTGGTCTG TGTGGGGCCCTCTGGGGCCCCCGGGGGTGGCTCCCCTCCTGCCCAGATGG GGCCTCGGCCTGTGGAGCACGGGCTGGGCACACAGCTCGAGTCTAGGGCC ACAGAGGCCCGGGCTCAGGGCTCTGTGTGGCCCGGCGACTGGCAGGGGG C TCGGGTTTTTGGACACCCCCTAATGGGGGCCACAGCACTGTGACCATCTT CACAGCTGGGGCCGAGGAGTCGAGGTCACCGTCTCCTCAGGTGAGTCCTC GTCAGCCCTCTCTCACTCTCTGGGGGGTTTTGCTGCATTTTGTGGGGGAA AGAGGATGCCTGGGTCTCAGGTCTAAAGGTCTAGGGCCAGCGCCGGGGCC CAGGAAGGGGCCGAGGGGCCAGGCTCGGCTCGGCCAGGAGCAGAGCTTC

【０１０８】

【化７】

	C AGACATCTCGCCTCCTGGCGGCTGCAGTCAGGCCTTTGGCCGGGGGGGTC TCAGCACCACCAGGCCTCTTGGCTCCCGAGGTCCCCGGCCCCGGCTGCCT CACCAGGCACCGTGCGCGGTGGGCCCGGGCTCTTGGTCGGCCACCCTTTC TTAACTGGGATCCGGGCTTAGTTGTCGCAATGTGACAACGGGCTCGAAAG CTGGGGCCAGGGGACCCTAGT*TACGACGCCTCGGGTGGGTGTCCCGCAC CCCTCCCCACTTTCACGGCACTCGGCGAGACCTGGGGAGTCAGGTGTTGG GGACACTTTGGAGGTCAGGAACGGGAGCTGGGGAGAGGGCTCTGTCAGC G GGGTCCAGAGATGGGCCGCCCTCCAAGGACGCCCTGCGCGGGGACAAGG G CTTCTTGGCCTGGCCTGGCCGCTTCACTTGGGCGTCAGGGGGGGCTTCCC GGGGCAGGCGGTCAGTCGAGGCGGGTTGGAATTCTGAGTCTGGGTTCGGG GTTCGGGGTTCGGCCTTCATGAACAGACAGCCCAGGCGGGCCGTTGTTTG GCCCCTGGGGGCCTGGTTGGAATGCGAGGTCTCGGGAAGTCAGGAGGGA G CCTGGCCAGCAGAGGGTTCCCAGCCCTGCGGCCGAGGGACCTGGAGACG G GCAGGGCATTGGCCGTCGCAGGGCCAGGCCACACCCCCCAGGTTTTTGTG GGGCGAGCCTGGAGATTGCACCACTGTGATTACTATGCTATGGATCTCTG GGGCCCAGGCGTTGAAGTCGTCGTGTCCTCAGGTAAGAACGGCCCTCCAG GGCCTTTAATTTCTGCTCTCGTCTGTGGGCTTTTCTGACTCTGATCCTCG GGAGGCGTCTGTGCCCCCCCCGGGGATGAGGCCGGCTTGCCAGGAGGGGT CAGGGACCAGGAGCCTGTGGGAAGTTCTGACGGGGGCTGCAGGCGGGAA G GGCCCCACCGGGGGGCGAGCCCCAGGCCGCTGGGCGGCAGGAGACCCGT G AGAGTGCGCCTTGAGGAGGGTGTCTGCGGAACCACGAACGCCCGCCGGG A AGGGCTTGCTGCAATGCGGTCTTCAGACGGGAGGCGTCTTCTGCCCTCAC CGTCTTTCAAGCCCTTGTGGGTCTGAAAGAGCCATGTCGGAGAGAGAAGG GACAGGCCTGTCCCGACCTGGCCGAGAGCGGGCAGCCCCGGGGGAGAGC G GGGCGATCGGCCTGGGCTCTGTGAGGCCAGGTCCAAGGGAGGACGTGTG G TCCTCGTGACAGGTGCACTTGCGAAACCTTAGAAGACGGGGTATGTTGGA AGCGGCTCCTGATGTTTAAGAAAAGGGAGACTGTAAAGTGAGCAGAGTCC TCAAGTGTGTTAAGGTTTTAAAGGTCAAAGTGTTTTAAACCTTTGTGACT GCAGTTAGCAAGCGTGCGGGGAGTGAATGGGGTGCCAGGGTGGCCGAGA G GCAGTACGAGGGCCGTGCCGTCCTCTAATTCAGGGCTTAGTTTTGCAGAA TAAAGTCGGCCTGTTTTCTAAAAGCATTGGTGGTGCTGAGCTGGTGGAGG AGGCCGCGGGCAGCCCTGGCCACCTGCAGCAGGTGGCAGGAAGCAGGTC G GCCAAGAGGCTATTTTAGGAAGCCAGAAAACACGGTCGATGAATTTATAG CTTCTGGTTTCCAGGAGGTGGTTGGGCATGGCTTTGCGCAGCGCCACAGA ACCGAAAGTGCCCACTGAGAAAAAACAACTCCTGCTTAATTTGCATTTTT CTAAAAGAAGAAACAGAGGCTGACGGAAACTGGAAAGTTCCTGTTTTAAC TACTCGAATTGAGTTTTCGGTCTTAGCTTATCAACTGCTCACTTAGATTC ATTTTCAAAGTAAACGTTTAAGAGCCGAGGCATTCCTATCCTCTTCTAAG GCGTTATTCCTGGAGGCTCATTCACCGCCAGCACCTCCGCTGCCTGCAGG CATTGCTGTCACCGTCACCGTGACGGCGCGCACGATTTTCAGTTGGCCCG CTTCCCCTCGTGATTAGGACAGACGCGGGCACTCTGGCCCAGCCGTCTTG GCTCAGTATCTGCAGGCGTCCGTCTCGGGACGGAGCTCAGGGGAAGAGCG TGACTCCAGTTGAACGTGATAGTCGGTGCGTTGAGAGGAGACCCAGTCGG GTGTCGAGTCAGAAGGGGCCCGGGGCCCGAGGCCCTGGGCAGGACGGCC

【０１０９】

【化８】

	C GTGCCCTGCATCACGGGCCCAGCGTCCTAGAGGCAGGACTCTGGTGGAGA GTGTGAGGGTGCCTGGGGCCCCTCCGGAGCTGGGGCCGTGCGGTGCAGGT TGGGCTCTCGGCGCGGTGTTGGCTGTTTCTGCGGGATTTGGAGGAATTCT TCCAGTGATGGGAGTCGCCAGTGACCGGGCACCAGGCTGGTAAGAGGGA G GCCGCCGTCGTGGCCAGAGCAGCTGGGAGGGTTCGGTAAAAGGCTCGCCC GTTTCCTTTAATGAGGACTTTTCCTGGAGGGCATTTAGTCTAGTCGGGAC CGTTTTCGACTCGGGAAGAGGGATGCGGAGGAGGGCATGTGCCCAGGAG C CGAAGGCGCCGCGGGGAGAAGCCCAGGGCTCTCCTGTCCCCACAGAGGC G ACGCCACTGCCGCAGACAGACAGGGCCTTTCCCTCTGATGACGGCAAAGG CGCCTCGGCTCTTGCGGGGTGCTGGGGGGGAGTCGCCCCGAAGCCGCTCA CCCAGAGGCCTGAGGGGTGAGACTGACCGATGCCTCTTGGCCGGGCCTGG GGCCGGACCGAGGGGGACTCCGTGGAGGCAGGGCGATGGTGGCTGCGGG A GGGAACCGACCCTGGGCCGAGCCCGGCTTGGCGATTCCCGGGCGAGGGCC CTCAGCCGAGGCGAGTGGGTCCGGCGGAACCACCCTTTCTGGCCAGCGCC ACAGGGCTCTCGGGACTGTCCGGGGCGACGCTGGGCTGCCCGTGGCAGGC CTGGGCTGACCTGGACTTCACCAGACAGAACAGGGCTTTCAGGGCTGAGC TGAGCCAGGTTTAGCGAGGCCAAGTGGGGCTGAACCAGGCTCAACTGGCC TGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGACCTGGGCTGAGCTGAGCTGGGCTGGGC TGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGACTGGCTGAGCTGAGCTGGGTT GAGCTGAGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCT GGGTTGAGCTGGGTTGAGCTGGGTTGATCTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCT GAGCTAGGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTGGTTTGAGTTGGGTTGAGCT GAGCTGAGCTGGGCTGTGCTGGCTGAGCTAGGCTGAGCTAGGCTAGGTTG AGCTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGCTGATTTGGGCTGAGCTG AGCTGAGCTAGGCTGCGTTGAGCTGGCTGGGCTGGATTGAGCTGGCTGAG CTGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGAGCTGGACTGGTT TGAGCTGGGTCGATCTGGGTTGAGCTGTCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGT TGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTCAGCAGAGCTGGGTTGGGCTGAGC TGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGC TGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGTGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGGGC TGAGCTGGATTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGGGCTGTGCTGACT GAGCTGGGCTGAGCTAGGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTGATCCGAGCT AGGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGATTGATCT GGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGTCTGAGCTGGCCTG GGTCGAGCTGAGCTGGACTGGTTTGAGCTGGGTCGATCTGGGCTGAGCTG GCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTG AGCTGAGGGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAACTAGCCTAGCTAGGTTGGGCT GAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCA GGCTGAGCTGGGCTGAGCAGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTAGGTGGAGCT G AGCTGGGTCGAGCTGAGTTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGGTAGGCTG AGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGCTGGGCTGGTTTGCGCTGG GTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTCGGTTGAGCTGG GCTGAGCTGAGCCGACCTAGGCTGGGATGAGCTGGGCTGATTTGGGCTGA GCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCCTGGAGCCT GGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTGCGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCT GGCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGATG AGCTGGGCCGGTTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAG GCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTAAGCTGA GCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGGCTGAGCTGGGTCCTGCTGAGCTGGG CTGAGCTGACCAGGGGTGAGCTGGGCTGAGTTAGGCTGGGCTCAGCTAGG

【０１１０】

【化９】

CTGGGTTGATCTGGCAGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTCCCGGGAGA
TGGCCTGGGATGAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGC
TAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGGTGAGCT
GGGCTGGGTGGAGCTGAGCTGGGCTGAACTGGGCTAAGCTGGCTGAGCTG
GATCGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGGTTAGCTGGGCTGAGCTG
AGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAA
GCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAG
GCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCTGG
CTGGGATGGATTGAGCTGGCTGAGCTGGCTGAGCTGGCTGAGCTGGGCTG
AGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTG
GGCTCAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGGTGAGCTG
GGCTGAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTCGAGCA
GAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTCAGCAGAGCTGGGTT
GAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTAGCTGGGCTCAGCTAGGCTG
GGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAACTGGGCTG
AGCTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGAGCTGGGCTGAGCAGAGCTGGGTT
G
GTCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGAGTTGGGTTG
AGCTGAGCTGGGTTCAGCTGGGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGGTTG
AGTTGGGCTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCGGAGCTGGGCTGAACTGGGCTG
AGCTGGGCTGAGCGGAACTGGGTTGATCTGAATTGAGCTGGGCTGAGCCG
GGCTGAGCCGGGCTGAGCTGGGCTAGGTTGAGCTTGGGTGAGCTTGCCTC
AGCTGGTCTGAGCTAGGTTGGGTGGAGCTAGGCTGGATTGAGCTGGGCTG
AGCTGAGCTGATCTGGCCTCAGCTGGGCTGAGGTAGGCTGAACTGGGCTG
TGCTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCCAGTTTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTG
AGCTGGGCTGTGTTGATCTTTCCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTG
GCCTAGCTGGATTGAACGGGGGTAAGCTGGGCCAGGCTGGACTGGGCTGA
GCTGAGCTAGGCTGAGCTGAGTTGAATTGGGTTAAGCTGGGCTGAGATGG
GCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGTTGAGCCAGGTCGGACTGGGTTACCCTGG
GCCACACTGGGCTGAGCTGGGCGGAGCTCGATTAACCTGGTCAGGCTGAG
TCGGGTCCAGCAGACATGCGCTGGCCAGGCTGGCTTGACCTGGACACGTT
CGATGAGCTGCCTTGGGATGGTTCACCTCAGCTGAGCCAGGTGGCTCCAG
CTGGGCTGAGCTGGTGACCCTGGGTGACCTCGGTGACCAGGTTGTCCTGA
GTCCGGGCCAAGCCGAGGCTGCATCAGACTCGCCAGACCCAAGGCCTGGG
CCCCGGCTGGCAAGCCAGGGGCGGTGAAGGCTGGGCTGGCAGGACTGTC
CCGGAAGGAGGTGCACGTGGAGCCGCCCGGACCCCGACCGGCAGGACCT
GGAAAGACGCCTCTCACTCCCCTTTCTCTTCTGTCCCCTCTCGGGTCCTCA
GAGAGCCAGTCTGCCCCGAATCTCTACCCCCTCGTCTCCTGCGTCAGCCCC
CCGTCCGATGAGAGCCTGGTGGCCCTGGGCTGCCTGGCCCGGGACTTCCT
GCCCAGCTCCGTCACCTTCTCCTGGAA

（ブタκ軽鎖）

別の実施形態では、有蹄動物免疫グロブリンのκ軽鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。本発明は、有蹄動物κ軽鎖領域の第１の報告されたゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、ブタκ軽鎖遺伝子座をコードする核酸配列を提供する。別の実施形態では、核酸配列は、κ軽鎖の少なくとも１つの連結領域、１つの定常領域、および／または１つのエンハンサー領域を含み得る。さらなる実施形態では、ヌクレオチド配列は、例えば、配列番号３０に示す、少なくとも５つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含み得る。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１２に示す、ブタゲノムκ軽鎖の少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つまたは５つの連結領域および連結領域に対する３’隣接領域を含む単離ヌクレオチド配列を提供する。別の実施形態では、例えば、配列番号２５に示す、第１の連結領域の５’隣接配列を含むブタゲノムκ軽鎖の単離ヌクレオチド配列を提供する。さらなる実施形態では、例えば、配列番号１５、１６、および／または１９に示す、ブタゲノムκ軽鎖の定常領域の３’隣接配列および任意選択的にエンハンサー配列の５’部分を含む単離ヌクレオチド配列を提供する。

【０１１１】

さらなる実施形態では、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。さらに、配列番号１、４、または２９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、または３０個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。他の実施形態では、配列番号３０の少なくとも５０、１００、１，０００、２，５００、５，０００、７，０００、８，０００、８，５００、９，０００、１０，０００、または１５，

０００個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号３０、１２、２５、１５、１６、または１９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【０１１２】

１つの実施形態では、例えば、配列番号３０に示す、少なくとも５つの連結領域、１つの定常領域、および１つのエンハンサー領域を含む、κ軽鎖をコードする単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号３０では、κ軽鎖のコード領域を、例えば、残基１～５４９および１００２６～１０５４９に示すのに対して、イントロン配列を、例えば、残基５５０～１００２５に示し、κ軽鎖の連結領域を、例えば、残基５８２２～７２０７（例えば、Ｊ１：５８２２～５８５９、Ｊ２：６１８０～６２１８、Ｊ３：６４８６～６５２３、Ｊ４：６８２６～６８６３、Ｊ５：７１７０～７２０７）に示し、定常領域を、以下の残基に示す：１００２６～１０５４９（Ｃエクソン）および１００２６～１０３５４（Ｃコード）、１０５２４～１０５２９（ポリ（Ａ）シグナル）、および１１１６０～１１２６４（ＳＩＮＥエレメント）。

【０１１３】

【化１０】

配列番号３０

GCGTCCGAAGTCAAAAATATCTGCAGCCTTCATGTATTCATAGAAACAAG
GAATGTCTACATTTTCCAAAGTGGGACCAGAATCTTGGGTCATGTCTAAG
GCATGTGCATTTGCACATGGTAGGCAAAGGACTTTGCTTCTCCCAGCACA
TCTTTCTGCAGAGATCCATGGAAACAAGACTCAACTCCAAAGCAGCAAAG
AAGCAGCAAGTTCTCAAGTGATCTCCTCTGACTCCCTCCTCCCAGGCTAA
TGAAGCCATGTTGCCCCTGGGGGATTAAGGGCAGGTGTCCATTGTGGCAC
CCAGCCCGAAGACAAGCAATTTGATCAGGTTCTGAGCACTCCTGAATGTG
GACTCTGGAATTTTCTCCTCACCTTGTGGCATATCAGCTTAAGTCAAGTA
CAAGTGACAAACAACATAATCCTAAGAAGAGAGGAATCAAGCTGAAGTC
A
AAGGATCACTGCCTTGGATTCTACTGTGAATGATGACCTGGAAAATATCC
TGAACAACAGCTTCAGGGTGATCATCAGAGACAAAAGTTCCAGAGCCAGg
tagggaaaccctcaagccttgcaaagagcaaaatcatgccattgggttct
taacctgctgagtgatttactatatgttactgtgggaggcaaagcgctca
aatagcctgggtaagtatgtcaaataaaaagcaaaagtggtgtttcttga
aatgttagacctgaggaaggaatattgataacttaccaataattttcaga
atgatttatagatgtgcacttagtcagtgtctctccaccccgcacctgac
aagcagtttagaatttattctaagaatctaggtttgctgggggctacatg
ggaatcagcttcagtgaagagtttgttggaatgattcactaaattttcta
tttccagcataaatccaagaacctctcagactagtttattgacactgctt
ttcctccataatccatctcatctccgtccatcatggacactttgtagaat
gacaggtcctggcagagactcacagatgcttctgaaacatcctttgcctt
caaagaatgaacagcacacatactaaggatctcagtgatccacaaattag
ttttgccacaatggttcttatgataaaagtctttcattaacagcaaatt
gttttataatagttgttctgctttataataattgcatgcttcactttctt
ttctttttctttttttttctttttttgctttttagtgccgcaggtgcagca
tatgaaatttcccaggctaggggtcaaatcagaactacacctactggcct
acgccacagccacagcaactcaggatctaagccatgtcggtgacctacac
tacagctcatggcaatgccagatccttaacccaatgagcgaggccaggga
tcgaacccatgtcctcatggatactagtcaggctcattatccgctgagcc
ataacaggaactcccgagtttgctttttatcaaaattggtacagccttat
tgtttctgaaaaccacaaaatgaatgtattcacatatttttaaaaggtta
aataatttatgatatacaagacaatagaaagagaaaacgtcattgcctct
ttcttccacgacaacacgcctccttaattgatttgaagaaataactactg
agcatggtttagtgtacttctttcagcaattagcctgtattcatagccat
acatattcaattaaaatgagatcatgatatcacacaatacatacctataca
gcctatagggatttttacaatcatcttccacatgactacatataaaaccta
cctaaaaaaaaaaaaaaaccctacttcatcctcctattggctgctttgtgc
tccattaaaaagctctatcataattaggttatgatgaggatttccatttt
ctacctttcaagcaacatttcaatgcacagtcttatatacacatttgagc
ctacttttctttttctttctttttttggtttttttttttttttttttt
ggtctttttgtctttttctaaggctgcatatggaggttcccaggctagctg
tctaatcagaactatagctgctggcctacgccacatccacagcaatacaa
gatctgagccatgtctgcaacttacaccacagctcacagcaacggtggat
ccttaaaccactgagcaaggccagggatcaaacccataacttcatggctc
ctagttggatttgttaaccactgagccatgatggcaactcctgagcctac
ttttctaatcatttccaaccctaggacacttttttaagtttcatttttct
ccccccacccccctgttttctgaagtgtgtttgcttccactgggtgacttc
actcccaggatctcatctgcaggatactgcagctaagtgtatgagctctg
aatttgaatcccaactctgccactcaaagggataggagtttccgatgtgg
cccaatgggatcagtggcatctctgcagtgccaggacgcaggttccatcc
ctggcccagcacagtgggttaagaatctggcattgctgcagctgaggcat
agatttcaattgtgcctcagatctgatccttggcccaaggactgcatatg
cctcagggcaaccaaaaaagagaaaaggggggtgatagcattagtttcta
gatttgggggataattaaataaagtgatccatgtacaatgtatggcattt
tgtaaatgctcaacaaatttcaactattatggagttcccatcatggctca

【０１１４】
【化１１】

	gtggaagggaatctgattagcatccatgaggacacaggtccaaccccgac cttgctcagtgggcattgctgtgagctgtggcatgggttacagacgaagc tcggatctggcattgctgtggctgtggtgtaagccagcaactacagctct cattcagccctagcctgggaacctccatatgcctaaaagacaaaaaata aaatttaaattaaaaataaagaaatgttaactattatgattggtactgct tgcattactgcaaagaaagtcactttctatactctttaatatcttagttg actgtgtgctcagtgaactattttggacacttaatttccactctcttcta tctccaacttgacaactctctttcctctcttctggtgagatccactgctg actttgctctttaaggcaactagaaaagtgctcagtgacaaaatcaaaga aagttaccttaatcttcagaattacaatcttaagttctcttgtaaagctt actatttcagtggttagtattattccttggtcccttacaacttatcagct ctgatctattgctgattttcaactatttattgttggagttttttccttt ttccctgttcattctgcaaatgtttgctgagcatttgtcaagtgaagata ctggactgggccttccaaatataagacaatgaaacatcgggagttctcat tatggtgcagcagaaacgaatccaactaggaaatgtgaggttgcaggttc gatccctgcccttgctcagtgggttaaggatccagcattaccgtgagctg tggtgtaggttgcagacgtggctcagatcctgcgttgctgtggctgtggc ataggctggcagctctagctctgattcgaccgctagcctgggaacctcca tgcgccccgagtgcagcccttaaaaagcaaaaaaaaaagaaagaaagaaa aagacaatgaaacatcaaacagctaacaatccagtagggtagaaagaatc tggcaacagataagagcgattaaatgttctaggtccagtgaccttgcctc tgtgctctacacagtcgtgccacttgctgagggagaaggtctctcttgag ttgagtcctgaaagacattagttgttcacaaactaatgccagtgagtgaa ggtgtttccaagcagagggagagtttggtaaaaagctggaagtcacagaa agactctaaagagtttaggatggtgggagcaacatacgctgagatggggc tggaaggttaagagggaaacaactatagtaagtgaagctggactcacagc aaagtgaggacctcagcatcctgatggggttaccatggaaacaccaagg cacaccttgatttccaaaacagcaggcacctgattcagcccaatgtgaca tggtgggtacccctctagctctaccttgttctgtgacaactgacaaccaac gaagttaagtctggatttctactctgctgatccttgttttgtttcaca cgtcatctatagcttcatgccaaaatagagttcaaggtaagacgcgggcc ttggtttgatatacatgtagtctatcttgtttgagacaatatggtggcaa ggaagaggttcaaacaggaaaatactctctaattatgattaactgagaaa agctaaagagtcccataatgacactgaatgaagttcatcatttgcaaaag ccttcccccccccccaggagactataaaaaagtgcaatttttaaatgaa cttatttacaaaacagaaatagactcacagacataggaaacgaacagatg gttaccaagggtgaaagggagtaggagggataaataaggagtctggggtt agcagatacaccccagtgtacacaaaataaacaacagggacctactatat agcacagggaactatatgcagtagcttacaataacctataatggaaaaga atgtgaaaaagaatatatgtatgcgtgtgtgtgtaactgaatcactttgc tgtaacctgaatctaacataacattgtaaatcaactacagttttttttt ttttaagtgcagggttttggtgttttttttttttcatttttgttttgtt tttgttttttgcttttttagggccacacccagacatatgggggttcccagg ctaggggtctaattagagctacagttgccggcttgcaccacagccacagc aacatcagatccgagccgcacttgcgacttacaccacagctcatggcaat accagatccttaacccactgagcaaggcccagggatcgtacccgcaacct catggttcctagtcagattcatttctgctgcgctacaatgggaactccaa gtgcagtttttgtaatgtgcttgtctttctttgtaattcatattcatcc tacttcccaataaataaataaatacataaataataaacataccattgtaa atcaactacaatttttttaaatgcagggtttttgttttttgttttttgt tttgtctttttgccttttctagggccgctcccatggcatatggaggttcc caggctaggggtcgaatcggagctgtagccaccggcctacgccagagcca cagcaacgcgggatccgagccgcgtctgcaacctacaccacagctcacgg caacgccggatcgttaacccactgagcaagggcagggatcgaacctgcaa cctcatggttcctagtcagattcgttaactactgagccacaacggaaact cctaaagtgcagttttaaatgtgcttgtctttctttgtaatttacactc

【０１１５】

【化１２】

	aacctacttcccaataaataaataaataaacaaataaatcatagacatgg ttgaattctaaaggaaggaccatcaggccttagacagaaatacgtcatc ttctagtatttttaaaacacactaaagaagacaaacatgctctgccagaga agcccagggcctccacagctgcttgcaaagggagttaggcttcagtagct gacccaaggctctgttcctcttcagggaaaagggttttgttcagtgaga cagcagacagctgtcactgtgGTGGACGTTCGGCCAAGGAACCAAGCTGG AACTCAAACgtaagtcaatccaaacgttccttccttggctgtctgtgtct tacggtctctgtggctctgaaatgattcatgtgctgactctctgaaacca gactgacattctccagggcaaaactaaagcctgtcatcaaactggaaaac tgagggcacattttctgggcagaactaagagtcaggcactgggtgaggaa aaacttgttagaatgatagtttcagaaacttactgggaagcaaagcccat gttctgaacagagctctgctcaagggtcaggaggggaaccagtttttgta caggagggaagttgagacgaacccctgtgTATATGGTTTCGGCGCGGGGA CCAAGCTGGAGCTCAAACgtaagtggcctttttccgactgattctttgctg tttctaattgttggttggctttttgtccatttttcagtgttttcatcgaa ttagttgtcagggaccaaacaaattgccttcccagattaggtaccaggga ggggacattgctgcatgggagaccagagggtggctaatttttaacgtttc caagccaaaataactgggggaaggggcttgctgtcctgtgagggtaggtt tttatagaagtggaagttaagggaaatcgctatgGTTCACTTTTGGCTC GGGGACCAAAGTGGAGCCCAAAAttgagtacattttccatcaattatttg tgagatttttgtcctgttgtgtcatttgtgcaagtttttgacattttggt tgaatgagccattcccagggacccaaaaggatgagaccgaaaagtagaaa agagccaacttttaagctgagcagacagaccgaattgttgagtttgtgag gagagtagggtttgtagggagaaaggggaacagatcgctggctttttctc tgaattagccttctcatgggactggcttcagaggggtttttgatgagg gaagtgttctagagccttaactgtgGGTTGTGTTCGGTAGCGGGACCAAG CTGGAAATCAAACgtaagtgcacttttctactcctttttctttcttatac gggtgtgaaattggggacttttcatgtttggagtatgagttgaggtcagt tctgaagagagtgggactcatccaaaaatctgaggagtaagggtcagaac agagttgtctcatggaagaacaaagacctagttagttgatgaggcagcta aatgagtcagttgacttgggatccaaatggccagacttcgtctgtaacca acaatctaatgagatgtagcagcaaaaagagatttccattgaggggaaag taaaattgttaatattgtgGATCACCTTTGGTGAAGGGACATCCGTGGAG ATTGAACgtaagtatttttttctctactaccttctgaaatttgtctaaatg ccagtgttgacttttagaggcttaagtgtcagttttgtgaaaaatgggta aacaagagcatttcatatttattatcagtttcaaaagttaaactcagctc caaaaatgaatttgtagacaaaaagattaatttaagccaaattgaatgat tcaaaggaaaaaaaaattagtgtagatgaaaaaggaattcttacagctcc aaagagcaaaagcgaattaatttttctttgaacttttgccaaatcttgtaaa tgatttttgttctttacaatttaaaaaggttagagaaatgtatttcttag tctgttttctctcttctgtctgataaattattatatgagataaaaatgaa aattaataggatgtgctaaaaaatcagtaagaagttagaaaaatatatgt ttatgttaaagttgccacttaattgagaatcagaagcaatgttatttta aagtctaaaatgagagataaactgtcaatacttaaattctgcagagattc tatatcttgacagatatctccttttttcaaaaatccaatttctatggtaga ctaaatttgaaatgatcttcctcataatggagggaaaagatggactgacc ccaaaagctcagatttaaagaaatctgtttaagtgaaagaaaataaaaga actgcatttttttaaaggcccatgaatttgtagaaaaataggaaatatttt aataagtgtattcttttattttcctgttattacttgatggtgttttata ccgccaaggaggccgtggcaccgtcagtgtgatctgtagacccccatggcg gccttttttcgcgattgaatgaccttggcggtgggtccccagggctctgg tggcagcgcaccagccgctaaaagccgctaaaaactgccgctaaaggcca cagcaaccccgcgaccgcccgttcaactgtgctgacacagtgatacagat aatgtcgctaacagaggagaatagaaatatgacgggcacacgctaatgtg gggaaaagagggagaagcctgatttttatttttagagatttctagagata aaattcccagtattatatcctttaataaaaaatttctattaggagatta

【０１１６】

【化１３】

taaagaatttaaagctatttttttaagtggggtgtaattctttcagtagt
ctcttgtcaaatggatttaagtaatagaggcttaatccaaatgagagaaa
tagacgcataaccctttcaaggcaaaagctacaagagcaaaaattgaaca
cagcagccagccatctagccactcagattttgatcagttttactgagttt
gaagtaaatatcatgaaggtataattgctgataaaaaaaataagatacagg
tgtgacacatctttaagtttcagaaatttaatggcttcagtaggattata
tttcacgtatacaaagtatctaagcagataaaaatgccattaatggaaac
ttaatagaaatatatttttaaatccttcattctgtgacagaaatttct
aatctgggtctttaatcacctaccctttgaaagagtttagtaatttgct
atttgccatcgctgtttactccagctaatttcaaaagtgatacttgagaa
agattatttttggtttgcaaccacctggcaggactattttagggccattt
taaaactcttttcaaactaagtattttaaactgttctaaaccatttaggg
cctttaaaaatcttttcatgaatttcaaacttcgttaaaagttattaag
gtgtctggcaagaacttccttatcaaatatgctaatagtttaatctgtta
atgcaggatataaaattaaagtgatcaaggcttgacccaaacaggagtat
crtcatagcatatttccccctccttttttctagaattcatatgattttgc
tgccaaggctattttatataatctctggaaaaaaaatagtaatgaaggtt
aaaagagaagaaaatatcagaacattaagaattcggtattttactaactg
cttggttaacatgaaggtttttattttattaaggtttctatctttataaa
aatctgttccctttctgctgatttctccaagcaaaagattcttgatttg
ttttttaactcttactctcccacccaagggcctgaatgcccacaaagggg
acttccaggaggccatctggcagctgctcaccgtcagaagtgaagccagc
cagttcctcctgggcaggtggccaaaattacagttgacccctcctggtct
ggctgaaccttgccccatatggtgacagccatctggccagggcccaggtc
tccctctgaagcctttgggaggagagggagagtggctggcccgatcacag
atgcggaaggggctgactcctcaaccggggtgcagactctgcagggtggg
tctgggcccaacacacccaaagcacgcccaggaaggaaaggcagcttggt
atcactgcccagagctaggagaggcaccgggaaaatgatctgtccaagac
ccgttcttgcttctaaactccgaggggtcagatgaagtggttttgtttc
ttggcctgaagcatcgtgttccctgcaagaagcggggaacacagaggaag
gagagaaaagatgaactgaacaaagcatgcaaggcaaaaaaggccttagg
atggctgcaggaagttagttcttctgcattggctccttactggctcgtcg
atcgcccacaaacaacgcacccagtggagaacttccctgttacttaaaca
ccattctctgtgcttgcttcctcagGGGCTGATGCCAAGCCATCCGTCTT
CATCTTCCCGCCATCGAAGGAGCAGTTAGCGACCCCAACTGTCTCTGTGG
TGTGCTTGATCAATAACTTCTTCCCCAGAGAAATCAGTGTCAAGTGGAAA
GTGGATGGGGTGGTCCAAAGCAGTGGTCATCCGGATAGTGTCACAGAGCA
GGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTCTCGCTGCCCA
CGTCACAGTACCTAAGTCATAATTTATATTCCTGTGAGGTCACCCACAAG
ACCCTGGCCTCCCCTCTGGTCACAAGCTTCAACAGGAACGAGTGTGAGGC
TtagAGGCCCACAGGCCCCTGGCCTGCCCCCAGCCCCAGCCCCCCTCCCC
ACCTCAAGCCTCAGGCCCTTGCCCCAGAGGATCCTTGGCAATCCCCCAGC
CCCTCTTCCCTCCTCATCCCCTCCCCCTCTTTGGCTTTAACCGTGTTAAT
ACTGGGGGGTGGGGGAATGAATAaataaGTGAACCTTTGCACCTGTGAt
ttctctctcctgtctgattttaaggttgttaaatgttgttttccccatta
tagttaatcttttaaggaactacatactgagttgctaaaaactacaccat
cacttataaaattcacgccttctcagttctcccctcccctcctgtcctcc
gtaagacaggcctccgtgaaacccataagcacttctctttacaccctctc
ctgggccggggtaggagacttttgatgtcccctcttcagcaagcctcag
aaccattttgaggggacagttcttacagtcacat*tcctgtgatctaat
gactttagttaccgaaaagccagtctctcaaaaagaagggaacggctaga
aaccaagtcatagaaatatatatgtataaaatatatatatccatatat
gtaaaataacaaaataatgataacagcataggtcaacaggcaacagggaa
tgttgaagtccattctggcacttcaatttaagggaataggatgccttcat
tacattttaaatacaatacacatggagagcttcctatctgccaaagacca
tcctgaatgccttccacactcactacaaggttaaaagcattcattacaat

【０１１７】

【化１４】

	gttgatcgaggagttcccgttgtggctcagcaggttaagaacgtgactgg tatccaggaggatgcgggtttggtccccagcctcgctcagtggattaagg atccagtgttgctgcaagatcacgggctcagatcccgtgttctatggcta tggtgtaggctggtagctgcatgcagccctaatttgacccctagcctggg aactgccatatgccacatgtgaggcccttaaaacctaaaagaaaaaaaaa gaaaagaaatatcttacacccaatttatagataagagagaagctaaggtg gcaggcccaggatcaaagccctacctgcctatcttgacacctgatacaaa ttctgtcttctagggtttccaacactgcatagaacagagggtcaaacatg ctaccctcccagggactcctcccttcaaatgacataaattttgttgccca tctctgggggcaaaactcaacaatcaatggcatctctagtaccaagcaag gctcttctcatgaagcaaaactctgaagccagatccatcatgacccaagg aagtaaagacaggtgttactggttgaactgtatccttcaattcaatatgc tcaatttccaactcccagtcccccgtaaatacaacccccctttgggaagaga gtccttgcagatgtagccacgttaaaaagagattatacagaaaggctagt gaggatgcagtgaaacgggatctttcatacattgctggtggaaatgtaaa atgctgcaggcactctagaaaataatttgccagtttttgaaaagctaaa caaaatagtttagttgcattctgggttatttatccccccagaaattaaaaa ttatgtccgcacaaaaacgtgtacataatcattcataacagccttgtac

配列番号１２	caaggaaccaagctggaactcaaacgtaagtcaatccaaacgttccttcc ttggctgtctgtgtcttacggtctctgtggctctgaaatgattcatgtgc tgactctctgaaaccagactgacattctccagggcaaaactaaagcctgt catcaaactggaaaactgagggcacattttctgggcagaactaagagtca ggcactgggtgaggaaaaacttgttagaatgatagtttcagaaacttact gggaagcaaagcccatgttctgaacagagctctgctcaagggtcaggagg ggaaccagtttttgtacaggagggaagttgagacgaaccccctgtgtatat ggtttcggcgcggggaccaagctggagctcaaacgtaagtggcttttcc gactgattctttgctgtttctaattgttggttggcttttgtccatttt cagtgttttcatcgaattagttgtcagggaccaaacaaattgccttccca gattaggtaccagggagggacattgctgcatgggagaccagagggtggc taatttttaacgtttccaagccaaaataactggggaagggggcttgctgt cctgtgagggtaggttttatagaagtggaagttaaggggaaatcgctat ggttcacttttggctcggggaccaaagtggagcccaaaattgagtacatt ttccatcaattatttgtgagatttttgtcctgttgtgtcatttgtgcaag ttttgacattttggttgaatgagccattcccagggacccaaaaggatga gaccgaaaagtagaaaagagccaacttttaagctgagcagacagaccgaa ttgttgagtttgtgaggagagtagggtttgtagggagaaaggggaacaga tcgctggcttttctctgaattagcctttctcatgggactggcttcagag ggggttttgatgagggaagtgttctagagccttaactgtgggttgtgtt cggtagcgggaccaagctggaaatcaaacgtaagtgcactttctactcc ttttcttctatacgggtgtgaaattggggacttttcatgtttggagt atgagttgaggtcagttctgaagagagtgggactcatccaaaaatctgag gagtaagggtcagaacagagttgtctcatggaagaacaaagacctagtta gttgatgaggcagctaaatgagtcagttgacttgggatccaaatggccag acttcgtctgtaaccaacaatctaatgagatgtagcagcaaaaagagatt tccattgaggggaaagtaaaattgttaatattgtggatcacctttggtga agggacatccgtggagattgaacgtaagtatttttctctactaccttct gaaatttgtctaaatgccagtgttgacttttagaggcttaagtgtcagtt ttgtgaaaaatgggtaaacaagagcatttcatatttattatcagtttcaa aagttaaactcagctccaaaaatgaatttgtagacaaaaagattaattta agccaaattgaatgattcaaaggaaaaaaaaattagtgtagatgaaaaag gaattcttacagctccaaagagcaaaagcgaattaattttctttgaacti

【０１１８】

【化１５】

	tgccaaatctigtaaatgatttttgttctttacaatttaaaaaggttaga gaaatgtatttcttagtctgttttctctcttctgtctgataaattattat atgagataaaaatgaaaattaataggatgtgctaaaaaatcagtaagaag ttagaaaaatatatgtttatgttaaagttgccacttaattgagaatcaga agcaatgttatttttaaagtctaaaatgagagataaactgtcaatactta aattctgcagagattctatatcttgacagatatctccttttcaaaaatc caatttctatggtagactaaatttgaaatgatcttcctcataatggaggg aaaagatggactgaccccaaaagctcagattt*aagaaaacctgtttaag *gaaagaaaataaaagaactgcatttttaaaggcccatgaatttgtaga aaaataggaaatattttaataagtgtattctttatttcctgttattac ttgatggtgtttttataccgccaaggaggccgtggcaccgtcagtgtgat ctgtagaccccatggcggcctttttcgcgattgaatgaccttggcggtg ggtccccagggctctggtggcagcgcaccagccgctaaaagccgctaaaa actgccgctaaaggccacagcaaccccgcgaccgcccgttcaactgtgct gacacagtgatacagataatgtcgctaacagaggagaatagaaatatgac gggcacacgctaatgtggggaaaagagggagaagcctgatttttatttt tagagattctagagataaaattcccagtattatatccttttaataaaaaa tttctattaggagattataaagaatttaaagctatttttttaagtggggt gtaatttctttcagtagtctcttgtcaaatggatttaagtaatagaggctt aatccaaatgagagaaatagacgcataaccctttcaaggcaaaagctaca agagcaaaaattgaacacagcagccagccatctagccactcagattttga tcagttttactgagtttgaagtaaatatcatgaaggtataattgctgata aaaaaataagatacaggtgtgacacatctttaagtttcagaaatttaatg gcttcagtaggattatatttcacgtatacaaagtatctaagcagataaaa atgccattaatggaaacttaatagaaatatatttttaaattccttcattc tgtgacagaaatttctaatctgggtcttttaatcacctaccctttgaaa gagtttagtaatttgctatttgccatcgctgtttactccagctaatttca aaagtgatacttgagaaagattatttttggtttgcaaccacctggcagga ctatttttagggccatttttaaaactcttttcaaactaagtatttttaaactg ttctaaaccatttagggccttttaaaaatcttttcatgaatttcaaactt cgttaaaagttattaaggtgtctggcaagaacttccttatcaaatatgct aatagtttaatctgttaatgcaggatataaaattaaagtgatcaaggctt gacccaaacaggagtatcttcatagcatatttccccctccttttttctag aattcatatgatttgctgccaaggctattttatataatctctggaaaaa aaatagtaatgaaggttaaaagagaagaaaatatcagaacattaagaatt cggtattttactaactgcttggttaacatgaaggttttttatttttattaag gtttctatctttataaaaatctgttccctttctgctgatttctccaagc aaaagattcttgatttgtttttaactcttactctcccacccaagggcct gaatgcccacaaaggggacttccaggaggccatctggcagctgctcaccg tcagaagtgaagccagccagttcctcctgggcaggtggccaaaattacag ttgaccctcctggtctggctgaaccttgccccatatggtgacagccatc tggccagggcccaggtctccctctgaagccttgggaggagagggagagt ggctggcccgatcacagatgcggaaggggctgactcctcaaccggggtgc agactctgcagggtgggtctgggcccaacacacccaaagcacgcccagga aggaaaggcagcttggtatcactgcccagagctaggagaggcaccgggaa aatgatctgtccaagacccgttcttgcttctaaactccgaggggtcaga tgaagtggttttgtttcttggcctgaagcatcgtgttcctgcaagaagc ggggaacacagaggaaggagagaaaagatgaactgaacaaagcatgcaag gcaaaaaaggccttaggatggctgcaggaagttagttcttctgcattggc tccttactggctcgtcgatcgcccacaaacaacgcacccagtggagaact tccctgttacttaaacaccattctctgtgcttgcttcctcaggggctgat gccaagccatccgtcttcatcttcccgccatcgaaggagcagttagcgac cccaactgtctctgtggtgtgcttgatca
配列番号１５	gatgccaagccatccgtcttcatcttcccgccatcgaaggagcagttagc

【０１１９】

【化１６】

	gaccccaactgtctctgtggtgtgcttgatcaataacttcttccccagag aaatcagtgtcaagtggaaagtggatggggtggtccaaagcagtggtcat ccggatagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcag cagcaccctctcgctgcccacgtcacagtacctaagtcataatttatatt cctgtgaggtcacccacaagaccctggcctcccctctggtcacAAGCTTC AACAGGAACGAGTGTGAGGCTTAGAGGCCCACAGGCCCCTGGCCTGCCCC CAGCCCCAGCCCCCCTCCCCACCTCAAGCCTCAGGCCCTTGCCCCAGAGG ATCCTTGGCAATCCCCCAGCCCCTCTTCCCTCCTCATCCCCTCCCCCTCT TTGGCTTTAACCGTGTTAATACTGGGGGGTGGGGGAATGAATAAATAAAG TGAACCTTTGCACCTGTGATTTCTCTCTCCTGTCTGATTTTAAGGTTGTT AAATGTTGTTTTCCCCATTATAGTTAATCTTTTAAGGAACTACATACTGA GTTGCTAAAAACTACACCATCACTTATAAAATTCAcgCCTTCTCAGTTCT CCCCTCCCCTCCTGTCCTCCGTAAGACAGGCCTCCGTGAAACCCATAAGC ACTTCTCTTTACACCCTCTCCTGGGCCGGGGTAGGAGACTTTTTGATGTC CCCTcTTCAGCAAGCCTCAGAACCATTTTGAGGGGGACAGTTCTTACAGT CACAT*TCCtGtGATCTAATGACTTTAGTTaCCGAAAAGCCAGTCTCTCA AAAAGAAGGGAACGGCTAGAAACCAAGTCATAGAAATATATATGTATAAA ATATATATATATCCATATATGTAAAATAACAAAATAATGATAACAGCATA GGTCAACAGGCAACAGGGAATGTTGAAGTCCATTCTGGCACTTCAATTTA AGGGAATAGGATGCCTTCATTACATTTTAAATACAATACACATGGAGAGC TTCCTATCTGCCAAAGACCATCCTGAATGCCTTCCACACTCACTACAAGG TTAAAAGCATTCATTACAATGTTGATCGAGGAGTTCCCGTTGTGGCTCAG CAGGTTAAGAACGTGACTGGTATCCAGGAGGATGCGGGTTTGGTCCCCAG CCTCGCTCAGTGGATTAAGGATCCAGTGTTGCTGCAAGATCACGGGCTCA GATCCCGTGTTCTATGGCTATGGTGTAGGCTGGTAGCTGCATGCAGCCCT AATTTGACCCCTAGCCTGGGAACTGCCATAtGCCACATGTGAGGCCCTTA AAACCTAAAAGAAAAAaAAAGAAAAGAAATATCTTACACCCAATTTATAG ATAAGAGAGAAGCTAAGGTGGCAGGCCCAGGATCAAAGCCCTACCTGCCT ATCTTGACACCTGAtACAAATTCTGTCTTCTAGGGtTTCCAACACTGCAT AGAACAGAGGGTCAAACATGCTACCCTCCCAGGGACTCCTCCCTTCAAAT GACATAAATTTTGTTGCCCATCTCTGGGGGCAAAACTCAACAATCAATGG CATCTCTAGTACCAAGCAAGGCTCTTCTCATGAAGCAAAACTCTGAAGCC AGATCCATCATGACCCAAGGAAGTAAAGACAGGTGTTACTGGTTGAACTG TATCCTTCAATTCAATATGCTCAATTTCCAACTCCCAGTCCCCGTAAATA CAACCCCCTTTGGGAAGAGAGTCCTTGCAGATGTAGCCACGTTAAAAAGA GATTATACAGAAAGGCTAGTGAGGATGCAGTGAAACGGGATCTTTCATAC ATTGCTGGTGGAAATGTAAAATGCTGCAGGCACTCTAGAAAATAATTTGC CAGTTTTTTGAAAAGCTAAACAAAATAGTTTAGTTGCATTCTGGGTTATT TATCCCCCAGAAATTAAAAATTATGTCCGCACAAAAACGTGTACATAATC ATTCATAACAGCCTTGTACGAAAAGCTT
配列番号１６	GGATCCTTAACCCACTAATCGAGGATCAAACACGCATCCTCATGGACAAT ATGTTGGGTTCTTAGCCTGCTGAGACACAACAGGAACTCCCCTGGCACCA CTTTAGAGGCCAGAGAAACAGCACAGATAAAATTCCCTGCCCTCATGAAG CTTATAGTCTAGCTGGGGAGATATCATAGGCAAGATAAACACATACAAAT ACATCATCTTAGGTAATAATATATACTAAGGAGAAAATTACAGGGGAGAA AGAGGACAGGAATTGCTAGGGTAGGATTATAAGTTCAGATAGTTCATCAG GAACACTGTTGCTGAGAAGATAACATTTAGGTAAAGACCGAAGTAGTAAG GAAATGGACCGTGTGCCTAAGTGGGTAAGACCATTCTAGGCAGCAGGAAC AGCGATGAAAGCACTGAGGTGGGTGTTCACTGCACAGAGTTGTTCACTGC ACAGAGTTGTGTGGGGAGGGGTAGGTCTTGCAGGCTCTTATGGTCACAGG AAGAATTGTTTTACTCCCACCGAGATGAAGGTTGGTGGATTTTGAGCAGA AGAATAATTCTGCCTGGTTTATATATAACAGGATTTCCCTGGGTGCTCTG ATGAGAATAATCTGTCAGGGGTGGGATAGGGAGAGATATGGCAATAGGAG CCTTGGCTAGGAGCCCACGACAATAATTCCAAGTGAGAGGTGGTGCTGCA

【０１２０】

【化１７】

	TTGAAAGCAGGACTAACAAGACCTGCTGACAGTGTGGATGTAGAAAAAGA TAGAGGAGACGAAGGTGCATCTAGGGTTTTCTGCCTGAGGAATTAGAAAG ATAAAGCTAAAGCTTATAGAAGATGCAGCGCTCTGGGGAGAAAGACCAGC AGCTCAGTTTTGATCCATCTGGAATTAATTTTGGCATAAAGTATGAGGTA TGTGGGTTAACATTATTTGTTTTTTTTTTTTCCATGTAGCTATCCAACTG TCCCAGCATCATTTATTTTAAAAGACTTTCCTTTCCCCTATTGGATTGTT TTGGCACCTTCACTGAAGATCAACTGAGCATAAAATTGGGTCTATTTCTA AGCTCTTGATTCCATTCCATGACCTATTTGTTCATCTTTACCCCAGTAGA CACTGCCTTGATGATTAAAGCCCCTGTTACCATGTCTGTTTTGGACATGG TAAATCTGAGATGCCTATTAGCCAACCAAGCAAGCACGGCCCTTAGAGAG CTAGATATGAGAGCCTGGAATTCAGACGAGAAAGGTCAGTCCTAGAGACA TACATGTAGTGCCATCACCATGCGGATGGTGTTAAAAGCCATCAGACTGC AACAGACTGTGAGAGGGTACCAAGCTAGAGAGCATGGATAGAGAAACCCA AGCACTGAGCTGGGAGGTGCTCCTACATTAAGAGATTAGTGAGATGAAGG ACTGAGAAGATTGATCAGAGAAGAAGGAaAATCAGGAAAATGGTGCTGTC cTGAAAATCCAAGGGAAGAGATGTTCCAAAGAGGAGAaAACTGATCAGTT GTCAGCTAGCGTCAATTGGGATGAAAATGGACCATTGGACAGAGGGATGT AGTGGGTCATGGGTGAATAGATAAGAGCAGCTTCTATAGAATGGCAGGGG CAAAATTCTCATCTGATCGGCATGGGTTcTAAAGAAAACGGGAAGAAAAA ATTGAGTGCATGACCAGTCCCTTCAAGTAGAGAGGTgGAAAAGGGAAGGA GGAAAATGAGGCCACGACAACATGAGAGAAATGACAGCATTTTTAAAAAT TTTTTATTTTATTTtATTTATTTATTTTTGCTTTTTAGGGCTGCCCCTGC AAcatatggaggttcccaggttaggggtctaatcagagctatagctgcca gcctacaccacagccatagcaatgccagatctacatgacctacaccacag ctcacagcaacgccggatccttaacccactgagtgaggccagagatcaaa cccatatccttatggatactagtcaggttcattaccactgagccaaaatg ggaaATCCTGAGTAATGACAGCATTTTTTAATGTGCCAGGAAGCAAAACT TGCCACCCCGAAATGTCTCTCAGGCATGTGGATTATTTTGAGCTGAAAAC GATTAAGGCCCAAAAAACACAAGAAGAAATGTGGACCTTCCCCCAACAGC CTAAAAAATTTAGATTGAGGGCCTGTTCCCAGAATAGAGCTATTGCCAGA CTTGTCTACAGAGGCTAAGGGCTAGGTGTGGTGGGGAAACCCTCAGAGAT CAGAGGGACGTTTATGTACCAAGCATTGACATTTCCATCTCCATGCGAAT GGCCTTCTTCCCCTCTGTAGCCCCAAACCACCACCCCCAAAATCTTCTTC TGTCTTTAGCTGAAGATGGTGTTGAAGGTGATAGTTTCAGCCACTTTGGC GAGTTCCTCAGTTGTTCTGGGTCTTTCCTCCGGATCCACATTATTCGACT GTGTTTGATTTTCTCCTGTTTATCTGTCTCATTGGCACCCATTTCATTCT TAGACCAGCCCAAAGAACCTAGAAGAGTGAAGGAAAATTTCTTCCACCCT GACAAATGCTAAATGAGAATCACCgCAGTAGAGGAAAATGATCTGGTgCT GCGGGAGATAGAAGAGAAAATcGCTGGAGAGATGTCACTGAGTAGGTGAG ATGGGAAAGGGGGGGGCACAGGTGGAGGTGTTGCCCTCAGCTAGGAAGACA GACAGTTcacagaagagaagcgggtgtccgtGGACATCTTGCCTCATGGA TGAGGAAACCGAGGCTAAGAAAGACTGCAAAAGAAAGGTAAGGATTGCAG AGAGGTCGATCCATGACTAAAATCACAGTAACCAACCCCAAACCACCATG TTTTCTCCTAGTCTGGCACGTGGCAGGTACTGTGTAGGTTTTCAATATTA TTGGTTTGTAACAGTACCTATTAGGCCTCCATCcCCTCCTCTAATACTAA CAAAAGTGTGAGACTGGTCAGTGAAAAATGGTCTTCTTTCTCTATGCAAT CTTTCTCAAGAAGATACATAACTTTTTATTTTATCATaGGCTTGAAGAGC AAATGAGAAACAgCCTCCAACCTATGACACCGTAACAAAGTGTTTATGAT CAGTGAAGGGCAAGAAACAAAACATACACaGTAAAGACCCTCCATAATAT TGtGGGCTGGCCCAaCACAGGCCAGGTTGTAAAAGCTTTTTATTCTTTGA TAGAGGAATGGATAGTAATGTTTCAACCTGGACAGAGAT*CATGTTCACT GAATCCTTCCAAAAATTCATGGGTAGTTTGAATTATAAGGAAAATAAGAC TTAGGATAAATACTTTgTCCA*GATCCCAGAGTTAATgCCAAAATCAGTT TTCAGACTCCAGGCAGCCTGATCAAGAGCCTAAACTTTAAAGACACAGTC CCTTAATAACTACTATTCACAGTTGCACTTTCAgGGCGCAAAGACTCATT GAATCCTACAATAGAATGAGTTTAGATATCAAATCTCTCAGTAATAGATG

【０１２１】

【化１８】

	AGGAGACTAAATAGCGGGCATGACCTGGTCACTTAAAGACAGAATTGAGA TTCAAGGCTAGTGTTCTTTCTACCTGTTTTGTTTCTACAAGATGTAGCAA TGCGCTAATTACAGACCTCTCAGGGAAGGAATTCACAACCCTCAGCAAAA ACCAAAGACAAATCTAAGACAACTAAGAGTGTTGGTTTAATTTGGAAAAA TAACTCACTAACCAAACGCCCCTCTTAGCACCCCAATGTCTTCCACCATC ACAGTGCTCAGGCCTCAACCATGCCCCAATCACCCCAGCCCCAGACTGGT TATTACCAAGTTTCATGATGACTGGCCTGAGAAGATCAAAAAAGCAATGA CATCTTACAGGGGACTACCCCGAGGACCAAGATAGCAACTGTCATAGCAA CCGTCACACTGCTTTGGTCA
配列番号１９	ggatcaaacacgcatcctcatggacaatatgttgggttcttagcctgctg agacacaacaggaactcccctggcaccactttagaggccagagaaacagc acagataaaattccctgccctcatgaagcttatagtctagctggggagat atcataggcaagataaacacatacaaatacatcatcttaggtaataatat atactaaggagaaaattacaggggagaaagaggacaggaattgctagggt aggattataagttcagatagttcatcaggaacactgttgctgagaagata acatttaggtaaagaccgaagtagtaaggaaatggaccgtgtgcctaagt gggtaagaccattctaggcagcaggaacagcgatgaaagcactgaggtgg gtgttcactgcacagagttgttcactgcacagagttgtgtggggaggggt aggtcttgcaggctcttatggtcacaggaagaattgttttactcccaccg agatgaaggttggtggattttgagcagaagaataattctgcctggtttat atataacaggatttccctgggtgctctgatgagaataatctgtcaggggt gggatagggagagatatggcaataggagccttggctaggagcccacgaca ataattccaagtgagaggtggtgctgcattgaaagcaggactaacaagac ctgctgacagtgtggatgtagaaaaagatagaggagacgaaggtgcatct agggttttctgcctgaggaattagaaagataaagctaaagcttatagaag atgcagcgctctggggagaaagaccagcagctcagtttgatccatctgg aattaattttggcataaagtatgaggtatgtgggttaacattatttgttt ttttttttccatgtagctatccaactgtcccagcatcatttatttttaaa agactttccttccccctattggattgttttggcaccttcactgaagatca actgagcataaaattgggtctatttctaagctcttgattccattccatga cctatttgttcatctttaccccagtagacactgccttgatgattaaagcc cctgttaccatgtctgttttggacatggtaaatctgagatgcctattagc caaccaagcaagcacggcccttagagagctagatatgagagcctggaatt cagacgagaaaggtcagtcctagagacatacatgtagtgccatcaccatg cggatggtgttaaaagccatcagactgcaacagactgtgagagggtacca agctagagagcatggatagagaaacccaagcactgagctgggaggtgctc ctacattaagagattagtgagatgaaggactgagaagattgatcagagaa gaaggaaaatcaggaaaatggtgctgtcctgaaaatccaagggaagagat gttccaaagaggagaaaactgatcagttgtcagctagcgtcaattgggat gaaaatggaccattggacagagggatgtagtgggtcatgggtgaatagat aagagcagcttctatagaatggcaggggcaaaattctcatctgatcggca tgggttctaaagaaaacgggaagaaaaaattgagtgcatgaccagtccct tcaagtagagaggtggaaaaggaaggaggaaaatgaggccacgacaaca tgagagaaatgacagcatttttaaaaattttttatttttatttttatttatt tatttttgcttttagggctgcccctgcaacatatggaggttcccaggtt aggggtctaatcagagctatagctgccagcctacaccacagccatagcaa tgccagatctacatgacctacaccacagctcacagcaacgccggatcctt aacccactgagtgaggccagagatcaaacccatatccttatggatactag tcaggttcattaccactgagccaaaatgggaaatcctgagtaatgacagc atttttaatgtgccaggaagcaaaacttgccacccccgaaatgtctctca ggcatgtggattattttgagctgaaaacgattaaggcccaaaaaacacaa gaagaaatgtggaccttcccccaacagcctaaaaaatttagattgagggc ctgttcccagaatagagctattgccagacttgtctacagaggctaagggc taggtgtggtgggaaacccctcagagatcagagggacgtttatgtaccaa

【０１２２】

【化１９】

	gcattgacatttccatctccatgcgaatggccttcttcccctctgtagcc ccaaaccaccaccccccaaaatcttcttctgtctttagctgaagatggtgt tgaaggtgatagtttcagccactttggcgagttcctcagttgttctgggt ctttcctccTgatccacattattcgactgtgtttgattttctcctgtttta tctgtctcattggcacccatttcattcttagaccagcccaaagaacctag aagagtgaaggaaaatttcttccaccctgacaaatgctaaatgagaatca ccgcagtagaggaaaatgatctggtgctgcgggagatagaagagaaaatc gctggagagatgtcactgagtaggtgagatgggaaaggggtgacacaggt ggaggtgttgcccctcagctaggaagacagacagttcacagaagagaagcg ggtgtccgtggacatcttgcctcatggatgaggaaaccgaggctaagaaa gactgcaaaagaaaggtaaggattgcagagaggtcgatccatgactaaaa tcacagtaaccaaccccaaaccaccatgttttctcctagtctggcacgtg gcaggtactgtgtaggttttcaatattattggtttgtaacagtacctatt aggcctccatccccctcctctaatactaacaaaagtgtgagactggtcagt gaaaaatggtcttcttttctctatgaatctttctcaagaagatacataact ttttattttatcataggcttgaagagcaaatgagaaacagcctccaacct atgacaccgtaacaaaatgtttatgatcagtgaagggcaagaaacaaaac atacacagtaaagaccctccataatattgtgggtggcccaacacaggcca ggttgtaaaagcttttattctttgatagaggaatggatagtaatgtttc aacctggacagagatcatgttcactgaatccttccaaaaattcatgggta gtttgaattataaggaaaataagacttaggataaatactttgtccaagat cccagagttaatgccaaaatcagttttcagactccaggcagcctgatcaa gagcctaaactttaaagacacagtcccttaataactactattcacagttg cactttcagggcgcaaagactcattgaatcctacaatagaatgagtttag atatcaaatctctcagtaatagatgaggagactaaatagcgggcatgacc tggtcacttaaagacagaattgagattcaaggctagtgttctttctacct gttttgtttctacaagatgtagcaatgcgctaattacagacctctcaggg aaggaattcacaaccctcagcaaaaaccaaagacaaatctaagacaacta agagtgttggtttaatttggaaaaataactcactaaccaaacgcccctct tagcaccccaatgtcttccaccatcacagtgctcaggcctcaaccatgcc ccaatcacc
配列番号２５	GCACATGGTAGGCAAAGGACTTTGCTTCTCCCAGCACATCTTTCTGCAGA GATCCATGGAAACAAGACTCAACTCCAAAGCAGCAAAGAAGCAGCAAGTT CTCAAGTGATCTCCTCTGACTCCCTCCTCCCAGGCTAATGAAGCCATGTT GCCCCTGGGGGATTAAGGGCAGGTGTCCATTGTGGCACCCAGCCCGAAGA CAAGCAATTTGATCAGGTTCTGAGCACTCCTGAATGTGGACTCTGGAATT TTCTCCTCACCTTGTGGCATATCAGCTTAAGTCAAGTACAAGTGACAAAC AACATAATCCTAAGAAGAGAGGAATCAAGCTGAAGTCAAAGGATCACTGC CTTGGATTCTACTGTGAATGATGACCTGGAAAATATCCTGAACAACAGCT TCAGGGTGATCATCAGAGACAAAAGTTCCAGAGCCAGGTAGGGAAACCCT CAAGCCTTGCAAAGAGCAAAATCATGCCATTGGGTTCTTAACCTGCTGAG TGATTTACTATATGTTACTGTGGGAGGCAAAGCGCTCAAATAGCCTGGGT AAGTATGTCAAATAAAAAGCAAAAGTGGTGTTTCTTGAAATGTTAGACCT GAGGAAGGAATATTGATAACTTACCAATAATTTTCAGAATGATTTATAGA TGTGCACTTAGTCAGTGTCTCTCCACCCCGCACCTGACAAGCAGTTTAGA ATTTATTCTAAGAATCTAGGTTTGCTGGGGGCTACATGGGAATCAGCTTC AGTGAAGAGTTTGTTGGAATGATTCACTAAATTTTCTATTTCCAGCATAA ATCCAAGAACCTCTCAGACTAGTTTATTGACACTGCTTTTCCTCCATAAT CCATCTCATCTCCGTCCATCATGGACACTTTGTAGAATGACAGGTCCTGG CAgAGACTCaCAGATGCTTCTGAAACATCCTTTGCCTTCAAAGAATGAAC AGCACACATACTAAGGATCTCAGTGATCCACAAATTAGTTTTTGCCACAA TGGTTCTTATGATAAAAGTCTTTCATTAACAGCAAATTGTTTTATAATAG TTGTTCTGCTTTATAATAATTGCATGCTTCACTTTCTTTTCTTTTCTTTT TTTTTCTTTTTTTGCTTTTTAGTGCCGCAGGTgcagcatatgaaatttcc caggctagggtcaaatcagaactacacctactggcctacgccacagcca cagcaactcaggatctaagccatgtcggtgacctacactacagctcatgg

【０１２３】

【化２０】

caatgccagatccttaacccaatgagcgaggccagggatcgaacccatgt
cctcatggatactagtcaggctcattatccgctgagccataacaggaact
cccGAGTTTGCTTTTTATCAAAATTGGTACAGCCTTATTGTTTCTGAAAA
CCACAAAATGAATGTATTCACATAATTTTAAAAGGTTAAATAATTTATGA
TATACAAGACAATAGAAAGAGAAAACGTCATTGCCTCTTTCTTCCACGAC
AACACGCCTCCTTAATTGATTTGAAGAAATAACTACTGAGCATGGTTTAG
TGTACTTCTTTCAGCAATTAGCCTGTATTCATAGCCATACATATTCAATT
AAAATGAGATCATGATATCACACAATACATACCATACAGCCTATAGGGAT
TTTTACAATCATCTTCCACATGACTACATAAAAACCTACCTAAAAAAAAA
AAAAACCCTACTTCATCCTCCTATTGGCTGCTTTGTGCTCCATTAAAAAG
CTCTATCATAATTAGGTTATGATGAGGATTTCCATTTTCTACCTTTCAAG
CAACATTTCAATGCACAGTCTTATATACACATTTGAGCCTACTTTTCTTT
TTCTTTCTTTTTTTGGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTCTTTTTGTC
TTTTCTAAGgctgcatatggaggttcccaggctagctgtctaatcagaac
tatagctgctggcctacgccacatccacagcaatacaagatctgagccat
gtctgcaacttacaccacagctcacagcaacggtggatccttaaaccact
gagcaaggccagggatcaaacccatAACTTCATGGCTCCTAGTTGGATTT
GTTAACCACTGAGCCATGATGGCAACTCCTGAGCCTACTTTTCTAATCAT
TTCCAACCCTAGGACACTTTTTTAAGTTTCATTTTTCTCCCCCCACCCCC
TGTTTTCTGAAGtGTGTTTGCTTCCACTGGGTGACTTCACtCCCAGGATC
TCATCTGCAGGATACTGCAGCTAAGTGTATGAGCTCTGAATTTGAATCCC
AACTCTGCCACTCAAAGGGATAGGAGTTTCCGATGTGGCCCAATGGGATC
AGTGGCATCTCTGCAGTGCCAGGACGCaggttccatccctggcccagcac
agtgggttaagaatctggCATTGCTGCAGCTGAGGCATAGATTTCAATTG
TGCCTCAgATCTGATCCTTGGCCCAAGGACTGCATATGCCTCAGGGCAAC
CAAAAAAGAGAAAAGGGGGGTGATAGCATTAGTTTCTAGATTTGGGGGAT
AATTAAATAAAGTGATCCATGTACAATGTATGGCATTTTGTAAATGCTCA
ACAAATTTCAACTATTATggagttcccatcatggctcagtggaagggaat
ctgattagcatccatgaggacacaggtCCAACCCCGACCTTGCTCAGTGG
GCATTGCTGTGAGCTGTGGCATGGGTTACAGACGAAGCTCGGATCTGGCA
TTGCTGTGGCTGTGGTGTAAGCCAgCAActacagctctcattcagcccct
agcctgggaacctccatatgccTAAAAGACAAAAAATAAAATTTAAATTA
AAAATAAAGAAATGTTAACTATTATGATTGgTACTGCTTGCATTACTGCA
AAGAAAGTCACTTTCTATACTCTTTAATATCTTAGTTGACTGTGTGCTCA
GTGAACTATTTTGGACACTTAATTTCCACTCTCTTCTATCTCCAACTTGA
CAACTCTCTTTCCTCTCTTCTGGTGAGATCCACTGCTGACTTTGCTCTTT
AAGGCAACTAGAAAAGTGCTCAGTGACAAAATCAAAGAAAGTTACCTTAA
TCTTCAGAATTACAATCTTAAGTTCTCTTGTAAAGCTTACTATTTCAGTG
GTTAGTATTATTCCTTGGTCCCTTACAACTTATCAGCTCTGATCTATTGC
TGATTTTCAACTATTTATTGTTGGAGTTTTTTCCTTTTTTCCCTGTTCAT
TCTGCAAATGTTTGCTGAGCATTTGTCAAGTGAAGATACTGGACTGGGCC
TTCCAAATATAAGACAATGAAACATCGGGAGTTCTCATTATGGTGCAGCA
GAaacgaatccaactaggaaatgtgaggttgcaggttcgatccctgccct
tgctcagtgggttaaggatccagcattaccgtgagctgtggtgtaggttg
cagacgtggctcagatcctgcgttgctgtggctgtggcataggctggcag
ctctagctctgattcgaccgctagcctgggaacctccatGCGCCCCGAGT
GCAGCCCTTAAAAAGCAAAAAAAAAAGAAAGAAAGAAAAAGACAATGAAA
CATCAAACAGCTAACAATCCAGTAGGGTAGAAAGAATCTGGCAACAGATA
AGAGCGATTAAATGTTCTAGGTCCAGTGACCTTGCCTCTGTGCTCTACAC
AGTCGTGCCACTTGCTGAGGGAGAAGGTCTCTCTTGAGTTGAGTCCTGAA
AGACATTAGTTGTTCACAAACTAATGCCAGTGAGTGAAGGTGTTTCCAAG
CAGAGGGAGAGTTTGGTAAAAAGCTGGAAGTCACAGAAAGACTCTAAAGA
GTTTAGGATGGTGGGAGCAACATACGCTGAGATGGGGCTGGAAGGTTAAG
AGGGAAACAACTATAGTAAGTGAAGCTGGACTCACAGCAAAGTGAGGACC
TCAGCATCCTTGATGGGGTTACCATGGAAACACCAAGGCACACCTTGATT
TCCAAAACAGCAGGCACCTGATTCAGCCCAATGTGACATGGTGGGTACCC

【０１２４】

【化２１】

CTCTAGCTCTACCTGTTCTGTGACAACTGACAACCAACGAAGTTAAGTCT
GGATTTTCTACTCTGCTGATCCTTGTTTTTGTTTCACACGTCATCTATAG
CTTCATGCCAAAATAGAGTTCAAGGTAAGACGCGGGCCTTGGTTTGATAT
ACATGTAGTCTATCTTGTTTGAGACAATATGGTGGCAAGGAAGAGGTTCA
AACAGGAAAATACTCTCTAATTATGATTAACTGAGAAAAGCTAAAGAGTC
CCATAATGACACTGAATGAAGTTCATCATTTGCAAAAGCCTTCCCCCCCC
CCCAGGAGACTATAAAAAAGTGCAATTTTTTAAATGAACTTATTTACAAA
ACAGAAATAGACTCACAGACATAGGAAACGAACAGATGGTTACCAAGGGT
GAAAGGGAGTAGGAGGGATAAATAAGGAGTCTGGGGTTAGCAGATACACC
CCAGTGTACACAAAATAAACAACAGGGACCTACTATATAGCACAGGGAAC
TATATGCAGTAGCTTACAATAACCTATAATGGAAAAGAATGTGAAAAAGA
ATATATGTATGCGTGTGTGTGTAACTGAATCACTTTGCTGTAACCTGAAT
CTAACATAACATTGTAAATCAACTACAGTTTTTTTTTTTTTAAGTGCAG
GGTTTTGGTGTTTTTTTTTTTCATTTTTGTTTTTGTTTTTGTTTTTTGC
TTTTTAGGGCCACACCCAGACATATGGGGGTTCCCAGGctAGGGGTcTAa
TTAGAGcTACAGtTGCCGGCTTGCAccacagccacagcaacatcagatcc
gagccgcacttgcgacttacaccacagctcatggcaataccagatcctta
acccactgagcaaggcccagggatcgtacccgcaacctcatggttcctag
tcagattcattTCTGCTGCGCTACAATGGGAACTCCAAGTGCAGTTTTTT
GTAATGTGCTtGTCTTTCTTTGTAATTCATATTCATCCTACTTCCCAATA
AATAAATAAATACATAAATAATAAACATACCATTGTAAATCAACTACAAT
TTTTTTTAAATGCAGGGTTTTTGTTTTTTGTTTTTTGTTTTGTCTTTTTG
CCTTTTCTAgggccgctcccatggcatatggaggttcccaggctaggggt
cgaatcggagctgtagccaccggcctacgccagagccacagcaacgcggg
atccgagccgcgtctgcaacctacaccacagctcacggcaacgccggatc
gttaacccactgagcaagggcagggatcgaacctgcaacctcatggttcc
tagtcagattcgttaactactgagccacaacggaaacTCCTAAAGTGCAG
TTTTTAAATGTGCTTGTCTTTCTTTGTAATTTACACTCAACCTACTTCCC
AATAAATAAATAAATAAACAAATAAATCATAGACATGGTTGAATTCTAAA
GGAAGGGACCATCAGGCCTTAGACAGAAATACGTCATCTTCTAGTATTTT
AAAACACACTAAAGAAGACAAACATGCTCTGCCAGAGAAGCCCAGGGCCT
CCACAGCTGCTTGCAAAGGGAGTTAGGCTTCAGTAGCTGACCCAAGGCTC
TGTTCCTCTTCAGGGAAAAGGGTTTTTGTTCAGTGAGACAGCAGACAGCT
GTCACTGTGgtggacgttcggccaaggaaccaagctggaactcaaacGTA
AGTCAATCCAAACGTTCCTTCCTTGGCTGTCTGTGTCTTACGGTCTCTGT
GGCTCTGAAATGATTCATGTGCTGACTCTCTGAAACCAGACTGACATTCT
CCAGGGCAAAACTAAAGCCTGTCATCAAACcGGAAAACTGAGGGCACATT
TTCTGGGCAGAACTAAGAGTCAGGCACTGGGTGAGGAAAAACTTGTTAGA
ATGATAGTTTCAGAAACTTACTGGGAAGCAAAGCCCATGTTCTGAACAGA
GCTCTGCTCAAGGGTCAGGAGGGGAACCAGTTTTTGTACAGGAGGGAAGT
TGAGACGAACCCCTGTGTAtatggtttcggcgcggggaccaagctggagc
tcaaacGTAAGTGGCTTTTTCCGACTGATTCTTTGCTGTTTCTAATTGTT
GGTTGGCTTTTTGTCCATTTTTCAGTGTTTTCATCGAATTAGTTGTCAGG
GACCAAACAAATTGCCTTCCCAGATTAGGTACCAGGGAGGGGACATTGCT
GCATGGGAGACCAGAGGGTGGCTAATTTTTAACGTTTCCAAGCCAAAATA
ACTGGGGAAGGGGGCTTGCTGTCCTGTGAGGGTAGGTTTTTATAGAAGTG
GAAGTTAAGGGGAAATCGCTATGGTtcacttttggctcggggaccaaagt
ggagcccaaaattgaGTACATTTTCCATCAATTATTTGTGAGATTTTTGT
CCTGTTGTGTCATTTGTGCAAGTTTTTGACATTTTGGTTGAATGAGCCAT
TCCCAGGGACCCAAAAGGATGAGACCGAAAAGTAGAAAAGAGCCAACTTT
TAAGCTGAGCAGACAGACCGAATTGTTGAGTTTGTGAGGAGAGTAGGGTT
TGTAGGGAGAAAGGGGAACAGATCGCTGGCTTTTTCTCTGAATTAGCCTT
TCTCATGGGACTGGCTTCAGAGGGGGTTTTTGATGAGGGAAGTGTTCTAG
AGCCTTAACTGTGGgttgtgttcggtagcgggaccaagctggaaatcaaa
CGTAAGTGCACTTTTCTACTCC

（ブタλ軽鎖）

別の実施形態では、有蹄動物免疫グロブリンのλ軽鎖遺伝子座をコードする新規のゲノム配列を提供する。本発明は、有蹄動物λ軽鎖領域の第１の報告されたゲノム配列を提供する。１つの実施形態では、ブタλ軽鎖は、Ｊ単位～Ｃ単位のコンカテマーを含む。特定の実施形態では、単離ブタλヌクレオチド配列（配列番号２８に示すものなど）を提供する。

【０１２５】

１つの実施形態では、例えば、配列番号３２に示す、ブタλ軽鎖ゲノム配列の第１のλＪ／Ｃ領域の５’隣接配列を含むヌクレオチド配列を提供する。なおさらに、ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列（例えば、λＪ／Ｃの約２００塩基対下流）を含むヌクレオチド配列（配列番号３３に示すものなど）を提供する。あるいは、ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列（例えば、エンハンサーの近くに存在するＪ／Ｃクラスターの約１１．８ｋｂ下流（配列番号３４によって示されるものなど）、エンハンサー領域を含むλの約１２Ｋｂ下流（配列番号３５によって示されるものなど）、λの約１７．６Ｋｂ下流（配列番号３６によって示されるものなど）、λの約１９．１Ｋｂ下流（配列番号３７によって示されるものなど）、λの約２１．３Ｋｂ

下流（配列番号３８によって示されるものなど）、および／またはλの約２７Ｋｂ下流（配列番号３９によって示されるものなど））を含むヌクレオチド配列を提供する。

【０１２６】

なおさらなる実施形態では、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９に示す単離ヌクレオチド配列を提供する。配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％相同な核酸配列も提供する。さらに、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９の少なくとも１０、１５、１７、２０、２５、３０、４０、５０、７５、１００、１５０、２００、２５０、５００、または１，０００個連続するヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を提供する。任意選択的にストリンジェントな条件下で、配列番号２８、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、または３９とハイブリダイズするヌクレオチド配列およびこれに相同なヌクレオチドをさらに提供する。

【０１２７】

【化２２】

配列番号２８	CCTTCCTCCTGCACCTGTCAACTCCCAATAAACCGTCCTCCTTGTCATTC AGAAATCATGCTCTCCGCTCACTTGTGTCTACCCATTTTCGGGCTTGCAT GGGGTCATCCTCGAAGGTGGAGAGAGTCCCCCTTGGCCTTGGGGAAGTCG AGGGGGGCGGGGGGAGGCCTGAGGCATGTGCCAGCGAGGGGGGTCACCTC CACGCCCCTGAGGACCTTCTAGAACCAGGGGCGTGGGGCCACCGCCTGAG TGGAAGGCTGTCCACTTTTCCCCCGGGCCCCCAGGCTCCCTCCTCCGTGT GGACCTTGTCCACCTCTGACTGGCCCAGCCACTCATGCATTGTTTCCCCG AAACCCCAGGACGATAGCTCAGCACGCGACAGTGTCCCCCTCTGAGGGCC TCTGTCCATTTCAGGACGACCCGCATGTACAGCGTGACCACTCTGCTCAC GCCCACTCACCACGTCCTAGAGCCCCACCCCCAGCCCCATCCTTAGGGGC ACAGCCAGcTCCGACCGCCCCGGGGACACCACCCTCTGCCCCTTcCCCAG GCCCTCCCTGTCACACGCACCACAGGGCCCTCCGTCCCGAGACCCTGCTC CCTCATCCCTCGGTCCCCTCAGGTAGCCTTCCACCCGCGTGTGTCCCGAG GTCCCAGATGCAGCAAGGCCCCTGGGACAACGCCAGATCTCTGCTCTcCC CGACCCCTCAGAAGCCAGCCCACGCCTGGCCCCACCACCACTGCCTAACg TCCAAGTGTCCATAGGCCTCGGGACCTCCAAGTCCAGGTTCTGCCTCTGG GATTCCGCCATGGGTCTGCCTGGGAAATGATGCACTTGGAGGAGCTCAGC ATGGGATGCGGGACCTTGTCTCTAGGCGCTcCCTCAGGATCCCACAGCTG CCCTGTGAGACACACACACACACACACACACACACACACACACACACA CACACAAACACGCATGCACGCACGCCGGCACACACGCTATTGCAGAGATG GCCACGGTAGCTGTGCCTCGAGGCCGAGTGGAGTGTCTAGAACTCTCGGG GGTCCCCTCTGCAGACGACACTGCTCCATCCCCCCCGTGCCCTGAAGGGC TCCTCACTCTCCCATCAGGATCTCTCCAAGCTGCTGACCTGGAGAGGAAG GGGCCTGGGACAGGCGGGGACACTCAGACCTCCCTGCTGCCCCTCCTCTG CCTGGGCTTGGACGGCTCCCCCCTTCCCACGGGTGAAGGTGCAGGTGGGG AGAGGGCACCCCCCTCAGCCTCCCAGACCCAGACCAGCCCCCGTGGCAGG GGCAGCCTGTGAGCCTCCAGCCAGATGCAGGTGGCCTGGGGTGGGGGGTG GAGGGGGCGGGAGGTTTATGTTTGAGGCTGTATCACTGTGTAATATTTTC GGCGGTGGGACCCATCTGACCGTCCTCGGTGAGTCTCCCCTTTTCTCTCC TCCTTGGGGATCCGAGTGAAATCTGGGTCGATCTTCTCTCCGTTCTCCTC CGACTGGGGCTGAGGTCTGAACCTCGGTGGGGTCCGAAGAGGAGGCCCCT AGGCCAGGCTCCTCAGCCCCTCCAGCCCGACcgGCCCTCTTGACACAGGG TCCAGCTAAGGGCAGACATGGAGGCTGCTAGTCCAGGGCCAGGCTCTGAG ACCCAAGGGCGCTGCCCAAGGAACCCTTGCCCCAGGGACCCTGGGAGCAA AGCTCCTCACTCAGAGCCTGCAGCCCTGGGGTCTGAGGACAAGGAGGGAC TGAGGACTGGGCGTGGGGAGTTCAGGCGGGGACACCAGGTCCAGGGAGGT GACAAAGGCGCTGGGAGGGGGCGGACGGTGCCGGGGACTCCTCCTGGGCC CTGTGGGCTCGGGGTCCTTGTGAGGACCCTGAGGGACTGAGGGGCCCCTG GGCCTAGGGACTTGCAgTgAGGGAGGCAGGGAGTGTCCCTTGAGAACGTG GCCTCCGCGGGCTGGGTCCCCCTCGTGCTCCCAGCC*GGGAGGACACCCC AGAGCAAGCGCCCCAGGTGGGCGGGGAGGGTCTCCTCACAGGGGCAGCTG ACAGATAGAGGCCCCCGCCAGGCAGATGCTTGATCCTGGCAgTTATACTG GGTTC**GCACAACTTTCCCTGAACAAGGGGCCCTCCGAACAGACACAGA CGCAACCCAGTCGACCcaggCTCAGCACAgAAAATGCACTGACACCCAAA ACCCTCATCTggggGCCTGGCCGGcAtCCCGCCCCAGGACCCAAGGCCCC TGCCCCCTGGCAGCCCTGGACACGGTCCTCTGTGGGCGGTGGGGTCgGGG CTGTGGTGACGGTGGCATCGGGGAGCCTGTGCCCCCTCCCTGAAAGGGCG GAGAGGCTCAAGAGGGGACAGAAATGTCCTCCCCTAGGAAGACCTCGGAC GGGGGCGGGGGGGTGGTCTCCGACAGACAGATGCCCGGGACCGACAGACC TGCCGAGGGAAGAGGGCACCTCGGTCGGGTTAGGCTCCAGGCAGCACGAG GGAGCGAGGCTGGGAGGGTGAGGACATGGGAGCCTGAGGAGGAGCTGGAG ACTTCAGCAGGCCCCCAGCTCCGGGCTTCGGGCTCTGAGATGCTCGGACG CAAGGTGAGTGACCCCACCTGTGGCTGACCTGACCTCAgGGgGACAAGGC

【０１２８】

【化２３】

TCAGCCTGGGACTCTGTGTCCCCATCGCCTGcACAGGGGATTCCCCTGAT
GGACACTGAGCCAACGACCTCCCGTCTCTCCCCGACCCCCAGGTCAGCCC
AAgGCCaCTCCCACGGTCAACCTCTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCGG
CACCAACAAGGCCACCCTGGTGTGTCTAATAAGTGACTTCTACCCGGGCG
CCGTGACGGTGACCTGGAAGGCAGGCGGCACCACCGTCACCCAGGGCGTG
GAGACCACCAAGCCCTCGAAACAGAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG
CTACCTGGCCCTGTCCGCCAGTGACTGGAAATCTTCCAGCGGCTTCACCT
GCCAGGTCACCCACGAGGGGACCATTGTGGAGAAGACAGTGACGCCCTCC
GAGTGCGCCTAGGTCCCTGGGCCCCCACCCTCAGGGGCCTGGAGCCACAG
GACCCCCGCGAGGGTCTCCCCGCGACCCTGGTCCAGCCCAGCCCTTCCTC
CTGCACCTGTCAACTCCCAATAAACCGTCCTCCTTGTCATTCAGAAATCA
TGCTCTCCGCTCACTTGTGTCTACCCATTTTCGGGCTTGCATGGGGTCAT
CCTCGAAGGTGGAGAGAGTCCCCCTTGGCCTTGGGgAAATCGAGGGGGGC
GGGGGGAGGCCTGAGGCATGTGCCAGCGAGGGGGGTCACCTCCACGCCCC
TGAGGACCTTCTAGAACCAGGGGCGTGGGGCCACCGCCAGAGTGGAAGGC
TGTCCACTTTTCCCCCGGGCCCCCAGGCTCCCTCCTCCGTGTGGACCTTG
TCCACCTCTGACTGGCCCAGCCACTCATGCATTGTTTCCCCGAAACCCCA
GGACGATAGCTCAGCACGCGACAGTGTCCCCCTCTGAGGGCCTCTGTCCA
TTTCAGGACGACCCGCATGTACAGCGTGACCACTCTGCTCACGCCCACTC
ACCACGTCCTAGAGCCCCACCCCCAGCCCCATCCTTAGGGGCACAGCCAG
CTCCGACCGCCCCGGGGACACCACCCTCTGCCCCTTCCCCAGGCCCTCCC
TGTCACACGCACCACAGGGCCCTCCGTCCCGAGACCCTGCTCCCTCATCC
CTCGGTCCCCTCAGGTAGCCTTCCACCCGCGTGTGTCCCGAGGTCCCAGA
TGCAGCAAGGCCCCTGGGACAACGCCAGATCTCTGCTCTCCCCGACCCTC
AGAAGCCAGCCCACGCCTGGCCCACCACCACTGCCTAACGTCCAAGTGTC
CATAGGCTCGGGAcCTCcAaGTCCAGGTTCTGCCTCTGGGATTCCGCCAT
GGGTCTGCCTGGAATGATGCACTTGGAGgAgCTCAGcATGGGATGcGGAA
CTTGTCTAGcGCTCCTCAGATCCAcAGcTGCCTGtGAgAcacacacacac
acacacacaccAAAcaCGcATGCACGCACGCCGGCACACACGCTATTA
CAGAGATGGCCACGGTAGCTGTGCCTCGAGGCCGAGTGGAGTGTCTAGAA
CTCTCGGGGGTCCCCTCTGCAGACGACACTGCTCCATCCCCCCCGTGCCC
TGAAGGGCTCCTCACTCTCCCATCAGGATCTCTCCAAGCTGCTGACCTGG
AGAGGAAGGGGCCTGGGACAGGCGGGGACACTCAGACCTCCCTGCTGCCC
CTCCTCTGCCTGGGCTTGGACGGCTCCCCCCTTCCCACGGGTGAAGGTGC
AGGTGGGGAGAGGGCACCCCCCTCACCCTCCCAGACCCAGACCAGCCCCC
GTGGCAGGGGCAGCCTGTGAGCCTCCAGCCAGATGCAGGTGGCCTGGGGT
GGGGGGTGGAGGGGGCGGGAGGTTTATGTTTGAGGCTGTATTCATCTGTG
TAATATttCGGCGGTGGGACCCATCTGACCGTCCTCGGTGAGTCTCCCC
TtttctttcctcctggggatccgagtgaaATcTGGGTCGATCTTCTCTC
CGTTCTCCTCCGACTGGGGCTGAGGTCTGAACCTCGGTgGGGTCCGAAGA
GGAGGCCCCTAGGCC*GGCTCcTCAGCCCCTCCAGCCCGACCCGCCCTCT
TGACACAGGGTCCAGCTAAGGGCAGACAT***GGCTGCTAGTCCAGGGCC
AGGCTcTGAGACCCAAGGGCGCTGCCCAAGGAACCCTTGCCCCAGGGACC
CTGGGAGCAAAGCTCCTCACTCAGAGCCTGCAGCCCTGGgGTCTGAGGAC
AAGGAGGGACTGAGGACTGGGCGTGGGGAGTTCAGGCgGGGACACCGGGT
CCAGGGAGGTGACAAAGGCGCTGGGAGGGGGCGGACGGTGCCGGAGACTC
CTCCTGGGCCCTGTGGGCTCGTGGTCCTTGTGAGGACCCTGAGGG*CTGA
GGGGCCCCTGGGCCTAGGGACTTGCAGTGAGGGAGGCAGGGAGTGTCCCT
TGAGAACGTGGCCTCCGCGGGCTGGGTCCCCCTCGTGCTCCCAGCAGGGA
GGACACCCCAGAGCAAGCGCCCCAGGTGGGCGGGGAGGGTCTCCTCACAG
GGGCAGCTGACAGATAGAC*GgccCCCGCCAGACAGATGCTTGATCCTGG
TCag***TACTGGGTTCGCcACTTCCCTGAACAGGGGCCCTCCGAACAGA
CACAGACGCAGACCaggCTCAGCACAgAAAATGCACTGACACCCAAAACC
CTCATCTGggGGCCTGGCCGGCATCCCGCCCCAGGACCCAAGGCCCCTGC
CCCCTGGCAGCCCTGGACACGGTCCTCTGTGGGCGGTGGGGTCgGGGCTG
TGGTGACGGTGGCATCGGGGAGCCTGTGCCCCCTCCCTGAAAGGGCGGAG

【０１２９】

【化２４】

	AGGCTCAAGAGGGGACAGAAATGTCCTCCCCTAGGAAGACCTCGGACGGG GGCGGGGGGGTGGTCTCCGACAGACAGATGCCCGGGACCGACAGACCTGC CGAGGGAAGAGGGCACCTCGGTCGGGTTAGGCTCCAGGCAGCACGAGGGA GCGAGGCTGGGAGGGTGAGGACATGGGAGCCTGAGGAGGAGCTGGAGACT TCAGCAGGCCCCCAGCTCCGGGCTTCGGGCTCTGAGATGCTCGGACGCAA GGTGAGTGACCCCACCTGTGGCTGACCTGACCTGACCtCAGGGGGACAAG GCTCAGCCTGGGACTCTgTGTCCCCATCGCCTGCACAGGGGATTCCCCTG ATGGACACTGAGCCAACGACCTCCCGTCTCTCCCCGACCCCCAGGTCAGC CCAAGGCCACTCCCACGGTCAACCTCTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTC GGCACCAACAAGGCCACCCTGGTGTGTCTA

配列番号３２	
	GCCACGCCCACTCCATCATGCGGGGAGGGGATGGGCAGACCCTCCAGAAA GAAGCTCCCTGGGGTGCAGGTTAACAGCTTTCCCAGACACAGCCAGTACT AGAGTGAGGTGAATAAGACATCCTCCTTGCTTGTGAAATTTAGGAAGTGC CCCCAAACATCAGTCATTAAGATAAATAATATTGAATGCACTTTTTTTTT TTTATTTTTTTTTTTTGCTTTTTAGGGCCTAATCTGCAGCatatggaagt tcccaggctacaagtcgaaccagagctgcagctgccagcctacatcacag ccacagcaacaccagatccgagccacatctgtgactaacactgcagttca cagcaacgccagatccttaacccattgagtgaggccagggatcaaaccca catcctcatggatactagtctggttcgtaaaccactgagccaCAAGGGGA ACTCCTGAATGCAATATTTTTGAAAATTGAAATTAAATCTGTCACTCTTT CACTTAAGAGTCCCCTTAGATTGGGGAAAATTTAAATATCTGTCATCTTA GTGCATCTTTGCTCATATGATGTGAATAAAATCCCAAAATCCATATGAAT GAAGCATCAAAATGTACATGAAGTCAGCCTGACCCTGCACTGCCCTCACT TGCCTCATGTACCCCCCACCTCAAAGGAAGATGCAGAAAGGAGTCCAGCC CCTACACCGCCACCTGCCCCCACCACTGGAGCCCCTCAGGTCTCCCACCT CCTTTTCTGAGCTTCAGTCTTCCTGTGGCATTGCCTACCTCTACAGCTGC CCCCTACTAGGCCCTCCCCCTGGGGCTGAGCTCCAGGCACTGGACTGGGA AAGTTAGAGGTTAAAGCATGGAAAATTCCCAAAGCCACCAGTTCCAGGCT GCCCCCCACCCCACCGCCACGTCCAAAAAGGGGCATCTTCCCAGATCTCT GGCTGGTATTGGTAGGACCCAGGACATAGTCTTTATACCAATTCTGCTGT GTGTCTTAGGAAAGAaactctcccctctgtgcttcagtttcctcatcaa taaaAGGAGCAGGCCAGGTTGGAGGGTCTGTGACGTCTGCTGAAGCAGCA GGATTCTCTCTCCTTTTGCTGGAGGAGAACTGATCCTTCACCCCCAGGAT CAACAGAGAAGCCAAGGTCTTCAGCCTTCCTGGGGACCCCTCAGAGGGAA CTCAGGGCCACAGAGCCAGACCCTGATGCCAGAACCTTTGTCATATGCCC AGACGGAGACTTCATCCCCCTCCTCCTCAGACCCTCCAGGCCCCAACAGT GAGATGCTGAAGATATTAAGAGAAGGGCAAGTCAGcTTAAGTTTGGGGGT AGAGGGGAACAGGGAGTGAGGAGATCTGGCCTGAGAGATAGGAGCCCTGG TGGCCACAGGAGGACTCTTTGGGTCCTGTCGGATGGACACAGGGCGGCCC GGGGGCATGTTGGAGCCCGGCTGGTTCTTACCAGAGGCAGGGGGCACCCT CTGACACGGGAGCAGGGCATGTTCCATACATGACACACCCCTCTGCTCCA GGGCAGGTGGGTGGCGGCACAGAGGAGCCAGGGACTCTGAGCAAGGGGTC CACCAGTGGGGCAGTTGGATCCAGACTTCTCTGGGCCAGCGAGAGTCTAG CCCTCAGCCGTTCTCTGTCCAGGAGGGGGGTGGGGCAGGCCTGGGCGGCC AGAGCTCATCCCTCAAGGGTTCCCAGGGTCCTGCCAGACCCAGATTTCCG ACCGCAGCCACCACAAGAGGATGTGGTCTGCTGTGGCAGCTGCCAAGACC TTGCAGCAGGTGCAGGGTGGGGGGGTGGGGGCACCTGGGGGCAGCTGGGG TCACTGAGTTCAGGGAAAACCCCTTTTTTCCCCTAAACCTGGGGCCATCC CTAGGGGAAACCACAACTTCTGAGCCCTGGGCAGTGGCTGCTGGGAGGGA AGAGCTTCATCCTGGACCCTGGGGGGGAACCCAGCTCCAAAGGTGCAAGG GGCCCAGGTCCAAGGCTAGAGTGGGCCAAGCACCGCAATGGCCAGGGAGT GGGGGAGGTGGAGCTGGACTGGATCAGGGCCTCCTTGGGACTCCCTACAC

【０１３０】

【化２５】

	CCTGTGTGACATGTTAGGGTACCCACACCCCATCACCAGTCAGGGCCTGG CCCATCTCCAGGGCCAGGGATGTGCATGTAAGTGTGTGTGAGTGTGTGTG TGTGGTGTAGTACACCCCTTGGCATCCGGTTCCGAGGCCTTGGGTTCCTC CAAAGTTGCTCTCTGAATTAGGTCAAACTGTGAGGTCCTGATCGCCATCA TCAACTTCGTTCTCCCCACCTCCCATCATTATCAAGAGCTGGGGAGGGTC TGGGATTTCTTCCCACCCACAAGCCAAAAGATAAGCCTGCTGGTGATGGC AGAAGACACAGGATCCTGGGTCAGAGACAAAGGCCAGTGTGTCACAGCGA GAGAGGCAGCCGGACTATCAGCTGTCACAGAGAGGCCTTAGTCCGCTGAA CTCAGGCCCCAGTGACTCCTGTTCCACTGGGCACTGGCCCCCCTCCACAG CGCCCCCAGGCCCCAGGGAGAGGCGTCACAGCTTAGAGATGGCCCTGCTG AACAGGGAACAAGAACAGGTGTGCCCCATCCAGCGCCCCAGGGGTGGGAC AGGTGGGCTGGATTTGGTGTGAAGCCCTTGAGCCCTGgAACCCAAcCACA GCAgGGCAGTTGGTAGATGCCATTTGGGGAGAGGCCCCAGGAGTAAGGGC CATGGGCCCTTGAGGGGCCAGGAGCTGAGGACAGGGACAGAGACGGCCC AGGCAGAGGACAGGGCCATGAGGGGTGCACTGAGATGGCCACTGCCAGCA GGGGCAGCTGCCAACCCGTCCAGGGAACTTATTCAGCAGTCAGCTGGAGG TGCCATTGACCCTGAGGGCAGATGAAGCCCAGGCCAGGCTAGGTGGGCTG TGAAGACCCCAGGGGACAGAGCTCTGTCCCTGGGCAGCACTGGCCTCTCA TTCTGCAGGGCTTGACGGGATCCCAAGGCCTGCTGCCCCTGATGGTAGTG GCAGTACCGCCCAGAGCAGGACCCCAGCATGGAAACCCCAACGGGACGCA GCCTGCGGAGCCCACAAAACCAGTAAGGAGCCGAAGCAGTCATGGCACGG GGAGTGTGGACTTCCCTTTGATGGGGCCCAGGCATGAAGGACAGAATGGG ACAGCGGCCATGAGCAGAAAATCAGCCGGAGGGGATGGGCCTAGGCAGAC GCTGGCTTTATTTGAAGTGTTGGCATTTTGTCTGGTGTGTATTGTTGGTA TTGATTTTATTTTAGTATGTCAGTGACATACTGACATATTATGTAACGAC ATATTATTATGTGTTTTAAGAAGCACTCCAAGGGAACAGGCTGTCTGTAA TGTGTCCAGAGAAGAGAGCAAGAGCTTGGCTCAGTCTCCCCCAAGGAGGT CAGTTCCTCAACAGGGGTCCTAAATGTTTCCTGGAGCCAGGCCTGAATCA AGGGGgTCATATCTACACGTGGGGCAGACCCATGGACCATTTTCGGAGCA ATAAGATGGCAGGGAGGATACCAAGCTGGTCTTACAGATCCAGGGCTTTG ACCTGTGACGCGGGCGCTCCTCCAGGCAAAGGGAGAAGCCAGCAGGAAGC TTTCAGAACTGGGGAGAACAGGGTGCAGACCTCCAGGGTCTTGTACAACG CACCCTTTATCCTGGGGTCCAGGAGGGGTCACTGAGGGATTTAAGTGGGG GACCATCAGAACCAGGTTTGTGTTTTGGAAAAATGGCTCCAAAGCAGAGA CCAGTGTGAGGCCAGATTAGATGATGAAGAAGAGGCAGTGGAAAGTCGAT GGGTGGCCAGGTAGCAAGAGGGCCTATGGAGTTGGCAAGTGAATTTAAAG TGGTGGCACCAGAGGGCAGATGGGGAGGAGCAGGCACTGTCATGGACTGT CTATAGAAATCTAAAATGTATACCCTTTTTAGCAATATGCAGTGAGTCAT AAAAGAACACATATATATTTAAATTGTGTAATTCCACTTCTAAGGATTCA TCCCAAGGGGGGAAAATAATCAAAGATGTAACCAAAGGTTTACAAACAAG AACTCATCATTAATCTTCCTTGTTGTTATTTCAACGATATTATTATTATT ACTATTATTATTATTATTATTttgtcttttgcattttctagggccactc ccacggcatagagaggttcccaggctaggggtcaaatcggagctacagct gccggcctacgccagagccacagcaacgcaggatctgagccacagcaatg caggatctacaccacagctcatggtaacgctggatccttaacccaatgag tgaggccagggatcgaacctgtaacttcatggttcctagtcggattcatt aaccactgagccacgacaggaactccAACATTATTAATGATGGGAGAAAA CTGGAAGTAACCTAAATATCCAGCAGAAAGGGTGTGGCCAAATACAGCAT GGAGTAGCCATCATAAGGAATCTTACACAAGCCTCCAAAATTGTGTTTCT GAAATTGGGTTTAAAGTACGTTTGCATTTTAAAAAGCCTGCCAGAAAATA CAGAAAAATGTCTGTGATATGTCTCTGGCTGATAGGATTTTGCTTAGTTT TAATTTTGGCTTTATAATTTTCTATAGTTATGAAAATGTTCACAAGAAGA TATATTTCATTTTAGCTTCTAAAATAATTATAACACAGAAGTAATTTGTG CTTTAAAAAAATATTCAACACAGAAGTATATAAAGTAAAAATTGaggagt tcccatcgtggctcagtgattaacaaacccaactagtatccatgaggata tggatttgatccctggcctlgctcagtgggttgaggatccagtgttgctg

【０１３１】

【化２６】

	tgagctgtggtgtaggttgcagacacagcactctggcgttgctgtgactc tggcgtaggccggcagctacagctccatttggaccecttagcctgggaacc tccatatgcctgagatacggcccTAAAAAGTCAAAAGCCAAAAAAAATAGT AAAAATTGAGTGTTTCTACTTACCACCCCTGCCCACATCTTATGCTAAAA CCCGTTCTCCAGAGACAAACATCGTCAGGTGGGTCTATATATTTCCAGCC CTCCTCCTGTGTGTGTATGTCCGTAAAACACACACACACACACACACG CACACACACACACACGTATCTAATTAGCATTGGTATTAGTTTTTCAAAAG GGAGGTCATGCTCTACCTTTTAGGCGGCAAATAGATTATTTAAACAAATC TGTTGACATTTTCTATATCAACCCATAAGATCTCCCATGTTCTTGGAAAG GCTTTGTAAGACATCAACATCTGGGTAAACCAGCATGGTTTTTAGGGGGT TGTGTGGATTTTTTTCATATTTTTTAGGGCACACCTGCAgcatatggagg ttcccaggctagggttgaatcagagctgtagctgccggcctacaccaca gccacagcaacgccagatccttaacccactgagaaaggccagggattgaa cctgcatcctcatggATGCTGGTCAGATTTATTTCTGCTGAGCCACAACA GGAACTCCCTGAACCAGAATGCTTTTAACCATTCCACTTTGCATGGACAT TTAGATTGTTTCCATTTAAAAATACAAATTACAaggagttcccgtcgtgg ctcagtggtaacgaattggactaggaaccatgaggtttcgggttcgatcc ctggccttgctcggtgggttaaggatccagcattgatgtgagatatggtg taggtcgcagacgtggctcggatcccacgttgctgtggctctggcgtagg ccggcaacaacagctccgattcgacccctagccTGggaacctccatgtgc cacaggagcagccctaGAAAAGGCAAAAAGACAAAAAAATAAAAAATTAA AATGAAAAAATAAAATAAAAATACAAATTACAAGAGACGGCTACAAGGAA ATCCCCAAGTGTGTGCAAATGCCATATATGTATAAAATGTACTAGTGTCT CCTCGCGGGAAAGTTGCCTAAAAGTGGGTTGGCTGGACAGAGAGGACAGG CTTTGACATTCTCATAGGTAGTAGCAATGGGCTTCTCAAAATGCTGTTCC AGTTTACACTCACCATAGCAAATGACAGTGCCTCTTCCTCTCCACCCTTG CCAATAATGTGACAGGTGGATCTTTTTCTATTTTGTGTATCTGACAAGCA AAAAATGAGAACAggagttcctgtcgtggtgcagtggagacaaatctgac taggaaccatgaaatttcgggttcaatccctggcctcactcagtaggtaa aggatccagggttgcagtgagctgtggggtaggtcgcagacacagtgcaa atttggccctgttgtggctgtggtgtaggccggcagctatagctccaatt ggacccctagcctgggaacctccttatgccgtgggtgaggccctAAAAAA AAGAGTGCAAAAAAAAAAAAATAAGAACAAAAATGATCATCGTTTAATTCT TTATTTGATCATTGGTGAAACTTATTTTCCTTTTATATTTTTATTGACTG ATTTTATTTCTCCTATGAATTTACCGGTCATAGTTTTGCCTGGGTGTTTT TACTCCGGTTTTAGTTTTGGTTGGTTGTATTTTCTTAGAGAGCTATAGAA ACTCTTCATCTATTTGGAATAGTAATTCCTCATTAAGTATTTGTGCTGCA AAAAATTTTCCCTGATCTGTTTTATGCTTTTGTTTGTGGGGTCTTTCACG AGAAAGCCTTTTTAGTTTTTACACCTCAGCTTGGTTGTTTTTCTTGATTG TGTCTGTAATCTGCGGCCAACATAGGAAACACATTTTTACTTTAGTGTTT TTTTCCTATTTTCTTCAAGTACGTCCATTGTTTTGGTGTCTGATTTTACT TTGCCTGGGGTTTGTTTTTGTGTGGCAGGAATATAAACTTATGTATTTTC CAAATGGAGAGCCAATGGTTGTATATTTGTTGAATTCAAATGCAACTTTA TCAAACACCAAATCATCGATTTATCACAACTCTTCTCTGGTTTATTGATC TAATGATCAATTCCTGTTCCACGCTGTTTTAATTATTTTAGCTTTGTGGA TTTTGGTGCCTGGTAGAGAACAAAGCCTCCATTATTTTCATTCAAAATAG TCCCGTCTATTATCTGCCATTGTTGTAGTATTAGACTTTAAAATCAATTT ACTGATTTTCAAAAGTTATTCCTTTGGTGATGTGGAATACTTTATACTTC ATAAGGTACATGGATTCATTTGTGGGGAATTGATGTCTTTGCTATTGTGG CCATTTGTCAAGTTGTGTAATATTTTACCCATGCCAACTTTGCATATTGT ATGTGAGTTTATTCCCAGGGTTTTTAATAGGATGTTTATTGAAGTTGTCA GTGTTTCCACAATTTCATCGCCTCAGTGCTTACTGTTTGCATAAAAGGAA ACCTACTCACTTTTGCCTATTGCTCTTGTATTCAATCATTTTAGTTAACT CTTGTGTTAATTTTGAGAGTTTTTCAGCTGACTGTCTGGGGTTTTCTTTA ATAGACTAGCCCTTTGTCTGTAAAGAATAATTTTATCGAATTTTTCTTAA CACTCACACTCTCCCCACCCCCACCCCCGCTCATCTCCTTTCATTGGGTC

【０１３２】

【化２７】

	AAATCTGTAGAATACAATAAAAGTAAGAGTGGGAACCTTAGCCTTTAAGT CGATTTTGCCTTTAAATGTGAATGTTGCTATGTTTCGGGACATTCTCTTT ATCAAGTTGCGGATGTTTCCTTAGATAATTAACTTAATAAAAGACTGGAT GTTTGCTTTCTTCAAATCAGAATTGTGTTGAATTTATATTGCTATTCTGT TTAATTTTGTTTCAAAAAATTTACATGCACACCTTAAAGATAACCATGAC CAAATAGTCCTCCTGCTGAGAGAAAATGTTGGCCCCAATGCCACAGGTTA CCTCCCGACTCAGATAAACTACAATGGGAGATAAAATCAGATTTGGCAAA GCCTGTGGATTCTTGCCATAACTCTCAGAGCATGACTTGGGTGTTTTTTC CTTTTCTAAGTATTTTAATGGTATTTTTGTGTTACAATAGGAAATCTAGG ACACAGAGAGTGATTCAATGAGGGGAACGCATTCTGGGATGACTCTAGGC CTCTGGTTTGGGGAGAGCTCTATTGAAGTAAAGACAATGAGAGGAAGCAA GTTTGCAGGGAACTGTGAGGAATTTAGATGGGGAATGTTGGGTTTGAGGT TTCTATAGGGCACGCAAGCAGAGATGCACTCAGGAGGAAGAAGGAGCATA AATCTAGAGGCAAAAAGAGAGGTCAGGACTGGAAATAGAGATGCGAGACA CCAGGGTGGCAGTCAGAGAGCACAGTGTGGGTCAGAAGACAGTGGAAGAA CACAAGGGACAGAGAGGGATCTCCAACTTCACTGGGATGAGGGCCTTGTT GGCCTTGACCTGAGAGATTTCCAGGAGTTGAGGGTGGGAAGGAGAGGGCT CCTGCACATGTCCTGACATGAAACGGTGCCCAGCATATGGGTGCTTGGAA GACATTGTTGGACAGATGGATGGATGATGGATGATGGATGAATGGATGGA TGGAAGATGATGGATAAATGGATGATGGATGGATGGACAGAAGGACAAAG AGATGGACAGAAAGACAGTGATCTGAGAGAGCAGAGAAGGCTTCATGAAA GGACAGGAACTGAACTGTCTCAGTGGGTGGAGACAATGGTGTAGGGGGTT TCCACATGGAGGCACCAGGGGTCAGGAATAATCTAGTGTCCACAGGCCCA GGAAGGAAGCTGTCTGCAGGAAATTGTGGGGAAGAACCTCAGAGTCCTTA AATGAGGTCAGGAGTGGTCAGGAGGGTCTGATCAGGTAAGGACTCATGTC CATCATCACATGGTCACCTAAGGGCATGTAGCTCTCAGCATCTCCATCAG GACAGTCTCAGAATGGGGGCGGGGTCACACACTGGGTGACTCAAGGCGTG GGTCATGCCTGCCTCGGACGTGGGCCTGGGCATGGGGACACCTCCAGACC ATGGGCCCGCCCAGGGCTGCACTGGcctctggtgggctagctacccgtcc aagcaacacaggacacagcctacctgctgcaaccctgtgcccgaaacgc ccatctggttcctgctccagcccggccccagggaacaggactcaggtgct agcccaatggggttttgttcgagcctcagtcagcgtggTATTTCTCCGGC AGCGAGACTCAGTTCACCGCCTTAGGttaagtggttctcatgaatttcct agcagtcctgcactctgctatgccgggaaagtcacttttgtcgctgtgggg ctgtttcccctgtgcccttggagaatcaaggattgcccaactttctctgtg ggggaggtggctggtcttggggtgaccagcaggaagggccccaaaagcag gagcagctgcctccagAATACAACTGTCGGCTACAGCTCAAACAGGAGGC CTGGACTGGGGTTTAACCACCAGGGCGGCACGAAGGAGCGAGGCTGGGAG GGTGAGGACATGGGAGCCTGAGGAGGAGCTGGAGACTTCAGCAGGCCCCC AGCTCCGGGCTTCGGGCTCTGAGATGCTCGGACGCAAGGTGAGTGACCCC ACCTGTGGCTGACCTGACCTCAGGGGGACAAGGCTCAGCCTGAGACTCTG TGTCCCCATCGCCTGCACAGgggattcccctgatggacactgagccaacg acctcccgtctctcccccgaccccccaggtcagcccaaggccgcccccacgg tcaacctcttcccgccctcctctgaggagctcggcaccaacaaggccacc ctggtgtgtctaataagtgacttctacccgAAGGGCGAATTCCAGCACAC TGGCGGCCGTTACTAGTGGATCCGAGCTCGGTACCAAGCTTGATGCATAG CTTGAGTATCTA

配列番号３３	agatctttaaaccaccgagcaaggccagggatcgaacccgcatcctcatg aatcctagttgggttcgttaaccgctgaaccacaatgggaactcctGTCT TTCACATTTAATTCACAACCTCTCCAGGATTCTGGGGGTGGGTGGGGAAT CCTAGGTACCCACTGGGAAAGTAATCCAAGGGGAGAGGCTCACGGACTcT AGGGATCGGCGGAGGAGGGAAGGTATCTCCCAGGAAACTGGCCAGGACAC ATTGGTCCTCCGCCCTCCCCTTCCTCCCACTCCTCCTCCAGACAGGACTG

【０１３３】

【化２８】

	TGCCCACCCCCTGCCACCTTTCTGGCCAGAACTGTCCATGGCAGGTGACC TTCACATGAGCCCTTCCTCCCTGCCTGCCCTAGTGGGACCCTCCATACCT CCCCCTGGACCCCGTTGTCCTTTCTTTCCAGTGTGGCCCTGAGCATAACT GATGCCATCATGGGCTGCTGACCCACCCGGGACTGTGTTGTGCAGTGAGT CACTTCTCTGTCATCAGGGCTTTGTAATTGATAGATAGTGTTTCATCATC ATTAGGACCGGGTGGCCTCTATGCTCTGTTAGTCTCCAAACACTGATGAA AACCTTCGTTGGCATAGTCCCAGCTTCCTGTTGCCCATCCATAAATCTTG ACTTAGGGATGCACATCCTGTCTCCAAGCAACCACCCCTCCCCTAGGCTA ACTATAAAACTGTCCCAATGGCCCTTGTGTGGTGCAGAGTTCATGCTTCC AGATCATTTCTCTGCTAGATCCATATCTCACCTTGTAAGTCATCCTATAA TAAACTGATCCATTGATTATTTGCTTCTGTTTTTTCCATCTCAAAACAGC TTCTCAGTTCAGTTCGAATTTTTTATTCCCTCCATCCACCCATACTTTCC TCAGCCTGGGGAACCCTTGCCCCCAGTCCCATGCCCTTCCTCCCTCTCTG CCCAGCTCAGCACCTGCCCACCCTCACCCTTCCTGTCACTCCCTAGGACT GGACCATCCACTGGGGCCAGGACACTCCAGCAGCCTTGGCTTCATGGGCT CTGAAATCCATGGCCCATCTCTATTCCTCACTGGATGGCAGGTTCAGAGA TGTGAAAGGTCTAGGAGGAAGCCAGGAAGGAAACTGTTGCATGAAAGGCC GGCCTGATGGTTCAGTACTTAAATAATATGAGCTCTGAGCTCCCCAGGAA CCAAAGCATGGAGGGAGTATGTGCCTCAGAATCTCTCTGAGATTCAGCAA AGCCTTTGCTAGAGGGAAAATAGTGGCTCAACCTTGAGGGCCAGCATCTT GCACCACAGTTAAAAGTGGGTATTTGTTTTACCTGAGGCCTCAGCATTAT GGGAACCGGGCTCTGACACAAACACAGGTGCAGCCCGGCAGCCTCAGAAC ACAGCAACGACCACAAGCTGGGACAGCTGCCCCTGAACGGGGAGTCCACC ATGCTTCTGTCTCGGGTACCACCAGGTCACCATCCCTGGGGGGAGGTAGTT CCATAGCAGTAGTCCCCTGATTTCGCCCCTCGGGCGTGTAGCCAGGCAAG CTCCTGCCTCTGGACCCAGGGTGGACCCTTGCTCCCCACTACCCTGCACA TGCCAGACAGTCAAGACCACTCCCACCTCTGTCTGAGGCCCCCTTGGGTG TCCCAGGGCCCCCGAGCTGTCCTCTACTCATGGTTCTTCCACCTGGGTAC AAAAGAGGCGAGGGACACTTTTCTCAGGTTTGCGGCTCAGAAAGGTACCT TCCTAGGGTTTGTCCACTGGGAGTCACCTCCCTTGCATCTCAATGTCAGT GGGGAAAACTGGGTCCCATGGGGGGATTAGTGCCACTGTGAGGCCCCTGA AGTCTGGGGCCTCTAGACACTATGATGATGAGGGATGTGGTGAAAAACCC CACCCCAGCCCTTCTTGCCGGGACCCTGGGCTGTGGCTCCCCCATTGCAC TTGGGGTCAGAGGGGTGGATGGTGGCTATGGTCAGGCATGTTTCCCATGA GCTGGGGGCACCCTGGGTGACTTTCTCCTGTGAATCCTGAATTAGCAGCT ATAACAAATTGCCCAAACTCTTAGGCTTAAAACAACACACATTTATTCCT CTGGGTCCCAGGGTCAGAAGTCCAAAATGAGTCCTATAGGCTAAATTTGA GGTGTCTCTGGGTTGAGCTCCTCCTGGAAGCCTTTTCCAGCCTCTAGAGT CCCAAGTCCTTGGCTCTGGGCCCCTCCCTCAAGCTTCAAAGCCACAGAAG CTTCTAATCTCTCTCCCTTCCCCTCTGACCTCTGCTCCCATCCTCATACC CTGTCCCCTCACTCTGACCCTCCTGCCTCCCTCTTTCCCTTATAAAGACC CTGCATGGGGCCACGGAGATAATCCAGGGTAATCGCCCCTCTTCCAGCCC TTAACTCCATCCCATCTGCAAAATCCCTGTCACCCCATAATGGACCTACT GATGGTCTGGGGGTTAGGACGTGGACAACTTGGGGCCTTATTCATCTGAT CACAACTCCAGTTCCCAGACCCCCAGACCCCCGGGCATTAGGGAAACTTC TCCCAGTTCCTCTCCCTCTGTGTCCTGCCCAGTCTCCAGGATGGGCCACT CCCGAGGGCCCTTCAGCTCAGGCTCCCCCTCCTTTCTCCCTGGCCTCTTG TGGCCCCATCTCCTCCTCCGCTCACAGGGAGAGAACTTTGATTTCAGCTT TGGCTCTGGGGCTTTGCTTCCTTCTGGCCATTGGCTGAAGGGCGGGTTTC TCCAGGTCTTACCTGTCAGTCATCAAACCGCCCTTGGAGGAAGACCCTAA TATGATCCTTACCCTACAGATGGAGACTCGAGGCCCAGAGATCCTGAGTG ACCTGCTCACATTCACAGCAGGGACTGAACCCCAGTCACCTACCCAACTC CAGGGCTCAGCGCTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTTTgccttttcgagggcc gctcccgcaacatatggagatttccaggctaggggtctaattggagcagt cgacactggcctaagccaaagccacagcaacaagggcaagccgcttctgc agcctataccacagctcacggcaatgccggatccttaacccactgagcaa

【０１３４】

【化２９】

	agccagggattgaacctgcaacctcatgtttcctagtcaaatttgttaac cactgacccatgacgggaactcccAGGGCTCAGCTCTTGACTCCAGGTTC GCAGCTGCCCTCAAAGCAATGCAACCCTGGCTGGCCCCGCCTCATGCATC CGGCCTCCTCCCCAAAGAGCTCTGAGCCCACCTGGGCCTAGGTCCTCCTC CCTGGGACTCATGGCCTAAGGGTACAGAGTTACTGGGGCTGATGAAGGGA CCAATGGGGACAGGGGCCTCAAATCAAAGTGGCTGTCTCTCTCATGTCCC TTCCTCTCCTCAGGGTCCAAAATCAGGGTCAGGGCCCCAGGGCAGGGGCT GAGAGGGCCTCTTTCTGAAGGCCCTGTCTCAGTGCAGGTTATGGGGGTCT GGGGGAGGGTCAATGCAGGGCTCACCCTTCAGTGCCCCAAAGCCTAGAGA GTGAGTGCCTGCCAGTGGCTTCCCAGGCCCAATCCCTTGACTGCCTGGGA ATGCTCAAATGCAGGAACTGTCACAACACCTTCAGTCAGGGGCTGCTCTG GGAGGAAAAACACTCAGAATTGGGGGTTCAGGGAAGGCCCAGTGCCAAGC ATAGCAGGAGCTCAGGTGGCTGCAGATGGTGTGAACCCCAGGAGCAGGAT GGCCGGCACTCCCCCCAGACCCTCCAGAGCCCCAGGTTGGCTGCCCTCTT CACTGCCGACACCCCTGGGTCCACTTCTGCCCTTTCCCACCTAAAACCTT TAGGGCTCCCACTTTCTCCCAAATGTGAGACATCACCACGGCTCCCAGGG AGTGTCCAGAAGGGCATCTGGCTGAGAGGTCCTGACATCTGGGAGCCTCA GGCCCCACAATGGACAGACGCCCTGCCAGGATGCTGCTGCAGGGCTGTTA GCTAGGCGGGGTGGAGATGGGGTACTTTGCCTCTCAGAGGCCCCGGCCCC ACCATGAAACCTCAGTGACACCCCATTTCCCTGAGTTCACATACCTGTAT CCTACTCCAGTCACCTTCCCCACGAACCCCTGGGAGCCCAGGATGATGCT GGGGCTGGAGCCACGACCAGCCCACGAGTGATCCAGCTCTGCCAATCAGC AGTCATTTCCCAAGTGTTCCAGCCCTGCCAGGTCCCACTACAGCAGTAAT GGAGGCCCCAGACACCAGTCCAGCAGTTAGAGGGCTGGACTAGCACCAGC TTTCAAGCCTCAGCATCTCAAGGTGAATGGCCAGTGCCCCTCCCCGTGGC CATCACAGGATCGCAGATATGACCCTAGGGGAAGAAATATCCTGGGAGTA AGGAAGTGCCCATACTCAAGGATGGCCCCTCTGTGACCTAACCTGTCCCT GAGGATTGTACTTCCAGGCGTTAAAACAGTAGAACGCCTGCCTGTGAACC CCCGCCAAGGGACTGCTTGGGGAGGCCCCCTAAACCAGAACACAGGCACT CCAGCAGGACCTCTGAACTCTGACCACCCTCAGCAAGTGGCACCCCCCGC AGCTTCCAAGGCAC

配列番号３４	AACAAGATGCTACCCCACCAACAAAATTCACCGGAGAAGACAAGGACAGG GGGTTCCTGGGGTCCTGACAGGGTCACCAAAGAGGGTTCTGGGGCAGCAG CAACTCCAGCCGCCTCAGAACAGAGCCTGGAAGCTGTACCCTCAGAGCAG AGGCGGAGAGAGAAAGGGCCTCTTGGTGGGTCAGCAGGAGCAGAGGCTCA GAGGTGGGGGTTGCAGCCCCCCCTTCAACAGGCCAACACAGTGAAGCAGC TGACCCCTCCACCTTGGAGACCCCAGACTCCTGTCTCCCACGCCACCTTG GTTTTTAAGGTAATTTTTATTTTATATCAGAGTATGGTTGACTTACAATG TTGTGTTGGTTTCAGGTGTACAGCAGAGTGATTCACTTCTACATAGACTC ATATCTATTCTTTCTCAGATTCTTTTCCCATATAGGTTATTACAGAATAT TGAGTAGATCCCTGCTGATTACCCATTTTTATAATTGTATATGTTAATCC CAAACTCCTAATTTATCCCTCCCCAGACTATGATTCTTTATATCTCTATC TGTTTCCTAATCTGTCTCCTCTAAGTCACCCTAGGAGAGCAGAGGGGTCA CGTCTGTCCTGTCCTGGCCCAGCCACCTCTCTCCACCCAGGAATCCCTTG CATTTGGTGCCAAGGGCCCGGCCCCGCCCTAAAGAGAAAGGAGAACGGGA TGTGGACAGGACACCGGGCAGAGAGGGACAAGCAGAGGATGCCAGGGTAG GGAGGTCTCCAGGGTGGATGGTGGTCTGTCCGCAGGCAGGATGAGGCAGG AAGGGTGTGGATGTACTCGGTGAGGCTGGCGCATGGCCTGGAGTGTCCTG AGCCCTGGGAGGCCTCAGCCCTGGATCAGATCTGTGATTCCAAAGGGCCA CTGCATCCAGAGACCGTTGAGTGGCCCATTGTCCTGAACCATTTATAGAA CACAGGACAAGCGGTACCTGACTAAGCTGCTCACAGATTCCATGAGGCTG ATGCCAGGGTTGTCACCCCATCTCACAGGCAGGGAAACTGATGCATATAC TGCAGAGCCAGGCAGAGGCCCTCCCAGTGCCCCCTCCCAGCCTGTGGCCC

【０１３５】

【化３０】

	CCCTCCAGTGGCTGGACACTGAGGCCACACTGGGGCACCCTGTGGAGATC t

配列番号３５	AGATCTGGCCAGGCCAGAGAAGCCCATGTGGTGACCTCCCTCCATCACTC CACGCCCTGACCTGCCAGGGAGCAGAAAGTAGGCCCAGGGTGGACCCGGT GGCCACCTGCCACCCCATGGCTGGGAGAAGGGAGGGCCTGGGCAAAGGGC CTGGGAAGCCTGTGGTGGGACCCCAGACCCCAGGGTGGACAGGGAGGGTC CCACACCCACAGCCATTTGCTTCCCTCTGTGGGTTCAGTGTCCTCATCTC ATCTGTGGGGAGGGGGCTGATAATGAATCTCCCCCATTGGGGTGGGCTTG GGGATTAAAGGGCCAGTGTCTGTGATATGCCTGGACCATAGTGACCCTCA CCCTCCCCAGCCATTGCTGTCACCTTCCGGGCTCTTGCCCAGGCCTGCCT GACATGCTGTGTGACCCTGGGCAAGATGATCCCCCTTTCTGGGCCCCAGC CTTCCTCTCTGCTCCGGAAGTGCTTCCTGGGGAAACCTGTGGGCTGGATC CTATAGGAAACCTGTCCAATTCCTGGATGCACAGAGGGGCAGGGAGGCCC TGGGCCTGGAGGGGCAGGGAGGCTCGAGGTGGGAGCAGGGTAGGGGCCAG TCCAGGGCAAGGAGGTGGGTGGGTAGGGTG

配列番号３６	GATCTGTGTTCCATCTCAGAGCTATCTTAGCAGAGAGGTGCAGGGGCCTC CAGGGCCACCAAAGTCCAGGCTCAGCCAGAGGCAATGGGGTATCGATGAG CTACAGGACACAGGCGTCAGCCCAGTGTCAGGGAGAATCACCTTGTTTGT TTTCTGAGTTCCTCTTAAAATAGAGTTAATTGGTCTTGGCCTTACGGTTT ACAATAACAACTGCACCCTGTAAACAACGTGAAGAGTACAGAACAACAAA TGGGGGAAAACATATTTCACCTGAAAGAGCCACCGCTCATATTTTGATGG ATTTCCTTCTAGTTTAATCCTGTTTTAATTGTAAACTGTTAAAACAAACA TAAATAAAGAAAATGCATCTGTAAAGTTTAAAAGTCATATCTATGGTGAT GGTTGCAAAACACTGTGAATGTTCACTTTGAAATCGTGAACTCTACGTGA TATGCATGTCCCGTTAATTAACCTCACAGGCTCAGAATGTGGTTCATTAT TTCTTTAATTTTCCTTTAATTTTATGTCCTCTGTGTGTGCCCTTAAACCA ACTACTTTTCAGCTCTGCCTGTTTTTGACCTTCACATAGATGACATTTGT GAGTGTTTTCTTTCTCAACACTGGGTCTGATACCCACCCACGCTGTCTGC TGTCACTGCGGACGTGGAGGGCCACCACCCAGCTATGGCCCCAGCCAGGC CAACACTGGATGAATCTGCCCCCAGAGCAGGGCCACCAACACTGGAGGTG CAGAGAGGGTTTCTTCAGGGCCATCATTATCCAAGGCATTGTTTCTACTG TAAGCTTTCAAAATGCTTCCCCTGATTATTAAAAGAAATAATAAGATGGG GGGAAAGTACAAGAAGGGAAGTTTCCAGCCCAGCCTGAAGATCGTGCTGG TTGTATCTGGAGCCTGTCTTCCTGACAGGCCTCTATTCCCAGAGTTA

配列番号３７	GGATCCTAGGGAAGGGAGGGCGGGGGCCTGGACAAAGGGGGCCTAAAGGA CATTCTCACCTATCCCACTGGACCcctgctgtgctctgagggagggagca gagaggggtctgaggcctttteccagCTCCTCTGAGTCCCTCCTCCGAG CACCTGGACGGAAGCCCCTCCTCAGGGAGTCCTCAGACCCCTCCCCTCCA GCCAGGTTGGCCTGTGTGGAGTCCCCAGTAAGAATAGAATGCTCAGGGCT TCGAGCTGAGCCCTGGCTACTTGGGGGGGTGCTGGGGATTGGGGGTGCTG GGCGGGGAGCTGGGGTGTCACTAGATGCCAGTAGGCTGTGGGCTCGGGTC TGGGGGGTCTGCACATGTGCAGCTGTGGGAAGGCCCTATTGGTGGTACCC TCAGACACATATGGCCCCTCAATTTCTGAGACCAGAGACCCCAGTCTGGC CTTCCCAGAACAGCTGCCCCTGGTGGGGGAGATGTAGGGGGGCCTTCAGC CCAGGACCCCCAACGGCAGGGCCTGAGGCCCCCATCCCCTTGTCCTGGGC CCAGAGCCTCAGCTATCAGGCCTATCAGAGATCCTGGCTGCCCAGCTCAG GTTCCCCAGGAGCCAGAGGGAGGCCAGGGGTTACTAGGAAATCCGGAAAG

【０１３６】

【化３１】

	GGTCTTTGAGGCTGGGCCCCACCCTCTCAGCTTTCACAGGAGAAACAGAG GCCCACAGGGGGCAAAGGACTTGCCAGACTCACAATGAGCCCAGCAGCTG GACTCAAGGCCCAGTGTTCGGCCCCACAACAGCACTCACGTGCCCTTGAT CGTGAGGGGCCCCCTCTCAGCCAGGCATTCAGACCTGTGACCTGCATCTA AGATTCAGCATCAGCCATTCTGAGCTGAAGAGCCCTCAGGGTCTGCAGTC AAGGCCACAGGGCCAGACCTCCAACGGCCAGACATCCCAGCCAGATTCCT TTCTGGTCAATGGGCCCCAGTCTGGCTTGGCTCCTGCAGGCCCAGTGCCG CCTTCTTCCCCTGGGCCTGTGGAGTCCAGCCTTTCAGTTTCCCACCCACA TCCTCAGCCACAATCCAGGCTCAGAGGCAATGTCCGTGGGCAGCCCCTGT GTGACCCCTCTGTGGGTGATCCTCAGTCCTACCCTTAGCAGACAGCGCAT GAGGGGCCCTCTTGAACCTGAGGGATACTCCATGTCGGAGGGGAGAAGCT GGCCTTCCCCACCCCCACTTCCAGGCCTTGGGGAGCAGAGAAAGACCCCA GACCTGGGTCCCTTCTAACAGGCCAGGCCCCAGCCCAGCTCTCCACCAGC CCCAGGGGCCTCGGGTCCACGCCTGGGGACTGGAGGGTGGGCCTGTCAGG CGCTGACCCAGAGGCAGGACAGCCAAGTTCAGGATCCCAGCCAGGTGGTC CCCGTGCACCATGCAGGGGTGTCACCCACACAGGGGTGTTGCCACCCTCA CCTGACTGTCCTCATGGGCCACATGGAGGTATCCTGGGTTCATTACTGGT CAACATACCCGTGTCCCTGCAGTGCCCCCTCTGGcgcacgcgtgcacgcg cacacgcacacactcatacaGAGGCTCCAGCCAACAGTGCCCTCTAGTAG GCACTGCTGTCACTTCTCTAAAAGGTCGCAATCATACTTGTAAAGACCCA AGATTGTTCAGAAATCCCAGATGGAGAAGTCTGGAAAGATCTTTTCTCC TTTCACGGGCTGGGGAAATGTGACCTGGCCAAGGTCACACAGCAAGTGGT GGAACCCTGGCCCCTGATTCCAGCTCATTCCAGTTCCCAAGGCCCTGCCA GAGCCCAGAGGCTGGGCCCTCTGGGGCAGAGGAGCTGGGGTCCTCCCCCC TACACAGAGCACACAGCCCCGCAAGAGAGAAGAGACACCTTGGGGAGAGG AATCTCCAGACCAGAGATCCCAGTATGGGTCTCCTCTATGCTGACGGGAT GGGATGTCAAGAGGGGAGGGGGCTGGGCTTTAGGGAAACACACAAAAATC GCTGAGAACACTGACAGGTGCGACACACCCACCCCTAATGCTAACCTGTG GCCCATTACTCAgatct

配列番号３８	GATCTTCTCCTAAGACCAAGGAAAACTGGTCATACCAGGTCCACTTGTCC CCTGTGGCCATTGTCCCTCCTTCCCCAGAAGAAACAAGCACTTTCCACTC CACAAGTAGCTCCTGATCAGCTTGGAAGCCCGGTGCTGCTCTGGGCCCTG GGGACACGGCAGGGGCATCAGAGACCAAATCCTGGAACAAAGTTCCAGTG GGTGAGGCAGGCCGGACAAGCAACACGTTATACCATAATATGAGGCAAAA TATAATGTGAGTTCTTTATGAAAGGAAGGGGTTGCAGGTGCAACTGTTGG CTTAGGTGGATGGTCACCCCTGAATGGAGGAGGGGGTTCCCAGGGCATGT GCCTGGGGAGAAGGGCTCCTGGCAGGAGGGACAGCAAGTGCAAGGGCCCT GTGATCAAATGTGCCTGGCAAGTTGCAGGAACAGCTAGAAGGCCAGCAAG GTTGGAACCAAGGAAGGGGTCAGGGGAGGGGCAGGGCCCTCAGGGCCTTG CCCAGCAGCCTGAGCATCTGGAGATTTGTCCAAAGTTTCAAATGTACCTG GGCAACCTCATGCCCATATACCATTCCTAACTTCTGCACTTAACATCTCT AGGACTGGGACCCAGCCAGTCAAGCGGGGGGACCCAGAGAGCTCCGGTGT GAACACCGAGGTGCTGGTGGGTCTGCGTGTGTGGACATAGGGCAGTCCCG GTCCTTCCTTCACTAACACGGCCCGGGAAGCCCTGTGCCTCCCTGGTGCG CGGGTCGGCGCTTCCGGAGGGTACAGGCCCACCTGGAGCCCGGGCACAGT GCATGCAAGTCGGGTTCACGGCAACCTGAGCTGGCTCTGCAGGGCAGTGG GACTCACAGCCAGGGGTACAGGGCAGACCGGTCCTGCCTCTGCGCCCCTC CCTGGCCTGTGGCCCCTGGACGTGATCCCCAACAGTTAGCATGCCCCGCC GGTGCTGAGAACCTGGACGAGGTCCGCAGGCGTCACTGGGCGGTCACTGA GCCCGCCCCAGGCCCCCTCTGCCCCTTCCTGGGGTGACCGTGGACTCCTG GATGACCCTGGACCCTAGACTTCCCAGGGTGTCTCGCGGAGGTTCCTCAG CCAGGATCTCTGCGTCTCCTCCTTCCATAGAGGGGACGGCGCCCCCTTGT GGCCAAGGAGGGGACGGTGGGTCCCGGAGCTGGGGCGGAGAACACAGGGA

【０１３７】

【化３２】

GCCCCTCCCAGACCCCGCTCTGGGCAGAACCTGGGAAGGGATGTGGCCAT
CGGGGGATCCCTCCAGGCCATCTCCTCAGATGGGGGCTGGTCGACTAGCT
TCTGAGTCCTCCAAGGAACCGGGTCCTTCTAGTCATGACTCTGCCCAGAT
GAAGAAGGAGAGCACTTCTCTCCATCAGGAGGATCTGAGCTTCTCTTAAT
TAGAATCAGCTCCTTGGCTTCTACCCCTTAAAAAAAGGTACAGAAACTTT
GCACCTTGATCCAGTATCAGGGGAATTTATCAATCAATGTGGGAGAAATT
GGCATCTTTACCACACTGAATCTTTCAATCCATGAATATCCTCTCTCTCT
TCCATGCATAGGTTTTAATAATTCTCAATGGAGTTTAATGTAAGTTTTCC
TCATAGACAATTGCCTTTGGACATCTCTTTAGACTCATCTCTAGTAAACT
GATATTCTTAATGCAATTATAAAATGTATCCTGCTTAATGTTATTTTCTA
TTCATTTGCTGTTATATAGAGATACAATGAGTTTCCACATTTGAAACTGG
ATCTGGTAAATTGGCTACCCTTTTTTTATAGATTCTATTAATTTTTATAC
ATTCTGTGGGACTTGCTACATACTTAATCATGTCACCTGTGAAGAATGAC
AATTTGGTTGCTACCCTCCCAATTCTTATATGTCTCATTTCTTTCCCTCT
GCTGGTACTCTGGCAGCAGCAGGGAAGATAATGGGCCTCCTTATCTTGTC
ACAAAAGGATGTTTTTAAAGATTTCGTTATAAAACATAACGCTTTCTGGT
TTTCTTTAAAGATTCTCTCACCAGCTTAAGAAAATTTTCTTATACTCTGT
ATGATAAATGGGTTTTTGACAATCATTTGTTGCATTTTACCTAGTGTTTT
CTCTGCATCTTTATATGCTTTTTCTCCTTTAATCCTGAAAATTGTTTCGA
TTTTTCTAACATTGAACCAATCTTACATTCCTGGAATGGATGGACCAGAC
TAGTCCACATGTTTATTCTGCCCAATGGCTAGATTTTGTGTTCaatattt
tgttcagaatgtttgcatctatattcttGAGTGAGACAGAGCTGCCCTTG
TTAGGTTTCACAACCGAGGTTGTGTTAGCTTCATAAAATGAGACGTTTAT
TCTCTAAAAGAATTGTTTCGCTTCTCTGGATGAATTTGTGTAAGGTTAGA
ATTGCTTACCAGTGAagatctCGGGgCCAGTTCTTCTTTAGGGGAAGATT
TTCAACAATTAAGCTCAATGCCTTTAGAAGAACTGAGAGTTTCTATTATT
TCTTGAGTTAAATATATGTATTTAATTAGACTTTCTAGGAATAGTCTCAT
TTCATCTCAAATAATTGACATATGCTATTAAAGCAGATTCTCATGAACCA
TTGTAGGTATTCCAGGTCTAGAAAAATGTTCCCCTTTGCATCCCTAATGT
GTTTAATTTTCACCTTCTTTCTTTTGTTCTTGAGAAATTCACCAAATCAT
TTTCAATTTCAGTCATATCCCAAAGCAACCAACTCTCTACCTTCTTGTTT
TATCATCCCTGCTGGATTTTTGTTATCTACTTCTTCAGTATTTGTTCTTC
CCTTTCTTCTATTCCTCATTCCATTTTTCCCTTGTTTTCTAACTTTCTGA
GATATATGCTTAGTTCCTTCATTTGAAGCCTTTTTATTTTCTTTTTTTTT
TTTTGGTCTTTTTGTCTTTtGTTGTTGTTGTTGTGCTATTtCTTGGGCCG
CTCCCGCGGCATATGGAGGTTCCCAGGCTAGGAGTCGAATCGGAGCTGTA
GCCACCGGCCTACGCCAGAGCCACAGCAATGCGGGATCCGAGCCGCGTCT
GCAACCTACACCACAGCTCATGGCAACGCCGGATCGTTAACCCACTGAGC
AAGGGCAGGAACCGAACCCGCAACCTCATGGTTCCTAGTCGGATTCGTAA
CCACTGTGCCACAACAGGAACTCCGCCTTTTATTTTCTATAAAAATTTC
TATGTACATTTTAAGGTTATAGGTTTCCTTCTATGTACCCCATTGGCTGT
ATCCTCAGGGTTCTGTGGAGTGATTTCATTATTGTTCAAGTTCAATATGT
CTTCTGATTTTCCAATTTGAATACCTCTCTAAATCAGTAGGTGAATATTT
CTTTTTCTTTTTCTTTTCTTTTCTTCTTTTTTTTTTTCTTTCAGCCAGGT
CCATGGCATGCAGAAATTCCCAGGCCAGGAATCAAACTCTCACCATGGCA
GTGACAATGTCGGATCCTTTACCCACTAGGCCACCAGGGAACTCTGGGAG
CATATGTTTTTATTTCCCGACATCTGAGGATGCCTAGTATGTCTTCATTA
TTGATTTCTAGTTTGCCACTGATTTCTAGTATTTTGCTCATAGAGTGTAT
GCTCAATGGTTTTGGTCATTTGAAATGTATTTAGTCCTGCTTTATGACCC
AGTATGTGGTCAGTTTTGTCAATGTTCCTTTTCTGCTTGAAGAGAACCTA
CATGCTGTAACTCTGGGTGCATGTTCTGTATATAAGTCTATAGGCTGAGC
CGGGGGAGCCTTCTAATCTGCCGTTATCTTCTTCGAGTTATTCTAGGTAC
TATTTCTTAGCCATAAACCTTTAAATTCTGATATCAATATAATGACCCCA
GCCCGCTTAGGGTCGGCACTTCATGTTATCTTTTTCCATCCATTTAATCC
CTCCCCACTGTTTTGGCCACACCCGTGGGATATGGGAGTTCCTGGGCCAA
GGATCaGATCTGAGCCGCAGCTGCCACCTATGCCACAGCAgcagcaatga

【０１３８】

【化３３】

tggatctttaacccactgcaccacactggggattgaacccaagcctcagc
agcaacccaagctactgcagagacaacaccagatccttaacctgctgtgc
catagcgggaaTTTCCATCCATTTACTTTCAAGCCAGCTGAATAACCTAG
CCCACCATGCCTGGACATGGGTGCTCTGCTTCAAATGATTTTGTTCAGTC
AGCATCCATCTCTGAAATGTGTGCCAAGCATTTATATGCATGCAAGAGTC
ATGTTGGCACTTCTATCATTTCCAACAGTTCAGTAGCCTTTGTATCATGA
CATTTCTTGGCCTTTTCTCTACAATATTTGAGGCTGAGCAGACTGGCCGT
GCCCCTGTCCATGCTTCCAGAGCCTGTGTGCAGACTTCTGCTCTAGACAG
AGACAGCTAACCATCCTGCAGTGCCCAGAAAACCCAACTCAAAGACCCTC
AAGTAAGGAAGGATTTATTGGCTCACGTAATCTGGAATCCAGGCATGGGG
TATTCAGGGCCACCTGAACCAGAGGCCCTGGCCCTGTTCTCTAAGCTTCT
TCCTGCCCTGCCCTCGTTCTGGAAGTGACCCTGAAGGACAGCAATGAAGG
GCAGCTCCCCCAGGGACAGATGACTGAGAGGTCCATTTCAAGTCCAACTT
GGCCTAGATTGAGAGGCAGCAAGAAATATGGACCTACAGTGAGTCACAGG
ATTTACCAGTGGTTTGGCTGGGTTGTCAGTGTTACAGGCTAAACATTTGG
GTCCCTCCAAAATTAACATGTTGCCACTCTAACCACCAAAATCatggtat
ttgggggtggggcccttggaggtaattaggtttagaaAGAATGAAGAGGG
GGCCCTTGTGATGGGACTAGTGCCTTTATAGAGAGAGAAGAGAGAGGG

【０１３９】

【化３４】

配列番号３９	CACCTCATCCCCAACCACCTGGATGGTGGCAAGTGGCAGGCTGAGAGGCT GCATATGAGCTCATCAAGAGGGTCCCCACCCCACAGAGGCTGACCCAGCT GCCACTGCCACCTAGTGGCTGATCGGCCAAGAGCAGGAGCCCCAGGGGCA GCTCCATTCCCTGGGGCGGCCAGGGAACCACCTGGTGGTAGGACAATTCC ATTGCACCTCATCCATCAGGAAAAGGTTTGCCTTCCCTGGCAGTAATGCA TCTTCCCATAACATGGTCCCTGGCCTCTTGGAATGGCTTGGCCACCGTCA TGGCCTCACCCACAAAGCCTTGTGTCTCAGCAAGGAACTTATTCCACAGC AAAGGACTTGCAGCCTGGAATGAACTGGTCTGACTACATACCCCATTGCC CAGAAGTAGGTGGTCTATTGCAAAGTGGAGTGGCTTACCCAAGACTCAGT TGTGCCCAAGTTGAGAGATAGCATCCTAAAATATGGGCTTATGTCTCACT GGCTGAGGTTTATTCTTTGAATCAAAGACAATTATATGGTGTGGTCCCCC CAGAGATAGAATACATGAGTCTGGGAATCAAGGGATAGAAGTAAGAAGAG ATTTTGTCACCATTAATCCCAATAACTCGCCCAAAGAATATTTGCTTTCT GTCCTGGCAGCTCTGCTGCTTTGGCAATAACTTCCTAGAATATAATGTCT CCACCAGGGGACTCCACAACGGTTCCATTGATTTGAAGCCAATGGGCAGA GGAGGGGCTGCCTTACTGGTCGGACTGGTCAGCCCTGATTACTAAGGAGA AATCAGGCAACTTCAACAAAACTAAGGCAGGGGGGACTTTGTCTAGAACC CAAAGCACTAAGCATCTTAGTACTTTTTAGTTCTCAGAGCCTCCAAGAAC AAAGATTTAGCCCCTCAGCACCACCAGGTAAAGAACAGGTAAATCCAGCT GAGGACAAGAGAAATATTGAATGGATAGAGGAAGAAAGAAATTATAGATA TCAACTATGGCCTCATGACTAGAGTCTCCAGATTAAGCGGAATAAAAATA CAGATGATTaGATCTGAACATCAGGCCAAACAACGAACAACAGTTTAAGT GCGACCTAGGCAATATTTGGGACATACTTATACTAAAATTTTTTCGCTAT TTGAGCATCCTGTATTTTATCTGGCAACTTTATTCATCCCTAGCGAAAAA GGAACTGTGGTAACTTAGTGTATTTTTACTTTGCTCATTATTGTGTATAT ACCTACTTGTATTTATCAATCATATTTACTCTGTTCTCAGTATTACTTTA TATAGCAGTTGGTGGTGATGGTTAGCAACATATTCAGTGGAACTGTGACT GAATTTGAGGAGAAATTAACAGAGTTGGCTGTGGCTACAATAACCCTTCG GGACATGTGTCCCCTCATTTTGGGGAGATGGTTagatctCTGGGTAAATG TTAGGGCATCTGAGCCAGAAACCAAGATTTTGCCAGCTGGTGCAATGTCA GATTTTACCAGCAGAGGGTGCCAGAGGAATGCGGCAAAACCCGAGTGCCA GAAAGCACCTCCCTGTTTTCCAGCTTTTCTTCCTTTTTATTTATTTTATT TACGGCCCAGGAGTCCGTAATAGCGCTGAGGATGGCCCAGGCTCTTCTCA GCAGCCCTGACTGACTAGTTCAGCAATGCGCTCAGGCCCCATCTGGCCAC CGGGCAGCCTCTTCTGTGGTAGCTCCAGCCTCAGCCAGTGCAAAAGGCTA
	CCCTACACTGGCGCCACTTCTACAATCAGCACTGGCCACACCCTCCACGC CATCCGGCACGGAGCCAGGTGATCTGCCGGCCAGATTGCAGTTCGTGCTG CCTGAGTCCAGGTGATTACACTGGCTGCATCTTTTCTTTCTGGACCAtC attccatttttt

（ウシλ軽鎖）

さらなる実施形態では、例えば、配列番号３１に示す、少なくとも１つの連結領域－定常領域対および／または少なくとも１つの可変領域を含み得る、ウシλ軽鎖遺伝子座をコードする核酸配列を提供する。配列番号３１では、ウシλＣを、残基９９３～１３３３に見出すことができ、Ｊ～Ｃ対を、残基３３８４８～３５６２８に見出すことができ（Ｃは３３８４８～３４３２８の相補物であり、Ｊは３５５９９～３５６２８の相補物である）、Ｖ領域を、残基１０６７６～１０７２８、１１０９２～１１４４６、１５０８８～１５３８１、２５２３９～２５５２８、２９７８４～３０２２８、および５１７１８～５２３５７に（またはその相補物中に）見出すことができる。配列番号３１を、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＡＣ１１７２７４に見出すことができる。配列番号３１の全部または一部（配列番号３１の少なくとも１００、２５０、５００、１０００、２０００、５０００、１００００、２００００、５００００、７５０００、または１０００００個連続するヌクレオチド）を含むベクターおよび／またはターゲッティング構築物ならびに破壊されたウシλ遺伝子を含むシール（ｃｅｅｌ）および動物をさらに提供する。

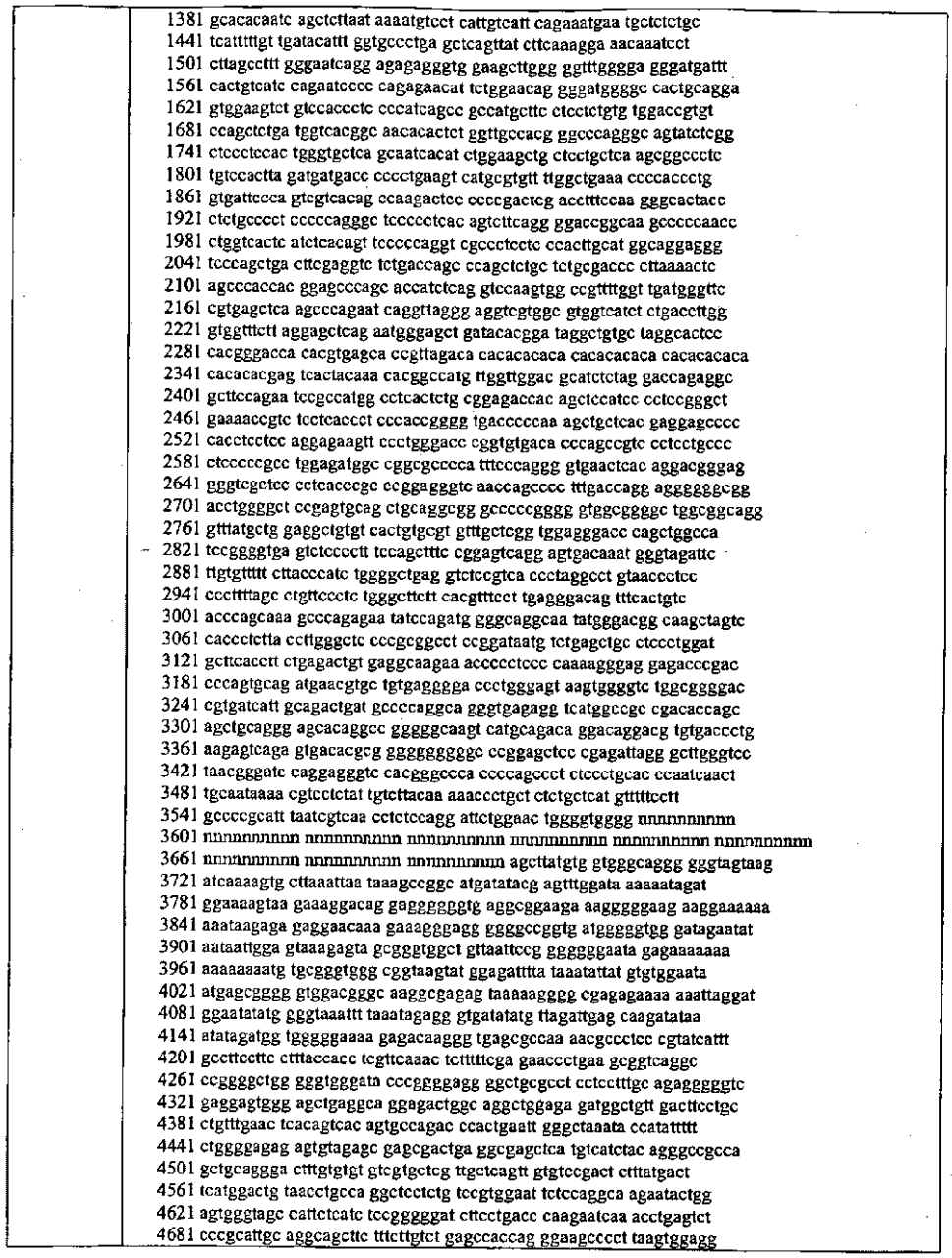
【０１４０】

【化３５】

配列番号３１	1 tgggttctat gccacccagc ttggtctctg atggtcactt gaggcccccа tctcatggca 61 aagagggaac tggattgcag atgagggacc gtgggcagac atcagaggga cacagaaccc 121 tcaaggctgg ggaccagagt cagagggcca ggaagggctg gggaccttgg gtctagggat 181 ccgggtcagg gactcggcaa aggtggaggg ctcccccaagg cctccatggg gcggacctgc 241 agatcctggg ccggccaggg acccagggaa agtgcaaggg gaagacgggg gaggagaagg 301 tgctgaactc agaactgggg aaagagatag gaggtcagga tgcaggggac acggactcct 361 gagtctgcag gacacactcc tcagaagcag gagtccctga agaagcagag agacaggtac 421 cagggcagga aacctccaga cccaagaaga ctcagagagg aacctgagct cagatctgcg 481 gatgggggga ccgaggacag gcagacaggc tcccctcga ccagcacaga ggctccaagg 541 gacacagact tggagaccaa cggacgcctt cgggcaaagg ctcgaacaca catgtcagct 601 caaaatatac ctggactgac tcacaggagg ccagggaggc cacatcatcc actcagggga 661 cagactgcca gccccaggca gaccccatca accgtcagac gggcaggcaa ggagagtgag 721 ggtcagatgt ctgtgtggga aaccaagaac cagggagtct caggacagcg ctggcagggg 781 tccaggctca ggctttccca ggaagatggg gaggtgcctg agaaaacccc acccaccttc 841 cctggcacag gccctctggc tcacagtggt gcctggactc ggggtcctgc tgggctctca 901 aaggatcctg tgtccccctg tgacacagac tcaggggctc ccatgacggg caccagacct 961 ctgattgtgg tcttcttccc ctcgcccact ttgcaggtca gcccaagtcc acaccctcgg 1021 tcaccctgtt cccgccctcc aaggaggagc tcagcaccaa caaggccacc ctggtgtgtc 1081 tcatcagcga cttctacccg ggtagcgtga ccgtggtcta gaaggcagac ggcagcacca 1141 tcacccgcaa cgtggagacc acccgggcct ccaaacagag caacagcaag tacgcggcca 1201 gcagctacct gagcctgatg ggcagcgact ggaaatcgaa aggcagttac agctgcgagg 1261 tcacgcacga ggggagcacc gtgacgaaga cagtgaagcc tcagagtgtt cttagggccc 1321 tgggcccccа ccccggaaag ttctaccctc ccaccctggt tccccctagc ccttcctcct

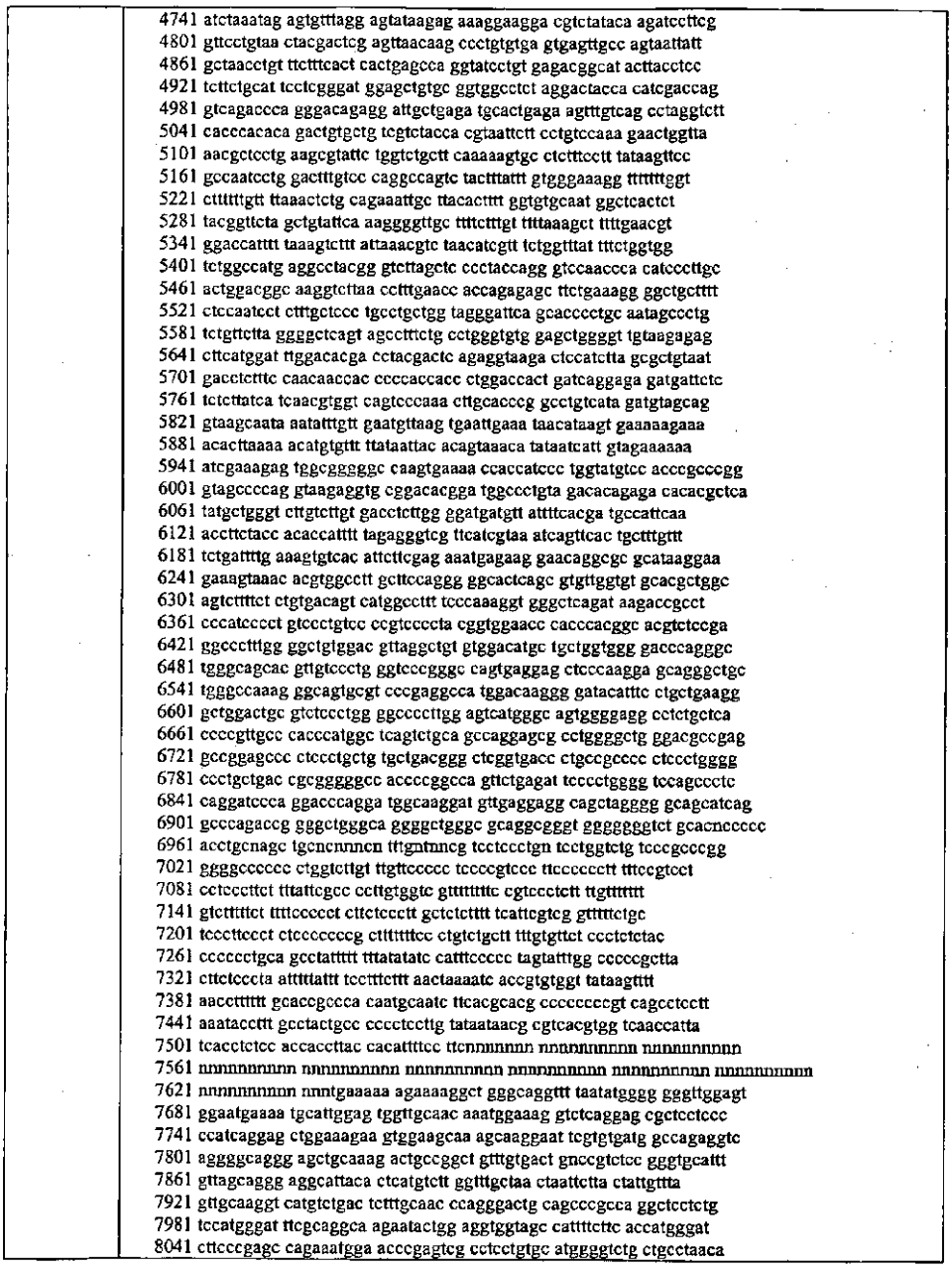
【０１４１】

【化３６】


1381 gcacacaatc agctcttaat aaaatgtcct cattgtcatt cagaaatgaa tgctctctgc
1441 tcatttttgt tgatacattt ggtgcctga gctcagttat cttcaaagga aacaaatcct
1501 cttagccttt gggaatcagg agagagggtg gaagcttggg ggtttgggga gggatgattt
1561 cactgtcatc cagaatcccc cagagaacat tctggaacag gggatggggc cactgcagga
1621 gtggaagtct gtccacccte cccatcagcc gccatgcttc ctcctctgtg tggaccgtgt
1681 ccagctctga tggtcacggc aacacactct ggttgccacg ggcccagggc agtatctcgg
1741 ctcccteeac tgggtgctca gcaatcacat ctggaagctg ctcctgctca agcggcccte
1801 tgtccactta gatgatgacc cccctgaagt catgcgtgtt ttggctgaaa ccccacccctg
1861 gtgattccca gtcgtcacag ccaagactcc cccgactcg accttttccaa gggcactacc
1921 ctctgcccct cccccagggc tcccccteac agtcttcagg ggaccggcaa gcccccaacc
1981 ctggtcactc atctcacagt tcccccaggt cgcccteete ccacttgcat ggcaggaggg
2041 tcccagctga cttcgaggtc tctgaccagc ccagctctgc tctgcgaccc cttaaaactc
2101 agcccaccac ggagcccagc accatctcag gtccaagtgg ccgttttggt tgatgggttc
2161 cgtgagctca agcccagaat caggttaggg aggtcgtggc gtggtcatct ctgaccttgg
2221 gtggtttctt aggagctcag aatgggagct gatacacgga taggctgtgc taggcactcc
2281 cacgggacca cacgtgagca ccgttagaca cacacacaca cacacacaca cacacacaca
2341 cacacacgag tcactacaaa cacggccatg ttggttggac gcatctctag gaccagaggc
2401 gcttccagaa tccgccatgg cctcactctg cggagaccac agctccatcc cctccgggct
2461 gaaaaccgtc tcctcaccct cccaccgggg tgaccccccaa agctgctcac gaggagcccc
2521 cacctcctcc aggagaagtt ccctgggacc cggtgtgaca cccagccgtc cctcctgccc
2581 ctccccccgcc tggagatggc cggcgcccca tttcccaggg gtgaactcac aggacgggag
2641 gggtcgctcc cctcacccgc ccggagggtc aaccagcccc tttgaccagg agggggcgg
2701 acctgggggct ccgagtgcag ctgcaggcgg gccccgggg gtggcgggge tggcggcagg
2761 gtttatgctg gaggctgtgt cactgtgcgt gtttgctcgg tggagggacc cagctggcca
2821 tccggggtga gtctcccctt tccagctttc cggagtcagg agtgacaaat gggtagattc
2881 ttgtgttttt cttaccccatc tggggctgag gtctccgtca ccctaggcct gtaaccctcc
2941 ccctttttagc ctgttccctc tgggcttctt cacgtttcct tgagggacag tttcactgtc
3001 acccagcaaa gcccagagaa tatccagatg gggcaggcaa tatgggacgg caagctagtc
3061 cacccictta ccttgggctc cccgcggcct ccggataatg tctgagctgc ctccctggat
3121 gcttcacctt ctgagactgt gaggcaagaa accccctccc caaaagggag gagacccgac
3181 cccagtgcag atgaacgtgc tgtgagggga ccctgggagt aagtggggtc tggcggggac
3241 cgtgatcatt gcagactgat gcccccaggca gggtgagagg tcatggccgc cgacaccagc
3301 agctgcaggg agcacaggcc gggggcaagt catgcagaca ggacaggacg tgtgaccctg
3361 aagagtcaga gtgacacgcg gggggggggc ccggagctcc cgagattagg gcttgggtcc
3421 taacgggatc caggagggtc cacgggccca ccccagccct ctcccctgcac ccaatcaact
3481 tgcaataaaa cgtcctctat tgtcttacaa aaaccctgct ctctgctcat gtttttcctt
3541 gcccccgcatt taatcgtcaa cctctccagg attctggaac tgggggtgggg nnnnnnnnnn
3601 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
3661 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn agcttatgtg gtgggcaggg gggtagtaag
3721 atcaaaagtg cttaaattaa taaagccggc atgatatacg agtttggata aaaaatagat
3781 ggaaaagtaa gaaaggacag gagggggtg aggcggaaga aaggggaag aaggaaaaaa
3841 aaataagaga gaggaacaaa gaaagggagg ggggccggtg atgggggtgg gatagaatat
3901 aataattgga gtaaagagta gcgggtggct gttaattccg gggggaata gagaaaaaaa
3961 aaaaaaaatg tgcgggtggg cggtaagtat ggagatttta taaatattat gtgtggaata
4021 atgagcgggg gtggacgggc aaggcgagag taaaaagggg cgagagaaaa aaattaggat
4081 ggaatatatg gggtaaattt taaatagagg gtgatatatg ttagattgag caagatataa
4141 atatagatgg tgggggaaaa gagacaaggg tgagcgccaa aacgccctcc cgtatcattt
4201 gccttccttc ctttaccacc tcgttcaaac tcttttcga gaaccctgaa gcggtcaggc
4261 ccgggggctgg gggtgggata cccgggggagg ggctgcgcct cctcctttgc agaggggtc
4321 gaggagtggg agctgaggca ggagactggc aggctggaga gatggctgtt gacttcctgc
4381 ctgtttgaac tcacagtcac agtgccagac ccactgaatt gggctaaata ccatattttt
4441 ctggggagag agtgtagagc gagcgactga ggcgagctca tgtcatctac agggccgcca
4501 gctgcaggga ctttgtgtgt gtcgtgctcg ttgctcagtt gtgtccgact ctttatgact
4561 tcatggactg taacctgcca ggctcctctg tccgtggaat tctccaggca agaatactgg
4621 agtgggtagc cattctcatc tccgggggat cttcctgacc caagaatcaa acctgagtct
4681 cccgcattgc aggcagcttc tttcttgtct gagccaccag ggaagcccct taagtggagg

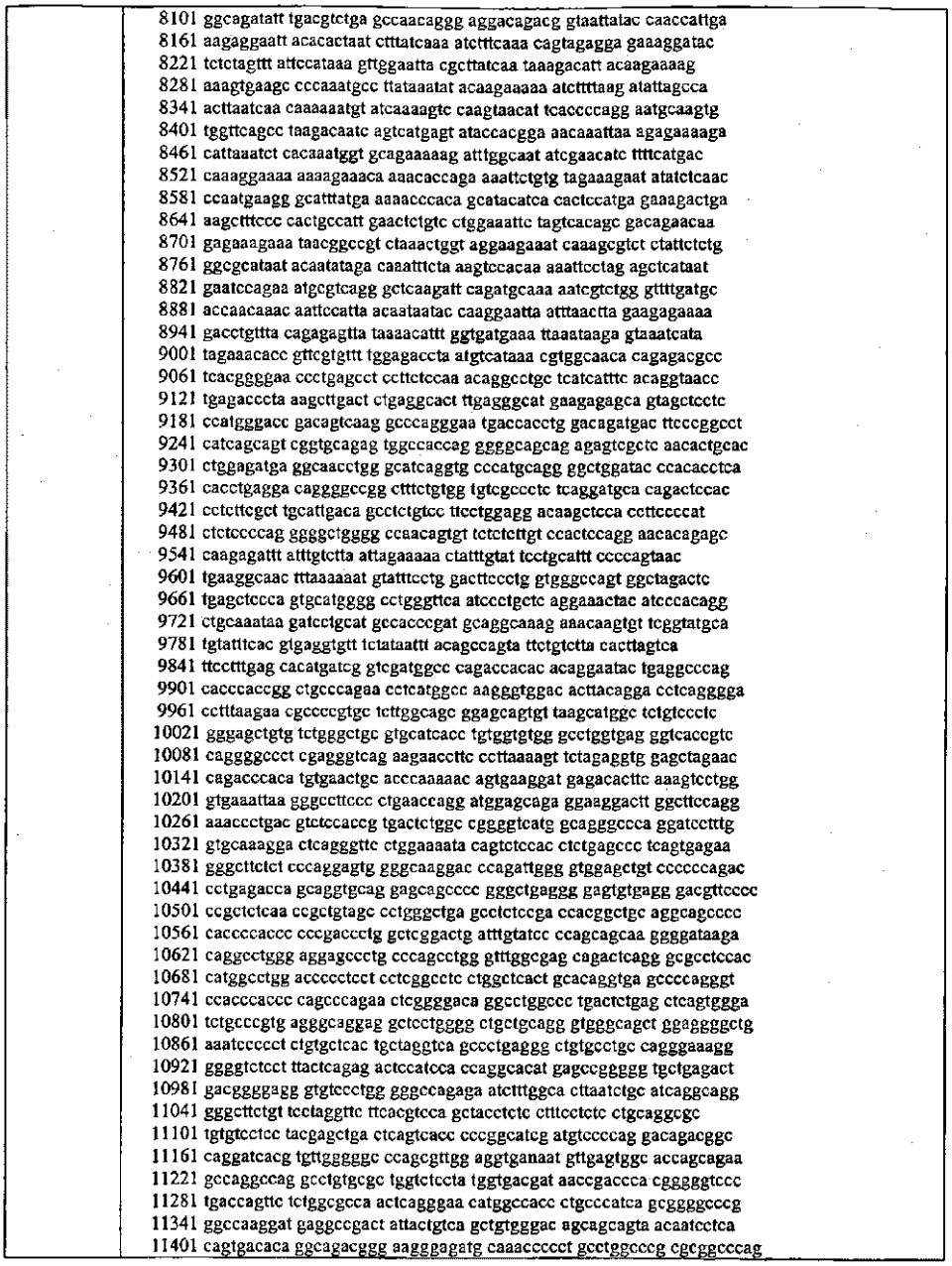
【０１４２】

【化３７】


4741 atctaaatag agtgtttagg agtataagag aaaggaagga cgtctataca agatccttcg
4801 gttcctgtaa ctacgactcg agttaacaag ccctgtgtga gtgagttgcc agtaatttatt
4861 gctaacctgt ttctttcact cactgagcca ggtatcctgt gagacggcat acttacctcc
4921 tcttctgcat tcctcgggat ggagctgtgc ggtggcctct aggactacca catcgaccag
4981 gtcagaccca gggacagagg attgctgaga tgcactgaga agtttgtcag cctaggtctt
5041 cacccacaca gactgtgctg tcgtctacca cgtaattctt cctgtccaaa gaactggtta
5101 aacgctcctg aagcgtattc tggtctgctt caaaaagtgc ctctttcctt tataagttcc
5161 gccaatcctg gactttgtcc caggccagtc tactttattt gtgggaaagg ttttttggt
5221 cttttttgtt ttaaactctg cagaaattgc ttacactttt ggtgtgcaat ggctcactct
5281 tacggttcta gctgtattca aaggggttgc ttttctttgt ttttaaagct ttttgaacgt
5341 ggaccatttt taaagtcttt attaaacgtc taacatcgtt tctggtttat tttctggtgg
5401 tctggccatg aggcctacgg gtcttagctc ccctaccagg gtccaaccca catcccttgc
5461 actggacggc aaggtcttaa cctttgaacc accagagagc ttctgaaagg ggctgctttt
5521 ctccaatcct ctttgctccc tgcctgctgg tagggattca gcaccctgc aatagccctg
5581 tctgttctta ggggctcagt agccttctg cctgggtgtg gagctgggt tgtaagagag
5641 cttcatggat ttggacacga cctacgactc agaggtaaga ctccatctta gcgctgtaat
5701 gacctctttc caacaaccac ccccaccacc ctggaccact gatcaggaga gatgattctc
5761 tctcttatca tcaacgtggt cagtcccaaa cttgcacccg gcctgtcata gatgtagcag
5821 gtaagcaata aatatttgtt gaatgttaag tgaattgaaa taacataagt gaaaaagaaa
5881 acacttaaaa acatgtgttt ttataattac acagtaaaca tataatcatt gtagaaaaaa
5941 atcgaaagag tggcgggggc caagtgaaaa ccaccatccc tggtatgtcc acccgcccgg
6001 gtagccccag gtaagaggtg cggacacgga tggcccctgta gacacagaga cacacgctca
6061 tatgctgggt cttgtcttgt gacctcttgg ggatgatgtt attttcacga tgccattcaa
6121 accttctacc acaccatttt tagagggtcg ttcatcgtaa atcagttcac tgctttgttt
6181 tctgattttg aaagtgtcac attcttcgag aaatgagaag gaacaggcgc gcataaggaa
6241 gaaagtaaac acgtggcctt gcttccaggg ggcactcagc gtgttggtgt gcacgctggc
6301 agtcttttct ctgtgacagt catggccttt tcccaaaggt gggctcagat aagaccgcct
6361 cccatcccct gtcccgtcc ccgtcccccta cggtggaacc cacccacggc acgtctccga
6421 ggcccttigg ggctgtggac gttaggctgt gtggacatgc tgctggtggg gacccagggc
6481 tgggcagcac gttgtcccctg ggtcccgggc cagtgaggag ctcccaagga gcagggctgc
6541 tgggccaaag ggcagtgcgt cccgaggcca tggacaaggg gatacatttc ctgctgaagg
6601 gctggactgc gtctccctgg ggcccccttgg agtcatgggc agtggggagg cctctgctca
6661 cccccgttgcc cacccatggc tcagtctgca gccaggagcg cctggggctg ggacgccgag
6721 gccggagccc ctcccctgctg tgctgacggg ctcggtgacc ctgccgcccc ctccctgggg
6781 ccctgctgac cgcgggggcc acccccggcca gttctgagat tcccctgggg tccagcccte
6841 caggatccca ggacccagga tggcaaggat gttgaggagg cagctagggg gcagcatcag
6901 gcccagaccg gggctgggca ggggctgggc gcaggcgggt gggggggtct gcacncccce
6961 acctgcnagc tgcncnnncn tttgntnncg tcctccctgn tcctggtctg tcccgcccgg
7021 ggggcccccc ctggtcttgt ttgttccccc tcccgtccc ttccccccct tttccgtcct
7081 cctcccttct tttattcgcc ccttgtggtc gttttttttc cgtccctctt ttgttttttt
7141 gtctttttct ttttcccccct cttctcccct gctctctttt tcattcgtcg gttttctgc
7201 tcccttccct ctccccccgg cttttttcc ctgtctgctt tttgtgttct ccctctctac
7261 ccccccctgca gcctattttt tttatatatc catttccccc tagtatttgg cccccgctta
7321 cttctcccta atttttattt tccttttctt aactaaaatc accgtgtggt tataagtttt
7381 aacctttttt gcaccgccca caatgcaatc ttcacgcacg ccccccccgt cagcctcctt
7441 aaatacctit gcctactgcc ccctctcttg tataataacg cgtcacgtgg tcaaccatta
7501 tcacctctcc accaccttac cacattttcc ttcnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
7561 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
7621 nnnnnnnnnn nnntgaaaaa agaaaaggct gggcaggttt taatatgggg gggttggagt
7681 ggaatgaaaa tgcattggag tggttgcaac aaatggaaag gtctcaggag cgctcctccc
7741 ccatcaggag ctggaaagaa gtggaagcaa agcaaggaat tcgtgtgatg gccagaggtc
7801 aggggcaggg agctgcaaag actgccggct gtttgtgact gnccgtctcc gggtgcattt
7861 gttagcaggg aggcattaca ctcatgtctt ggtttgctaa ctaattctta ctattgttta
7921 gttgcaaggt catgtctgac tctttgcaac ccagggactg cagcccgcca ggctcctctg
7981 tccatgggat ttcgcaggca agaatactgg aggtggtagc catttcttc accatgggat
8041 cttcccgagc cagaaatgga acccgagtcg cctcctgtgc atgcggtctg ctgcctaaca

【０１４３】

【化３８】


8101 ggcagatatt tgacgtctga gccaacaggg aggacagacg gtaattatac caaccattga
8161 aagaggaatt acacactaat ctttatcaaa atctttcaaa cagtagagga gaaaggatac
8221 tctctagttt attccataaa gttggaatta cgcttatcaa taaagacatt acaagaaaag
8281 aaagtgaagc cccaaatgcc ttataaatat acaagaaaaa atcttttaag atattagcca
8341 acttaatcaa caaaaaatgt atcaaaagtc caagtaacat tcaccccagg aatgcaagtg
8401 tggttcagcc taagacaatc agtcatgagt ataccacgga aacaaattaa agagaaaaga
8461 cattaaatct cacaaatggt gcagaaaaag atttggcaat atcgaacatc ttttcatgac
8521 caaaggaaaa aaaagaaaca aaacaccaga aaattctgtg tagaaagaat atatctcaac
8581 ccaatgaagg gcatttatga aaaacccaca gcatacatca cactccatga gaaagactga
8641 aagctttccc cactgccatt gaactctgtc ctggaaattc tagtcacagc gacagaacaa
8701 gagaaagaaa taacggccgt ctaaactggt aggaagaaat caaagcgtct ctattctctg
8761 ggcgcataat acaatataga caaatttcta aagtccacaa aaattcctag agctcataat
8821 gaatccagaa atgcgtcagg gctcaagatt cagatgcaaa aatcgtctgg gttttgatgc
8881 accaacaaac aattccatta acaataatac caaggaatta atttaactta gaagagaaaa
8941 gacctgttta cagagagtta taaaacattt ggtgatgaaa ttaaataaga gtaaatcata
9001 tagaaacacc gttcgtgttt tggagaccta atgtcataaa cgtggcaaca cagagacgcc
9061 tcacgcggaa ccctgagcct ccttctccaa acaggcctgc tcatcatttc acaggtaacc
9121 tgagacccta aagcttgact ctgaggcact ttgagggcat gaagagagca gtagctcctc
9181 ccatgggacc gacagtcaag gcccagggaa tgaccacctg gacagatgac ttcccggcct
9241 catcagcagt cggtgcagag tggccaccag ggggcagcag agagtcgctc aacactgcac
9301 ctggagatga ggcaacctgg gcatcaggtg cccatgcagg ggctggatac ccacacctca
9361 cacctgagga cagggccgg ctttctgtgg tgtcgccctc tcaggatgca cagactccac
9421 cctcttcgct tgcattgaca gcctctgtcc ttcctggagg acaagctcca ccttcccccat
9481 ctctccccag ggggctgggg ccaacagtgt tctctcttgt ccactccagg aacacagagc
9541 caagagattt atttgtctta attagaaaaa ctatttgtat tcctgcattt ccccagtaac
9601 tgaaggcaac tttaaaaaat gtatttcctg gacttccctg gtgggccagt ggctagactc
9661 tgagctccca gtgcatgggg cctgggttca atcccctgctc aggaaactac atcccacagg
9721 ctgcaaataa gatcctgcat gccacccgat gcaggcaaag aaacaagtgt tcggtatgca
9781 tgtatttcac gtgaggtgtt tctataattt acagccagta ttctgtctta cacttagtca
9841 ttcctttgag cacatgatcg gtcgatggcc cagaccacac acaggaatac tgaggcccag
9901 cacccaccgg ctgcccagaa cctcatggcc aagggtggac acttacagga cctcagggga
9961 cctttaagaa cgccccgtgc tcttggcagc ggagcagtgt taagcatggc tctgtccctc
10021 gggagctgtg tctgggctgc gtgcatcacc tgtggtgtgg gcctggtgag ggtcaccgtc
10081 caggggccct cgagggtcag aagaaccttc ccttaaaagt tctagaggtg gagctagaac
10141 cagacccaca tgtgaactgc acccaaaaac agtgaaggat gagacacttc aaagtcctgg
10201 gtgaaattaa gggccttccc ctgaaccagg atggagcaga ggaaggactt ggcttccagg
10261 aaaccctgac gtctccaccg tgactctggc cggggtcatg gcagggccca ggatccttg
10321 gtgcaaagga ctcagggttc ctggaaaata cagtctccac ctctgagccc tcagtgagaa
10381 gggcttctct cccaggagtg gggcaaggac ccagattggg gtggagctgt ccccccagac
10441 cctgagacca gcaggtgcag gagcagcccc gggctgaggg gagtgtgagg gacgttcccc
10501 ccgctctcaa ccgctgtagc cctgggctga gcctctccga ccacggctgc aggcagcccc
10561 caccccaccc cccgacccctg gctcggactg atttgtatcc ccagcagcaa ggggataaga
10621 caggcctggg aggagccctg cccagcctgg gtttggcgag cagactcagg gcgcctccac
10681 catggcctgg acccccctcct cctcggcctc ctggctcact gcacaggtga gccccagggt
10741 ccacccaccc cagcccagaa ctcggggaca ggcctggccc tgactctgag ctcagtggga
10801 tctgcccgtg agggcaggag gctcctgggg ctgctgcagg gtgggcagct ggaggggctg
10861 aaatcccccct ctgtgctcac tgctaggtca gccctgaggg ctgtgcctgc cagggaaagg
10921 ggggtctcct ttactcagag actccatcca ccaggcacat gagccgggggg tgctgagact
10981 gacggggagg gtgtccctgg gggccagaga atctttggca cttaatctgc atcaggcagg
11041 gggcttctgt tcctaggttc ttcacgtcca gctacctctc ctttcctctc ctgcaggcgc
11101 tgtgtcctcc tacgagctga ctcagtcacc cccggcatcg atgtccccag gacagacggc
11161 caggatcacg tgttgggggc ccagcgttgg aggtganaat gttgagtggc accagcagaa
11221 gccaggccag gcctgtgcgc tggtctccta tggtgacgat aaccgaccca cgggggtccc
11281 tgaccagttc tctggcgcca actcagggaa catggccacc ctgcccatca gcgggggccg
11341 ggccaaggat gaggccgact attactgtca gctgtgggac agcagcagta acaatcctca
11401 cagtgacaca ggcagacggg aaggagatg caaaccccct gcctggcccg cgcggcccag

【０１４４】

【化３９】

11461 cctcctcgga gcagctgcag gtcccgctga ggcccggtgc cctctgtgct cagggcctct
11521 gttcatcttg ctgagcagcg gcaagtgggc attggttcca agtcctgggg gcatatcagc
11581 acccttgagc cagagggtta ggggttaggg ttagggttag gctgtcctga gtcctaggac
11641 agccgtgtcc cctgtccatg ctcagcttct ctcaggactg gtgggaagat tccagaacca
11701 ggcaggaaac cgtcagtcgc ttgtggccgc tgagtcaggc agccattctg gtcagcctac
11761 cggatcgtcc agcactgaga cccggggcct cctggaggg caggaggtgg gactgcagcc
11821 cggccccccac accgtcaccc caaaccctcg gagaaccgcg ctcccccagga cgcctgcccc
11881 tttgcaacct gacatccgaa cattttcatc agaacttctg caaaatattc acaccgctcc
11941 tttatgcaca ttcctcagaa gctaaaagtt atcatggctt gctaaccact ctccttaaat
12001 attcttctct aacgtccatc ttcccctgctc cttagacgcg ttttcattcc acatgtctta
12061 ctgcctttgg tctgctcgtg tatttttctt ttttttttt ttttattgga atatatttgc
12121 gttacaatgt tgaatttgaa ttggtttctg ttgtacaaca atgtgaatta gttatacatg
12181 tcctgaggag gggcggctgc gtgggtgcag gagggccgag aggagctact ccacgttcaa
12241 ggtcaggagg ggcggccgtg aggagatacc cctcgtccaa ggtaagagaa acccaagtaa
12301 gacggtaggt gttgcgagag ggcatcagag ggcagacaca ctgaaaccat aatcacagaa
12361 actagccaat gtgatcacac ggaccacagc ctggtctaac tcagtgaaac taagccatgc
12421 ccatggggcc aaccaagatg ggcgggtcat gtgcccatgg ggccaaccaa gatgggcggg
12481 tcatggtgaa gaggtctgat ggaatgtggt ccactggaga agggaaaggc aaaccacttc
12541 agtattcttg ccttgagagc cccatgaaca gtatgaaaag gcaaaatgat aggatactga
12601 aagaggaact cccaggtca gtaggtgccc aatatgctac tggagatcag tggagaaata
12661 actccagaaa gaatgaaggg atggagccaa agcaaaaaca atacccagtt gtggatgtga
12721 ctggtgatag aagcaagggc caatgatgta aagagcaata ttgcatagga acctggaatg
12781 ttaagtccaa gannnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
12841 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnagaatttt
12901 gagcattact ttactagcgt gtgagacgag tgcaattgtg cggtagtttg agcattcttt
12961 ggcattgcct ttctttggga ttggaatgaa aactgacctg ttccaggcct gtggccactg
13021 ctgagttttc caaatttgct ggcgtattga gtgcatcact ttaacagcat catcttttag
13081 gatttgaaat agctcaactg gaattctatc actttagcta attccattca ttagctttgt
13141 ttgtagtgat gcttcctaag gccccccctgg ctttatcttc ctggatgtct ggctctggtg
13201 agtgatcaca ccgctgtgat tatctgggtc atgaaggtct ttttgtatag ttcttcttag
13261 gaacagatat tatgatctcc atccttgcat ctcgttatat ctagagaagc actgactccc
13321 ttcatggtga cgtcagatcc tcatgactaa caaatggcct tttgtaagat gagtgcctca
13381 tggtattgag ctccccccgtc accaagacct tatgactgac ctccccccact gccccaggtg
13441 cctctcgaag cgtctgagat gccgcctccc aggctgcact cctcattttg cccccaataa
13501 aacttaactt gcagctctcc agctgtgcat ctgtgtttag ttgacagtac aaatataatg
13561 gaaaatttaa attaaatata atctatgggg agaaatccaa acatcttatg agggagagag
13621 agggagagaa aggaaagaag aagaagcagg aggaggagga gagtagagaa acaggggggag
13681 ggcggcaggg agacagaggg gaggacaccg aggggaaagg gaggaaggcg agtgcagtga
13741 gagagaggcc agagttcatc agagtctgga ctcgcagccc aatcccacgg gtgtgtcccg
13801 aagcagggga gagcctgagc caggcggaga cagagctgtg tctccagtcc tcgtggccgt
13861 gacctggagc tgtgtggtca gccccctga ccccagcctg gccctgctgg tggtcggagg
13921 cagtgatcct ggacacagtg tctgagcgtc tgtctgaaat ccctgtggag gcgccactca
13981 ggacggacct cgcctggccc cacctggatc tgcaggtcca ggcccgagtg gggcttcctg
14041 cctggaactg agcagctgga ggggcgtctg caccccagca gtggagcggc cccaggggcg
14101 ctcagagctg ccgggggggac acagagcttg tctgagaccc agggctcgtc tccgaggggt
14161 ccctaaggt gtcttctggc cagggtcaga gccgggatga gcacaggtct gagtcagact
14221 ttcagagctg gtggctgcat ccctggggac agagggctgg gtcctaacct gggggtcaga
14281 gggcaggacg ggagcccagc tgacccctgg ggactggcct cctctgtggt ctcccctggg
14341 cagtcacagc ttccccggac gtggactctg aggaggacag ctggggcctg gctgtcagga
14401 gggggttcga gaggccacac tcagaggagg agaccctggc ctgcttgggt tgtgactgag
14461 ttttgggggt cctctaggag actctggccc tgcaggccct gcaaggtcat ctctagtgga
14521 gcaggactcc acaagattga tgaactgaat cctctaggag aggtgtggtt gtgagggggc
14581 agcattctag aaccaacagc gtgtgcaggt agctggcacc gggtctagtg gcggcgggca
14641 gggcactcag ggccgactag gggtctgggg gattcaatgg tgcccacagc actggggtctt
14701 ccatcagaat cccagacttc acaaggcagt ttcggggatt aggtcaggac gtgagggcca
14761 cagagaggtg gtgatggcct agacaagtcc ttcacagaga gagctccagg ggccatgata

【０１４５】

【化４０】

14821 agatggatgg gtctgtattg tcagtttccc cacatcaaca ccgtggtccc gccagcccat
14881 aatgctctgt ggatgcccct gtgcagagcc tacctggagg cccgggaggc ggggccgcct
14941 gggggctcag ctccggggta accgggccag gcctgtccct gctgtgtcca cagtcctccc
15001 ggggttggag gagagtgtga gcaggacagg agggtttgtg tctcacttcc ctggctgtct
15061 gtgtcactgg gaacattgta actgccactg gcccacgaca gacagtaata gtcggcttca
15121 tcctcggcac ggacccccact gatggtcaag atggctgttt tgccggagct ggagccagag
15181 aactggtcag ggatccctga gcgccgctta ctgtctttat aaatgaccag cttaggggcc
15241 tggcccggct tctgctggta ccactgagta tattgttcat ccagcagctc ccccgagcag
15301 gtgatcttgg ccgtctgtcc caaggccact gacactgaag tcaactgtgt cagttcatag
15361 gagaccacgg agcctggaag agaggaggga gaggggatga gaaggaagga ctccttcccc
15421 aagtgagaag ggcgcctccc ctgaggttgt gtctgggctg agctctgggt ttgaggcagg
15481 ctcagtcctg agtgctgggg gaccagggcc ggggtgcagt gctgggggcc cgcacctgtg
15541 cagagagtga ggaggggcag caggagaggg gtccaggcca tggtggacgt gccccgagct
15601 ctgcctctga gccccagca gtgctgggct ctctgagacc ctttattccc tctcagagct
15661 ttgcaggggc cagtgagggt ttgggtttat gcaaattcac ccccggggg ccctcactc
15721 agaggcgggg tcaccacacc atcagccctg tctgtcccca gcttcctcct cggcttctca
15781 cgtctgcaca tcagacttgt cctcagggac tgaggtcact gtcaccttcc ctgtgtctga
15841 ccacatgacc actgtcccaa gccccctgc ctgtggtcct gggctcccca gtgggcggt
15901 cagcttggca gcgtcctggc cgtggactgc ggcatggtgt cctggggttc actgtgtatg
15961 tgaccctcag aggtggtcac tagttctgag gggatggcct gtccagtcct gacttcctgc
16021 caagcgctgc tcctggaca cctgtggacg cacagggctg gttcccctga agccccgctt
16081 gggcagccca gcctctgacc tgctgctcct ggccgcgctc tgctgccccc tgctggctac
16141 cccatgtgct gcctctagca gagctgtgat ttctcagcat aactgattac tgtctccagt
16201 actttcatgt ccctgtgacg ggctgagtta gcatttctca cactagagaa ccacagtcct
16261 cctgtgtaaa gtgatcacac tcctctctgt gggacttttg taaaagattc tgcagccagg
16321 agtcatgggt ggtcttagct gagaaatgct ggatcagaga gacctgataa ccgatgtgaa
16381 gaggggaacc tggaagatct tcagttcagt tcatttcagt cattcagttg tgtccgactg
16441 tttgggatcc catggactgc cacacgccag tcctccctgt ccatcaccaa cttctgaagc
16501 ttgttcaaac tcatgtccat caagttggag atgccttca accatctcat cctctgtcat
16561 ccccttctcc tcccgccttc aatcttccct agcattaggg tcttttccgt gagtcagttc
16621 ttcgcatcag gtggccaagt tttggagttt cagtttcagc atcagtcctt tcaatgaata
16681 gtaaggactg atttccttta ggatggactg gtttgatatc cttgcagttc aagggactct
16741 caagagtctt ctccaacact gcagttaaaa gccatcaatt cttcggtgct cagctttctt
16801 tttggtacaa ctctcacatt catacatgac taccgaaaat acattagtcg tgtagaacca
16861 gtttggggct tcccacgtgg ctctagtggt aaagaatatg cctgccaact cagaagatgt
16921 aagagatgcg gttcaatctc tgggtcggga agatcccctg gagaagggca tgacaaccca
16981 ctccagtatt tttgcctgga gaatcccatg gacagagaag cctggtggac tgcagtccat
17041 ggagtctcac agagtcagac acgactgaag caacttagct acttggaaaa gagcatgcac
17101 gaagctgtct aaaaaacagg tcaagaagtc ttgtgttttg aaggtttact gagaaagttg
17161 atgcactgct ccaacactic ctctcagttg aaaagatcag aagcgttaga tcaaatggtg
17221 gtcaatacct tggatgcgct ccaacaggtt atatctgcag atggaaatga aggcagttta
17281 tggggtaact ggaggacaag atgagatcat acacttggaa cactgtctgg catcaaaggc
17341 gtgtacagta aacattagct gttattagca aaataaattc agcttgaatc acccaaatca
17401 gatggcattc ttaaagccac tgagtggtaa aatcaggggt gtgcagccaa aacgtccatt
17461 ttgactcatt atgatttcca tgtcacaaga ctagaaagtc actttctcct cagcagaaga
17521 gaaggtagaa cattttaacc ttttttgga gtgtcaaggg aattttgttt acactgtaaa
17581 gtcagtgaaa atattgaagc ttttcatttg tggaaaatat taaatatgta aaattgaaat
17641 tttaaaattt attcctgggt agttttgttt ttccagtagt catgcatgga tgtgagagtt
17701 ggactataaa gaaagctgag cgctgaagaa ttaatgcttt tgaactgtgg cactggagaa
17761 gactcttgag agtcccttgg tctgcaagga gatcaaacca gtccatccta aaggaaatca
17821 gtcctgaata ttcactggaa ggactgatgc tgaagctgaa actccaatac tttggccacc
17881 tgatgtgaag aactgactca tatgaaaaga ctcagatgct gggaaagatt gaaggtggga
17941 ggagaagggg acgacagagg atgagatggc tgaatggcat caccgactcg atggacatga
18001 gtctgaataa gctctgggag ttgttgatgg acagggaggc cctggagtgc tgcagtccat
18061 gggattgcaa agagttggac atgactgagt gactgaactg aactgagttt ggtaacagat
18121 atgagaatta tataatttaa atctaaactc ttggtatttc tttctttggc ggttccaaaa

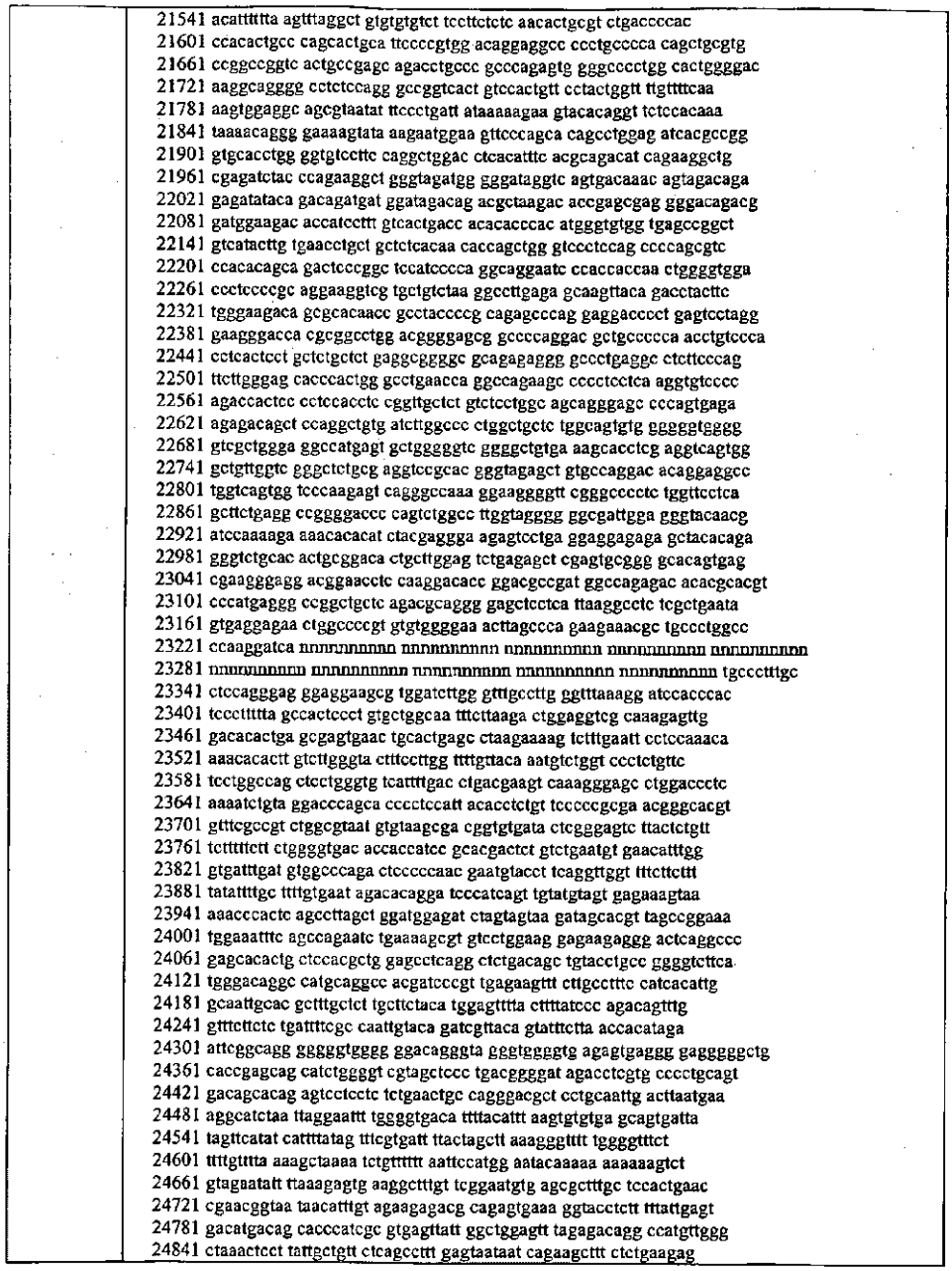
【０１４６】

【化４１】

18181 gagctgtccc ttctgttaac tatataaatc cttttgaga attactaaat tgataatgtt
18241 cacaagttat ccaatttctc attactctta gttgtcagta taagaaatcc catttgattt
18301 atcatgttat agtatctgca actctaatag ttcagttctg acaaattttt attttattta
18361 aaaatattgg catacagtaa aatttcaaac aatatacaat tctccctttc agtttaaaaa
18421 acaaaacaaa acaaaagtaa tattagttaa aaaaatccgg gaagaatcca agcatttaaa
18481 attgcatcac atttctatgc tagacaagct gatataaagt tataattaat aaaggattgg
18541 actattaaac tctttacata tgaggtaaca tggctctcta gcaaaacatt taaaaatatg
18601 ttgtgggtaa attattgttg tccttaaaga aataaaaaga cataagcgta agcaattggn
18661 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
18721 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnna aaatggataa gggggggagga
18781 catgggtagg ggagcgcgat ggaggaagta aggtggtcga gggagttggg gggggaataa
18841 gtgggtaaaa gggaagcggg cggaaggagg gggaagcagg agagaggggt gggcgtcaga
18901 tcgggggggag gggtatgagg gagagggaat ggtagacggg gggtgggaag cataaaggaa
18961 aagatagggg ggggaaaagt tagaagaaga atgaggggat aggcggaaag ggaagagaaa
19021 tgggagaaga acagaaaaat agggggaggg ggggcgtaaa gagggggggg gagggcaggt
19081 gtggagatga cagatacggg gaatgccccg gtataaaaga gtatatggcg tggggcgaga
19141 aggctgtcat cctgtgggag gggggacgcg gagaaccctt cgggctatag ggaggattcg
19201 ggggggatcgt tcgggaaggc agtcagcaca gcacccacca agggtgcagg gatggatctg
19261 gggtcccaaa gaagaggccc aatcccgcgt cttggcagca aggagccctg gagactggga
19321 agtgtccagg acactgaccc aggggttcga ggaacccaga agtgtgtctg tgaagatgtg
19381 ttttgtgggg ggacaggtcc agagcttiga gcagaaaagc ggccatggcc tgtggagggc
19441 caaccacgct gatcttttit aaaaggtttt tgttttgatg tggaccattt ttaaagtctt
19501 cattgaattt gctacaatat tgttctggt ttatgctctg gtttcttcgg ctgcaaggtt
19561 tgtgtgatcg tatctcctca accaggactg aacccacagc ccctgcactg gaaggcgaag
19621 tcttaaccca gatcgccagg aacgtcccte ccctcactga tctaatccaa gaccctcatt
19681 aaggaaaaac cgagattcaa agctccccca ggaggactcg gtggggagga gagagccaag
19741 cactcagcac tcagtccagc acggcgccct ccctgtccag ggcgagggct cggccgaagg
19801 accaccggag acccigtcgg attcaccagt aggattgtga ggaatttcaa cttacttttt
19861 aaatctgtct ctcaaggctg ttacaagcgg actttaccag taacttaaaa gttgaaaggg
19921 acttcccagg cggcacttgc ggtgaagaac ccgccggctg gttttaggag acataagaga
19981 tgtgggttag atccctggtt caggaggatt cccctggaga aggaaatggc aacccactcc
20041 agtattcttg cctggaaagc ctcacggaca gaggaggctg gcgggctaca gtccacgggg
20101 tcgcacacga ctgaatcgac ttagcttcaa gttgagacag gaagaggcag tgactggtgg
20161 caaaacaccg cacccatgct cccaggggac ctgcagcgct ctggttcatg agctgtgcta
20221 acaaaaatca acccaacgag aggcccagac agagggaagc tgagttcatc aaacacgggc
20281 atgatgtgga ggagataatc caggaaggga cctgccaagc ccatgacaga ccggtgtcct
20341 gtctgagggc cgtcctggca gagcagtgca gggccctccg agaccgcccg agctccagac
20401 ccggctgggg gctacagggt ggggctgagc tgcaaggact ctgctgtgag ccccacgtca
20461 gggaggatca ccttgtttgt tttctgagtt tctcttaaaa tagcctttat gggtcctggt
20521 ctttggtttt aaaataacaa ctgttctccg taaacaacgt gaaaaaaaac aaacaggagg
20581 aaaacaacgc agcccgggca tttcacccgg aagagccgcc tctaacactt tgacgggttg
20641 ccttctattt taaccctgtt ttcattgtaa actgtaaaaa ccacatcata aataaattaa
20701 aggtctctgt gaagtttaaa aagtaagcat ggcggtggcg atggctgtgc cacaccgtga
20761 acgctcgttt caaaacggta aattctaggg acccccctggt ggtccagtgg gtgagatttt
20821 gcttccattg caggagccgt gggtttgatc cctggttggg gaactaagat cccacatgct
20881 gtatggagtg gccaaaaaga atttttgta aatggtgagt tttaggtgac gtgaatttcc
20941 cattgatgca cttcacaggc tcagatgcag ccaggccctc aggaagcccg agtccaccgg
21001 tcctttactt ttccttagag ttttatggct tctgtttctg cccttaaacc caccatgttt
21061 caacctcatc tgatttggga ctttataata aagttaggct gtgtttcagg aaacttigct
21121 cagtattctg taataatcta aatggaaaga atttgaaaaa agagcagaca cttgtacatg
21181 cataactgaa tcactttggt gtacacctga aactcgagtg cagccgctca gtcgtgtccg
21241 acccigcgac cccacggact gcagcacgcg ggcttccctg cccatcacca actcccggag
21301 ttcactcaaa cacatgtccg tcgactcggt gatgccgtcc aaccgtctca tcctctgtcg
21361 tcccctctc ctcccgcctt caatcttttc cagcatcagg gtcttttcaa atgagtcagt
21421 tcttcacacc aggtggccag agtattggag tttcagcttc agcatcagcc cttccaacga
21481 ccccccatac ctgaagctaa cacagtgcta atccactgtg ctgcaacatg aaagaaaaac

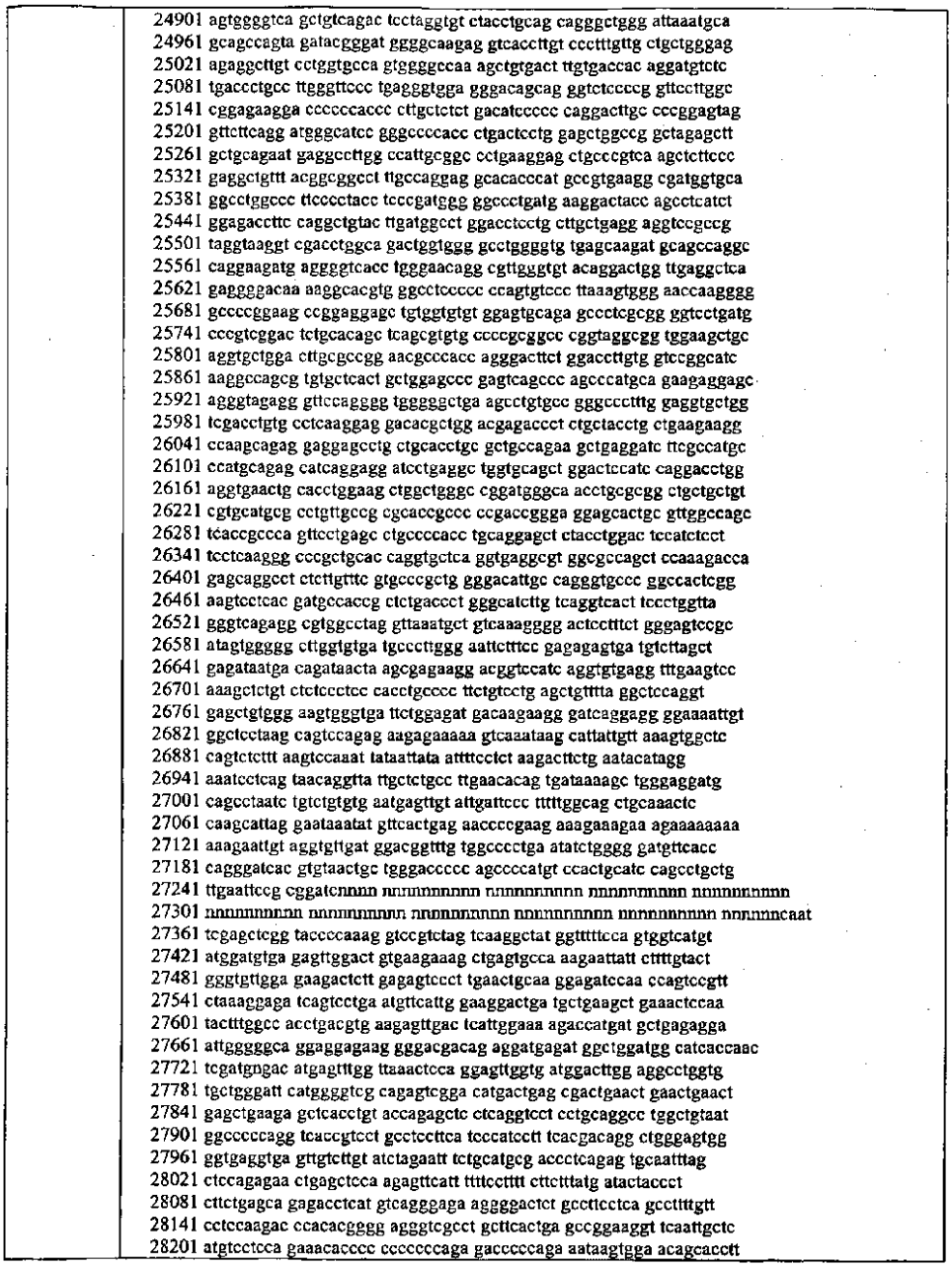
【０１４７】

【化４２】


21541 acatttttta agtttaggct gtgtgtgtct tccttctctc aacactgcgt ctgaccccac
21601 ccacactgcc cagcactgca ttcccctgtgg acaggaggcc ccctgcccca cagctgcgtg
21661 ccggccggtc actgccgagc agacctgccc gcccagagtg gggcccctgg cactggggac
21721 aaggcagggg cctctccagg gccggtcact gtccactgtt cctactggtt ttgttttcaa
21781 aagtggaggc agcgtaatat ttccctgatt ataaaaagaa gtacacaggt tctccacaaa
21841 taaaacaggg gaaaagtata aagaatggaa gttcccagca cagcctggag atcacgccgg
21901 gtgcacctgg ggtgtcctte caggctggac ctcacattte acgcagacat cagaaggctg
21961 cgagatctac ccagaaggct gggtagatgg gggataggtc agtgacaaac agtagacaga
22021 gagatataca gacagatgat ggatagacag acgctaagac accgagcgag gggacagacg
22081 gatggaagac accatccttt gtcactgacc acacacccac atgggtgtgg tgagccggct
22141 gtcatacttg tgaacctgct gctctcacaa caccagctgg gtccctccag ccccagcgtc
22201 ccacacagca gactcccggc tccatcccca ggcaggaatc ccaccaccaa ctgggggtgga
22261 cctcccccgc aggaaggtcg tgctgtctaa ggccttgaga gcaagttaca gacctacttc
22321 tgggaagaca gcgcacaacc gcctacccca cagagcccag gaggaccccc gagtcctagg
22381 gaagggacca cgcggcctgg acggggagcg gccccaggac gctgcccccа acctgtccca
22441 cctcactcct gctctgctct gaggcggggc gcagagaggg gccctgaggc ctcttcccag
22501 ttcttgggag cacccactgg gcctgaacca ggccagaagc cccctcctca aggtgtcccc
22561 agaccactcc cctccacctc cggttgctct gtctcctggc agcagggagc cccagtgaga
22621 agagacagct ccaggctgtg atcttggccc ctggctgctc tggcagtgtg gggggtgggg
22681 gtcgctggga ggccatgagt gctgggggtc ggggctgtga aagcacctcg aggtcagtgg
22741 gctgttggtc gggctctgcg aggtccgcac gggtagagct gtgccaggac acaggaggcc
22801 tggtcagtgg tcccaagagt cagggccaaa ggaaggggtt cgggccccte tggttcctca
22861 gcttctgagg ccggggaccc cagtctggcc ttggtagggg ggcgattgga gggtacaacg
22921 atccaaaaga aaacacacat ctacgaggga agagtcctga ggaggagaga gctacacaga
22981 gggtctgcac actgcggaca ctgcttggag tctgagagct cgagtgcggg gcacagtgag
23041 cgaagggagg acggaacctc caaggacacc ggacgccgat ggccagagac acacgcacgt
23101 cccatgaggg ccggctgctc agacgcaggg gagctcctca ttaaggcctc tcgctgaata
23161 gtgaggagaa ctggccccgt gtgtggggaa acttagccca gaagaaacgc tgccctggcc
23221 ccaaggatca nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
23281 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn tgcccttgc
23341 ctccagggag ggaggaagcg tggatcttgg gtttgccttg ggtttaaagg atccacccac
23401 tccctttta gccactccct gtgctggcaa tttcttaaga ctggaggtcg caaagagttg
23461 gacacactga gcgagtgaac tgcactgagc ctaagaaaag tctttgaatt cctccaaaca
23521 aaacacactt gtcttgggta ctttccttgg ttttgttaca aatgtctggt ccctctgttc
23581 tcctggccag ctcctgggtg tcattttgac ctgacgaagt caaagggagc ctggaccctc
23641 aaaatctgta ggacccagca ccctccatt acacctctgt tcccccgcga acgggcacgt
23701 gtttcgccgt ctggcgtaat gtgtaagcga cggtgtgata ctcgggagtc ttactctgtt
23761 tcttttctt ctggggtgac accaccatcc gcacgactct gtctgaatgt gaacatttgg
23821 gtgatttgat gtggcccaga ctccccaaac gaatgtacct tcaggttggt tttcttcttt
23881 tatattttgc ttttgtgaat agacacagga tcccatcagt tgtatgtagt gagaaagtaa
23941 aaacccactc agccttagct ggatggagat ctagtagtaa gatagcacgt tagccggaaa
24001 tggaaatttc agccagaatc tgaaaagcgt gtcctggaag gagaagaggg actcaggccc
24061 gagcacactg ctccacgctg gagcctcagg ctctgacagc tgtacctgcc ggggtcttca
24121 tgggacaggc catgcaggcc acgatcccgt tgagaagttt cttgccttte catcacattg
24181 gcaattgcac gctttgctct tgcttctaca tggagtttta cttttatccc agacagttig
24241 gtttcttctc tgattttcgc caattgtaca gatcgttaca gtatttctta accacataga
24301 attcggcagg gggggtgggg ggacagggta gggtggggtg agagtgaggg gaggggggctg
24361 caccgagcag catctggggt cgtagctccc tgacggggat agacctcgtg ccccgcagt
24421 gacagcacag agtcctcctc tctgaactgc cagggacgct cctgcaattg acttaatgaa
24481 aggcatctaa ttaggaattt tggggtgaca ttttacattt aagtgtgtga gcagtgatta
24541 tagttcatat cattttatag tttcgtgatt ttactagctt aaagggtttt tggggtttct
24601 ttttgtttta aaagctaaaa tctgtttttt aattccatgg aatacaaaaa aaaaaagtct
24661 gtagaatatt ttaaagagtg aaggctttgt tcggaatgtg agcgctttgc tccactgaac
24721 cgaacggtaa taacatttgt agaagagacg cagagtgaaa ggtacctctt tttattgagt
24781 gacatgacag cacccatcgc gtgagttatt ggctggagtt tagagacagg ccatgttggg
24841 ctaaactcct tattgctgtt ctcagccttt gagtaataat cagaagcttt ctctgaagag

【０１４８】

【化４３】


24901 agtggggtca gctgtcagac tcctaggtgt ctacctgcag cagggctggg attaaatgca
24961 gcagccagta gatacgggat ggggcaagag gtcaccttgt ccctttgttg ctgctgggag
25021 agaggcttgt cctggtgcca gtgggggccaa agctgtgact ttgtgaccac aggatgtctc
25081 tgaccctgcc ttgggttccc tgagggtgga gggacagcag ggtctccccg gttccttggc
25141 cggagaagga ccccccaccc cttgctctct gacatccccc caggacttgc cccggagtag
25201 gttcttcagg atgggcatcc gggccccacc ctgactcctg gagctggccg gctagagctt
25261 gctgcagaat gaggccttgg ccattgcggc cctgaaggag ctgcccgtca agctcttccc
25321 gaggctgttt acggcggcct ttgccaggag gcacacccat gccgtgaagg cgatggtgca
25381 ggcctggccc ttcccctacc tccgatggg ggcccctgatg aaggactacc agcctcatct
25441 ggagaccttc caggctgtac ttgatggcct ggacctcctg cttgctgagg aggtccgccg
25501 taggtaaggt cgacctggca gactggtggg gcctggggtg tgagcaagat gcagccaggc
25561 caggaagatg aggggtcacc tgggaacagg cgttgggtgt acaggactgg ttgaggctca
25621 gaggggacaa aaggcacgtg ggcctccccc ccagtgtccc ttaaagtggg aaccaagggg
25681 gccccggaag ccggaggagc tgtggtgtgt ggagtgcaga gccctcgcgg ggtcctgatg
25741 cccgtcggac tctgcacagc tcagcgtgtg cccgcggccc cggtaggcgg tggaagctgc
25801 aggtgctgga cttgcgccgg aacgcccacc agggacttct ggaccttgtg gtccggcatc
25861 aaggccagcg tgtgctcact gctggagccc gagtcagccc agcccatgca gaagaggagc
25921 agggtagagg gttccagggg tgggggctga agcctgtgcc gggccctttg gaggtgctgg
25981 tcgaccttgtg cctcaaggag gacacgctgg acgagaccct ctgctacctg ctgaagaagg
26041 ccaagcagag gaggagcctg ctgcacctgc gctgccagaa gctgaggatc ttcgccatgc
26101 ccatgcagag catcaggagg atcctgaggc tggtgcagct ggactccatc caggacctgg
26161 aggtgaactg cacctggaag ctggctgggc cggatgggca accgcgcgcgg ctgctgctgt
26221 cgtgcatgcg cctgttgccg cgcaccgccc ccgaccggga ggagcactgc gttggccagc
26281 tcaccgccca gttcctgagc ctgccccacc tgcaggagct ctacctggac tccatctcct
26341 tcctcaaggg cccgctgcac caggtgctca ggtgaggcgt ggcgccagct ccaaagacca
26401 gagcaggcct ctcttgtttc gtgcccgctg gggacattgc cagggtgccc ggccactcgg
26461 aagtcctcac gatgccaccg ctctgaccct gggcatcttg tcaggtcact tccctggtta
26521 gggtcagagg cgtggcctag gttaaatgct gtcaaagggg actcctttct gggagtccgc
26581 atagtggggg cttggtgtga tgcccttggg aattctttcc gagagagtga tgtcttagct
26641 gagataatga cagataacta agcgagaagg acggtccatc aggtgtgagg tttgaagtcc
26701 aaagctctgt ctctccctcc cacctgcccc ttctgtcctg agctgtttta ggctccaggt
26761 gagctgtggg aagtgggtga ttctggagat gacaagaagg gatcaggagg ggaaaattgt
26821 ggctcctaag cagtccagag aagagaaaaa gtcaaataag cattattgtt aaagtggctc
26881 cagtctcttt aagtccaaat tataattata attttcctct aagacttctg aatacatagg
26941 aaatcctcag taacaggtta ttgctctgcc ttgaacacag tgataaaagc tgggaggatg
27001 cagcctaatc tgtctgtgtg aatgagttgt attgattccc tttttggcag ctgcaaactc
27061 caagcattag gaataaatat gttcactgag aacccccgaag aaagaaagaa agaaaaaaaa
27121 aaagaattgt aggtgttgat ggacggtttg tggccccctga atatctgggg gatgttcacc
27181 cagggatcac gtgtaactgc tgggaccccc agccccatgt ccactgcatc cagcctgctg
27241 ttgaattccg cggatcnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
27301 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnncaat
27361 tcgagctcgg tacccaaag gtccgtctag tcaaggctat ggttttttcca gtggtcatgt
27421 atggatgtga gagttggact gtgaagaaag ctgagtgcca aagaattatt cttttgtact
27481 gggtgttgga gaagactctt gagagtcccct tgaactgcaa ggagatccaa ccagtccgtt
27541 ctaaaggaga tcagtcctga atgttcattg gaaggactga tgctgaagct gaaactccaa
27601 tactttggcc acctgacgtg aagagttgac tcattggaaa agaccatgat gctgagagga
27661 attgggggca ggaggagaag gggacgacag aggatgagat ggctggatgg catcaccaac
27721 tcgatgngac atgagttttgg ttaaactcca ggagttggtg atggacttgg aggcctggtg
27781 tgctgggatt catgggctcg cagagtcgga catgactgag cgactgaact gaactgaact
27841 gagctgaaga gctcacctgt accagagctc ctcaggtcct cctgcaggcc tggctgtaat
27901 ggccccccagg tcaccgtcct gcctccttca tcccatcctt tcacgacagg ctgggagtgg
27961 ggtgaggtga gttgtcttgt atctagaatt tctgcatgcg accctcagag tgcaatttag
28021 ctccagagaa ctgagctcca agagttcatt ttttcctttt cttctttatg atactaccct
28081 cttctgagca gagacctcat gtcagggaga aggggactct gcctcctca gccttttgtt
28141 cctccaagac ccacacgggg agggtcgcct gcttcactga gccggaaggt tcaattgctc
28201 atgtcctcca gaaacacccc ccccccaga gaccccaga aataagtgga acagcacctt

【０１４９】

【化４４】


28261 gtttcccaga caagtgggac acacgttatg aaccacctca gtgattaaaa tagtaacctc
28321 tgtgtatgtg tatttactgg agaaggaaac ggcaacctac tccactattc ctgcctagaa
28381 aattccatgg gagagaagcc aggcaggcta cagtccacgg ggtcacagag actgaacata
28441 cacaagcaca tggaagtgta ttttgcagta tttttaaatt tgttcagttc aacatggagt
28501 acaagaattc aaatcgtgaa gtcaattgac caagaaacca gaagaaatca ctgtgttgtg
28561 atctctgtgg aggtaacatg ggtacctgtg ctctgaccct cacagcctct ggctctctct
28621 ctacatgtac atacacatat atttccatgt atgtatgtat tcggaagatt tcacatacgt
28681 ctcaccagtc cacagccccc gcgttccctg atgcccagaa catctgtgat agctgtgagt
28741 attgtcacca gataagatct tccaggttcc tgcactcaca ttggttatca ggtctctctg
28801 atccagcatt tctcagctaa gattccttgt gactcctggc tgcagaatct tctgcaaaag
28861 tcccacagag aggagtgtga tcactgtaca caggagggcc gtggttctct agtgtgagaa
28921 aagctaactc agcccgtcac agggacgtga atgtacctga gacagtaatc agttatgctg
28981 agaaatcaca gctctgctag aggcagcaca tggggtagcc agcagggggc agcagagcac
29041 ggccaggagc cgcaggtcag aggctgggct gcccaagcgg ggcttcaggg gaaccagccc
29101 tgcgggtcca caggtgtcca gggagcagcg cttggcagga agtcaggacc ggacaggcca
29161 tcccctcagg actagtgacc acctctgagg gtcacatcca cagtgaaccc cagagcacca
29221 tgcctcagtc cacggccagg acgctgccag gctgaccgcc ccactgggga gtccagggga
29281 gaccacaggc cgggggggctt gggacagtga tcatgtggtc agacacagag aaggtgacag
29341 tgacctcagt ccctgaggac aagtctgatg tgcagacgtg agaagccgag gaggaagctg
29401 gggacagaca gggctgatgg tgtggtgacc ccgcctctca gtgaggggcc cccgggggtg
29461 aatttgcata aacccaagcc ctcactgccc ccacaaagct ctgagaggga ataaaggggc
29521 tcggagagcc cagcactgct gcgggctcag aggcagagct cggggcgcgt ccaccatggc
29581 ctgggcccct ctcgtactgc ccctcctcac tctctgcgca ggtgcggccc cccagcctcg
29641 gtccccaagt gaccaggcct caggctggcc tgtcagctca gcacaggggc tgctgcaggg
29701 aatcggggcc gctgggagga gacgctcttc ccacactccc cttcctctcc tctcttctag
29761 gtcacctggc ttcttctcag ctgactcagc cgcctgcggt gtccgtgtcc ttgggacaga
29821 cggccagcat cacctgccag ggagacgact tagaaagcta ttatgctcac tggtaccagc
29881 agaagccaag ccaggccccc tgtgctggtc atttatgagt ctagtgagag accctcaggg
29941 atccctgacc ggttctctgg ctccagctca gggaacacgg ccacccctgac catcagcggg
30001 gcccagactg aggacgaggc cgactattac tgtcagtcat atgacagcag cggtgatcct
30061 cacagtgaca cagacagacg gggaagtgag acacaaacct tccagtcctg ctcacgctct
30121 cctccagccc cgggaggact gtgggcacag cagggacagg cctggcccgg ttcccccgga
30181 gctgagcccc caggcggccc cgcctccccg ccctccaggc aggctctgca caggggcgtt
30241 agcagtggac gatgggctgg caggccctgc tgtgtcgggg tctgggctgt ggagtgacct
30301 ggagaacgga ggcctggatg aggactaaca gagggacaga gactcagtgc taatggcccc
30361 tgggtgtcca tgtgatgctg gctggaccct cagcagccaa aatctcctgg attgacccca
30421 gaacttccca gatccagatc cacgtggctt tagaaaggct taggaggtga acaagtgggg
30481 tgagggctac catggtgacc tggaccagaa ctcctgagac ccatggcacc ccactccagt
30541 actcttccct ggaaaatccc atggacggag gagcctggaa ggcttcagcc catggggtcg
30601 ctaagagtca gacacgactg agcgacgtca ctttcccttt tcactttcat gcattggaga
30661 aggaaatggc aacccagtcc agtgttcctg cctggaaaat cccagggaca ggggagcctg
30721 gtgggctgcc atccatgggg ccacacagag tcagacacga ctgaagcaac ttagcagcag
30781 cagcagcagc ccaataaaac tcagcttaag taatggcatc taaatggacc ctattgccaa
30841 ataaggtcca ctcgcgtgca ctctgtttag gacttcagtt cctgattgtg gagggttccc
30901 acaagacgtg tgtgtatatt ggtgttgccg gaaaacagtg tcaatgtgag catcccagac
30961 tcatcaccct cctactccca ctattccatt gtctctgcag gtattaagca taaaggttaa
31021 gggtcttatt agatggaaga ggagtgaata ctcgtctgtg cttaacacat accaagtacc
31081 atcaaggtcc ttcctattta ttaacgtgtg ttttaatcag aaatatgcta tgtagaagca
31141 tccggacgat agcccatgtt acagacgggg aagctgaggc atgaagttct cagcaccttg
31201 tttcacgtca gacctgaaac ggggcagagc cggcagcaaa caaggttcct cttcccaagc
31261 gcccgctctt cacccgcttc ctatggcttc tcactgtgct tcctaaacta agctctcccc
31321 aaccctgtgg agacaggatt agagacttta ggagaaaaga ccaggaacat cccacacccg
31381 acccgagtga gccactaaga caaggctttg taaggacaga accagcaggt gtcctcagcg
31441 agccagggag agacctcgca ccaaaaacaa tattgtagca tcctgaccct ggacttctga
31501 cctccagaaa tgtgaaaaag aaacgtgtgg ggtttaatca actcaccggt gttatttggt
31561 tatgactgcc tgagttaaga aggagttggg aacacttgag tgtaggtgtt tatggaacat

【０１５０】

【化４５】

31621 aagtcttgtt tctctgaaat aaattcccaa gggtataatt cctaggttgt agggtaactg
31681 ccacaaatct aggcagctta ttaaaaaaca aagatatcac tttgccagca aaggttcata
31741 tagtcaaatt atggtttttta tagtagtcat gtatggatgt aaaagttgga tcataaagaa
31801 ggctgagcac cagagaattg atcccttcaa atcgtggtgc tggagaagac tcttgagagt
31861 cccttggaca gcaaggagat ccaaccagtc aatcctaaag gaaatgaact gtgaatattc
31921 actggaagga ctgatgctga agctgaagat ccaatacttt ggccacctga tgcgaagagt
31981 tgactcattg gaaaagaccc tgatgctgga aagcttgagg gcaggaggag aagagggcgg
32041 cagaggatga gacggttgga tggcatcact gactcaatgg acatgagttt gagccaactc
32101 tgggagacag tgaaggatag ggaaggctgg cgtggtacag tgcatgcggt cacaaagagt
32161 ctgacacatc ttagtgactc aacaacgaca gcaacacagg catcacacgc ttagtgtgat
32221 aagcggcaga actgttttcc aggggtccgn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
32281 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
32341 nnnnnnnnng tacgatttcga gctcggaccc tgacattgtg agtcacgtca tgagcagctg
32401 ttttccggtc ttcagggatt gtggacgatt tctgtttggg tttgctcatg ataatttagt
32461 tacagcttag gttctttctt tccaggccac gagcgacatg ttttcaggtg agatgacgtg
32521 gtgggggatg ggcggccaag cccccactgg gggggaggg attctgttgt gggcaggagt
32581 tggcagcatc cctgaactga tgacctgcga tccaggtgac aagaaccggg ggatattatt
32641 cctctgcctt ctcatgtcat gtcctcggtt cttcatgatg aaaacatatg acaatacagg
32701 ggagttagat ttgggcgggc acaactctgg gtgggggacc cggtggcatt gtgcccagca
32761 gggccatcaa gatgagggcg acctgggtgg tccccttctc ccctggggtc ttagttttcc
32821 cctcatggaa atgggatcag gcagcagcca tggaacaccg cgaccgtggc ttctctcacc
32881 tcctcgtctg tgattttggg tcgggatacc aggcatgaag acctggggcg gggggacatc
32941 actcctctgc agcagggagg ccgcagagtc ctccgtccat gaggacttcg tccctgggct
33001 gaccctgcgg actgctggag gctgaagctg gaggcacagg cgggctgcga ggccagggtc
33061 ctgaggacga cagagccagt ggggctgcag ctctgagcag atggcccctc gccccgggcc
33121 ctgagcttgt gtgtccagct gcaggttcgc tcaggtgagc cactacgtta tgggggaggc
33181 gccctgggca gggatcgggg gtgctgactc ctccgagatt ccgaccttct gggagcactc
33241 tggccacact ctaagcctgg caagagctgg gttcatcagt ctaactctcc tcctgaagtc
33301 caatggactc tctccatgcg gcagtcactg gatggcctct ttatccccga tggtgtcctt
33361 ttccgctgac ctggctctcc tgaccacctc ccagcccccc accatacagg aagatggcac
33421 ctggtcccctg cagagctaag tccaccccctg gcctggcttc agatgcctac agtcctcctg
33481 cgggaggccc cgctcccccac taggccccaa gcctgccgtg tgagtctcag tctcacctgg
33541 aacccctcctc atttctcccc agtcctcagc tcccaacccc agaggtatcc cctgcccctt
33601 tcaaggccct tgtcccttcc tgggggggatg gggtgtatgg gagggcaagc ctgatccccc
33661 gagcctgtgc cgctgacaat gtccgtctct ggatcatcgc tcccctggct ctcagagctc
33721 cctggtccct ggggatgggt tgcggtgatg acaagtggat ggactctcag gtcacacctg
33781 tcccttccct aaggaactga cccttaaccc cgacactcgg ccagacccag aaagcacttc
33841 agacatgtcg gctgataaat gagaaggtct ttattcagga gaaacaggaa cagggaggga
33901 ggagaggccc ctggtgtgag gcgacctggg tagggggctca ggggtccatg gagaggtggg
33961 ggaggggtg tgggccagag ggcccccgag ggtgggggtc cagggcccta agaacacgct
34021 gaggtcttca ctgtcttcgt cacggtgctc ccctcgtgcg tgacctcgca gctgtaactg
34081 cctttcgatt tccagtcgct gcccgtcagg ctcagtagct gctggccgcg tatttgctgt
34141 tgctctgttt ggaggcccgg gtggtctcca cgttgcgggt gatggtgctg ccgtctgcct
34201 tccaggccac ggtcacgcta cccgggtaga agtcgctgat gagacacacc agggtggcct
34261 tgttggcgct gagctcctcg gtgggggggcg ggaacagggt gaccgagggt gcggacttgg
34321 gctgaccccgt gtggacagag gagagggtgt aagacgccgg ggaggttctg accttgtccc
34381 cacggtagcc ctgtttgcct tctctgtgcc ctccgaccct tgccctcagc cccgggcgg
34441 cagacagccc ctcagaagcc attgcaatcc actctccaag tgaccagcca aacgtggcct
34501 cagagtcccc ggctgcgacc agggctgctc tcctccgtcc tcctggcccc gggagtctgt
34561 gtctgctctt ggcactgacc ccttgagccc tcagccccctg ccagaccccc ccgtgacctt
34621 ccgctcatgc agcccaggtg cctcctccgt gaacccgggt cccccgccc acctgccagg
34681 acggtcctga tgggagatgt ggggacaagc gtgctagggt catgtgcgga gccgggcccg
34741 ggcctcccte tcctcgccca gcccagcctc agctctctg gccaaagccc ggggctcctc
34801 tgaggtcctg cctgtctacc gtccgcccctg cctgagtgca gggccccctcg cctcacctgc
34861 cttcagggga cggtgccccc acacagcacc tccaaagacc ccgattctgt gggagtcaga
34921 gccctgttca tatctcctaa gtccaatgct cgcttcgagg ccagcggagg ccgaccctcg

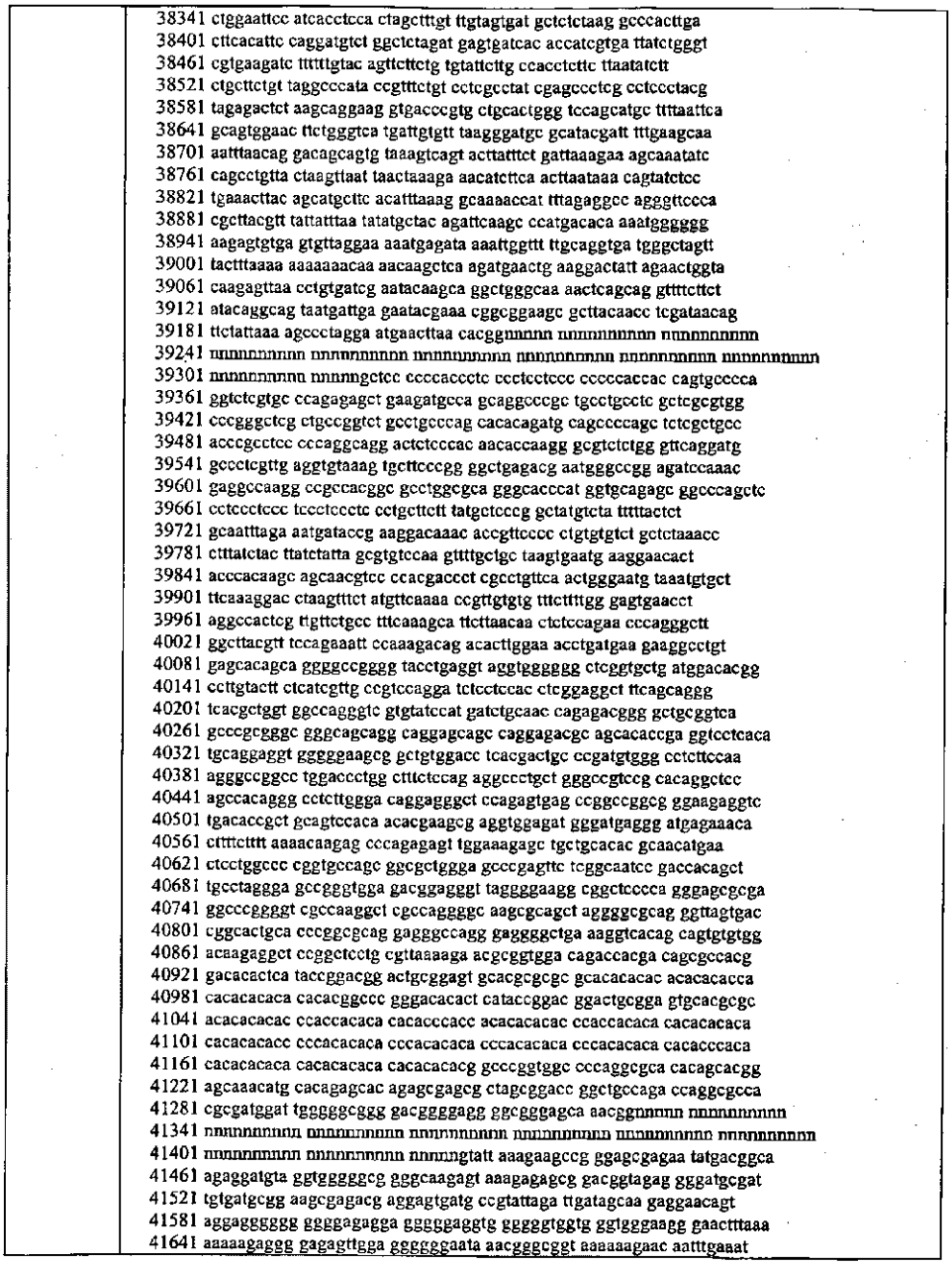
【０１５１】

【化４６】

34981 gacaggtgtg accectgggt cccaggggat caggtctccc agactgacga gtttctgccc
35041 catgggaccc gctcctttct gaccgctgtc ctgagatcct ctggtcagct tgccccgtct
35101 cagctgtgtc cacccggccc ctcagcccag agcgggcgag acccctctct ctctgccctc
35161 cagggccttc cctcaggctg ccctctgtgt tcctgggggc tggtcatagc ccccgccgag
35221 ccccccaagct cctgtctggc ctcccggctg gggcatggag ctcacagcac agagcccggg
35281 gcttggagat gccccctagtc agcaccagcc tctggcccgc acccccagcgt ctgccctgca
35341 agaggggaac aagtccctgc attcctggac caaacaccag ccccggcgcc ccgactggcc
35401 ccattggacg gtcggccact ggatgctcct gctggttacc ccaagaccaa cccgcctccc
35461 ctcccggccc cacggagaaa ggtggggatc ggcccttaag gccgggggga cagagaggaa
35521 gctgccccca gagcaagaga agtgacttic ccgagagagc agagggtgag agaggctggg
35581 gtagggtgag agccacttac ccaggacggt gacccaggtc ccgccgccta agacaaaata
35641 cagagactaa gtctcggacc aaaaccccgcc gggacagcgc ctgggggcctg tccccgggg
35701 gggctgggcc gagcgggaac ctgctgggcg tgacgggcgc agggctgcag ccggtggggc
35761 tgtgtcctcc gctgaggggt gttgtggagc cagccttcca gaggccaggg gaccttgtgt
35821 cctggaggtg ccctgtgccc agccccctgg ccgaggcagc agccacacac gcccttgggg
35881 tcacccagtg ccccctcact cggaggctgt cctggccacc actgacgcct tagcgctgag
35941 ggagacgtgg agcgccgcgt ctgtgcgggg cggcagagga gtaccggcct ggcttggacc
36001 tgcccagccg ctcctggcct cactgtaagg cctctgggtg ttccttcccc acagtcctca
36061 cagtccagcc aggcagcttc cttcctgggg ctgtggacac cgggctattc ctcaggcccc
36121 aagtggggaa ccctgccctt tttctccacc cacggagatg cagttcagtt tgttctcttc
36181 aatgaacatt ctctgctgtc agatcactgt ctttctgtac atctgtttgt ccatccatcg
36241 atccaacatc catccatcca tccatcaccc agccatccat ctgtcatcca acatccatcc
36301 ttccatccat tgtccatcca tctgtccatc ttgcatctgt ctgtccaaca gtggccatca
36361 agcacccgtc tgccaagccc tgtgtcacac gctgggactt ggtgggggga gccctcgccc
36421 tcccacccte ccatctctcc tgaaacttct ggggtcaagt ctaacaaggt cccatcccgt
36481 ctagtctgag gtccccccgc agcctcctct tccactctct ctgcttctga cccacactgt
36541 gcactcggac gaccacccag ggcccttgca tccctgtttc cttcctgacc tcttttttt
36601 ggctctggat ttatacacat tctgcctcct ggaggcgtct cagcttgagt gtcccacaga
36661 cgcctcagac tcagcatctt ccatcgaaac tgctcccagg tccttgcaga cctggtcccc
36721 cacattgttc tcaattcggt agatttctcc acaagccaga ggcctggact catcccataa
36781 tgcctgcccc tcattgagtc agcctctgtg tcctaccata accaaacatc cccttaaaaa
36841 tctcagaaga acaaaaaaag cacccagatg gcactgtcag agtttatgat gacaagaatc
36901 ctcagttcag ttcagtcact cagtcgtgtc cgactctttg cgaccccatg aatcgcagca
36961 cgccaggcct ccctgtccat caccaactcc cggagttcac tcagactcac gtccattgag
37021 tcagtgatgc catccagcca tctcatcctc tctcgtcccc ttctcctcct gccccaatc
37081 cctcccagca tcagagtttt ttccaatgag tcaactcttc gcgtgaggtg accaaagtac
37141 tggagttica gcttcagcat cattcttcc aaagaaatcc cagggctgat ctccttcaga
37201 atggactggt tggatctcct tacagtccaa gggactctca agagtcttct ccaacaccac
37261 agttcaaaag cctcaattct ttggcgctca gccttcttca cagtccaact ctcacatcca
37321 tacatgacca caggaaaaac cataaccttg actagatgga cctttgttgg caaagtaatg
37381 tctctgcttt ttaatatgct atctaggttg ctcataactt tccttccaag aagtaagtgt
37441 cttttaattt catggctgca atcaacatct gcagtgattt tggagcccca aaaaataaag
37501 tctgccactg tttccactgt ttcccatct atttcccatg aagtgatggg accagatgcc
37561 atgatctttg ttttctgaat gttgagcttt aagccaactt ttcactctcc actttcactt
37621 tcatcaagag gcttttagt tcctcttcac tttctgccat aagggtggtg tcatctgcat
37681 atctgaggtt attgatattt ctcctggcaa tcttgattcc agtttgtgtt tcttccagtc
37741 cagtgtttct catgatgtac tctgcatata agttaaataa gcagggtgat aatatacagc
37801 cttgacgtac tccttttcct atttggaacc agtctgttgt tccatgtcca gttctaactg
37861 ttgcttcctg acctgcatac agatttctca agaggcaggt caggtggtct ggtattccca
37921 tctctttcag aattttccac agttgattgt gatccacaca gtcaaaggct ttggcatagt
37981 caataaagca gaaatagatg ttttctgaa actctcttgc ttttccatg atccagcaga
38041 tgttggcaat ttgatctctg gttcctctgc cttttctaaa accagcttga acatcaggaa
38101 gttcacggtt catgtattgc tgaagcctgg cttggagaat tttgagcatt ccttgctag
38161 cgtgtgagat gagtgcaatt gtgcggcagt ttgagcattc tttggcattg ccttttcttg
38221 ggattggaat gaaaactgac ctgttccagg cctgtggcca ctgttgagtt ttcccaattt
38281 gctggcatat tgagtgcagc acttcacag catcatcttt caggatttga aatcgctcca

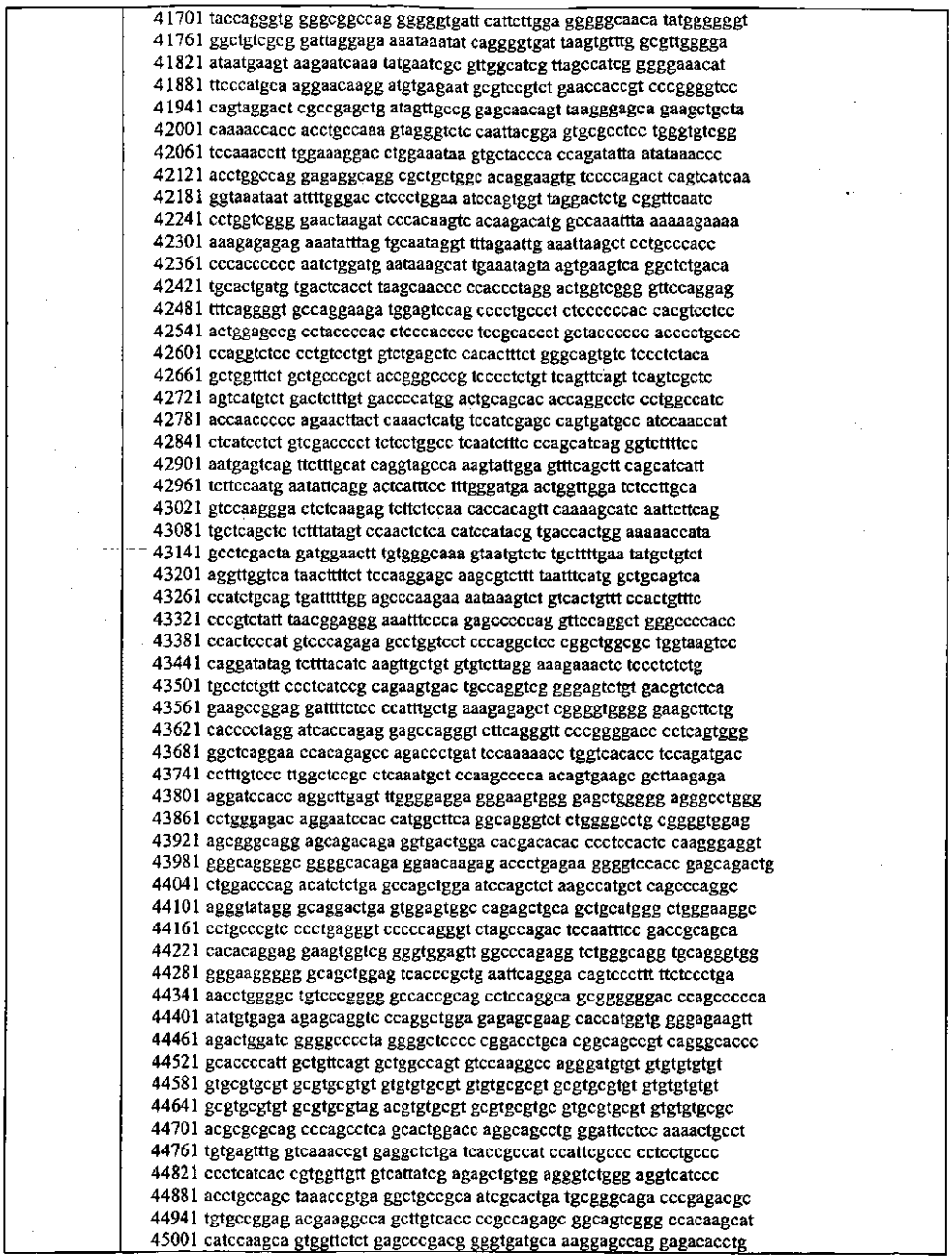
【０１５２】

【化４７】


38341 ctggaattcc atcacctcca ctagctttgt ttgtagtgat gctctctaag gcccacttga
38401 cttcacattc caggatgtct ggctctagat gagtgatcac accatcgtga ttatctgggt
38461 cgtgaagatc ttttttgtac agttcttctg tgtattcttg ccacctcttc ttaatatctt
38521 ctgcttctgt taggcccata ccgtttctgt cctcgcctat cgagcccctcg cctcctacg
38581 tagagactct aagcaggaag gtgacccgtg ctgcactggg tccagcatgc ttttaattca
38641 gcagtggaac ttctgggtca tgattgtgtt taagggatgc gcatacgatt tttgaagcaa
38701 aatttaacag gacagcagtg taaagtcagt acttatttct gattaaagaa agcaaatatc
38761 cagcctgtta ctaagttaat taactaaaga aacatcttca acttaataaa cagtatctcc
38821 tgaaacttac agcatgcttc acatttaaag gcaaaaccat tttagaggcc agggttccca
38881 cgcttacgtt tattatttaa tatatgctac agattcaagc ccatgacaca aaatgggggg
38941 aagagtgtga gtgttaggaa aaatgagata aaattggttt ttgcaggtga tgggctagtt
39001 tactttaaaa aaaaaaacaa aacaagctca agatgaactg aaggactatt agaactggta
39061 caagagttaa cctgtgatcg aatacaagca ggctgggcaa aactcagcag gttttcttct
39121 atacaggcag taatgattga gaatacgaaa cggcggaagc gcttacaacc tcgataacag
39181 ttctattaaa agccctagga atgaacttaa cacggnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
39241 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
39301 nnnnnnnnnn nnnnngctcc ccccacccctc ccctcctccc ccccccaccac cagtgcccca
39361 ggtctcgtgc ccagagagct gaagatgcca gcaggcccgc tgcctgcctc gctcgcgtgg
39421 cccgggctcg ctgccggtct gcctgcccag cacacagatg cagccccagc tctcgctgcc
39481 acccgcctcc cccaggcagg actctcccac aacaccaagg gcgtctctgg gttcaggatg
39541 gccctcgttg aggtgtaaag tgcttcccgg ggctgagacg aatgggccgg agatccaaac
39601 gaggccaagg ccgccacggc gcctggcgca gggcacccat ggtgcagagc ggcccagctc
39661 cctccctccc tccctccctc cctgcttctt tatgctcccg gctatgtcta tttttactct
39721 gcaatttaga aatgataccg aaggacaaac accgttcccc ctgtgtgtct gctctaaacc
39781 ctttatctac ttatctatta gcgtgtccaa gttttgctgc taagtgaatg aaggaacact
39841 acccacaagc agcaacgtcc ccacgaccct cgcctgttca actgggaatg taaatgtgct
39901 ttcaaaggac ctaagtttct atgttcaaaa ccgttgtgtg tttcttttgg gagtgaacct
39961 aggccactcg ttgttctgcc tttcaaagca ttcttaacaa ctctccagaa cccagggctt
40021 ggcttacgtt tccagaaatt ccaaagacag acacttggaa acctgatgaa gaaggcctgt
40081 gagcacagca ggggccgggg taccctgaggt aggtgggggg ctcggtgctg atggacacgg
40141 ccttgtactt ctcatcgttg ccgtccagga tctcctccac ctcggaggct ttcagcaggg
40201 tcacgctggt ggccagggtc gtgtatccat gatctgcaac cagagacggg gctgcggtca
40261 gcccgcgggc gggcagcagg caggagcagc caggagacgc agcacaccga ggtcctcaca
40321 tgcaggaggt gggggaagcg gctgtggacc tcacgactgc ccgatgtggg cctcttccaa
40381 agggccggcc tggaccctgg cttctccag aggccctgct gggccgtccg cacaggctcc
40441 agccacagcg cctcttggga caggagggct ccagagtgag ccggccggcg ggaagaggtc
40501 tgacaccgct gcagtccaca acacgaagcg aggtggagat gggatgaggg atgagaaaca
40561 cttttcttt aaaacaagag cccagagagt tggaaagagc tgctgcacac gcaacatgaa
40621 ctcctggccc cggtgccagc ggcgctggga gcccgagttc tcggcaatcc gaccacagct
40681 tgcctaggga gccgggtgga gacggagggt taggggaagg cggctcccca gggagcgcga
40741 ggcccggggt cgccaaggct cgccaggggc aagcgcagct aggggcgcag ggttagtgac
40801 cggcactgca cccggcgcag gagggccagg gaggggctga aaggtcacag cagtgtgtgg
40861 acaagaggct ccggctcctg cgttaaaaga acgcggtgga cagaccacga cagcgccacg
40921 gacacactca taccggacgg actgcggagt gcacgcgcgc gcacacacac acacacacca
40981 cacacacaca cacacggccc gggacacact catacccgac ggactgcgga gtgcacgcgc
41041 acacacacac ccaccacaca cacacccacc acacacacac ccaccacaca cacacacaca
41101 cacacacacc cccacacaca cccacacaca cccacacaca cccacacaca cacacccaca
41161 cacacacaca cacacacaca cacacacacg gcccggtggc cccaggcgca cacagcacgg
41221 agcaaacatg cacagagcac agagcgagcg ctagcggacc ggctgccaga ccaggcgcca
41281 cgcgatggat tgggggcggg gacggggagg ggcgggagca aacggnnnnn nnnnnnnnnn
41341 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
41401 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnngtatt aaagaagccg ggagcgagaa tatgacggca
41461 agaggatgta ggtgggggcg gggcaagagt aaagagagcg gacggtagag gggatgcgat
41521 tgtgatgcgg aagcgagacg aggagtgatg ccgtattaga ttgatagcaa gaggaacagt
41581 aggagggggg ggggagagga gggggaggtg gggggtggtg ggtgggaagg gaactttaaa
41641 aaaaagaggg gagagttgga gggggggaata aacgggcggt aaaaaagaac aatttgaaat

【０１５３】

【化４８】


41701 taccagggtg gggcggccag gggggtgatt cattcttgga gggggcaaca tatgggggt
41761 ggctgtcgcg gattaggaga aaataaatat caggggtgat taagtgtttg gcgttgggga
41821 ataatgaagt aagaatcaaa tatgaatcgc gttggcatcg ttagccatcg ggggaaacat
41881 ttcccatgca aggaacaagg atgtgagaat gcgtccgtct gaaccaccgt cccggggtcc
41941 cagtaggact cgccgagctg atagttgccg gagcaacagt taagggagca gaagctgcta
42001 caaaaccacc acctgccaaa gtagggtctc caattacgga gtgcgcctcc tgggtgtcgg
42061 tccaaacctt tggaaaggac ctggaaataa gtgctaccca ccagatatta atataaaccc
42121 acctggccag gagaggcagg cgctgctggc acaggaagtg tccccagact cagtcatcaa
42181 ggtaaataat attttgggac ctcccctggaa atccagtggt taggactctg cggttcaatc
42241 cctggtcggg gaactaagat cccacaagtc acaagacatg gccaaatttta aaaaagaaaa
42301 aaagagagag aaatatttag tgcaataggt tttagaattg aaattaagct cctgcccacc
42361 cccacccccc aatctggatg aataaagcat tgaaatagta agtgaagtca ggctctgaca
42421 tgcactgatg tgactcacct taagcaaccc ccaccctagg actggtcggg gttccaggag
42481 tttcaggggt gccaggaaga tggagtccag cccctgccct ctccccccac cacgtcctcc
42541 actggagccg cctacccccac ctcccacccc tccgcaccct gctacccccc acccctgccc
42601 ccaggtctcc cctgtcctgt gtctgagctc cacactttct gggcagtgtc tccctctaca
42661 gctggtttct gctgcccgct accgggcccg tcccctctgt tcagttcagt tcagtcgctc
42721 agtcatgtct gactctttgt gacccccatgg actgcagcac accaggcctc cctggccatc
42781 accaacccccc agaacttact caaactcatg tccatcgagc cagtgatgcc atccaaccat
42841 ctcatcctct gtcgacccct tctcctggcc tcaatctttc ccagcatcag ggtcttttcc
42901 aatgagtcag ttctttgcat caggtagcca aagtattgga gtttcagctt cagcatcatt
42961 tcttccaatg aatattcagg actcatttcc tttgggatga actggttgga tctccttgca
43021 gtccaaggga ctctcaagag tcttctccaa caccacagtt caaaagcatc aattcttcag
43081 tgctcagctc tctttatagt ccaactctca catccatacg tgaccactgg aaaaaccata
43141 gcctcgacta gatggaactt tgtgggcaaa gtaatgtctc tgcttttgaa tatgctgtct
43201 aggttggtca taacttttct tccaaggagc aagcgtcttt taatttcatg gctgcagtca
43261 ccatctgcag tgatttttgg agcccaagaa aataaagtct gtcactgttt ccactgtttc
43321 cccgtctatt taacggaggg aaatttccca gagcccccag gttccaggct gggccccacc
43381 ccactcccat gtcccagaga gcctggtcct cccaggctcc cggctggcgc tggtaagtcc
43441 caggatatag tctttacatc aagttgctgt gtgtcttagg aaagaaactc tccctctctg
43501 tgcctctgtt ccctcatccg cagaagtgac tgccaggtcg gggagtctgt gacgtctcca
43561 gaagccggag gattttctcc ccatttgctg aaagagagct cggggtgggg gaagcttctg
43621 cacccctagg atcaccagag gagccagggt cttcagggtt cccggggacc cctcagtggg
43681 ggctcaggaa ccacagagcc agaccctgat tccaaaaacc tggtcacacc tccagatgac
43741 ccttgtccc ttggctccgc ctcaaatgct ccaagcccca acagtgaagc gcttaagaga
43801 aggatccacc aggcttgagt ttggggagga gggaagtggg gagctggggg agggcctggg
43861 cctgggagac aggaatccac catggcttca ggcagggtct ctggggcctg cggggtggag
43921 agcgggcagg agcagacaga ggtgactgga cacgacacac ccctccactc caagggaggt
43981 gggcaggggc ggggcacaga ggaacaagag accctgagaa ggggtccacc gagcagactg
44041 ctggacccag acatctctga gccagctgga atccagctct aagccatgct cagcccaggc
44101 agggtatagg gcaggactga gtggagtggc cagagctgca gctgcatggg ctgggaaggc
44161 cctgcccgtc ccctgagggt cccccagggt ctagccagac tccaatttcc gaccgcagca
44221 cacacaggag gaagtggtcg gggtggagtt ggcccagagg tctgggcagg tgcagggtgg
44281 gggaaggggg gcagctggag tcacccgctg aattcaggga cagtcccttt ttctccctga
44341 aacctggggc tgtcccgggg gccaccgcag cctccaggca gcgggggggac ccagccccca
44401 atatgtgaga agagcaggtc ccaggctgga gagagcgaag caccatggtg gggagaagtt
44461 agactggatc ggggccccta ggggctcccc cggacctgca cggcagccgt cagggcaccc
44521 gcacccccatt gctgttcagt gctggccagt gtccaaggcc agggatgtgt gtgtgtgtgt
44581 gtgcgtgcgt gcgtgcgtgt gtgtgtgcgt gtgtgcgcgt gcgtgcgtgt gtgtgtgtgt
44641 gcgtgcgtgt gcgtgcgtag acgtgtgcgt gcgtgcgtgc gtgcgtgcgt gtgtgtgcgc
44701 acgcgcgcag cccagcctca gcactggacc aggcagcctg ggattcctcc aaaactgcct
44761 tgtgagtttg gtcaaaccgt gaggctctga tcaccgccat ccattcgccc cctcctgccc
44821 cctcatcac cgtggttgtt gtcattatcg agagctgtgg agggtctggg aggtcatccc
44881 acctgccagc taaaccgtga ggctgccgca atcgcactga tgcgggcaga cccgagacgc
44941 tgtgccggag acgaaggcca gcttgtcacc ccgccagagc ggcagtcggg ccacaagcat
45001 catccaagca gtggttctct gagcccgacg gggtgatgca aaggagccag gagacacctg

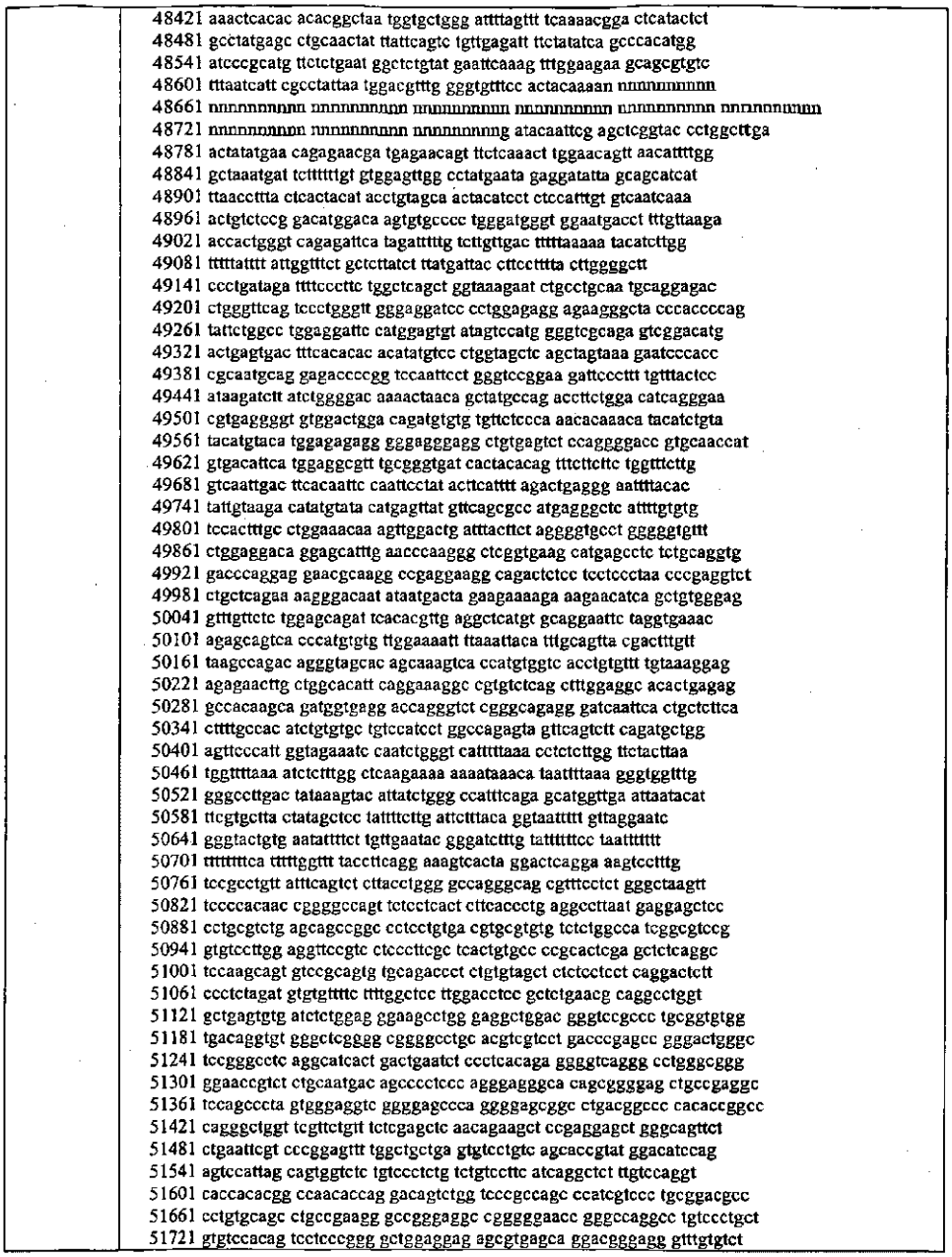
【０１５４】

【化４９】

45061 cgcgtccaag ctgggggacc ccaggtctgt tatgccggac agtaaacacg ttcagctccg
45121 gagggagagg gttcccctac cttccagggt ttctcattcc acaaacatcc aaagacaatc
45181 cataccgaag gcgatccgtg cctttgctcc tgagacgtgc ggaagcacag agatccacag
45241 acactgtctc ccaggatcct atgtatgtaa aggaaccgaa gtcccaggct gtgtgtctgg
45301 taccacatcc cacggaacag gctggactga ttttcaccaa atgtagcaga aacgttaagg
45361 agtatcagct tcaaaatatg agggccagac atgtctgaga agtcccttcc agaaaagtcc
45421 cttggggtc cttcccccaga gttgctgaaa cagagaaccg gaagggctgc agagctgaac
45481 ttaaacaact ggatcgcaaa ggtccgtctc atcagagcga tggtttttcc agtggtcatg
45541 tatggatgag agagttggac cataaagaaa gctgagcgcc gaagaatcga tgcttttgaa
45601 ctctggtgtt ggagaagact cttgagagtc ccttggactg caaggagatc caaccagtca
45661 atcctaaagg aaatcaatcc tgaatattca tgggaaggac tgatgctgaa gctgaaactc
45721 caatactttg gccacttgat gcaaagaact gactcactgg aaaaaccctg atgctgggaa
45781 aggttgaagg caggaggaga agggctcgac agaggatgag atggttgggt ggcatcaccc
45841 acccatggac tcaatggaca tgggtttgag taaactctgg gagttggtga tggacagaga
45901 atcctggcat gctgcggtcc atggggtcat agagagtcag acacaactga gcgactgaca
45961 gaactgaagc aactggcaag ccggagggta ggtgccggct gcgatgagcg ggaacgtgca
46021 acctgccacg tggagctctt cctacaccca gagtcctgac ggcactggga ccctagccct
46081 ccacggcctc tccagggcca cgagacaccc tcacagagca gagaagcgga acagagctgg
46141 tgtgcagaac caggccccgg gggtggggcg gggctggtgg gcaggcttta gtgagaagcc
46201 cttgagccct ggaaccagag cagagcagaa cagttggcag aggcccccct gggagaggcc
46261 cccgcccag agtaccggcc ctgggccctg ggggagaggg cggtgctggg ggcagggaca
46321 gaaggcccag gcagaggatg ggccccgtgg gacggggcgc accaaaacag ccctgccag
46381 caaggggaag ctggggcact ttcgacccce tccaaggagg agcccacacc agcgcatctg
46441 cccaaggtgc ccttggccct gggggcacat gaggcccagg ccaggccagg gggcccatga
46501 ggcccccagg ggtcagtgca gtgtccccag gcagccctgg cctctcatcc tgctgggcct
46561 ggcctcttat cccgtgggcg cccacggcct gctgcccccg acagcggcgc ctcagagcac
46621 agcccccccgc atggaagccc cgtcaggaaa gagcccttgg agcctgcagg acaggtaagg
46681 gccgagggag tcatggtgca gggaagtggg gcttcccttc gatgggaccc aggggtgaat
46741 gaccgcaggg gcgggggaacg agaagggaaa ccagctggag agaaggagcc tgggcagacg
46801 tggctgcacg cacagcgctg accctgggcc cagtgtgcct ttgtgttggg ttttattttt
46861 aattttgtat tgagatgcta tttatctcgt ggagcttttg ccgccctgag attttgtacc
46921 cgtggctggt gtcccttctg cctcacccca gcctctgtag cagggcagac acggcgcaac
46981 ggggcagggc gtgcccagga ggcactgtca ttttgggggc agcggcccca caaggcaggt
47041 ctgccttcct cccctcttac aggcagcgac agaggtccag agaggtgagg caagctgccc
47101 aatgtcacac agcacacggg cgcagtccca ggactgtaga aatcccggga ctagacaggc
47161 accagagtgt cctgtgtttt taaaaaaacg gcccaagaga agaggcaagt ctgcaaggcg
47221 tcccgggaag gcagcagggg cttggctcgg tctccccccaa ggaggccagc tcctcagcga
47281 ggttcctaag tgtctaacgg agccaagcct gaaccaaggg ggtcacgtgc agctatggga
47341 cactgacctg ggatgggggа gctccaggca aagggagtag ggaggccaag gaggagagag
47401 gggtgcacag gcctgcaggg agcttccaga gctggggaaa acggggttca gaccacgggg
47461 tcatgtccac ccctccttta tcctgggatc cggggcaggt attgagggat ttatgtgcgg
47521 ggctgtcagg gtccagttcg tgctgtggaa aaattgtttc agatcagaga ccagcgtgag
47581 gtcaggttag aggatggaga agaagctgtg aaaaggtgat ggagagcggg gggacggtcc
47641 tcggtgatca ggcaccgaga tcgcccatgg aatccgcagg cgaatttaca gtgacgtcgt
47701 cagagggctg tcggggagga acaggcactg tcatgaactg gctacaaaaa tctaaaatgt
47761 gcaccctttt cggcaatatg cagcaagtca taaaagaaaa cgcatttctt taaaattgcg
47821 taattccgct tttaggaatt catctgggggg cgggggaaca atcaaaaaga tgtgaccaaa
47881 ggtttacaag ccaggaagtc aactcgttaa tgatgggaga aaaccggaaa taacctgaat
47941 atccaacaga aagggtgtga tgaagcgcag catggcacat ccaccgcaag gaatcctaac
48001 acaaacttcc aaaacaatat ttctgacgtt gggtttttaa agcatgcgtg cactttcaaa
48061 agcttgtcag aaaacataga aatatgccaa taatgtgtct ctagccaaat tttttaattt
48121 ttgctttata attttataaa gttataattg tatgaaatat aatgataaaa ttataaacta
48181 taaaaaagtt atgaaaatgt tcacaagaag atatacatgt aattttatct tctacaatac
48241 tttttaatac cagaataacg tgcttttaaa aaagattgag cacagaagcg tataaagtaa
48301 aaattgagag tttctgctca ccaaccacac gtcttacctt aaaacccatt ctccagcgag
48361 agacagtgtc atgtgggtct gtacacttct ggccttttctc ctaggcatgt atgtccctga

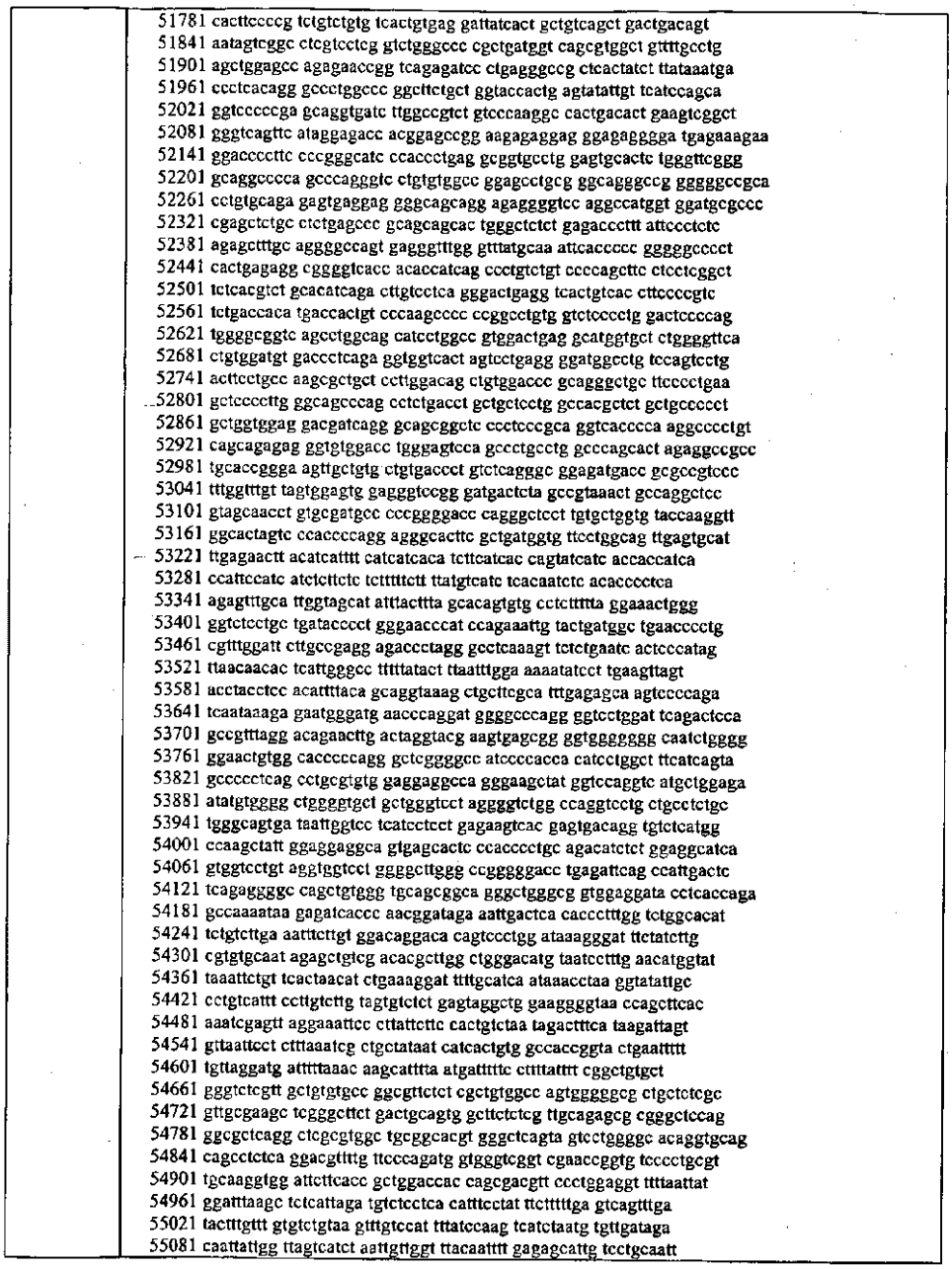
【０１５５】

【化５０】


48421 aaactcacac acacggctaa tggtgctggg attttagttt tcaaaacgga ctcatactct
48481 gcctatgagc ctgcaactat ttattcagtc tgttgagatt ttctatatca gcccacatgg
48541 atcccgcatg ttctctgaat ggctctgtat gaattcaaag tttggaagaa gcagcgtgtc
48601 tttaatcatt cgcctattaa tggacgtttg gggtgtttcc actacaaaan nnnnnnnnnn
48661 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
48721 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng atacaattcg agctcggtac cctggcttga
48781 actatatgaa cagagaacga tgagaacagt ttctcaaact tggaacagtt aacattttgg
48841 gctaaatgat tcttttttgt gtggagttgg cctatgaata gaggatatta gcagcatcat
48901 ttaaccttta ctcactacat acctgtagca actacatcct ctccatttgt gtcaatcaaa
48961 actgtctccg gacatggaca agtgtgcccc tgggatgggt ggaatgacct tttgttaaga
49021 accactgggt cagagattca tagatttttg tcttgttgac tttttaaaaa tacatcttgg
49081 tttttatttt attggtttct gctcttatct ttatgattac cttcctttta cttgggggctt
49141 cctgataga ttttcccttc tggctcagct ggtaaagaat ctgcctgcaa tgcaggagac
49201 ctgggttcag tccctgggtt gggaggatcc cctggagagg agaagggcta cccaccccag
49261 tattctggcc tggaggattc catggagtgt atagtccatg gggtcgcaga gtcggacatg
49321 actgagtgac tttcacacac acatatgtcc ctggtagctc agctagtaaa gaatcccacc
49381 cgcaatgcag gagaccccgg tccaattcct gggtccggaa gattcccttt tgtttactcc
49441 ataagatctt atctggggac aaaactaaca gctatgccag accttctgga catcagggaa
49501 cgtgaggggt gtggactgga cagatgtgtg tgttctccca aacacaaaca tacatctgta
49561 tacatgtaca tggagagagg gggagggagg ctgtgagtct ccaggggacc gtgcaaccat
49621 gtgacattca tggaggcgtt tgcgggtgat cactacacag tttcttcttc tggtttcttg
49681 gtcaattgac ttcacaattc caattcctat acttcatttt agactgaggg aattttacac
49741 tattgtaaga catatgtata catgagttat gttcagcgcc atgagggctc attttgtgtg
49801 tccactttgc ctggaaacaa agttggactg atttacttct aggggtgcct gggggtgttt
49861 ctggaggaca ggagcatttg aacccaaggg ctcggtgaag catgagcctc tctgcaggtg
49921 gacccaggag gaacgcaagg ccgaggaagg cagactctcc tcctccctaa cccgaggtct
49981 ctgctcagaa aagggacaat ataatgacta gaagaaaaga aagaacatca gctgtgggag
50041 gtttgttctc tggagcagat tcacacgttg aggctcatgt gcaggaattc taggtgaaac
50101 agagcagtca cccatgtgtg ttggaaaatt ttaaattaca tttgcagtta cgactttgtt
50161 taagccagac agggtagcac agcaaagtca ccatgtggtc acctgtgttt tgtaaaggag
50221 agagaacttg ctggcacatt caggaaaggc cgtgtctcag ctttggaggc acactgagag
50281 gccacaagca gatggtgagg accagggtct cgggcagagg gatcaattca ctgctcttca
50341 cttttgccac atctgtgtgc tgtccatcct ggccagagta gttcagtctt cagatgctgg
50401 agttcccatt ggtagaaatc caatctgggt cattttaaa cctctcttgg ttctacttaa
50461 tggttttaaa atctctttgg ctcaagaaaa aaaataaaca taattttaaa gggtggtttg
50521 gggccttgac tataaagtac attatctggg ccatttcaga gcatggttga attaatacat
50581 ttcgtgctta ctatagctcc tatttcttg attcttaca ggtaattttt gttaggaatc
50641 gggtactgtg aatattttct tgttgaatac gggatctttg tatttttcc taatttttt
50701 ttttttttca ttttggttt tacctcagg aaagtcacta ggactcagga aagtcctttg
50761 tccgcctgtt atttcagtct cttacctggg gccagggcag cgtttcctct gggctaagtt
50821 tccccacaac cggggccagt tctcctcact cttcaccctg aggccttaat gaggagctcc
50881 cctgcgtctg agcagccggc cctcctgtga cgtgcgtgtg tctctggcca tcggcgtccg
50941 gtgtccttgg aggttccgtc ctccttcgc tcactgtgcc ccgcactcga gctctcaggc
51001 tccaagcagt gtccgcagtg tgcagaccct ctgtgtagct ctctcctcct caggactctt
51061 ccctctagat gtgtgttttc ttttggctcc ttggacctcc gctctgaacg caggcctggt
51121 gctgagtgtg atctctggag ggaagcctgg gaggctggac gggtccgccc tgcggtgtgg
51181 tgacaggtgt gggctcgggg cggggcctgc acgtcgtcct gacccgagcc gggactgggc
51241 tccgggcctc aggcatcact gactgaatct ccctcacaga ggggtcaggg cctgggcggg
51301 ggaaccgtct ctgcaatgac agcccctccc agggagggca cagcggggag ctgccgaggc
51361 tccagcccta gtgggaggtc ggggagccca ggggagcggc ctgacggccc cacaccggcc
51421 cagggctggt tcgttctgtt tctcgagctc aacagaagct ccgaggagct gggcagttct
51481 ctgaattcgt cccggagttt tggctgctga gtgtcctgtc agcaccgtat ggacatccag
51541 agtccattag cagtggtctc tgtccctctg tctgtccttc atcaggctct ttgtccaggt
51601 caccacacgg ccaacaccag gacagtctgg tcccgccagc ccatcgtccc tgcggacgcc
51661 cctgtgcagc ctgccgaagg gccgggaggc cgggggaacc gggccaggcc tgtccctgct
51721 gtgtccacag tcctcccggg gctggaggag agcgtgagca ggacgggagg gtttgtgtct

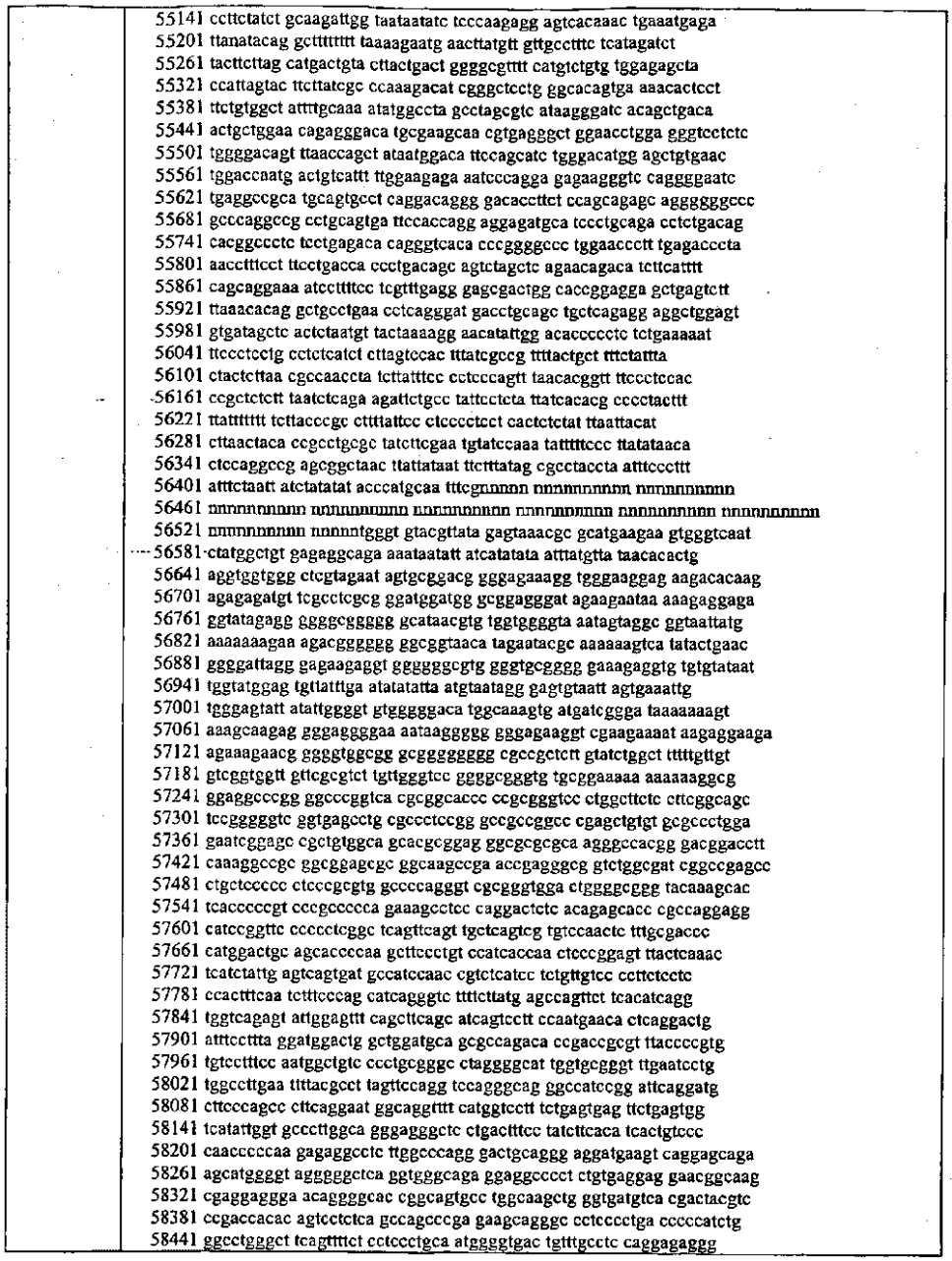
【０１５６】

【化５１】


51781 cacttccccg tctgtctgtg tcactgtgag gattatcact gctgtcagct gactgacagt
51841 aatagtcggc ctcgtcctcg gtctgggccc cgctgatggt cagcgtggct gttttgcctg
51901 agctggagcc agagaaccgg tcagagatcc ctgagggccg ctcactatct ttataaatga
51961 ccctcacagg gccctggccc ggcttctgct ggtaccactg agtatattgt tcatccagca
52021 ggtcccccga gcaggtgatc ttggccgtct gtcccaaggc cactgacact gaagtcggct
52081 gggtcagttc ataggagacc acggagccgg aagagaggag ggagaggggа tgagaaagaa
52141 ggaccccttc cccgggcatc ccaccctgag gcggtgcctg gagtgcactc tgggttcggg
52201 gcaggcccca gcccagggtc ctgtgtggcc ggagcctgcg ggcagggccg gggggccgca
52261 cctgtgcaga gagtgaggag gggcagcagg agaggggtcc aggccatggt ggatgcgccc
52321 cgagctctgc ctctgagccc gcagcagcac tgggctctct gagacccttt attccctctc
52381 agagctttgc aggggccagt gagggtttgg gtttatgcaa attcaccccc gggggcccct
52441 cactgagagg cggggtcacc acaccatcag cctgtctgt ccccagcttc ctcctcggct
52501 tctcacgtct gcacatcaga cttgtcctca gggactgagg tcactgtcac cttccccgtc
52561 tctgaccaca tgaccactgt cccaagcccc ccggcctgtg gtctcccctg gactccccag
52621 tggggcggtc agcctggcag catcctggcc gtggactgag gcatggtgct ctggggttca
52681 ctgtggatgt gaccctcaga ggtggtcact agtcctgagg ggatggcctg tccagtcctg
52741 acttcctgcc aagcgctgct cctggacag ctgtggaccc gcagggctgc ttcccctgaa
52801 gctccccttg ggcagcccag cctctgacct gctgctcctg gccacgctct gctgccccct
52861 gctggtggag gacgatcagg gcagcggctc cctcccgca ggtcacccca aggccccctgt
52921 cagcagagag ggtgtggacc tgggagtcca gccctgcctg gcccagcact agaggccgcc
52981 tgcaccggga agttgctgtg ctgtgaccct gtctcagggc ggagatgacc gcgccgtccc
53041 tttggtttgt tagtggagtg gagggtccgg gatgactcta gccgtaaact gccaggctcc
53101 gtagcaacct gtgcgatgcc cccggggacc cagggctcct tgtgctggtg taccaaggtt
53161 ggcactagtc ccacccccagg agggcacttc gctgatggtg ttcctggcag ttgagtgcat
53221 ttgagaactt acatcatttt catcatcaca tcttcatcac cagtatcatc accaccatca
53281 ccattccatc atctcttctc tctttttctt ttatgtcatc tcacaatctc acacccctca
53341 agagtttgca ttggtagcat atttacttta gcacagtgtg cctctttta ggaaactggg
53401 ggtctcctgc tgatacccct gggaacccat ccagaaattg tactgatggc tgaacccctg
53461 cgtttggatt cttgccgagg agaccctagg gcctcaaagt tctctgaatc actcccatag
53521 ttaacaacac tcattgggcc tttttatact ttaatttgga aaaatatcct tgaagttagt
53581 acctacctcc acattttaca gcaggtaaag ctgcttcgca tttgagagca agtccccaga
53641 tcaataaaga gaatgggatg aacccaggat ggggcccagg ggtcctggat tcagactcca
53701 gccgtttagg acagaacttg actaggtacg aagtgagcgg ggtgggggggg caatctgggg
53761 ggaactgtgg cacccccagg gctcggggcc atccccacca catcctggct ttcatcagta
53821 gcccccтcag cctgcgtgtg gaggaggcca gggaagctat ggtccaggtc atgctggaga
53881 atatgtgggg ctggggtgct gctgggtcct aggggtctgg ccaggtcctg ctgcctctgc
53941 tgggcagtga taattggtcc tcatcctcct gagaagtcac gagtgacagg tgtctcatgg
54001 ccaagctatt ggaggaggca gtgagcactc ccacccctgc agacatctct ggaggcatca
54061 gtggtcctgt aggtggtcct ggggcttggg ccgggggacc tgagattcag ccattgactc
54121 tcagaggggc cagctgtggg tgcagcggca gggctgggcg gtggaggata cctcaccaga
54181 gccaaaataa gagatcaccc aacggataga aattgactca caccctttgg tctggcacat
54241 tctgtcttga aatttcttgt ggacaggaca cagtccctgg ataaagggat ttctatcttg
54301 cgtgtgcaat agagctgtcg acacgcttgg ctgggacatg taatcctttg aacatggtat
54361 taaattctgt tcactaacat ctgaaaggat ttttgcatca ataaacctaa ggtatattgc
54421 cctgtcattt ccttgtcttg tagtgtctct gagtaggctg gaaggggtaa ccagcttcac
54481 aaatcgagtt aggaaattcc cttattcttc cactgtctaa tagactttca taagattagt
54541 gttaattcct ctttaaatcg ctgctataat catcactgtg gccaccggta ctgaatttтt
54601 tgttaggatg attttaaac aagcatttta atgatttttc ctttattttt cggctgtgct
54661 gggtctcgtt gctgtgtgcc ggcgttctct cgctgtggcc agtgggggcg ctgctctcgc
54721 gttgcgaagc tcgggcttct gactgcagtg gcttctctcg ttgcagagcg cgggctccag
54781 ggcgctcagg ctcgcgtggc tgcggcacgt gggctcagta gtcctggggc acaggtgcag
54841 cagcctctca ggacgttttg ttcccagatg gtgggtcggt cgaaccggtg tccctgcgt
54901 tgcaaggtgg attcttcacc gctggaccac cagcgacgtt ccctggaggt ttttaattat
54961 ggatttaagc tctcattaga tgtctcctca catttcctat ttctttttga gtcagtttga
55021 tactttgttt gtgtctgtaa gtttgtccat tttatccaag tcatctaatg tgttgataga
55081 caattattgg ttagtcatct aattgttggt ttacaatttt gagagcattg tcctgcaatt

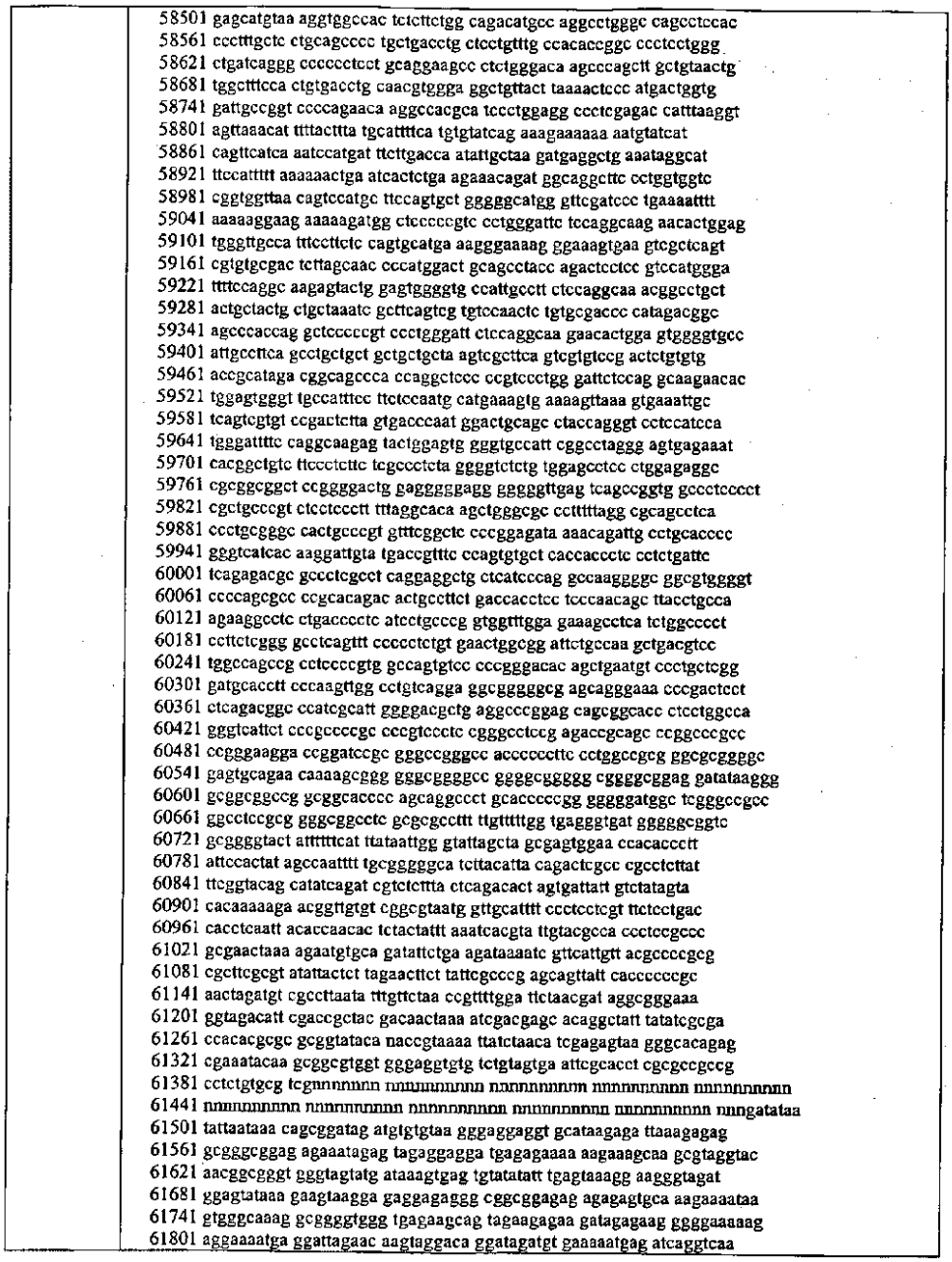
【０１５７】

【化５２】


55141 ccttctatct gcaagattgg taataatatc tcccaagagg agtcacaaac tgaaatgaga
55201 ttanatacag gcttttttt taaaagaatg aacttatgtt gttgcctttc tcatagatct
55261 tacttcttag catgactgta cttactgact ggggcgtttt catgtctgtg tggagagcta
55321 ccattagtac ttcttatcgc ccaaagacat cgggctcctg ggcacagtga aaacactcct
55381 ttctgtggct attttgcaaa atatggccta gcctagcgtc ataagggatc acagctgaca
55441 actgctggaa cagagggaca tgcgaagcaa cgtgagggct ggaacctgga gggtcctctc
55501 tggggacagt ttaaccagct ataatggaca ttccagcatc tgggacatgg agctgtgaac
55561 tggaccaatg actgtcattt ttggaagaga aatcccagga gagaagggtc caggggaatc
55621 tgaggccgca tgcagtgcct caggacaggg gacaccttct ccagcagagc agggggcccc
55681 gcccaggccg cctgcagtga ttccaccagg aggagatgca tccctgcaga cctctgacag
55741 cacggccctc tcctgagaca cagggtcaca cccggggccc tggaaccctt tgagacccta
55801 aacctttcct ttcctgacca ccctgacagc agtctagctc agaacagaca tcttcatttt
55861 cagcaggaaa atccttttcc tcgtttgagg gagcgactgg caccggagga gctgagtctt
55921 ttaaacacag gctgcctgaa cctcagggat gacctgcagc tgctcagagg aggctggagt
55981 gtgatagctc actctaatgt tactaaaagg aacatattgg acacccccte tctgaaaaat
56041 ttccctccig cctctcatct cttagtccac tttatcgccg ttttactgct tttctattta
56101 ctactcttaa cgccaaccta tcttatttcc cctcccagtt taacacggtt ttccctccac
56161 ccgctctctt taatctcaga agattctgcc tattcctcta ttatcacacg cccctacttt
56221 ttatttttt tcttaccccgc cttttattcc ctccccctcct cactctctat ttaattacat
56281 cttaactaca ccgcctgcgc tatcttcgaa tgtatccaaa tatttttccc ttatataaca
56341 ctccaggccg agcggctaac ttattataat ttctttatag cgcctaccta atttcccttt
56401 atttctaatt atctatatat acccatgcaa tttcgnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
56461 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
56521 nnnnnnnnnn nnnnntgggt gtacgttata gagtaaacgc gcatgaagaa gtgggtcaat
56581 ctatggctgt gagaggcaga aaataatatt atcatatata atttatgtta taacacactg
56641 aggtggtggg ctcgtagaat agtgcggacg gggagaaagg tgggaaggag aagacacaag
56701 agagagatgt tcgcctcgcg ggatggatgg gcggagggat agaagaataa aaagaggaga
56761 ggtatagagg ggggcgggggg gcataacgtg tggtggggta aatagtaggc ggtaattatg
56821 aaaaaaagaa agacgggggg ggcggtaaca tagaatacgc aaaaaagtca tatactgaac
56881 ggggattagg gagaagaggt gggggggcgtg gggtgcgggg gaaagaggtg tgtgtataat
56941 tggtatggag tgttatttga atatatatta atgtaatagg gagtgtaatt agtgaaattg
57001 tgggagtatt atattggggt gtgggggaca tggcaaagtg atgatcggga taaaaaaagt
57061 aaagcaagag gggaggggaa aataaggggg gggagaaggt cgaagaaaat aagaggaaga
57121 agaaagaacg ggggtggcgg gcgggggggg cgccgctctt gtatctggct ttttgttgt
57181 gtcggtggtt gttcgcgtct tgttgggtcc gggcgggtg tgcggaaaaa aaaaaaggcg
57241 ggaggcccgg ggcccggtca cgcggcaccc ccgcgggtcc ctggcttctc cttcggcagc
57301 tccgggggtc ggtgagcctg cgcctccgg gccgccggcc cgagctgtgt gcgccctgga
57361 gaatcggagc cgctgtggca gcacgcggag ggcgcgcgca agggccacgg gacggaccti
57421 caaaggccgc ggcggagcgc ggcaagccga accgagggcg gtctggcgat cggccgagcc
57481 ctgctcccce ctcccgcgtg gccccagggt cgcgggtgga ctgggggcggg tacaaagcac
57541 tcacccccgt cccgcccccа gaaagcctcc caggactctc acagagcacc cgccaggagg
57601 catcggttc ccccctcggc tcagttcagt tgctcagtcg tgtccaactc tttgcgaccc
57661 catggactgc agcacccaaa gcttccctgt ccatcaccaa ctcccggagt ttactcaaac
57721 tcatctattg agtcagtgat gccatccaac cgtctcatcc tctgttgtcc ccttctcctc
57781 ccactttcaa tctttcccag catcagggtc ttttcttatg agccagttct tcacatcagg
57841 tggtcagagt attggagttt cagcttcagc atcagtcctt ccaatgaaca ctcaggactg
57901 atttccttta ggatggactg gctggatgca gcgccagaca ccgaccgcgt ttaccccgtg
57961 tgtcctttcc aatggctgtc ccctgcggge ctaggggcat tggtgcgggt ttgaatcctg
58021 tggccttgaa ttttacgcct tagttccagg tccagggcag ggccatccgg attcaggatg
58081 cttcccagcc cttcaggaat ggcaggtttt catggtcctt tctgagtgag ttctgagtgg
58141 tcatattggt gcccttggca gggagggctc ctgactttcc tatcttcaca tcactgtccc
58201 caacccccaa gagaggccte ttggcccagg gactgcaggg aggatgaagt caggagcaga
58261 agcatggggt agggggctca ggtgggcaga ggaggcccct ctgtgaggag gaacggcaag
58321 cgaggaggga acaggggcac cggcagtgcc tggcaagctg ggtgatgtca cgactacgtc
58381 ccgaccacac agtcctctca gccagcccga gaagcagggc cctcccctga cccccatctg
58441 ggcctgggct tcagttttct cctccctgca atgggtgac tgtttgcctc caggagaggg

【０１５８】

【化５３】


58501 gagcatgtaa aggtggccac tctcttctgg cagacatgcc aggcctgggc cagcctccac
58561 cccttgctc ctgcagcccc tgctgacctg ctcctgtttg ccacaccggc ccctcctggg
58621 ctgatcaggg ccccctcct gcaggaagcc ctctgggaca agcccagctt gctgtaactg
58681 tggctttcca ctgtgacctg caacgtggga ggctgttact taaaactccc atgactggtg
58741 gattgccggt ccccagaaca aggccacgca tccctggagg ccctcgagac catttaaggt
58801 agttaaacat ttttacttta tgcatttttca tgtgtatcag aaagaaaaaa aatgtatcat
58861 cagttcatca aatccatgat ttcttgacca atattgctaa gatgaggctg aaataggcat
58921 ttccatttit aaaaaactga atcactctga agaaacagat ggcaggcttc cctggtggtc
58981 cggtggttaa cagtccatgc ttccagtgct gggggcatgg gttcgatccc tgaaaatttt
59041 aaaaaggaag aaaaagatgg ctccccccgtc cctgggattc tccaggcaag aacactggag
59101 tgggttgcca tttccttctc cagtgcatga aagggaaaag ggaaagtgaa gtcgctcagt
59161 cgtgtgcgac tcttagcaac cccatggact gcagcctacc agactcctcc gtccatggga
59221 ttttccaggc aagagtactg gagtggggtg ccattgcctt ctccaggcaa acggcctgct
59281 actgctactg ctgctaaatc gcttcagtcg tgtccaactc tgtgcgaccc catagacggc
59341 agcccaccag gctccccccgt cccigggatt ctccaggcaa gaacactgga gtggggtgcc
59401 attgccttca gcctgctgct gctgctgcta agtcgcttca gtcgtgtccg actctgtgtg
59461 accgcataga cggcagccca ccaggctccc ccgtccctgg gattctccag gcaagaacac
59521 tggagtgggt tgccatttcc ttctccaatg catgaaagtg aaaagttaaa gtgaaattgc
59581 tcagtcgtgt ccgactctta gtgacccaat ggactgcagc ctaccagggt cctccatcca
59641 tgggattttc caggcaagag tactggagtg gggtgccatt cggcctaggg agtgagaaat
59701 cacggctgtc ttccctcttc tcgccctcta ggggtctctg tggagcctcc ctggagaggc
59761 cgcggcggct ccggggactg gaggggggagg gggggttgag tcagccggtg gccctcccct
59821 cgctgcccgt ctcctcccti tttaggcaca agctgggcgc ccttttagg cgcagcctca
59881 cctgcgggc cactgcccgt gtttcggctc cccggagata aaacagattg cctgcacccc
59941 gggtcatcac aaggattgta tgaccgtttc ccagtgtgct caccaccctc cctctgattc
60001 tcagagacgc gccctcgcct caggaggctg ctcatcccag gccaaggggc ggcgtggggt
60061 ccccagcgcc ccgcacagac actgccttct gaccacctcc tcccaacagc ttacctgcca
60121 agaaggcctc ctgacccctc atcctgcccg gtggtttgga gaaagcctca tctggcccct
60181 ccttctcggg gcctcagttt cccctctgt gaactggcgg attctgccaa gctgacgtcc
60241 tggccagccg cctccccgtg gccagtgtcc cccgggacac agctgaatgt ccctgctcgg
60301 gatgcacctt cccaagttgg cctgtcagga ggcgggggcg agcagggaaa cccgactcct
60361 ctcagacggc ccatcgcatt ggggacgctg aggcccggag cagcggcacc ctcctggcca
60421 gggtcattct cccgcccccgc cccgtcccctc cgggcctccg agaccgcagc ccggcccgcc
60481 ccgggaagga ccggatccgc gggccgggcc accccccttc cctggccgcg ggcgcggggc
60541 gagtgcagaa caaaagcggg gggcgggggcc ggggcggggg cggggcggag gatataaggg
60601 gcggcggccg gcggcacccc agcaggccct gcacccccgg gggggatggc tcgggccgcc
60661 ggcctccgcg gggcggcctc gcgcgccttt ttgtttttgg tgagggtgat gggggcggtc
60721 gcggggtact attttttcat ttataattgg gtattagcta gcgagtggaa ccacaccctt
60781 attccactat agccaatttt tgcgggggca tcttacatta cagactcgcc cgcctcttat
60841 ttcggtacag catatcagat cgtctcttta ctcagacact agtgattatt gtctatagta
60901 cacaaaaaga acggttgtgt cggcgtaatg gttgcatttt ccctcctcgt ttctcctgac
60961 cacctcaatt acaccaacac tctactattt aaatcacgta ttgtacgcca ccctccgccc
61021 gcgaactaaa agaatgtgca gatattctga agataaaatc gttcattgtt acgcccgcg
61081 cgcttcgcgt atattactct tagaacttct tattcgcccg agcagttatt caccccccgc
61141 aactagatgt cgccttaata tttgttctaa ccgttttgga ttctaacgat aggcgggaaa
61201 ggtagacatt cgaccgctac gacaactaaa atcgacgagc acaggctatt tatatcgcga
61261 ccacacgcgc gcggtataca naccgtaaaa ttatctaaca tcgagagtaa gggcacagag
61321 cgaaatacaa gcggcgtggt gggaggtgtg tctgtagtga attcgcacct cgcgccgccg
61381 cctctgtgcg tcgnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
61441 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnngatataa
61501 tattaataaa cagcggatag atgtgtgtaa gggaggaggt gcataagaga ttaaagagag
61561 gcgggcggag agaaatagag tagaggagga tgagagaaaa aagaaagcaa gcgtaggtac
61621 aacggcgggt gggtagtatg ataaagtgag tgtatatatt tgagtaaagg aagggtagat
61681 ggagtataaa gaagtaagga gaggagaggg cggcggagag agagagtgca aagaaaataa
61741 gtgggcaaag gcgggggtggg tgagaagcag tagaagagaa gatagagaag ggggaaaaag
61801 aggaaaatga ggattagaac aagtaggaca ggatagatgt gaaaaatgag atcaggtcaa

【０１５９】

【化５４】

61861 ggtggagaaa aagtagaaac tggggcgtga ttgtaaaaaa gggaggccgc gatggggcag
61921 caccataagc gaagagatga attaatgaaa gcaaggcagg gagaatcaaa tgagttgggt
61981 ggaggaagga ggctgtgact tccttcgctg ccggaaagag aactagaata gcctcgggct
62041 gtggggggag gtaaagataa agtgacttct gggccctggg ggaggcccag gagtttctac
62101 cgagctgagc tgggtgcctc tcccaaatgc ccaaccccct gagagtcgac gggagagcac
62161 agcctggcca aacctgggca gggcacacgt gtccttcacc ccacagtggt cacgagccca
62221 gcgtggtccc tgcgtctggc gggaaacaca gaccctcaca ccccacacaa gggtccggcc
62281 gctttcaaat aacagcagcc gtgccctctg ggccggtgac ccggacacag agagatgaag
62341 tccgcatctc tcagagtgcg ctgtcctccg cccggtcagg cccgggtccc ctgcttctct
62401 gaggtcacca ggagggattg catgtgggtc tcagggacac aggttcagtg atgtgacaga
62461 gggtagtggg tcccagcagg gccggtcttt ggacccgttt ttctgaaaag ccagttggcg
62521 acctggggtc acagcaaagc tgatcctgtt tggccaggag tctcccagtg acggcctccc
62581 ccagaacatc gggcccagtg ggggctccag ggggtagact tgcctcccag ctcacgcccg
62641 tgtcttgaca agtccatgat ttggtaaaat taatttgtgt tggatggagt tgatttagtg
62701 gtgtgtgagt ttctgtggcg cagcaaagtc aatcagttac gcatacacat gtatccagct
62761 cttcctacga ttctgttccc atataggtca ttatggggtg tcaggtagag cttcctgtgc
62821 tacgcagtac ggccttattc agttcagctc agtcgtgtcc gactccttgt gaccccatgg
62881 actgcagcac gccaggctcc cctgtccatc accaactcct ggagcttatt caaactcatg
62941 tccatcgagc cggtgatgcc atccaaccat ctcatcctct gtcgttccct ctcctcctgc
63001 cttcagtctt tcccagcacc ccctagagaa gggaatggca aaccacttcg gtattcttgc
63061 cctgagaacc ccatgaacag tacggaaagt ccttattagt tttctatttt atatatagca
63121 gtgcacacgt gtcagcccca atctcgcaat ttatcacccc cctccgccgc cgattggtag
63181 tcatgtttgt tttctacatc tgcgactcta tttctgtttt gtaaacaagt tcatttacac
63241 cacttttta gattctgcac atacgtggca agcccacagc aaacatgctc aatggtgaaa
63301 gactgaaagc atttcctcta agatcaaaaa caagacgagg atgtccactc actccgtttt
63361 tactcaacac agccctgaac gtcctagcca tggcaatcag agaagagaaa gaaattaagg
63421 aatccaaatt ggaaaagaag aagtaaaact cactctttgc aaatgacatg acacttatac
63481 ccagaaaatc ctagagatgc taccagataa ctattagagc tcatcagtga atttgttgca
63541 ggatacaaaa ttaatacaca gaaatctcct gcattcctat agactgacaa caaaagatct
63601 gagagagaaa ttaaggaaac catcccacgg catgaaaaag agtaaaatac ctaggaataa
63661 agctacctaa agaggcaaaa gacctgtact cagaaaacta taaaatactg acaaaggaaa
63721 tcagacgaca cagagagaga gagataccac gctcttggat gagaagaatc gatagtgtga
63781 caatgactat actacccaga gaaacataca gattcagtac aacccctatc aaattcccaa
63841 tggcattttt cacagaatca gaattagaac aaaaagtttt acaagtttca gggaaacaag
63901 aaagatccta aagagccaga gcaatcttga gaaagaaaaa tggagctgga agagtcaggc
63961 tccctgagtt ctgactgtgt atacaaagct ggcatgattt ttaacagcag gggtgtaaat
64021 gaacttgttc acaaaacaga tggtggggtg ggcttccctg gtggctcagc tggtaaagaa
64081 tcctcctgca acgcaggaga cctgggttcg atccctaggc tgggaagatc ccctggagaa
64141 gggaaaggct acccactcca gtattctggc ctggaaaatt ccaaggacca tatagtccat
64201 gggtttgcaa agagtcggac acgactgagc gacttccaat cctggaaacg tcccattgtg
64261 gacggtgaac tggggttgtc caagctcagg gtaaccgttt gctgagtgac tgacactcct
64321 tctcatgggt taaaatgtgg ggcccaaggc caggaccaga ccccgcagtc agccaggcag
64381 accctgtgca gccccagcga gtgtgtggcc gccgtggagt tcctggcccc catgggcctc
64441 gactggagcc cctggagtga gcccattccc tcccagcccg tgagaggctg ggtgcagccc
64501 taaccatttc ccacccagtg acagatccgc ctgtgtggaa acctgctctt gtccccaggg
64561 aacctggcag gactcaggga gaatgtctca gggcggccac agatcagggg ctgggggggc
64621 agggctgggt ccagcagagg ccctgtgccc actccccgga aagagcagct gatggtcagc
64681 atgacccacc agggcaccga cgcgtgcttg cacacaggcc gcccctcat ggtgacactc
64741 ttttcctgtg gccacatctc gccccctcag gtccctcctg ctccccagct cctggcctgg
64801 gaacctcttc cccgcccccgg ggacgtcagg gctggtgtcc actgagcatc ccatgcccgg
64861 gactgtgctg atcaccagca cctgcacccc ctctcgggtc tcaccaggat gggcaactcc
64921 tgcccatcca gcacccagcc tcctgggtac acatcggggg aggagggaga agcctgggcc
64981 agacccccag tgggctcctt aaggaggaca gaaaggctgc cgtgggccag ccgagagcag
65041 ctctctgaga gacgtgggac cccagaccac ctgtgagcca cccgcagtgt ctctgctcac
65101 acgggccacc agcccagcac tagtgtggac gagggtgagt gggtgaggcc caggtgcacc
65161 agggcaagtg ggtgaggccc gagtggacag ggtgagtggg tgaggcccag gtagaccagg

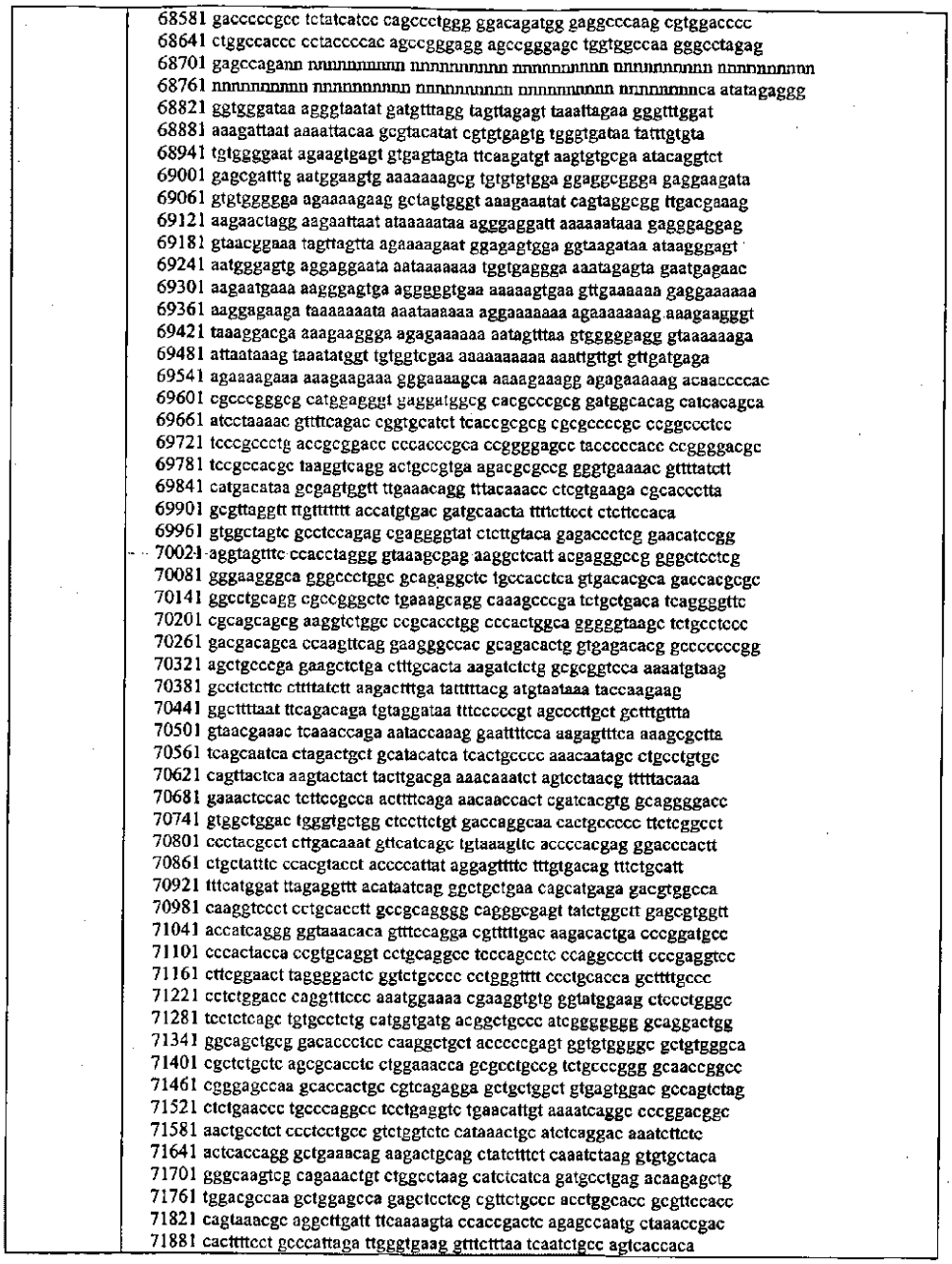
【０１６０】

【化５５】

65221 gcccatgtgg gtgaggcccg ggtggaccag agtgagcggg tgaggcccag gtggacaggg
65281 cgagcgggtg aggcccaggt ggacagggcg agcgggtgag gcccgggtgg acagggcgag
65341 cgggtgaggc ccgggtggac agggcgagcg ggtgaggccc gggtggacag ggcgagtggg
65401 tgaggcccgg gtggaccagg gcgagtgggt gaggcccggg tggacagggc gagtgggtga
65461 ggcccgggtg gaccagggcg agtgggtgag gcccaggtgg acagggtgag tgggtgaggc
65521 ccagggtagac cagggcccag agcaaagccc cggctcagca gtgatttcct gagcgcccac
65581 tgcttgcagg gacctcagcg atggtaaggc agccctgttg ggggctcccg actggggaca
65641 gcatgcagag agcgagtggt cccctggaga aacagccagg gcatggccgg gcgccctgcc
65701 aggctgcccc aggggccaca gctgagcccc gaggcggcca ggggccggga cagccctgat
65761 tctgggttgg gggctggggg ccagagtgcc ctctgtgcag ctgggccggt gacagtggcg
65821 cctcgctccc tgggggcccg ggagggacgg tcaggtggaa aatggacgtt tgcgggtctc
65881 tggggttgac agttgtcgcc attggcactg ggctgttggg gcccagcagc ctcaggccag
65941 cacccccggg gctcccccacg ggcccccgcac cctcacccca cgcagctggc ctggcgaaac
66001 caagaggccc tgacgcccga aatagccagg aaaccccgac cgaccgccca gccctggcag
66061 caggtgcctc cctctccccg gggtgggggg aggggttgct ccagttctgg aagcttccac
66121 cagcccagct ggagaaaggc ccacatccca gcacccaggc cgcccaggcc cctgtgtcca
66181 ggcctggccg cctgagacca cgtccgtcag aagcggcatc tcttatccca cgatcctgtg
66241 tctgggatcc tggaggtcat ggccccctcc ggggccccag gagcccatct aagtgccagg
66301 ctcagagctg aggctgccgc gggacacaga ggagctgggg ctggcctagg gcaccgcggt
66361 cacacttccc ctgccgcccc tcacttggga ctctttgcgg ggagggactg agccaagtat
66421 ggggatgggg agaaaaatgg ggacctctac gatcactgcc ctgggagccc tggtgcgtct
66481 ggagtaacaa tgcggtgact cgaagcacag ctgttcccca cgaggcctca cagggtcctt
66541 ctccagggga cgggacctca gatggccagt cactcatcca ttccccacga ggcctcacag
66601 ggtccttctc caggggacgg gacctcagat ggccagtcac tcatccattc cccatgaggt
66661 ctcacagggt ccttctccag gggacgggac ctcagatggc cagtcactca tccattcccc
66721 acgaggcctc acagggtcct tctccagggg acgggacccc agatgggcca gtcactcatc
66781 catccgtctg tgcacccatc cgtccaacca tcacccttcc ctccatccat ctgaaagctt
66841 ccctgaggcc tccccgggga cccagcctgc atgcggccct cagctgctca tcccaggcca
66901 gtcaggcccg gcacagtcaa ggccaaagtc agacctggaa ggtgcctgct tcaccacggg
66961 aggaggggag ctgtggacac agggcgcccc atgccctgcc cagcctgccc cccgtgctcg
67021 gccgagatgc tgagggcaac ggggggcag gaggtgggac agacaggcca gcgtgggggg
67081 ccagctgccg cctggctgcg ggtgagcaga ctgccccccct caccccaggt acaggtctcc
67141 ctgatgtccc ctgccctccc tgcctccctg tccggctcca atcagagagg tcccggcatt
67201 ccagggctcc gtggtcctca tgggaataaa aggtggggaa caagtacccg gcacgctctc
67261 ctgagcccac ccccaaacac acacaaaaaa atccctccac cggtgggact tcaccagctc
67321 gttctcaggg gagctgccag ggggtccccc agccccagga agccaggggc caggcctgca
67381 agtccacagc cataacacca tgtcagctga cacagagaga cagtgtctgg tggacaggtg
67441 cccccacctg cgagcctgga gagtgtggcc ctcgcctgcc ccagccgcgg tcagtcggct
67501 cagcaaccgc tgtccactcc cagcgccctg gcctcccctg tgggcccagg tcaagtcctg
67561 ggggtgaagc taagtcaggg agcctcatcc atgcccagcc cggagcccac agcgccatca
67621 agaaatgctt cttccctcca tcaggaaaca ttagtgggaa agacaagagc tggggggttc
67681 tggggtcctg ggggatcaga tgaaggggtc tgggagcagc agcagcctca ggcaccccaa
67741 aacaaggccc aggagctgga ctcccagggc tgagggccag agggaaggaa ggcctcctgg
67801 ggggttggca tgagcaaagg cacccaggtg ggggctgagc acccctcggc tggcacacac
67861 aggccccccac tgcagtacct tccccctcgg agaccctggg ctcccgtctc ccgcctggcc
67921 tgccatcctg ctcaccaccc agaaatccct gagtgcggtg ccatgtgact gggccctgcc
67981 ctggggagga aggagattca gacagacagg atgccagggc agagaggggc gagcagagga
68041 tgctgggagg gggcccgggg aggcctgggg ggcaggggag caggagttct ccagggtgga
68101 cggcgctgtg ctatgctcgg tgagcacaga ggccccgggt gtcccaggcc tgggaaccca
68161 gcagaggggc agggacgggg ctcaaaggac ccaaaggccg agccctgacc agacctgtgg
68221 gtccagaagg cagctgcgcc ctgaggccac tgagtggccc cgtgtcccga accacgctg
68281 aaacatggga cacacgttcc caggcggagc cactcctgcc ttccgggagg ctcccagcgg
68341 gctcatcgct ccatcccaca gggagggaaa ccgaggccca gatgacgaac atcccggcga
68401 gcaggtcaaa gccagccccct ggggtccccct ctcccggcct ggggcctccc ctctgcaggg
68461 tgggaaaccg aggccacaca ggggctccat ggggctgccc tctgccaggc cctggacacc
68521 ccgcgggtga ccccgcctc tatcatccca gccctgccag gccctggaca ccccgtggat

【０１６１】

【化５６】


68581 gacccccgcc tctatcatcc cagcccctggg ggacagatgg gaggcccaag cgtggacccc
68641 ctggccaccc cctaccccac agccgggagg agccgggagc tggtggccaa gggcctagag
68701 gagccagann nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
68761 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnca atatagaggg
68821 ggtgggataa agggtaatat gatgtttagg tagttagagt taaattagaa gggtttggat
68881 aaagattaat aaaattacaa gcgtacatat cgtgtgagtg tgggtgataa tatttgtgta
68941 tgtggggaat agaagtgagt gtgagtagta ttcaagatgt aagtgtgcga atacaggtct
69001 gagcgatttg aatggaagtg aaaaaaagcg tgtgtgtgga ggaggcggga gaggaagata
69061 gtgtgggggа agaaaagaag gctagtgggt aaagaaatat cagtaggcgg ttgacgaaag
69121 aagaactagg aagaattaat ataaaaataa agggaggatt aaaaaataaa gagggaggag
69181 gtaacggaaa tagttagtta agaaaagaat ggagagtgga ggtaagataa ataagggagt
69241 aatgggagtg aggaggaata aataaaaaaa tggtgaggga aaatagagta gaatgagaac
69301 aagaatgaaa aagggagtga agggggtgaa aaaaagtgaa gttgaaaaaa gaggaaaaaa
69361 aaggagaaga taaaaaaata aaataaaaaa aggaaaaaaa agaaaaaaag aaagaagggt
69421 taaaggacga aaagaaggga agagaaaaaa aatagtttaa gtgggggagg gtaaaaaaga
69481 attaataaag taaatatggt tgtggtcgaa aaaaaaaaaa aaattgttgt gttgatgaga
69541 agaaaagaaa aaagaagaaa gggaaaagca aaaagaaagg agagaaaaag acaaccccac
69601 cgcccgggcg catggagggt gaggatggcg cacgcccgcg gatggcacag catcacagca
69661 atcctaaaac gttttcagac cggtgcatct tcaccgcgcg cgcgccccgc ccggccctcc
69721 tcccgccctg accgcggacc cccacccgca ccgggggagcc taccccccacc ccggggacgc
69781 tccgccacgc taaggtcagg actgccgtga agacgcgccg gggtgaaaac gttttatctt
69841 catgacataa gcgagtggtt ttgaaacagg tttacaaacc ctcgtgaaga cgcacccctta
69901 gcgttaggtt ttgttttttt accatgtgac gatgcaacta ttttcttcct ctcttccaca
69961 gtggctagtc gcctccagag cgaggggtat ctcttgtaca gagaccctcg gaacatccgg
70021 aggtagtttc ccacctaggg gtaaagcgag aaggctcatt acgagggccg gggctcctcg
70081 gggaagggca gggccctggc gcagaggctc tgccacctca gtgacacgca gaccacgcgc
70141 ggcctgcagg cgccgggctc tgaaagcagg caaagcccga tctgctgaca tcaggggttc
70201 cgcagcagcg aaggtctggc ccgcacctgg cccactggca gggggtaagc tctgcctccc
70261 gacgacagca ccaagttcag gaagggccac gcagacactg gtgagacacg gccccccggg
70321 agctgcccga gaagctctga ctttgcacta aagatctctg gcgcggtcca aaaatgtaag
70381 gcctctcttc cttttatctt aagactttga tatttttacg atgtaataaa taccaagaag
70441 ggcttttaat ttcagacaga tgtaggataa tttccccccgt agcccttgct gctttgttta
70501 gtaacgaaac tcaaaccaga aataccaaag gaatttttcca aagagtttca aaagcgctta
70561 tcagcaatca ctagactgct gcatacatca tcactgcccc aaacaatagc ctgcctgtgc
70621 cagttactca aagtactact tacttgacga aaacaaatct agtcctaacg tttttacaaa
70681 gaaactccac tcttccgcca acttttcaga aacaaccact cgatcacgtg gcaggggacc
70741 gtggctggac tgggtgctgg ctccttctgt gaccaggcaa cactgccccc ttctcggcct
70801 cctacgcct cttgacaaat gttcatcagc tgtaaagttc acccacgag ggaccccactt
70861 ctgctatttc ccacgtacct acccccattat aggagttttc tttgtgacag tttctgcatt
70921 tttcatggat ttagaggttt acataatcag ggctgctgaa cagcatgaga gacgtggcca
70981 caaggtccct cctgcacctt gccgcagggg cagggcgagt tatctggctt gagcgtggtt
71041 accatcaggg ggtaaacaca gtttccagga cgtttttgac aagacactga cccggatgcc
71101 cccactacca ccgtgcaggt cctgcaggcc tcccagcctc ccaggccctt cccgaggtcc
71161 cttcggaact taggggactc ggtctgcccc cctgggtttt ccctgcacca gcttttgccc
71221 cctctggacc caggtttccc aaatggaaaa cgaaggtgtg ggtatggaag ctccctgggc
71281 tcctctcagc tgtgcctctg catggtgatg acggctgccc atcgggggggg gcaggactgg
71341 ggcagctgcg gacacccctcc caaggctgct accccccgagt ggtgtggggc gctgtgggca
71401 cgctctgctc agcgcacctc ctggaaacca gcgcctgccg tctgcccggg gcaaccggcc
71461 cgggagccaa gcaccactgc cgtcagagga gctgctggct gtgagtggac gccagtctag
71521 ctctgaaccc tgcccaggcc tcctgaggtc tgaacattgt aaaatcaggc cccggacggc
71581 aactgcctct ccctcctgcc gtctggtctc cataaactgc atctcaggac aaatcttctc
71641 actcaccagg gctgaaacag aagactgcag ctatctttct caaatctaag gtgtgctaca
71701 gggcaagtcg cagaaactgt ctggcctaag catctcatca gatgcctgag acaagagctg
71761 tggacgccaa gctggagcca gagctcctcg cgttctgccc acctggcacc gcgttccacc
71821 cagtaaacgc aggcttgatt ttcaaaagta ccaccgactc agagccaatg ctaaaccgac
71881 cacttttcct gcccattaga ttgggtgaag gtttctttaa tcaatctgcc agtcaccaca

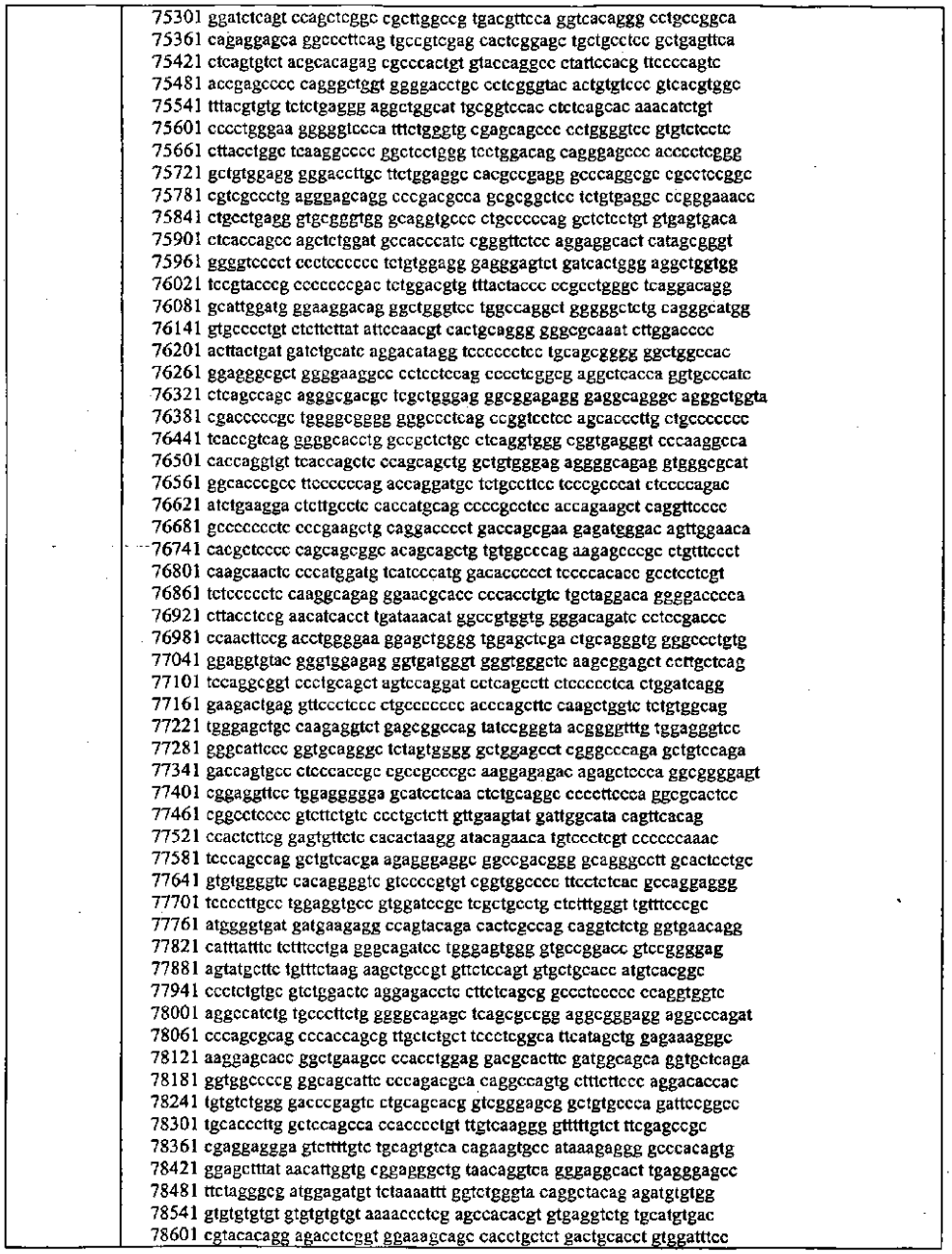
【０１６２】

【化５７】

71941 tgccgcctct gtgcccacag gctggcgaag acctttctga gctacggcat gtggcaggca
72001 gcggcacctc tcttcagtac ggccagctgt caaggggagc gtttctgtga tgatgtgaaa
72061 atacattgca tccggccccg tgtttcatga acacgggtga ggaaaggaaa cacacaaagt
72121 tctgatgcga ctgacagcac gggtctcata actcaataca agtcagacaa accacaggga
72181 gtcacaggga atcccaatag cctcatctag tgtgaccatc atgaggctta atttattcag
72241 tgtattcaat cataaagagg gggaaaaatt gtaaaaaaaa aaaaaaagaa agagtgaaat
72301 gtgtaatact gaaaactgtt gctaggagaa gcaagcattg gcgtttgtaa ctgctttgac
72361 tccccaagac ccacactcgc ctcgctacaa aagggaggca ctgctgctca gtacttgcac
72421 acccgaactg cggatttgta atttaaaaat gtgtgtgtgg acacagcaca agccagagac
72481 tgccaaaggt tgagggacac tggaagaact taatatactt ggtgcatgct gccagtgaca
72541 gtcagtcacc agctgattca atagagtgcc gaaaggtcac cttttaggta aggatgaagg
72601 ggttctgggc tcgtttactt gcactaactc agagttagtc cgagatatcc gaagtgccag
72661 gtgcctccca tttgctgatg gatctagctc agggacggct gggcctagc catccaaaaa
72721 tcaagcattg ttctcccaac ctgtcttctc gctgataatg gaaggtcaga acgcccaccc
72781 gcccacctca aagtcaaaga acaccaagcg ggtgagtccc cactaagctc ggtgtttcca
72841 atcagcggtt tcaggattcc agctggggca atgagggagg gagcgtgcga gggatccaac
72901 acctcgcccc gtgcgcagca agggataacc caacaccccg tttctgtacg tccggctgga
72961 gttgtggaac tcagcgcgga cccggggcca ccgcgacccc cgggaccctg gccgcgcggc
73021 gcatccccgc tgccgggaca cgggtaagcg tccccaaact gccggacgcg gggcggggcc
73081 ttctccgcca cgcccgata ggccacgccc aaggacaagg atggtcgtgc ccagacggcc
73141 ggggcgggnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
73201 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnncg gagggggggg
73261 ggcggggcgg gggctgccgc cgcgcgtata ggacggtggt cgcccggcct ggggtccggc
73321 cgggaatgac cccgcctctc cccgcatccc gcagccgccc cgccgcgccc tctgccgcgc
73381 accccgctgc gcaccccgccg ccctcggccg cggccccggc ccccgccccg tcgggccagc
73441 ccggcctgat ggcgcagatg gcgaccaccg ccgccggagt ggccgtgggc tcggctgtgg
73501 gccacgtcgt gggcagcgct ctgaccggag ccttcagtgg ggggagctca gagcccgccc
73561 agcctgcggc ccagcaggtg agcaagggct cagggggaaac tgaggcccga cacagagccg
73621 cagcaagaag gatcctactg gtcactcggc tgttggcctg gggtcatcac aggcgggctc
73681 tcccaaccca tcccctgagg ccaaggtccc tagaaccccg tgggcagaca ccaaccagcc
73741 ctttaaatat ggggaaacca aggtgcttag gggtcagaga tagccctagg tcgcccaacc
73801 ctagtagaag ggagggctgt tggagttcct gagtgcccgc tctcccaccc cccgggaggc
73861 cccttcctga gcccaagggt gactggtagt cagtgacttt gggcctgccg acctgtaccc
73921 cactgggcac cccaccagtc ctgagccaca tttgggctta gtgacggggt cagggatcat
73981 gaggatcaat gtggctgagc caggaaggtg ttagaacctg tcggcctgga gttcatacca
74041 gcactgccct gggcttttct agacccatgt cccgcctcct gccccacctg ccctgttcc
74101 cgcacccccac cagcagcggc aggggcttcg agagggctgt gggctcaccc tatttcaggg
74161 atggagccgc taagacctgg ggcacactgc ccgctaggga cccctgaggc accagggccg
74221 ggggctctgc ggagggggcag ccgccacccc cagctttgga gtcctctccc gggtgcccag
74281 cccgagctga tccggctgcc tcccacgctg tgccccaggg cccggagcgc gccgcccccgc
74341 agcccctgca gatggggccc tgtgcctatg agatcaggca gttcctggac tgctccacca
74401 cccagagcga cctgacccctg tgtgagggct tcagcgaggc cctgaagcag tgcaagtaca
74461 accacggtga gcggctgctg cccgactggc gccagggtgg gaagggcggt ccacggctcc
74521 cactccttcg gggtgctccc gctattccca ggtgctcctg cacttcccat gtgctcccga
74581 ttctccctgg tgctccctct cctcctggct gctcctttgc ctcccaggtg ctcccacttc
74641 tccctggtgc tcctgctcct cccggcggct cctgtacctt cggcctgacc tcctcctct
74701 acaggtctga gctcccctgcc ctaagagacc agagcagatt gggtggccag ccctgcaccc
74761 acctgcaccc ccctcccacc gacagccgga ccatgacgtc agattgtacc caccgagctg
74821 ggacccagag tgaggagggg gtccctcacc ccacagatga cctgagatga aaacgtgcaa
74881 ttaaaagcct ttattttagc cgaacctgct gtgtctcctc ttgttggact gtctgcgggg
74941 ggcgggggcg agggagatgg aagtcccact gcggggtggg gtgcccaccc ttcagctgct
75001 gcccccctgtg gggagggtga ccttgtcatc ctgcgtaatc cgacgggcag cgcagaccgg
75061 atggtgaggc actaactgct gacctcaagc ctcaagggcg tccgactccg gccagctgga
75121 gaccctggag gagcgtgccg cctcttctc gtctctgggg gcccctcggt ggcctcacgc
75181 tctgtcggtc accttgcccc tcttgctgat gcaatttccc cgtaattgca gattcagcag
75241 gaggaatgct tcgggccttt gcacctgacc gcatgagcag aggtcacggc cagccccctt

【０１６３】

【化５８】


75301 ggatctcagt ccagctcggc cgcttggccg tgacgttcca ggtcacaggg cctgccggca
75361 cagaggagca ggccctttcag tgccgtcgag cactcggagc tgctgcctcc gctgagttca
75421 ctcagtgtct acgcacagag cgcccactgt gtaccaggcc ctatttccacg ttccccagtc
75481 accgagcccc cagggctggt ggggacctgc cctcgggtac actgtgtccc gtcacgtggc
75541 tttacgtgtg tctctgaggg aggctggcat tgcggtccac ctctcagcac aaacatctgt
75601 ccccctgggaa gggggtccca tttctgggtg cgagcagccc cctggggtcc gtgtctcctc
75661 cttacctggc tcaaggcccc ggctcctggg tcctggacag cagggagccc acccctcggg
75721 gctgtggagg gggaccttgc ttctggaggc cacgccgagg gcccaggcgc cgcctccggc
75781 cgtcgccctg agggagcagg cccgacgcca gcgcggctcc tctgtgaggc ccgggaaacc
75841 ctgcctgagg gtgcgggtgg gcaggtgccc ctgccccccag gctctcctgt gtgagtgaca
75901 ctcaccagcc agctctggat gccacccatc cgggttctcc aggaggcact catagcgggt
75961 ggggtcccct cctcccccc tctgtggagg gagggagtct gatcactggg aggctggtgg
76021 tccgtacccg ccccccgac tctggacgtg tttactaccc ccgcctgggc tcaggacagg
76081 gcattggatg ggaaggacag ggctgggtcc tggccaggct gggggctctg cagggcatgg
76141 gtgcccctgt ctcttcttat attccaacgt cactgcaggg gggcgcaaat cttggacccc
76201 acttactgat gatctgcatc aggacatagg tccccctcc tgcagcgggg ggctggccac
76261 ggagggcgct ggggaaggcc cctcctccag cccctcggcg aggctcacca ggtgcccatc
76321 ctcagccagc agggcgacgc tcgctgggag ggcggagagg gaggcagggc agggctggta
76381 cgacccccgc tggggcgggg gggcccctcag ccggtcctcc agcacccttg ctgccccccc
76441 tcaccgtcag ggggcacctg gccgctctgc ctcaggtggg cggtgagggt cccaaggcca
76501 caccaggtgt tcaccagctc ccagcagctg gctgtgggag aggggcagag gtgggcgcat
76561 ggcacccgcc ttcccccag accaggatgc tctgccttcc tcccgcccat ctccccagac
76621 atctgaagga ctcttgcctc caccatgcag ccccgcctcc accagaagct caggttcccc
76681 gccccccctc cccgaagctg caggaccccc gaccagcgaa gagatgggac agttggaaca
76741 cacgctcccc cagcagcggc acagcagctg tgtggcccag aagagcccgc ctgtttccct
76801 caagcaactc cccatggatg tcatcccatg gacacccccc tccccacacc gcctcctcgt
76861 tctccccctc caaggcagag ggaacgcacc cccacctgtc tgctaggaca ggggacccca
76921 cttacctccg aacatcacct tgataaacat ggccgtggtg gggacagatc cctccgaccc
76981 ccaacttccg acctggggaa ggagctgggg tggagctcga ctgcagggtg gggccctgtg
77041 ggaggtgtac gggtggagag ggtgatgggt gggtgggctc aagcggagct ccttgctcag
77101 tccaggcggt ccctgcagct agtccaggat cctcagcctt ctcccctca ctggatcagg
77161 gaagactgag gttccctccc ctgccccccc acccagcttc caagctggtc tctgtggcag
77221 tgggagctgc caagaggtct gagcggccag tatccgggta acggggtttg tggagggtcc
77281 gggcattccc ggtgcagggc tctagtgggg gctggagcct cgggcccaga gctgtccaga
77341 gaccagtgcc ctcccacccc cgccgcccgc aaggagagac agagctccca ggcggggagt
77401 cggaggttcc tggaggggga gcatcctcaa ctctgcaggc ccccttccca ggcgcactcc
77461 cggcctcccc gtcttctgtc cctgctctt gttgaagtat gattggcata cagttcacag
77521 ccactcttcg gagtgttctc cacactaagg atacagaaca tgtccctcgt ccccccaaac
77581 tcccagccag gctgtcacga agagggaggc ggccgacggg gcagggcctt gcactcctgc
77641 gtgtggggtc cacaggggtc gtcccctgtt cggtggcccc ttcctctcac gccaggaggg
77701 tccccttgcc tggaggtgcc gtggatccgc tcgctgcctg ctctttgggt tgtttcccgc
77761 atggggtgat gatgaagagg ccagtacaga cactcgccag caggtctctg ggtgaacagg
77821 catttattte tctttcctga gggcagatcc tgggagtggg gtgccggacc gtccggggag
77881 agtatgcttc tgtttctaag aagctgccgt gttctccagt gtgctgcacc atgtcacggc
77941 ccctctgtgc gtctggactc aggagacctc cttctcagcg gccctcccce ccaggtggtc
78001 aggccatctg tgcccttctg ggggcagagc tcagcgccgg aggcgggagg aggcccagat
78061 cccagcgcag cccaccagcg ttgctctgct tccctcggca ttcatagctg gagaaagggc
78121 aaggagcacc ggctgaagcc ccacctggag gacgcacttc gatggcagca ggtgctcaga
78181 ggtggccccg ggcagcattc cccagacgca caggccagtg ctttcttccc aggacaccac
78241 tgtgtctggg gaccccgagtc ctgcagcacg gtcgggagcg gctgtgccca gattccggcc
78301 tgcaccctg gctccagcca ccaccccctgt ttgtcaaggg gtttttgtct ttcgagccgc
78361 cgaggaggga gtctttttgtc tgcagtgtca cagaagtgcc ataaagaggg gcccacagtg
78421 ggagctttat aacattggtg cggagggctg taacaggtca gggaggcact tgagggagcc
78481 ttctagggcg atggagatgt tctaaaattt ggtctgggta caggctacag agatgtgtgg
78541 gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt aaaaccctcg agccacacgt gtgaggtctg tgcatgtgac
78601 cgtacacagg agacctcggt ggaaagcagc cacctgctct gactgcacct gtggatttcc

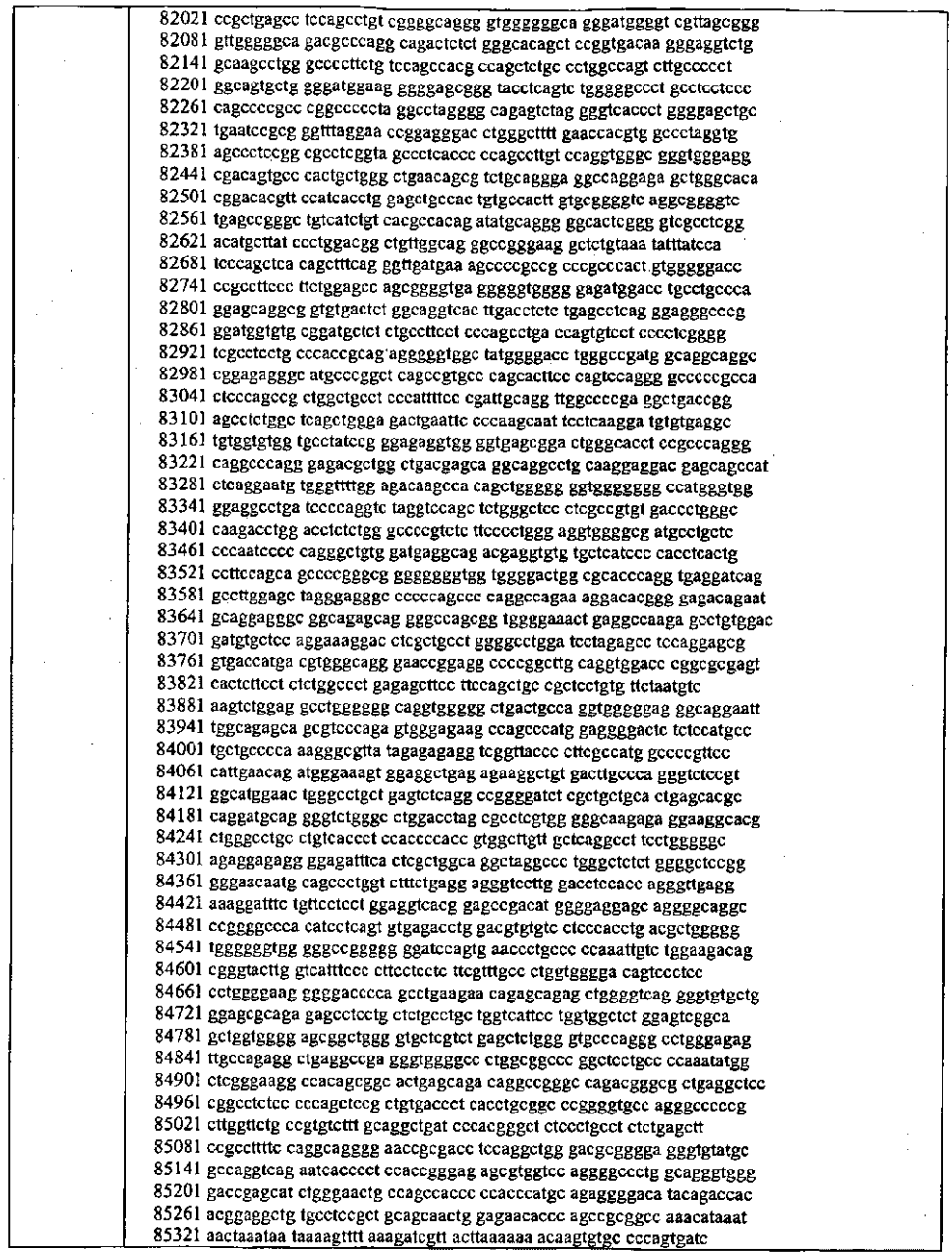
【０１６４】

【化５９】

78661 agctcctgcc ctcaggcggc cctgcggggc ccactggctg acggggagac ggcaccgccc
78721 tccccgctg tcagggtggg ggggctgacg atttgcatgt cgtgtcaggg tccagcggcc
78781 tcccttgcgt ggaggtcccg aagcacctgg agcgccgccc gcagaacagc ggactcctgc
78841 ctgcctccct gcctctggcc atggcctgcc cgcctctggc cctctttctg ctcggggccc
78901 tcctggcagg tgagccctcc caaggcctgg ctcacctagg ggtgtgtaag acagcacggg
78961 gctctagaag taaatcgcgg ggaagtaaat cgtagtgggc agggggatg gtttccgaag
79021 gggccctgag ggggacagga gacctggcct cagtttcccc actggtgagt gaccagatag
79081 ccagggtacc tttggactct gactctgggg ggctctcaga gactggtctc ctactcagtt
79141 tttcagaggg gaagctggtg tggccttgtc actgccctgc agggcctcag ggacaagcta
79201 tccctgagga ggtctccagc agtcagtggc cggaggctga gccgatggat atagtaacag
79261 cccaggcggc ctcttggggg tggtcagcct gtagccaggt tttggacgag ccgaagtgac
79321 ctaagtgatg ggggtctgca gagcaaggga tgagggtggg cagcaggagg acccagagcc
79381 caccagccca ccctctgaat tctggaccct tagctgcatg tggctccttg ggaagacggg
79441 gcttaagggt tgcccgctct gtggcccaca cagtgctgat tccacagcac tggctgtgag
79501 cttttgggag cagattctcc cggggagtct gacccaggct ttgtggggca ggggctggag
79561 ggaaggggcc caggccagac ctgagtgtgt gtctctcagc ctcccagcca gccctgacca
79621 agccagaagc actgctggtc ttcccaggac aagtggccca actgtcctgc acgatcagcc
79681 cccattacgc catcgtcggg gacctcggcg tgtcctggta tcagcagcga gcaggcagcg
79741 ccccccgcct gctcctctac taccgctcag aggagcacca acaccgggcc cccggcattc
79801 cggaccgctt ctctgcagct gcggatgcag cccacaacac ctgcatcctg accatcagcc
79861 ccgtgcagcc cgaagatgac gccgattatt actgctttgt gggtgactta ttctaggggt
79921 gtgggatgag tgtcttccgt ctgcctgcca cttctactcc tgaccttggg acccttctc
79981 tgagcctcag ttttcctcct ctgtgaaatg ggttaataac actcaccatg tcaacaataa
80041 ctgctctgag ggttatgaga tccctgtggc tcgggggtgtg ggggtaggga tggtcctggg
80101 gattactgca gaagaggaag cacctgagac ccttggcgtg gggcccagcc tccccaccag
80161 cccccagggg cccagactgg tggctcttgc cttcctgtga cgggaggagc tggagtgaga
80221 gaaaaaggaa ccagccttg ctggtcccgg ctctgcatgg ctggttgggt tccaacactc
80281 aacgagggga ctggaccggg tcttcgggag cccctgccta ctcctgggtg gggcaagggg
80341 gcaggtgtga gtgtgtgtgt ggggtgcaga cactcagagg cacctgaagg caggtgggca
80401 gagggcaggg gaggcatggg cagcagccct cctggggtag agaggcaggc ttgccaccag
80461 aagcagaact tagccctggg agggggtgg gggggttgaa gaacacagct ctcttctctc
80521 ccggttcctc taagaggcgc cacatgaaca gggggactac ccatcagatg nnnnnnnnnn
80581 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
80641 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn agagggtggg tgggtggaat ttaatatagt
80701 ggtgcgcgtg gagcgtgggc ggcgcattta aggcggtcat ctaaaatagt ggataggggg
80761 tggtgtgaca ataacgggtg gtggatgtgg tttacggggg gtgcaatagt tctgagtttg
80821 ttagtgtctt cttgatgggg ttgcggcgtg tggacctacg ccttgagtat gtgggggggg
80881 aaaagcagtg agggtagtag ggatgggaaa tattggtgga ggttctttgt tggtgtattt
80941 tttggtatta tgttgggtgg tggagtggtg ggttgggtgt aatttcgctt gcgttatgtg
81001 ttttttttct ttttcgtgtc gtgggttggg ttggttggtg ctttgtggtg gtggtgggtt
81061 gtggtataaa aaaaaatgtg tggttgtgct cagcttagcc ctataacggt cggctttgtt
81121 tcttgtttgt tctgtgggcg tgagcggatg gctcgggcct ccgtgctccg cggcgcggcc
81181 tcgcgcgccc tcctgctccc gctgctgctg ctgctgctgc tcccgccgcc gccgctgctg
81241 ctggcccggg ccccgcggcc gccggtgagt gcccgccgtc ctccagcccc cccgccccgc
81301 cccgccctcc acgccgaggg gcgccggctc gcagagctgg atccaagggg gtgcccggga
81361 gtggcccggc gcggcccgtt accccgaaac gctgtctggg tgccccgggg gtgtggtgga
81421 tagtgagctt cccgtccctg gaagtatgca agtgaagccg gcgcccgggat cgctcgggct
81481 ggctggtgag cgggcgggac tcggtcgggc gctagacgca cgccgccagc cccccagctc
81541 ccagacctgc ccactccgcg cccgcccggc cgcgatcccg ggtgtgtgtg tgtgttgcag
81601 gggagggaca gcgggagtgg ctacagggct cccgactcac cgcagggaca aagacccgcg
81661 ggtccccagc tggcgtcagc cgccaggtgt gtggcctcgg tgagcacacc tccaggcggg
81721 agggttgagg gaagcgctgt ggggagggca tgcggggtct gagcctggaa gagacggatg
81781 ctaccgcctg ggacctgtga gtggcgggat tgggaggcta tggaatcagg aggcagccta
81841 agcgtgagag ctccggtgtg gcctggcggg ggtggtaggg gggggacgcc cctgtgtgtg
81901 ccagcctgcg tgtgccctaa aggctgcgcc ctcccccact gctgggggctt cgggggacca
81961 gtcacagcct aggctactgc aggcgcacag ctcccccggga gcccggccca cgcgggtgtg

【０１６５】

【化６０】


82021 ccgctgagcc tccagcctgt cggggcaggg gtgggggggca gggatggggt cgttagcggg
82081 gttgggggca gacgcccagg cagactctct gggcacagct ccggtgacaa gggaggtctg
82141 gcaagcctgg gccccttctg tccagccacg ccagctctgc cctggccagt cttgcccccc
82201 ggcagtgctg gggatggaag ggggagcggg tacctcagtc tgggggcccc gcctcctccc
82261 cagccccgcc cggcccccta ggcctagggg cagagtctag gggtcacccc ggggagctgc
82321 tgaatccgcg ggtttaggaa ccggagggac ctgggctttt gaaccacgtg gccctaggtg
82381 agccctccgg cgcctcggta gccctcaccc ccagccttgt ccaggtgggc gggtgggagg
82441 cgacagtgcc cactgctggg ctgaacagcg tctgcaggga ggccaggaga gctgggcaca
82501 cggacacgtt ccatcacctg gagctgccac tgtgccactt gtgcggggtc aggcggggtc
82561 tgagccgggc tgtcatctgt cacgccacag atatgcaggg ggcactcggg gtcgcctcgg
82621 acatgcttat ccctggacgg ctgttggcag ggccgggaag gctctgtaaa tatttatcca
82681 tcccagctca cagctttcag ggttgatgaa agccccgccg cccgcccact gtgggggacc
82741 ccgccttccc ttctggagcc agcggggtga gggggtgggg gagatggacc tgcctgccca
82801 ggagcaggcg gtgtgactct ggcaggtcac ttgacctctc tgagcctcag ggagggcccg
82861 ggatggtgtg cggatgctct ctgccttcct cccagcctga ccagtgtcct cccctcgggg
82921 tcgcctcctg cccaccgcag aggggtggc tatggggacc tgggccgatg gcaggcaggc
82981 cggagagggc atgcccggct cagccgtgcc cagcacttcc cagtccaggg gcccccgcca
83041 ctcccagccg ctggctgcct cccatttttcc cgattgcagg ttggccccga ggctgaccgg
83101 agcctctggc tcagctggga gactgaattc cccaagcaat tcctcaagga tgtgtgaggc
83161 tgtggtgtgg tgcctatccg ggagaggtgg ggtgagcgga ctgggcacct ccgcccaggg
83221 caggcccagg gagacgctgg ctgacgagca ggcaggcctg caaggaggac gagcagccat
83281 ctcaggaatg tgggttttgg agacaagcca cagctggggg ggtgggggggg ccatgggtgg
83341 ggaggcctga tcccccaggtc taggtccagc tctgggctcc ctcgccgtgt gacccctggc
83401 caagacctgg acctctctgg gccccgtctc ttccccctggg aggtggggcg atgcctgctc
83461 cccaatcccc cagggctgtg gatgaggcag acgaggtgtg tgctcatccc cacctcactg
83521 ccttccagca gccccgggcg ggggggggtgg tggggactgg cgcacccagg tgaggatcag
83581 gccttggagc tagggagggc ccccccagccc caggccagaa aggacacggg gagacagaat
83641 gcaggagggc ggcagagcag gggccagcgg tggggaaact gaggccaaga gcctgtggac
83701 gatgtgctcc aggaaaggac ctcgctgcct ggggcctgga tcctagagcc tccaggagcg
83761 gtgaccatga cgtgggcagg gaaccggagg ccccggcttg caggtggacc cggcgcgagt
83821 cactcttcct ctctggccct gagagcttcc ttccagctgc cgctcctgtg ttctaatgtc
83881 aagtctggag gcctgggggg caggtggggg ctgactgcca ggtgggggag ggcaggaatt
83941 tggcagagca gcgtcccaga gtgggagaag ccagcccatg gaggggactc tctccatgcc
84001 tgctgcccca aagggcgtta tagagagagg tcggttaccc cttcgccatg gccccgttcc
84061 cattgaacag atgggaaagt ggaggctgag agaaggctgt gacttgccca gggtctccgt
84121 ggcatggaac tgggcctgct gagtctcagg ccggggatct cgctgctgca ctgagcacgc
84181 caggatgcag gggtctgggc ctggacctag cgcctcgtgg gggcaagaga ggaaggcacg
84241 ctgggcctgc ctgtcaccct ccacccacc gtggcttgtt gctcaggcct tcctgggggc
84301 agaggagagg ggagatttca ctcgctggca ggctaggccc tgggctctct gggctccgg
84361 gggaacaatg cagccctggt ctttctgagg agggtccttg gacctccacc agggtgagg
84421 aaaggatttc tgttcctcct ggaggtcacg gagccgacat ggggaggagc aggggcaggc
84481 ccgggggcca catcctcagt gtgagacctg gacgtgtgtc ctcccacctg acgctggggg
84541 tgggggtgg gggccgggag ggatccagtg aaccctgccc ccaaattgtc tggaagacag
84601 cgggtacttg gtcatttccc cttcctcctc ttcgtttgcc ctggtgggga cagtcccctc
84661 cctggggaag ggggacccca gcctgaagaa cagagcagag ctgggggtcag gggtgtgctg
84721 ggagcgcaga gagcctcctg ctctgcctgc tggtcattcc tggtggctct ggagtcggca
84781 gctggtgggg agcggctggg gtgctcgtct gagctctggg gtgcccaggg cctgggagag
84841 ttgccagagg ctgaggccga gggtggggcc ctggcggccc ggctcctgcc ccaaatatgg
84901 ctcgggaagg ccacagcggc actgagcaga caggccgggc cagacgggcg ctgaggctcc
84961 cggcctctcc cccagctccg ctgtgaccct cacctgcggc ccggggtgcc agggcccccg
85021 cttggttctg ccgtgtcttt gcaggctgat cccacgggct ctcctgcct ctctgagctt
85081 ccgccttttc caggcagggg aaccgcgacc tccaggctgg gacgcggggga gggtgtatgc
85141 gccaggtcag aatcacccct ccaccgggag agcgtggtcc aggggcctg gcagggtggg
85201 gaccgagcat ctgggaactg ccagccaccc ccacccatgc agaggggaca tacagaccac
85261 acggaggctg tgcctccgct gcagcaactg gagaacaccc agccgcggcc aaacataaat
85321 aactaaataa taaaagtttt aaagatcgtt acttaaaaaa acaagtgtgc cccagtgatc

【０１６６】

【化６１】

85381 ggaccccagt tcccggtgcc ctgagtggtg ccggccctgt gctgagcatg gcctggttgg
85441 ttcaccccca gatccacact aaagggtggg atcaccccta ctagtcaggt gagcagatgc
85501 agggggggag ggcggcagcc cctccatgct ggtgggtggc cgtggtgggt gtcctgggca
85561 ggagccagct cacggagctg gagaggacag acctgggggg ttgggggcgc ccaggaagaa
85621 acgcagggag agaggtgtct gccgggggtg ggggtcccct cgaggctgtg cgtgaagagg
85681 gcaggcgggc ctgcagcccc acctacccgt ccccggccca aacggcggga gtaagtgacc
85741 ctgggcacct ggggccctcc aggaggggcc gggaggcctt gggatcagca tctggacgcc
85801 agtcagcccg cgccagagcg ccatgctccc cgacggcctc cgctggagtg aggctgcgct
85861 gacacccaca ccgctgaccc gggcctctct cccgctcagg atgccccccg ccgccacccc
85921 gtgagcagag ggccacagcc ctggccccgac gcccctcccg acagtgacgc ccccgccctg
85981 gccacccagg aggccctccc gcttgctggc cgccccagac ctccccgctg cggcgtgcct
86041 gacctgcccg atgggccgag tgcccgcaac cgacagaagc ggttcgtgct gtcgggcggg
86101 cgctgggaga agacggacct cacctacagg tagggccagt ggccacgagc tggcctttga
86161 tctccacctg ctgtctgaga cacgctggag ctgggggggag ggcagatccc tatggccaac
86221 aggctggagt gtcccccaac tcccgtgccc actgctcaac accccaaacc cacacttaga
86281 tgcactccca tgccctccct tgggagcacg gtctccacac ccacctggcc accccacaca
86341 cccgtggggc acggccgtta gtcacccacg caacctctgc gggcaccgtg ctgcgggcca
86401 ggccctggga ctctcagtga gggaggcaga cacggccccct cctccgggggg agcgaggtgc
86461 tccccacgcc cggttcagct ctagcaccgc actcgggacc ctcacaggga gggaccccact
86521 ggggcaggcc aggtgacggc tcgggtgacc tcggcccctg gcgctgagac tacacttcct
86581 gcagtgggcg gcgaagatgg gtgtggtgtc ccacgtcgtt gcagcgggga ctcctggggc
86641 ctcggaagtg tcctgggcgg ggagcctggg gagcaggaag ggcaggtctt ggggtccaag
86701 gcctccccac ggtcaggtct gggaggggcc ctcggggctc ttgggtcctt tccgcccagt
86761 gcagaccctc gcggccacct aagggcacac agaccacaca aagctgtgcc catgcagtgt
86821 ggggagtggt gcgcacccctc agagcacact gggcccacat cacgcacgcc tgccccctca
86881 ctgtgcatcc ggggaaactc ctggccccga cagccagcgg ggctgacgct accccgtgag
86941 ccagacccag gccccctcca ccgcccctgt cctccccagg atcctccggt tcccatggca
87001 gctgctgcgg gaacaggtgc ggcagacggt ggcggaggcc ctccaggtgt ggagcgatgt
87061 cacaccgctc accttcaccg aggtgcacga gggccgcgcc gacatcgtga tcgacttcac
87121 caggtgagcg ggggcctgag ggcaccccca ccctgggaag gaaacccatc tgccggcagc
87181 cactgactct gcccctaccc accccccgac aggtactggc acggggacaa tctgcccttt
87241 gatggacctg ggggcatcct ggcccacgcc ttcttcccca agacccaccg agaaggggat
87301 gtccacttcg actatgatga gacctggacc atcgggggaca accagggtag gggctggggc
87361 cccactttcc ggagggggcc tgtcgaggcc ccggagccgg gccccgggctc tgcgtccgct
87421 ggggagctcg cgcattgccg ggctgtctcc ctcttccagg cacggatctc ctgcaggtgg
87481 cggcacacga gtttggccac gtgctcgggc tgcagcacac gacagctgcg aaggccctga
87541 tgtccccctt ctacaccttc cgctacccac tgagcctcag cccagacgac cgcagggtca
87601 tccagcagct gtacggccgg cctcagctag ctcccacgtc caggcctccg gacctgggcc
87661 ctggcaccgg ggcggacacc aacgagatcg cgccgctgga ggtgaggccc tgctcccccct
87721 gcccacggct gcctctgcag ctccaacatg ggctcctcct aacccttcgc tctcacccca
87781 gccggacgcc ccacccggatg cctgccaggt ctcctttgac gcagccgcca ccatccgtgg
87841 cgagctcttc ttcttcaagg caggctttgt gtggcggctg cgcgggggcc ggctgcagcc
87901 tggctaccct gcgctggcct ctcgccactg gcaggggctg cccagccctg tggatgcagc
87961 cttcgaggac gcccagggcc acatctggtt cttccaaggt gagtgggagc cgggtcacac
88021 tcaggagact gcagggagcc aggaacgtca tggccaaggg tagggacaga cagacgtgat
88081 gagcagatgg acagacggag gggtcccgg agttttgggg cccaggaaga gcgtgactca
88141 ctcctctggg cacagctggg aggcttcctg gaggaggcgg ttctcgaagc gggagtagga
88201 taaaaggtat tgcacccccat gaagcacgtg tgatccttgc ccctagagac aaggctctgg
88261 ggctcagagg tggtgaagtg acccacatga gggcacagct tggagaatgt cgggagggat
88321 gtgagctcag tgtgccagag atgggagcct ggagcatgcc aaggggcagg gcctgctgcc
88381 tgagagctgg cactggggtg ggcagccaag tgcagggatg gagcgggcgc ccaggtggcc
88441 tctttgctgc tcagaacgac ctttcccatg tatacctccc agcgccgctg gcattgccca
88501 gtgtccttct tgggggcagg agtaccaagc aggcattatt actggccttt tgtgttttat
88561 ggacaacgaa actgaggctg ggaaggtccg aggtggtgtt ggtggcggaa ggtggccgct
88621 gggcagccct gttgcagcac acacccccca cccaccgttt ctccaacagg agctcagtac
88681 tgggtgtatg acggtgagaa gccggtcctg ggcccccgcgc ccctctccga gctgggcctg

【０１６７】

【化６２】

88741 caggggtccc cgatccatgc cgccctggtg tggggctccg agaagaacaa gatctacttc
88801 ttccgaagtg gggactactg gcgcttccag cccagcgccc gccgcgtgga cagccctgtg
88861 ccgcgccggg tcaccgactg gcgaggggtg ccctcggaga tcgacgcggc cttccaggat
88921 gctgaaggtg tgcaggggcc aggccctctg cccagccccc tcccattccg ccctcctccc
88981 tgccaaggac tgtgctaact ccctgtgctc catctttgtg gctgtgggca ccaggcacgg
89041 catggagact gaggcccgtg cccaggtccc ttggatgtgg ctagtgaaat cagtccgagg
89101 ctccagcctc tgtcaggctg ggtggcagct cagaccagac cctgagggca ggcagaaggg
89161 ctcgcccaag ggtagaaaga ccctggggct tccttggtgg ctcagacagt aaagcgtctg
89221 cctgcaatgc gggagacctg gattcgatcc ctgggtcagg gagatcccct ggagaaggaa
89281 atggcaatgc cctccggtac tgttgcctgg aaaattccat ggacagagca gcctggaagc
89341 tccatggggt cgcgaagagt cagacacaat ggagcgactt cactgtctta agggccacct
89401 gaggtcctca ggtttcaagg aacccagcag tggccaaggc ctgtgcccat ccctctgtcc
89461 acttaccagg ccctgaccct cctgtctcct caggcttcgc ctacttcctg cgtggccgcc
89521 tctactggaa gtttgacccc gtgaaggtga aagccctgga gggcttcccc cggctcgtgg
89581 gccccgactt cttcagctgt actgaggctg ccaacacttt ccgctgatca ccgcctggct
89641 gtcctcaggc cctgacacct ccacacagga gaccgtggcc gtgcctgtgg ctgtaggtac
89701 caggcagggc acggagtcgc ggctgctatg ggggcaaggc agggcgctgc caccaggact
89761 gcagggaggg ccacgcgggt cgtggccact gccagcgact gtctgagact gggcaggggg
89821 gctctggcat ggaggctgag ggtggtcttg ggctggctcc acgcagcctg tgcaggtcac
89881 atggaaccca gctgcccatg gtctccatcc acaccctca gggtcgggcc tcagcagggc
89941 tgggggagct ggagcccctca ccgtcctcgc tgtgggtcc catagggggc tggcacgtgg
90001 gtgtcagggt cctgcgcctc ctgcctccca cagggttgg ctctgcgtag gtgctgcctt
90061 ccagtttggt ggttctggag acctatttcc caagatcctg gccaaaaggc caggtcagct
90121 ggtgggggtg cttcctgcca gagaccctgc accctggggg ccccagcata cctcagtcct
90181 atcacgggtc agatcctcca aagccatgta aatgtgtaca gtgtgtataa agctgttttg
90241 ttttcattt tttaaccgac tgtcattaaa cacggtcgtt ttctacctgc ctgctggggt
90301 gtctctgtga gtgcaaggcc agtatagggt ggaactggac cagggagttg ggaggcttgg
90361 ctggggaccc gctcagtccc ctggtcctca gggctgggtg ttggttcagg gctccccctg
90421 ctccatctca tcctgcttga atgcctacag tggcttcaca gtctgctccc catctcccca
90481 gcggcctctc agaccgtcgt ccaccaagtg ctgctcacgt tttccgatcc agccactgtc
90541 aggacacaga accgaactca aggttactgt ggctgactcc tcactctctg gggtctactt
90601 gcctgccacc ctcagagagc caaggatccg cctgtgatgc aggagtgagt gaagtcgctc
90661 agccgagtcc gactctttgc aaccccatag gactgtagcc taccaggctc ctctgtctat
90721 gggatttttc aggcaagagt gctggagtgg gttgccattt ccttctccag gggatcttcc
90781 caaccctggt ctccccgcata gcaggcagac tctttactgt ctgagccacc aggcaatgca
90841 ggagacctag gttcagtctc tgggtgggga agatcccctg gagaagggaa tgacaacctg
90901 cttcagtatt cttgattggg gaatcccatg gacaaaggag cctggaggcc tacagcccat
90961 agggtgcaaa gagacacgac tgagcaagtc acacacacag agccctacgt ggatgctcat
91021 agcggcacct catagctgcc atgtatcagg tgttggcatg ggcagccatc agcagggggc
91081 catttctgac ccactgcctt gttcccaccgg atacacgggt gccttcctgt gtgtcgggcc
91141 cactcggctg tcagcgccca agggcagggc tgtcgggagg cacagggcac agagttaagg
91201 aggggatggg gacgttagct cctccccagc tctcagcgga tgcagcaggc aaaacaaacg
91261 ctaggaatcc tgccaaaccc ggtagtctct gcccatgctc gccccatccc cagagccaca
91321 agaacgggag ctgggggtg gcccggagct gggatactgg tccctgggcc cgcccatgtg
91381 ctcggccgca cagcgtcctc cgggcgggga aactgaggca cgggcgcctc cggcttcctc
91441 cccgccttcc gggcctcgcc tcgttcctcc tcaccagggc agtattccag cccggctgt
91501 gagacggaga agggcgccgt tcgagtcagg gccgcggctg ttatttctgc cggtgagcgg
91561 ccttccctgg taccttccact tgagaggcgg ccgggaaggc cgagaaacgg gccgaggctc
91621 ctttaagggg cccgtgggcg cgcgcccggc ccttttgtcc gggtggcggc ggcggcgacg
91681 cgcgcgtcag cgtcaacgcc cgcgcctgcg cactgagggc ggcctgcttg tcgtctgcgg
91741 cggcggcggc ggcggcggcg gaggaggcga acccatctg gcttggcaag agactgagnn
91801 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
91861 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnct gcaggtgccg gcggtgacgc
91921 ggacgtacac cgcggcctgc gtcctcacca ccgccgccgt ggtaaccgcc cccgggggtt
91981 gccaaggtta cgattggacc ctcccccgccc cgaccctgct cccctagggt gggtgggtcg
92041 gggggcagtt tctaagatct cctggttccg cagcagctgg aactcctcag tcccttccag

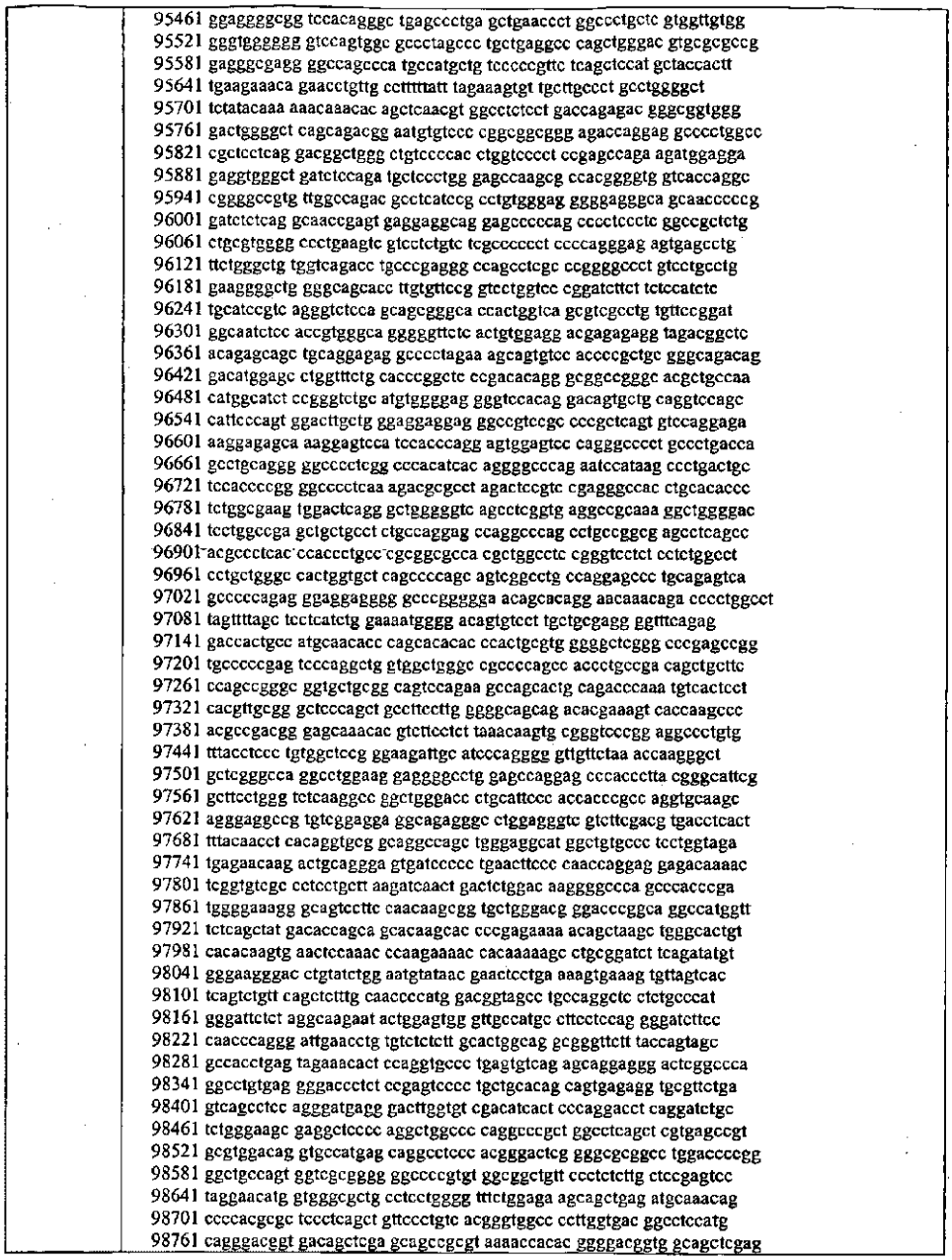
【０１６８】

【化６３】

92101 ctctacttca acccgcacct cgtgttccgg aagttccagg tgaggccgcc ccgccccttg
92161 cacttgctgg cccaaccccc cccgcccagc gctggcctga ccgcccccca ccccgcccac
92221 cccacgcagg tttggaggct catcaccaac ttcctcttct tcgggcccct gggattcagc
92281 ttcttcttca acatgctctt cgtgtatcct gcgccgtggt ggaagcggga ggagggcggg
92341 gcgggggacc gggcgggagg cagcgggccc cgggaagctg agaccctcca aggggcacgc
92401 ttcctatacc aaagccgcag gttccgctac tgccgcatgc tggaggaggg ctccttccgc
92461 ggccgcacgg ccgacttcgt cttcatgttt ctcttcgggg gcgtcctgat gactgtatcc
92521 ttcccggget cggggacctа tgggtccggg cctctgctgg ccctgaggcc ctgcttgagc
92581 gcatgccaca gaggagaggt tgcgaccccg agctgagggt gtttttgagc gtacatcacg
92641 tgctcagctg caggtgcccc tgtcgaactc cagggctaca cccaaaatac cacagggcag
92701 ggtgcccagg ggctgagtcc tgaatgcagg tagccaggag gatctagggc tgggcccggg
92761 ggctggggtg aagtggagag gcagggccga tcagggggcc cctggaggcc accgtttggt
92821 cttagagtgg gaagcgaaac caacctgctt gagggtttca ggggtttagg aagtcagagg
92881 ggccctgggc agggcacaag accttgactc tggcccagct actggggctc ctgggtagcc
92941 tcttcttcct gggccaggcc ctcacggcca tgctggtgta cgtgtggagc cgccgcagcc
93001 ctggggtgag ggtcaacttc tttggcctcc tcaccttcca ggcgccgttc ctgccctggg
93061 cgctcatggg cttttcaatg ctgctgggca actccatcct ggtggacctg ctgggtgagc
93121 ctgctgtcca gggagcctgc cccaagctgg gtgtgctggg ccagagccct ggtcctctcc
93181 ccgccccccac ccctcttccc cactcctggc gccccatcc ttccagcccc tccaacaagt
93241 cagcctatag gttttactta ttcgagcctg acccatttgc tgacgcttgt gtggggcccg
93301 acccggtagg gatgggtggc tcagggtgcc tgctcacagc tccacttctt ctgacgtcct
93361 caggcctgac ctcctcccag gttctgccta ctctgggcca agcctggccc cacgctgggc
93421 tggctggccg tgcagggcat cagacccccа tgctttgggg gcttcagggc tgtggagggt
93481 ggcctcggca ttggcgcctc tcccacaggg attgcggtgg gccacgtcta ctacttcctg
93541 gaggacgtct tcccccaacca gcctggaggc aagaggctgc tgctgacccc cagcttcctg
93601 tgagtgctga cagccttccc cacccccttc cccagatggc tctctacccc atgagggggg
93661 gggaccctgc cagctgccgc tcagcgtggg ctcctcccca caggaaactg ctactggatg
93721 ccccagagga ggacccccaat tacctgcccc tccccgagga gcagccagga cccctgcagc
93781 agtgaggacg acctcacccа gagccgggtc cccсacccсc acccctggcc tgcaacgcag
93841 ctccctgtcc tggaggccgg gcctgggccc agggcccccg ccctgaataa acaagtgacc
93901 tgcagcctgt tcgccacagc actggctctc ctgccgcggc cagcctctcc acgcgaggca
93961 ggtgctgctg gccgagagcc agggccacca agcctgacgt gctctccgac ccagaacatt
94021 ggcacagctg gaggcccaga gagggtccag aacctgccca ctcgccagca gaactctgag
94081 cacagagggc agccctgctg gggttctcat ccctgccctg cctgtgccgt aattcagctt
94141 ccactgatgg ggctcacatc tcaggggcgg ggctgggact gggatgctgg gttgtgctga
94201 gctttggccg tgggggccct cctgtcccga actagcaacc cccaagggga cctctgcttc
94261 atttcccagc caggccactg aaggacgggc caggtgcaga agagggccag gccctttctg
94321 tgactccgaa gcctcaagtg tcagtgtttg cagagtccag tggctgaggc agaggcctct
94381 gggaagctct gccctgccg tttgcagctg aggccggcag gagcctcacc tggtccccag
94441 ctcacgggca ttggaggacc agtccgcacg gtggtttact cctgggtcgg caccagccgc
94501 cgccggctgt cccttcaca gaggataaaa gtactcgctc tggagttgga ctttaatgtt
94561 gtcatgaaac ctctggccca gcagcgggct ccgcagtggg tggcaggtga aggccccctc
94621 ccgggcctct ccaggcaggt gccgcctggc cagcagggaa ggcaggcagt gtcatccccc
94681 actggctctg gggctcaggc tacctcctgc tgtggccgga acatctcccc cagtggtgga
94741 gcccagtgtc cgtgaggcca gctgggcctg aaaccttcct ctctgaagcc ccgctgtccc
94801 cttgccctgt atggagggca gaggctggag cgcaagttcc taggatgtgc ttgcgagacc
94861 cccgagccca ggggcgaggc ccatctcagc ccaccccccga actggaaacc cttggagctc
94921 tgccccctcgt ggtgtgaggc cctgctatg cgaccctcag ccctgccagc aacggaaggt
94981 gcagggcccg ggcccacggg cttaacgcaa ctgggcctgg gtcacctgcg gggcctggtc
95041 ccaggaggaa gacccaggtg ccacccтcct gggtgccacg tccaggtcac gtggggaccc
95101 gtccatgtca cagaagatgc agggtcaccc ggtgagctgg cgccgggccc tgccagagca
95161 ccagccgcgg gtggaggtgg gccccagctc tcctgtcagg cacgtggtgc tgggaggtgc
95221 ggccggagca gtgcccacca gctgcagcag gacaggtggg cacaggccca ccagcagtgc
95281 ccgcacggga tgggcccctg caagggccag agaagccacg ctcctggctg ggggctgggc
95341 tgggactgac aggtggccct gccctctgcg ccccactact tcccagccac ccgggactcc
95401 aaggacttgc tgagctgggc aggtgggacg ccgaggggag tcaaactgct cgtgggggca

【０１６９】

【化６４】


95461 ggagggcgcgg tccacagggc tgagccctga gctgaaccct ggccctgctc gtggttgtgg
95521 gggtgggggg gtccagtggc gccctagccc tgctgaggcc cagctgggac gtgcgcgccg
95581 gagggcgagg ggccagccca tgccatgctg tcccccgttc tcagctccat gctaccactt
95641 tgaagaaaca gaacctgttg ccttttatt tagaaagtgt tgcttgccct gcctgggget
95701 tctatacaaa aaacaaacac agctcaacgt ggcctctcct gaccagagac gggcggtggg
95761 gactggggct cagcagacgg aatgtgtccc cggcggcggg agaccaggag gcccctggcc
95821 cgctcctcag gacggctggg ctgtccccac ctggtcccct ccgagccaga agatggagga
95881 gaggtgggct gatctccaga tgctccctgg gagccaagcg ccacggggtg gtcaccaggc
95941 cggggccgtg ttggccagac gcctcatccg cctgtgggag ggggagggca gcaacccccg
96001 gatctctcag gcaaccgagt gaggaggcag gagccccccag ccctcccctc ggccgctctg
96061 ctgcgtgggg ccctgaagtc gtcctctgtc tcgccccccct ccccagggag agtgagcctg
96121 ttctgggctg tggtcagacc tgcccgaggg ccagcctcgc ccggggccct gtcctgcctg
96181 gaaggggctg gggcagcacc ttgtgttccg gtcctggtcc cggatcttct tctccatctc
96241 tgcatccgtc agggtctcca gcagcgggca ccactggtca gcgtcgcctg tgttccggat
96301 ggcaatctcc accgtgggca gggggttctc actgtggagg acgagagagg tagacggctc
96361 acagagcagc tgcaggagag gcccctagaa agcagtgtcc acccccgctgc gggcagacag
96421 gacatggagc ctggtttctg cacccggctc ccgacacagg gcggccgggc acgctgccaa
96481 catggcatct ccgggtctgc atgtggggag gggtccacag gacagtgctg caggtccagc
96541 catttcccagt ggacttgctg ggaggaggag ggccgtccgc cccgctcagt gtccaggaga
96601 aaggagagca aaggagtcca tccacccagg agtggagtcc cagggcccct gcctgacca
96661 gcctgcaggg ggccccctcgg cccacatcac aggggcccag aatccataag ccctgactgc
96721 tccacccccgg ggccccctcaa agacgcgcct agactccgtc cgagggccac ctgcacaccc
96781 tctggcgaag tggactcagg gctgggggtc agcctcggtg aggccgcaaa ggctggggac
96841 tcctggccga gctgctgcct ctgccaggag ccaggcccag cctgccggcg agcctcagcc
96901 acgccctcac ccacctgccc cgcggcgcca cgctggcctc cgggtcctct cctctggcct
96961 cctgctgggc cactggtgct cagccccagc agtcggcctg ccaggagccc tgcagagtca
97021 gccccccagag ggaggagggg gcccgggggа acagccacagg aacaaacaga ccccctggcct
97081 tagttttagc tcctcatctg gaaaatgggg acagtgtcct tgctgcgagg ggtttcagag
97141 gaccactgcc atgcaacacc cagcacacac ccactgcgtg ggggctcggg cccgagccgg
97201 tgccccccgag tcccaggctg gtggctgggc cgccccagcc acccctgccga cagctgcttc
97261 ccagccgggc ggtgctgcgg cagtccagaa gccagcactg cagacccaaa tgtcactcct
97321 cacgttgcgg gctcccagct gccttccttg gggcagcag acacgaaagt caccaagccc
97381 acgccgacgg gagcaaacac gtcttcctct taaacaagtg cgggtcccgg aggccctgtg
97441 tttacctccc tgtggctccg ggaagatttgc atcccagggg gttgttctaa accaagggct
97501 gctcgggcca ggcctggaag gaggggcctg gagccaggag cccacccttа cgggcattcg
97561 gcttcctggg tctcaaggcc ggctgggacc ctgcattccc accacccgcc aggtgcaagc
97621 agggaggccg tgtcggagga ggcagagggc ctggagggtc gtcttcgacg tgacctcact
97681 tttacaacct cacaggtgcg gcaggccagc tgggaggcat ggctgtgccc tcctggtaga
97741 tgagaacaag actgcaggga gtgatccccc tgaacttccc caaccaggag gagacaaaac
97801 tcggtgtcgc cctcctgctt aagatcaact gactctggac aaggggccca gcccacccga
97861 tggggaaagg gcagtccttc caacaagcgg tgctgggacg ggacccggca ggccatggtt
97921 tctcagctat gacaccagca gcacaagcac cccgagaaaa acagctaagc tgggcactgt
97981 cacacaagtg aactccaaac ccaagaaaac cacaaaaagc ctgcggatct tcagatatgt
98041 gggaagggac ctgtatctgg aatgtataac gaactcctga aaagtgaaag tgttagtcac
98101 tcagtctgtt cagctctttg caacccccatg gacggtagcc tgccaggctc ctctgcccat
98161 gggattctct aggcaagaat actggagtgg gttgccatgc cttcctccag gggatcttcc
98221 caacccaggg attgaacctg tgtctctctt gcactggcag gcgggttctt taccagtagc
98281 gccacctgag tagaaacact ccaggtgccc tgagtgtcag agcaggaggg actcggccca
98341 ggcctgtgag gggaccctct ccgagtcccc tgctgcacag cagtgagagg tgcgttctga
98401 gtcagcctcc agggatgagg gacttggtgt cgacatcact cccaggacct caggatctgc
98461 tctgggaagc gaggctcccc aggctggccc caggcccgct ggcctcagct cgtgagccgt
98521 gcgtggacag gtgccatgag caggcctccc acgggactcg gggcgcggcc tggaccccgg
98581 ggctgccagt ggtcgcgggg ggccccgtgt ggcggctgtt cctctcttg ctccgagtcc
98641 taggaacatg gtgggcgctg cctcctgggg tttctggaga agcagctgag atgcaaacag
98701 ccccacgcgc tcctcagct gttccctgtc acgggtggcc ccttggtgac ggcctccatg
98761 cagggacggt gacagctcga gcagccgcgt aaaaccacac ggggacggtg gcagctcgag

【０１７０】

【化６５】

98821 cagccgcgta aagcctgaca tccaatttgg aagcctcccg cagtggaaga ggggcccggg
98881 gacggggctg cccggggcga gctccaccgg gtcgggggtc acgaggagcc cacccgcgtc
98941 cccgccacca gcacctggga ccagataccc tccccgctct gagggcggcc tgaacgccgc
99001 ccctcccac gggggcgccc accgcctgct cgtggactga acaagaggcg gcagtggcct
99061 ccagacccc tcgggggagg gcagacctgt ccgagactga gcacaagtcc agggaatgag
99121 caagggtctc agtaatgtcc ccaccgggac gggacgggag gaggcgacag aggccgctga
99181 ggtgcggggc agccctcagt agctggcatc aaggccccag gcagtcccgg ggcatccccg
99241 caggggcgcgg gggcgaccac cggccccgagc ccaggcagtc ccggggcatc cctgcagcgg
99301 gcgggggcga ccaccggccc gagccctacc tgaaggcgta ggtcttctga tgccagctca
99361 gctgtccccg gatgctgtag gcgatggtgg tgacgaactc cccgccccagc cccagctcgg
99421 agcacagctt cagagcgaac ttctcgggcg agttctcctt ctccgacatg tcccactcga
99481 actggtccac caaggagatg ttccccacgt ggatgttcag ctggccccggg agcacagaca
99541 tgagccagag cggccccctc tggggccagg ccgcacctc accacccctt ctccccggaa
99601 catccccgcc tcgttcttgg ccgcgcccct gtgctgctac ttggggtaag gaaaacaacc
99661 cccatctctc tgaaaagggt taactagcga ggaagatgcg ctggtaactg gaaaactccc
99721 tacaaagaaa gcttggatct gatggcttca ctggtgaatt ccaccaaaca tttcaagcac
99781 taacaccaat ccttatcaaa tcctgccaaa aaactgaaaa ggaaggaaca catcataact
99841 ccctgccttg ataccaaagc cagacaaaga tactacgaga aaggaaaggt gcagaccggc
99901 acttactgtg gacattgatg tgaaacctca gcagacacga gcaaaactac attcaccagc
99961 acgtcagaag aatcacacac cgttataaat gatgggatga tgacacaacc acattataaa
100021 cggtggggct tactctggtg atgtaaggac ggctcagtaa gaaaaccggt caatgccatg
100081 aaccacttga acagagtgaa ggacaaaaac cacacagtca tcttgataat tggaggaaaa
100141 tcattagaca aacttcaacg tgctttcacg ataaaagcac tcagtaaact aagatcagat
100201 ggaaaccaca tcaacaagat taattcagtc aaaaaattca ctgcaagtat cacccacaat
100261 ggcagaagac tggtaacttt tcctctaaga tcaggaacga gccaaagata cccagtcttg
100321 ccacttttgt tcaatatagc gttggaattt ctactcagtg cagtgcagtc gctcagtcgt
100381 gtccgactct tttcgacccc atggatcaca gcacgccagg cctccctgtc catcaccaac
100441 tcccggagtt cacccaaact catgtgcact gagtcagtga tgccatccag ccatctcatc
100501 ctctgtcgtc cccttctcct cctgcctcca atcccttcca gcagttaggc aagaaaaata
100561 aatcaaaggt atccacctgg aatggaagaa gtaaaactat ctctggtccg agatgttaca
100621 atcttatatg cagagtttaa gatgctaaca aaatactatt agaactaatg aatgaattca
100681 gcaaggtacc aggatacaaa gtcaacgtgc aaaaatcagc cgcatttcta catgctaaca
100741 ctgcacaatc tgaagaagaa aggatgaaca aattacaata acataaaaaa gaataaaatc
100801 cttagaaatt aacttgatca aagagatgta caatgaacaa tataaaacat actgaaagaa
100861 attgaagata taaataaatg gaaaaacatc ctatgtccat ggattggaag acttaaaatt
100921 attaagctgt caaggctatg gtttttccag tggtcatgta tggatgtgag agttggacta
100981 taaagaaagc tgagcaccga agaagtgatg cttttgaact gtggtgttgg agaagactct
101041 tgagaggtcc ttggactgca aggagatcca accagtccat cctaaaggag atcagtcctg
101101 ggtgttcatt ggaaggactg atgttaaagc tgaaactcca atactttggc cacctgatgc
101161 gaagagctga ctcatttgaa aagaccctga tgctgggtaa gattgagggc gggaggggaa
101221 ggggacaaca gaggatgaga tggttggatg gcatcaccga ctcaatggac atgggtttgg
101281 gtggactctg gaagttggtg atggacaggg aggcctggcg tgctgcggtt catggggttg
101341 tgaggagtcg gacacgactg agcgactgaa ctgaactgaa catgaatacc caaagcaatc
101401 tacaaagcca aatgtaatcc ctatcaaaat cccaatagca tttctgcaga aacaggaaaa
101461 aaaatcttaa aattcatatg gaatctaagg aaaagcaaag gatgtctggt caaaacaatg
101521 acgaaaagaa caacaaagct ggaagactca cacttcctga tttcagaact tactgcaaag
101581 atacaataat gaaaacactg tgggactaac gtaaaagcag acacgtgggc caacgggaca
101641 gcccagaaat aaactctcaa ataagcagtc aaatgatttt caacagagat gccaagacca
101701 ctcagtgaag gaaagtgttt gcaaccaacg gttttgggaa aaaagaaccc acatgcgaaa
101761 gaatgaagtg ggacccttac ccagccccat ctacagaaat caactcaaaa cagacagaac
101821 atatggctca agccataaaa cgctcagaaa aacagagcaa agctttatga tgttggattt
101881 ggcggtgatt tctcagatat gacgtcaaag gcataggtga taagcgaaaa aataaactgg
101941 acttcaccaa aatacaacac ttctatgcat ccaaggacac taccgacagc ataacaaggc
102001 agcccaggga aaggaggaaa catccgcaaa tcacagcatc tgggaacaga ccgctgcctg
102061 tgagatacag ggaaccgata aaaacaagaa aacagcaaaa cccggactca aaaatgggaa
102121 ggactccagc agacacagga gacagacaag ccgccagcag gtcactaatc agcaagcaag

【０１７１】

【化６６】

102181 gcccgcaaag gcccgtatcc aaggctgtgg tttttccagt ggtcatgtag gaaagagagc
102241 tggatcgtaa gaaagctgag cgctgaagaa ttgattgaac tgtggtgttg gagaagactc
102301 ttgagagtcc cttggactgc aagatcaaac cagtccattc tgaaggagat cagtcccgaa
102361 tagtcactga aggactgatg ctgtagctcc aatactttgg ccacctgatt cgaagaactg
102421 actcattggc aaagaccctg atgctgggaa agattgaagg caggaggaga aggggacgac
102481 agaggatgag atggttggat ggcatcactg actccatgga catgagcttg ggcaagctcc
102541 gggagagagt gaaggacagg gaagcctggc gtgctgcagc ccgtgggtcc caaatctttg
102601 gaccaagcga ctgaacaata acaaatcaac agggaaatgc aaatcaaaac cacagtgaga
102661 tactgtccac caccaggcag gcgttcttca gcggggttcg gggcaggtgg tgccctcttc
102721 tctcgtaacg ccccaggac cgcgggggct gctgagacag catggggtgt gcttggccta
102781 gcctgcccat gacaagagtg gcagtgtgct cgcctcactg cgccctccc tgctctgccc
102841 accagctggg ccacccctgg gaccacccag cttccgctcc gtggacggca aggccgcagc
102901 agcgcccgga cacgcccaga acgtggtgcc ctcctcagaa gtcggcctgt gccctccctg
102961 ggacaagccg cccaagagac agtcttccag agccctgccc cacaacacgg accccagaca
103021 ggctcctgtg gaggcctcca cgcacctccg cacctcgcaa gccccgagga caaggcaggc
103081 ccgctgcggg tgaggagccg cctaccttga taatgacgcg ctggtctgac tggtcttcca
103141 ggatgctgtc cgtggggtag gactcgatct gctgtctgat ggcagaggca atggctggca
103201 cgaatgtcag tgggttcaga tccaggtcgt cacagagaat ctctgagaac atctccgggg
103261 tcatcagctt ctctgaaacg atgacggagc gggggaaccc ccagtggacc acagggccta
103321 cggtcagcgt gctcagcccc ggcctccccc agccttgcct cctctgccac cgcccccccg
103381 ggtgacgaca ggaccccctg gcagcacgca gacagagctg agtgcacgcc agccagggcg
103441 gcggacggac cattcatgtt ccaggtaaag gcatcccgca gcttctgccc gtcaatctcc
103501 atgtccagtc ggatggggac cagcacctcg ggctgggacg cgttctcgtg gatcacggct
103561 gggtcgtggt cgtcgaagct ggaaggggag cggccgcgtg ctcagcaaag cgggctgggc
103621 cccttgtgcc agggcctccc tctctgcacc actggtcgct gagacctgcc cagagaggac
103681 ctgtccacta cgggccgggc cggcagaaac agggctggcg ggggtccacg cggggcggga
103741 ggggagctgc cgactcggca gcgggacaag ctcagaggtt ccctgcagga agagaggttt
103801 aagccccaga gcaggcagga ttctcccagc agctgtgggg aagaaagggt atgtccagaa
103861 gaagaaaccc tggaacaaag gccgaggggc aggagggttg aggagctgct tggagagcag
103921 tgaaggggag ctgggcggct gggggtgct ggggagcctc ggtggccaag cacccagggc
103981 tccccacctg cagcctggac cccgagggag ccccagagga cggagagcaa ggcagctccg
104041 cactcacacc tgccctttag gatggggaag agggaagaga cgggggctgc gggggccaag
104101 gaaaccaggc acgccccgct tagaccccggg ggcgagaacc actttccaag aacgcagggg
104161 cgccaatgat gaacaatggg tagcagcccg caggcgggag gccccggtggc cgaggcccct
104221 caccagagcg ggaaggtccg cttcttgtcg cggcccatgc ggttcctgtt gatggtggtg
104281 gagcagggca cggcgtccag gtggtgcgag ctgttgggca gggtgggcac ccactggctg
104341 ttcctcttgg ccttctgttc cctgggagac acagacgccc gtccgctcag cctatgggcc
104401 aaaagccgcc ccccagccgc caggttgtgg ccagtggacg cccgccatgc ccctctgggc
104461 ccaggccccc atggggacct ctgtcgcccc agctccgcgg tggttattcc ccaggctcca
104521 agcggcacct gctcgggctc accagtttta ggggaggagg agagggcagg ggccccagcc
104581 cagtctgtga gctgtcaccc ccaggctcca agcggcacct gctcggggtc accagtttta
104641 ggggaggagg agagggcagg ggccccagcc cagtctgtga gctgtcaccc ccaggctcca
104701 agcggcacct gctcgggctc accagtttta ggggaggagg agagggcagg ggccccagcc
104761 cagtctgtga gctgtcaccc ccaggctcca agcggcacct gctcgggctc accagtttta
104821 ggggaggagg agagggcagg ggccccagcc cagtctgtga gctgtcaccc gtgctatgtg
104881 ctgggctggg cactcaggaa agagggtcag ggttcacggg ggggtggcgc gcagatttcc
104941 aggagagccc cgagggcagc agagaggagg ctcaggtcaa tggttgggca gggggccagg
105001 gctggagaca cagagagggt cccgattcgg gggggtgccc tcagcaggtg gctgggagtc
105061 cctgggggtt tgcacacttt cgatcaggct gttatttcag acgcttggtc cagcctgaga
105121 caggtaatgc ctctggcctc cgggccttca gggatggaaa gatactctag aaagcgggac
105181 tcaaagtaac tcaaggaact cgcgtcccac agtgcggagc ccttctctcc aatttacatg
105241 gggcgtttac tacgaggaaa atacgaaagg ccgttttgag ctgaggctcc cgggccgggc
105301 tgtccgtttg tgagactgct cgtcaccccc gggccacatc cctggtggcc aaggggggcaa
105361 tcagtgcggt gactgcacga cacacctctg cagccctgcc ccacagctgt caccatcggt
105421 gacgtccacc ccctggagaa cctgaccact gcccggtttc ccgctaaaac agcgcccttc
105481 caggatgggg ggcagaggga gaggccttgg ccttttcact cctcttctgc agcgggggcc

【０１７２】

【化６７】

105541 cctcgcaccc cagtgcccgg gcccaggagc gccccttggg gtgcggcagg gagggatcca
105601 cacaccaagg ggagccagga ccccccccaaa tctgctgccc tgccctgata cccgagacct
105661 ggggaaacgg gggactgggg ctgatgcggg caggaccaag aactgaggcg gtgagacggg
105721 gtccccacca caggccatct ggctggcagt ttctactccg ggcctgcagg ccaagaggga
105781 aaaggtgccc cactcagatc aggcgcctcc cgtccccagg gagggcctac aaggtcagat
105841 cctttgtaac ttccacgggc aaaactggct tgctgggcct gtgcgggccg catgggcgtg
105901 gaccaccaca cctttcccca ctgagtctcc agccggagct gtcacccagg tccccccagg
105961 ccagccccac cccgccacct tgcagtagcc tctcgtatcc aggccgaggc tgcccggtcg
106021 acccctcctg cctgatggcc tcaagtggac aatgcgagtc acgttgcagc acgtgagtgg
106081 gacgggcagc gccacgcggg gtccgggcat ccgagtccca ccactcagcc tcccttccgc
106141 tgcagagagg tctgtccaag agcccctggg gccatccagc ccctgtccga cctggccggt
106201 gtggaagagg gggtgtgcca ccctcctgg ggggctggct gggcgctggg caggcccctc
106261 ctaagagtgg agcccactgg tggttttcct gcagccccac ctccacacag cagttctcac
106321 tgcccagtaa caggaggcta ctggcctagc tctctcctc gtgtgatgga ctcaaccagg
106381 agcgttcacg gcccccacaca gggttctcgg ctgctgcatg aggatctcaa agccccatcc
106441 acgtgcatgt aatctcctcc ggtaacttct ctagggaagc ccggctatcc tgccatcctc
106501 accgcaccac cagggcgaga aaagccatct ccagcgctca catccacaat gggccaggcc
106561 gtgagcacac caccttcttc gggaggttgt gggggcgggn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
106621 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn
106681 nnnnnnnnnn nnnnnnnnng cgcgcccccc ccccccgcgg cgccggcacc ccgggcggcg
106741 gccccggcg ctgggagcag gtgcgggggcc gcggccgctc gtgagcctcc agcccggagg
106801 acgggccccg gggccggccc cggtgcccag gccctgggag ccccggaggc cagagtgcca
106861 gagggccgga ggacccggga aggcccgaga gaggtgggaa gcacggggtt ccagccctag
106921 gccatttcag ccccaaagcc atcggtgaaa ccattgctgg ccccagataa aagcgtcgcc
106981 aacttttca ccccggcgga gacttagcg ggtagctgcc ccctaggggg aatggaaaaa
107041 ccaggattta ccaggtgggt ggaggtcaca actgcccaga tcctgagaaa gaggggtcag
107101 tggggcggga agattagtgg ggagaggagc tttcagaacc caagggaatg aaacgaggct
107161 tgaggttggt tatccagcag ccgcccccctg ccccgtgagt gagcgaaggc tgggccccct
107221 attgtcacat cttccagctc ttcgctagaa aacctagagt tttaaatact gtggcagctg
107281 agtcaaacaa taaggaaaag cccgactctt tgagagccag gcacaaggcg tctgtgacag
107341 ggtctccagg ctgcccattt gcagtctctg aaacggaggg tttttcgaga aggaggtctt
107401 ggggtgcctg ccagaattgg agggggggge gcgggaagtg aggacccaga agagagggct
107461 tggcccgctg caaggaggtc actggacact ggagctgaag cgccagccga aactggaaac
107521 tcgaaatctg tctccgtgcc agccacaagg cctatgattt tccttggcga cgttcagcat
107581 cttaggagga gctggcgggg gaggcgggta gttcgtgggc ggttgcagca gggcaggaag
107641 gtgaggaacc tgaggctggt cagagagctg gttggagtga tgcccatcgg tggaccccgct
107701 ggagaaggcc tgagtagaga aggtctaagc ttaacgggga aggggtgggc cagggtggaa
107761 atggggtggg aagtttgagg aggggagca gtggagatgg gggttgtgag gaatgggagt
107821 gagcttagac gtcttgagga tactgcagtt ctgtgctttt tttcacacct ggctgaaaat
107881 tcactgaaaa caaaacaacc cttgctctgt gacagcctag aggggtggga gggaggctta
107941 agagggaggg gacgtgcgtg tgcctatggg cgattcatgt gggtgtacgg cagaaagcaa
108001 cacagtatgt aattaccctc caattaaaga tcaagtacaa cttaaaaacc ccaaacacaa
108061 cattgtaagt cagctagact ccagtaaaca tttcagtaag aagattcaac tgggaatgag
108121 ttccgccgtg actatcctga tgaatttccc gtgtcttctt gaggccattc ctctttgaac
108181 ttccgtgttt ggggaagcgt gcctttgtat ggagtcctga ggagtaaatg agacgggctt
108241 gtagaaggcc tagtagtgcc ttgcacgcgg cagatgctca ataacctcga gttgtcacca
108301 ttatggtacc tcaagagtct ccttggagct tgcacggttt ctgaatgggg tcctgcgggg
108361 ctcccttggg gctcccacat ggggttgggg ggctgagtgg ggtgtccccg ctccttgctt
108421 gtccccctgtg gaacacccccc ttccacccga gcagctctgc ttttgtctct tgtgtttgtt
108481 tatatctcct agattgttgt tcagtcgctc agtcgtgtcc aactctccga ccccatggac
108541 tgcagcacac caggccttct gccttcacca tctcccggag cttgctcaaa ctcctgtcca
108601 ttgagttgct gatgccgtcc aaccatctcg tcctctgtcg tccccttctc cttttgacct
108661 cagtctttcc cagcatcagg gtcttttcca atgagtcagc tctttgactc aggtggccaa
108721 gtattggagc ttcagcttca ttatcagtcc ttccaatgaa tattcagggt tgatttcttt
108781 taggattgag tgacttgatc tccttgcagt ccaagggact ctcaagagtc ttcaacacca
108841 cagttcaaaa gcatcagttc ttcggcactc agccttcttt atgatccaac gcccacatcg

【０１７３】

【化６８】

108901 gtacatgact actggaaaaa ctttggctca gagataattg acttgattga atacaaagtt
108961 ctttggcaaa aaataaaagt gtggcaagca gtactgacac aaaagcaagt ggcttttcct
109021 ccgttgagtc atttatttat tcagtgggtg tgtgcgtgta gagacggagc ggctgtgctg
109081 ggagctgggg cttccacttc agaggagccc cggacctgcc ctcggggagt tcacaggcag
109141 tgctgcgggg ggtcctgcca ggacgcctgc cctgcgagtg cccagtgctg tgatggatgc
109201 gtgtcccgca tctgcggcca ctggggccac gtgcccgaga ttgtccgggt ctgagggtgc
109261 agagaagagg aggcatttgg actgagtctg gaaaaatgag catgtggcca cgtgagaagc
109321 cagtggtgag gggaccagtc aggcggagga aagagcggct catacgagtt gtggagctgg
109381 aagcatgagg gtgtgtggaa gcagaggccg gggacagggc cgcagggccg gccatggagg
109441 gcgtgggctg ctgcaggctc ctgagaaggg ggacgctgcc atcatgaccg ggtttaggtg
109501 tttgaccctg gtgtccacgt agaggacaga tgtgtggggg gggagctgga gatgggcatc
109561 catcgggagt cagcctggag agaggcagag accccgtcag tgggccctca ggacgtggat
109621 ggggcggatg ttgggaagat ctgactcctg ggttccggct ggggctccgg gctggagggg
109681 tgccgcccac cgagcacagg aggcaaacag atgccctctc ccagcaagac cccagcccca
109741 gcacctccg gggccggact ccgccctct tccagaatgg ctcccttgct gtcctcgccc
109801 atctttccgg tgccctgagc ctctagagtc tggacaccag cgtccgcctt gcgcttgttt
109861 ctgggaagtc tctggcttgt ctctgactca cccaggaccg tcttcgaggg caaggttgtg
109921 tccttggttc catctgcttt ggggtccggc tcctcgctgc ttgacctgct gatgtgacag
109981 tgtctcttgt tttctttica gaatccgaga gcagctgtgt gtgtcccaga cagacccagc
110041 cgctgggatg acgggcccct ctgtggagat ccccccggcc gccaagctgg gtgaggcttt
110101 cgtgtttgcc ggcgggctgg acatgcaggc agacctgttc gcggaggagg acctgggggc
110161 ccccttictt cagggggagg ctctggagca gatggccgtc atctacaagg agatccctct
110221 cggggagcaa ggcagggagc aggacgatta ccgggggggac ttcgatctgt gctccagccc
110281 tgttccgcct cagagcgtcc ccccgggaga cagggcccag gacgatgagc tgttcggccc
110341 gaccttcctc cagaaaccag acccgactgc gtaccggatc acgggcagcg gggaagccgc
110401 cgatccgcct gccagggagg cggtgggcag gggtgacttg gggctgcagg ggccgcccag
110461 gaccgcgcag cccgccaagc cctacgcgtg tcgggagtgc ggcaaggcct tcagccagag
110521 ctcgcacctg ctccggcacc tggtgattca caccggggag aagccgtatg agtgcggcga
110581 gtgcggcaag gccttcagcc agagctcgca cctgctccgg caccaggcca tccacaccgg
110641 ggagaagccg tacgagtgcg gcgagtgcgg caaggccttc cggcagagct cggccctggc
110701 gcagcacgcg aagacgcaca gcgggaggcg gccgtacgtc tgccgcgagt gcggcaagga
110761 cttcagccgc agctccagcc tgcgcaagca cgagcgcatc cacaccgggg agaagccctа
110821 cgcgtgccag gagtgcggca aggccttcaa ccagagctcg ggcctgagcc agcaccgcaa
110881 gatccactcg ctgcagaggc cgcacgcctg cgagctgtgc gggaaggcct tctgccaccg
110941 ctcgcacctg ctgcggcacc agcgcgtcca cacgggcaag aagccgtacg cctgcgcgga
111001 ctgcggcaag gccttcagcc agagctccaa cctcatcgag caccgcaaga cgcacacggg
111061 cgagaggccc taccggtgcc acaagtgcgg caaggccttc agccagagct cggcgctcat
111121 cgagcaccag cgcacccaca cgggcgagag gccttacgag tgcggccagt gcggcaaggc
111181 cttccgccac agctcggcgc tcatccagca ccagcgcacg cacacgggcc gcaagcccta
111241 cgtgtgcaac gagtgcggca aggccttccg ccaccgctcg gcgctcatcg agcactacaa
111301 gacgcacacg cgcgagcggc cctacgagtg caaccgctgc ggcaaggcct tccggggcag
111361 ctcgcacctc ctccgccacc agaaggtcca cgcggcggac aagctctagg gtccgcccgg
111421 ggcgagggca cgccggccct ggcgccccca gcccagcggg tggacctggg gggccagccg
111481 gacggcggaa tcccggccgg ctcttctctg ccgtgacccc ggggggttgg ttttgccctc
111541 cattcgcttt ttctaaagtg cagacgaata cacgtcagag ggacgaagtg gggttaagcc
111601 cccgggagac gtccggcgag ctctaacgtc agacacttga agaagtgaag cggactcgca
111661 gcccgtacag cccggggaag atgagtccaa agtcgagggt caccttggcc actgcagggt
111721 cgctcggcgg tgggggcggag cgggtgcagg agggctcctc ctggggcttgg ggtggcaggc
111781 gaggaccccg cgcctctcag ccctcggcct gggttggctg agggcgggcc tggctgtagg
111841 ccctccagcg gaggtggagg cgctgccccgg ctcagccagg cacaggaccc tgccacgagg
111901 agtagccctc cgccagaccc ggcgtccagg ctggggcgcc tgcggggcct ccgttctgtg
111961 gctgggcagc ctgcgccctg tccagggatg aaggggttcc ggtctgaagg gctgggttca
112021 gggtccagct ctggcccctc ctgccttggt gtcctggagg aagccccaag gctccgtttc
112081 cctctccagg aggtggggac gttgggaatg ccacattccc ctgggggggtg tgtgtgtgtg
112141 ttcaaggctc ccattcagac tgggactggg cactcacgag ctttggcaac tggcaactga
112201 ggacggagac ccagggtgac accccacctc ctgctgcggc cccccggca ggggagacac

【０１７４】

【化６９】

112261 aggcccgtct ggttcccaag atggcagggc ccctcccccc ccagcttgtg ccctgggtgt
112321 ggtgcctggg gctacagcga ccctttccgg ttccccgggc cagttcagct gggcatcctc
112381 agggcgggge tctgagggtg ccatgtttcc agagctcctc ctcctcccac cagtagcagg
112441 cgggcggcca gctcccaggc agccccctgg catcgcctag gtgcacacct gcccgctgtg
112501 acccagcaag gcttgaaggt ggccatccca gttaagtccc ctgcccctgg cccaggaatg
112561 ggctcgggca gggccgcatc tggctgcccc agaagcgtct gtccctggcc tctgggagtt
112621 ggcggtggtc tctggtactg tccctcgcag ggccccttag cactgctcgg ggaggaggtg
112681 ggctgaactg attttgaagt tttacatgtc tgcggccgca gtcctacgag cccgtcaggg
112741 tcatgctggt tatttcagca gatggggctt ggctcggcag ctaggatggt cctgaataaa
112801 aatgggaagg ccagagctgt tcctccatca gcaggcttgg cagctgggga cgttgaaagg
112861 acaggtctgc tggtctgggg agaccagctc tgtgcagccc ctgctgtccg tgggggtact
112921 aaaccagccc ctgtgtgcgc ccatctgagt ggcagcccgc ctggaggatc gcccatcact
112981 tgtgagaatt gagagaatgc tgacaccccc gcttggtgca gggggacagg gcccccctaag
113041 atctacctcc ttgccccacc cccgggaccc cctcagcctt ggccaggact gtccttactg
113101 ggcagggcag tcatccactt ccaacctttg ccgtctcctc cgcgcgctgt gctcccagcc
113161 aaattgtttt attttttcc aagcatcact ttgcacacgt caccactctc cttaaaacca
113221 cccttccgga gtctcctgct cgtaaatcgc cggtttcagc caacctgggt cgccccccaa
113281 gcccagcaag cctgctgagc cccgcgcctc ccagctactt cacgctcgcc tcaagcttct
113341 aaacgcggac cttctccccc ccaccccccat ccctttcttt tctgatttat gtaacacggc
113401 aggtaagact cctctcctga agggttgaca gactcacaca aaaccgtggt cagaccaggc
113461 aagtgctttt tttcagaagt gtgagcggaa cctagtcttc agctcatgct ctttccttgt
113521 tttcttatgt gttctaagtc ctttgacttg ggctcccaga cagcgacgtt gtaagaggcc
113581 gtcctggtag catttgaatt gtcctcgagt ttcgttgtcg gattttgttt tattgtctta
113641 gttttccctt cttttagcag acgttgttga ctgtcgtaaa gctccagttc ttggttctgt
113701 ttactaatca aattgttttg tcaaagtaca tgtattctgc tcttttcttt atcttttttg
113761 ttgcttaata ttaacacttt acatttctaa gattaattat ttaggtaatt aataatttt
113821 aacatttcta gtaaacgtgg gtacttgggt ctgtgtttgt tttcttgtag ttacagcttt
113881 ttctgctcta tactgttgac gtctgggttt ttttttgctc ttaggaattt cccttgacc
113941 ccattattat tattttaatt agtatttttt aataattaaa aattagtgtt tttaaattaa
114001 cctaatcct aaccccagtg atgactgctt cagtcattgc tgttacttat tatgtgctgg
114061 tgtcaggatt tttaagtgtc catagacatt ctctgagcct gaatatatta tcagttttat
114121 acagcatttg tgtactctca agaaacgtgt tttcactctg tcagttcggt ttgttacctc
114181 agtcttiatg ttatttttgct ccagtccgca cttgctctaa cttgtcttcc cttcgaggtg
114241 tgaggacgcc tggcagccgg tgagcatgcc ggggtccggg gtcgtgggcc caggcgccca
114301 gcaaagcccct gtgggtgtgt gcacggctgg gctgctccgg gaggaagcct gtggccccac
114361 ggtagttagg agcgctggtt tacctggtca caccacggtc tggttttgtg tgcttttccc
114421 tgacgtgttt ctgttttgcc ttggtttcta ttctgtttta tgagtgccgt ttacgctttg
114481 ttagtcatgc cgttatctcg atagacaggg tgtacgtgat caagtgatta ccgtatttgg
114541 agcagatgtc tatttaacag agatgaactg agaacctgtg cctttgcatg ccctctttgc
114601 ctcttttaat gcttctagct tcaacttctc ttttccaaac attataatgg aaaccccttg
114661 cttttttttt tttaatttgc atttgcatga gagtttattt agctcggcat tttatttttta
114721 aaatttgtgt atatattttt gctatatatc tgtaacttat aaacagcaaa ttattggatt
114781 ttgctttctg attcttttctg taattcttct tacataagaa gttctcctat gagtaacatt
114841 gctgtttaga gtgaggcatg atttatttcc agcttagtat gtattgggtc ggttaacccc
114901 caaaggtcat gctcatcccc gccccatctc tgtgagttat tgtccgagtg tggagcgccc
114961 tgtctaggcc gacgagagac ccaccatcgg gcacacctgc ccctcctggt ctggtcagtg
115021 ccgggctctg tcctgagtcc actcctgatg tcacaggctg gtgcttcagc gacctcggct
115081 gtgacacgga gggtgtgatg gcactgccca gccccatggg gcttggagga ctaaaggatg
115141 cacacctgcc tggcagactg agggcacagg tgtttctcac actgtcagcg ttttgaaata
115201 ttcctttgat tttctaccct aactcccaaa ggccgttcaa cataagctag aatgctacgt
115261 ggtgcttgat tacattttag aaaagtttca gcaaatacca cgagatgcag caaagaacta
115321 gacctcacag atcaggccgc ctgcataagg gagcccacac agtcgtggga gacggggacc
115381 ctctcccacg tcctgtctgt cccaggatgg tcccctcacc cgccccctct ctccctcgc
115441 cctcctgtgg tgggggccgg ccaccatcac agctgcagag cctcaagaag ggggtcgccc
115501 tggccactcc cgtggcagga gggacacgag ggcaggagct taccgcgggt gcagtggtct
115561 cggatcagct cagctggccg ctgcgggggtc gggggacag ttcagtggga ggcaggagcc

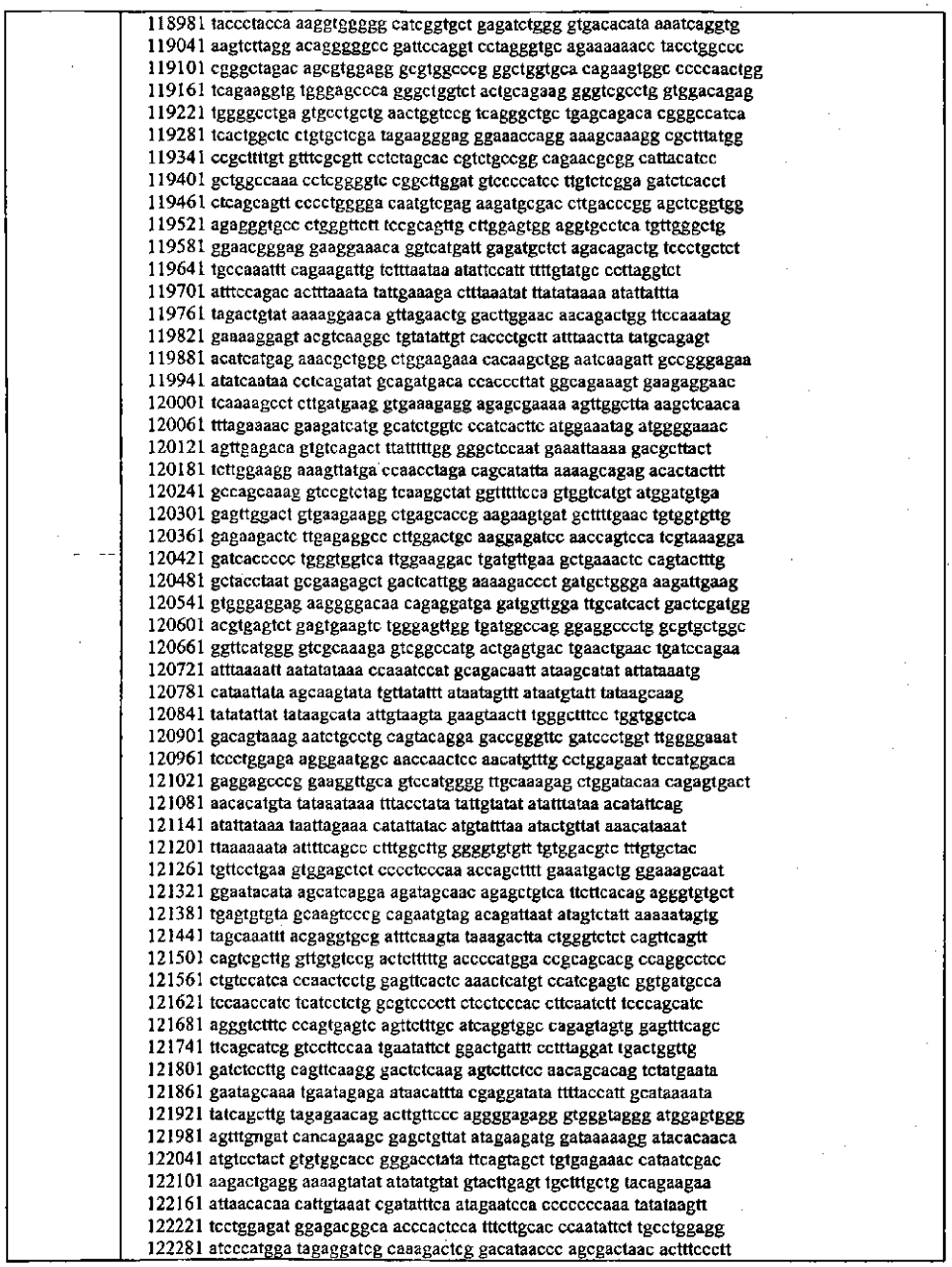
【０１７５】

【化７０】

115621 cccactacag ctgccaggac ttctcagagg tgacaagggg gttcagtcac ctcagcccag
115681 gtggaaacca aatggcctct tgcgcggctc ctggggccac gcggaggttc gctgggatca
115741 caggtatctg gatgtgtgcg ccatggacat gcaccacctt cgggggtaa ggggtgggga
115801 aaggcagccc ctttcttttg ggggacccccc tcttcagtgt ctgataacca ggaaaccaaa
115861 tcagaaggtg gtctgggggt gctgagcagg gtgtctccta caccacaggc cacacactca
115921 cacagcctcc aggactccag tgggggctgag cgctggagac tcacccacgt ttgctacccc
115981 cccacccaag gccatcccag aacagctgcc tgcgtcctca cggctggccc ctcccctctg
116041 gtctaaccca gtgtgggtgg gccggcctgg ggtctccacc tgcctcctgc tgttccctgg
116101 gctgctggct gtctgcagat gcggggccct ggcccggaga agccccatca gagcccagag
116161 gacgggagtg gagcgggggag gtgagccccg gagtctcgag gggccagagg caaaatactg
116221 ggctgtgtcc ctggaaggca gtttcccatg aaaccttcaa tataggcggc cccagacgat
116281 cagcctcatc tgctacgtgg atttctcccc gtagcgaatg gtgattgggt tctacatgga
116341 cccgggactt ctgtttgaat tataatcttt ccccccactgc ccctccaggg atctggaaaa
116401 tggaggcctg ggctagacgg aagcttcctc caagattctt tattgaaggg attcgaagag
116461 aaacaggtgg tcagtaatct gtgggggatg gaggggtgag cgctacgtgt aacggttttta
116521 ctgttgctac gggaccagtt ttgatgtctt tcccctttcaa gaagcagacc caaacacccga
116581 gatgctgagg ttagcagcac agagcgggtt catccacaag gcaaccaggc agggagacca
116641 gagacgctct ggaatctgcc tccctatggg cacgggctgg gtgctcacgg atgaagacca
116701 agcagcaggt ggcgtggggc gtggggagcc tgcggaaagc gatggacaag gtgcgggacc
116761 gcggtccgcg cggtggaccc aagctccgcc tctgcgctgc agcgcgagct gggggcggag
116821 cttccaggga cccgcgaccg cgcccagtgg gagggtccgc ggtccaccca gtcctaacag
116881 ctcagctcca gctagacgcc gctgagtccg gctttctaga gagcaacccc ggcgggtatt
116941 ttatggttct ggcttcctga ttggaggaca cgcgagtctt agaacaccct tgattagtgc
117001 gggcaggcgg aatggatttg actgatcacg atctgcagtt tcaccatctc aggggccgcc
117061 ctcaccccca cctatcctgc caaagggggg gcctcggtgc tgagatcggg gccacacgtg
117121 cactagacgg tcggtcagcg ctgctgctga gcggacccgg ggccatcctc acaccgccac
117181 tggccctgt gctcaataaa aggaaggaaa gcgggaaaag cgctttctgg ccgcggtggc
117241 ctcgcgcgtt cctccatcgc catctgctgg cagagcccgg catggcaccc gctgcacaga
117301 aacctcggtg tccgtttggg tgccccatcc ttgaccccga gagagcaccc tccgtccaaa
117361 atgaaaaaca gctgctccca agagtcatta taatcacagc caattgtgtt aattcgtcct
117421 cggatccact cacagttcca cggaacattc tgctaacctc tgacaactcc tacataaagc
117481 aatactgaga agaaaagaac gtggttgata aatacaaagg catacaacaa taaggagcaa
117541 agaaaaaaga cagtcctcgc agttctgttt tgttcatctc tcatgagtag gatggcagat
117601 aaaacacaga atgcccagtg aataatttta gtctaagtat gtcccaata ctgcctaatc
117661 ttcaaatcta accttatttt taaaatatat atttttgct ggtcactcat cagttcatgc
117721 accaaagcct ttgtttcttg actcctaact ttttgacccc tctggggtga ggagcacccc
117781 taacctcgag agcccatcac acagtcccct tgggactaga cccttctttg cccatcacag
117841 ctgaccggaa gggccagccc atggccagcg ctcgcgcccc ctggcggaca gactctgcgc
117901 ggcagccccg ggagccccagg tgcgaccccg cggtctctgg cgccctctag tgtggaaaga
117961 tctcctcctg gtgttcccag tcattgggct gtattttatt agagaagatg ctcgcgtgac
118021 gatgatgatg gtccttiacc gggaggcacg tttggggcgc gtcggctcag gggccgagct
118081 attagcctgc atcgcgccca caggcatcgc gtccccctga gccgggtcag ctgtgggctg
118141 tcctgacacg ggtttcccca agtctctggc ccgctgtccc tcccaggtca gtgtccagcg
118201 ttgccccttct ggttgtggac ttgtgcagcg gtctcagcag atggaggggc gaccctaaag
118261 gatgtattga ggcatctcag cactgtcctc cgcccaggtt tgctggtcag cagtgaagtg
118321 accgggaaaa ggggctgtct tggggtcctt tcagaggcct gggttagacc aaagttttct
118381 agaagattca ccattgcagg gagtcaaaga caaaactagg gtggtcagca atctgtgggg
118441 gattcggcgg tgagggaatt ctgaatgcta catgtaatgg tttactatt gttagggaac
118501 atttttcccc cctacaaaca gcaggccaaa atactgagat gtcaggtttg catcaaagag
118561 cgggttcatc cacaaggcaa ccagagaacg ctctggaatc tgcctccctg cgggcacagg
118621 ctgggtgctc acggatgaag accaagcagc aggtggcgtg gggagtgggg agcctgggga
118681 aagcgatgga caaggtgcga ggacctccgg cgcgagctgg aggcggagct tccagggaca
118741 cgcggccacg cccagtggga gggtcagcgg tccatccagt cctaacagct cagctccaac
118801 tagacgctgc tgagtctggc tttctagaga acactccggg cgggtatttt attgttttgg
118861 cttcgtgact ggaggacgtt caagtcttaa aacacccttg attagtgcgg ggaggcggaa
118921 tggatttgac tgatcacgac ccgcagtttc accatctcag gggccgccct cacccctcc

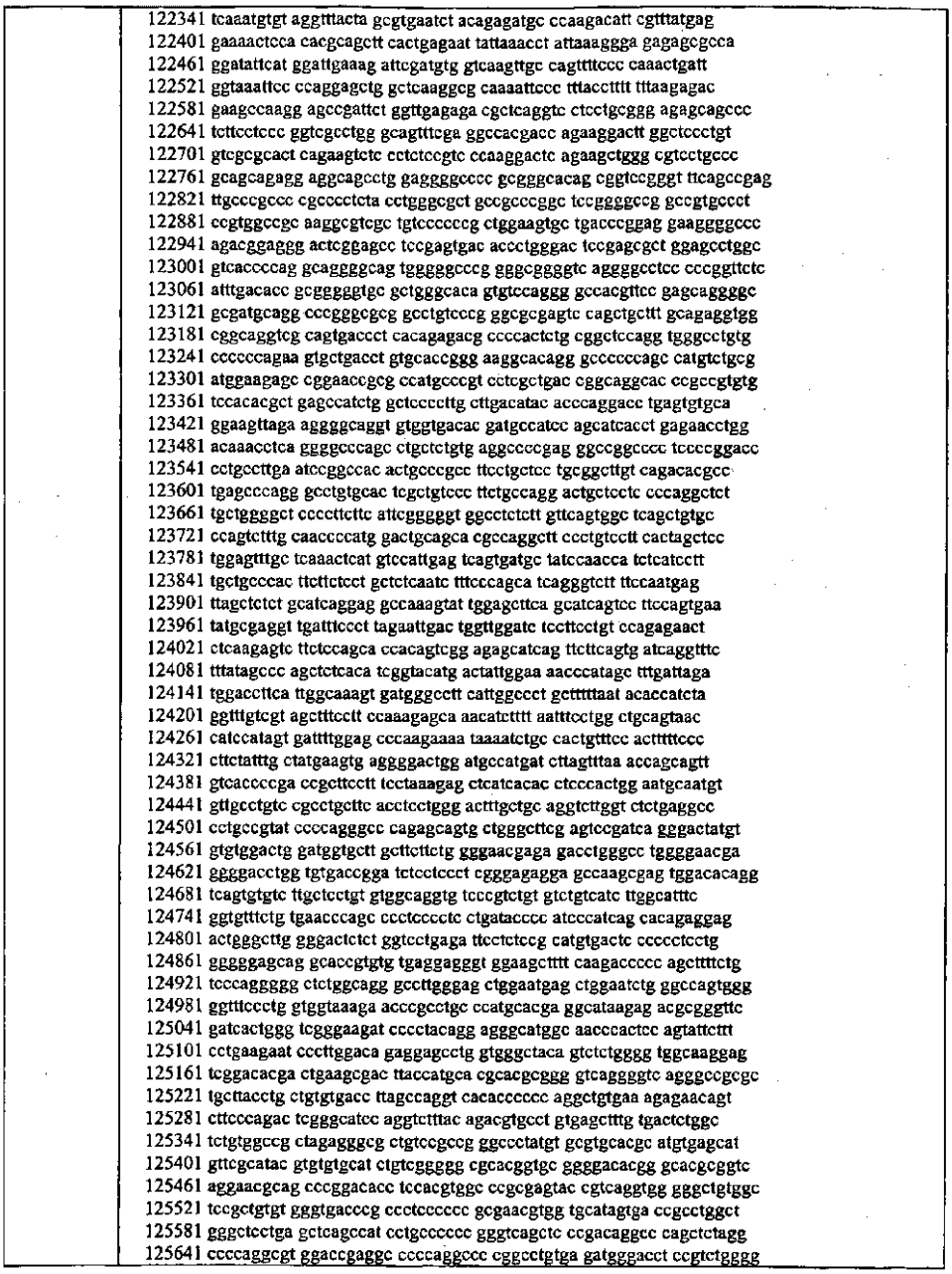
【０１７６】

【化７１】


118981 taccctacca aaggtgcggg catcggtgct gagatctggg gtgacacata aaatcaggtg
119041 aagtcttagg acaggggggc gattccaggt cctagggtgc agaaaaaacc tacctggccc
119101 cgggctagac agcgtggagg gcgtggcccg ggctggtgca cagaagtggc ccccaactgg
119161 tcagaaggtg tgggagccca gggctggtct actgcagaag gggtcgcctg gtggacagag
119221 tggggcctga gtgcctgctg aactggtccg tcagggctgc tgagcagaca cgggccatca
119281 tcactggctc ctgtgctcga tagaagggag ggaaaccagg aaagcaaagg cgctttatgg
119341 ccgcttttgt gtttcgcgtt cctctagcac cgtctgccgg cagaacgcgg cattacatcc
119401 gctggccaaa cctcggggtc cggcttggat gtcccccatcc ttgtctcgga gatctcacct
119461 ctcagcagtt cccctgggga caatgtcgag aagatgcgac cttgacccgg agctcggtgg
119521 agagggtgcc ctgggttctt tccgcagttg cttggagtgg aggtgcctca tgttgggctg
119581 ggaacgggag gaaggaaaca ggtcatgatt gagatgctct agacagactg tccctgctct
119641 tgccaaattt cagaagattg tctttaataa atattccatt ttttgtatgc ccttaggtct
119701 atttccagac actttaaata tattgaaaga ctttaaatat ttatataaaa atattattta
119761 tagactgtat aaaaggaaca gttagaactg gacttggaac aacagactgg ttccaaatag
119821 gaaaaggagt acgtcaaggc tgtatattgt caccctgctt atttaactta tatgcagagt
119881 acatcatgag aaacgctggg ctggaagaaa cacaagctgg aatcaagatt gccgggagaa
119941 atatcaataa cctcagatat gcagatgaca ccaccctiat ggcagaaagt gaagaggaac
120001 tcaaaagcct cttgatgaag gtgaaagagg agagcgaaaa agttggctta aagctcaaca
120061 tttagaaaac gaagatcatg gcatctggtc ccatcacttc atggaaatag atggggaaac
120121 agttgagaca gtgtcagact ttatttttgg gggctccaat gaaattaaaa gacgcttact
120181 tcttggaagg aaagttatga ccaacctaga cagcatatta aaaagcagag acactacttt
120241 gccagcaaag gtccgtctag tcaaggctat ggttttttcca gtggtcatgt atggatgtga
120301 gagttggact gtgaagaagg ctgagcaccg aagaagtgat gcttttgaac tgtggtgttg
120361 gagaagactc ttgagaggcc cttggactgc aaggagatcc aaccagtcca tcgtaaagga
120421 gatcaccccc tgggtggtca ttggaaggac tgatgttgaa gctgaaactc cagtactttg
120481 gctacctaat gcgaagagct gactcattgg aaaagaccct gatgctggga aagattgaag
120541 gtgggaggag aaggggacaa cagaggatga gatggttgga ttgcatcact gactcgatgg
120601 acgtgagtct gagtgaagtc tgggagttgg tgatggccag ggaggccctg gcgtgctggc
120661 ggttcatggg gtcgcaaaga gtcggccatg actgagtgac tgaactgaac tgatccagaa
120721 atttaaaatt aatatataaa ccaaatccat gcagacaatt ataagcatat attataaatg
120781 cataattata agcaagtata tgttatattt ataatagttt ataatgtatt tataagcaag
120841 tatatattat tataagcata attgtaagta gaagtaactt tgggctttcc tggtggctca
120901 gacagtaaag aatctgcctg cagtacagga gaccgggttc gatccctggt ttggggaaat
120961 tccctggaga agggaatggc aaccaactcc aacatgtttg cctggagaat tccatggaca
121021 gaggagcccg gaaggttgca gtccatgggg ttgcaaagag ctggatacaa cagagtgact
121081 aacacatgta tataaataaa tttacctata tattgtatat atatttataa acatattcag
121141 atattataaa taattagaaa catattatac atgtatttaa atactgttat aaacataaat
121201 ttaaaaaata atttcagcc ctttggcttg ggggtgtgtt tgtggacgtc tttgtgctac
121261 tgttcctgaa gtggagctct cccctcccaa accagctttt gaaatgactg ggaaagcaat
121321 ggaatacata agcatcagga agatagcaac agagctgtca ttcttcacag agggtgtgct
121381 tgagtgtgta gcaagtcccg cagaatgtag acagattaat atagtctatt aaaaatagtg
121441 tagcaaattt acgaggtgcg atttcaagta taaagactta ctgggtctct cagttcagtt
121501 cagtcgcttg gttgtgtccg actcttttig accccatgga ccgcagcacg ccaggcctcc
121561 ctgtccatca ccaactcctg gagttcactc aaactcatgt ccatcgagtc ggtgatgcca
121621 tccaaccatc tcatcctctg gcgtcccctt ctcctcccac cttcaatctt tcccagcatc
121681 agggtctttc ccagtgagtc agttctttgc atcaggtggc cagagtagtg gagtttcagc
121741 ttcagcatcg gtccttccaa tgaatattct ggactgattt cctttaggat tgactggttg
121801 gatctccttg cagttcaagg gactctcaag agtcttctcc aacagcacag tctatgaata
121861 gaatagcaaa tgaatagaga atiacattta cgaggatata ttttaccatt gcataaaata
121921 tatcagcttg tagagaacag acttgttccc aggggagagg gtgggtaggg atggagtggg
121981 agtttgngat cancagaagc gagctgttat atagaagatg gataaaaagg atacacaaca
122041 atgtcctact gtgtggcacc gggacctata ttcagtagct tgtgagaaac cataatcgac
122101 aagactgagg aaaagtatat atatatgtat gtacttgagt tgctttgctg tacagaagaa
122161 attaacacaa cattgtaaat cgatatttca atagaatcca ccccccccaaa tatataagtt
122221 tcctggagat ggagacggca acccactcca tttcttgcac ccaatattct tgcctggagg
122281 atcccatgga tagaggatcg caaagactcg gacataaccc agcgactaac actttccctt

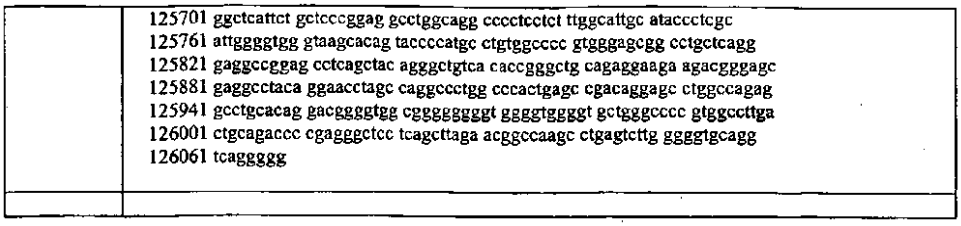
【０１７７】

【化７２】



【０１７８】

【化７３】



（プライマー）

別の実施形態では、ターゲッティングベクターの３’配列および５’配列を生成するためのプライマーを提供する。オリゴヌクレオチドプライマーは、ブタ免疫グロブリンゲノム配列（上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１など）とハイブリダイズし得る。特定の実施形態では、プライマーは、ストリンジェントな条件下で、上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１

９、２８、または３１とハイブリダイズする。別の実施形態は、ブタ重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の核酸配列（上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１など）とハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドプローブを提供する。ポリヌクレオチドプライマーまたはプローブは、本発明のポリヌクレオチドとハイブリダイズする少なくとも１４塩基、２０塩基、３０塩基、または５０塩基を有し得る。プローブまたはプライマーは、少なくとも１４ヌクレオチド長、特定の実施形態では、少なくとも１５、２０、２５、２８、または３０ヌクレオチド長であり得る。

【０１７９】

１つの実施形態では、機能的連結領域（Ｊ６領域）を含むブタＩｇ重鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。１つの制限されない実施形態では、重鎖の増幅フラグメントを配列番号４に示すことができ、このフラグメントを増幅するために使用されるプライマーは、５’組換えアームを生成するためにＪ領域（配列番号２などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり、３’組換えアームを生成するためにＩｇ重鎖μ定常領域（配列番号３などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり得る。別の実施形態では、ブタＩｇ重鎖領域（配列番号４などであるが、これに制限されない）をサブクローン化し、ターゲッティングベクターにアセンブリし得る。

【０１８０】

他の実施形態では、定常領域を含むブタＩｇκ軽鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。別の実施形態では、Ｊ領域を含むブタＩｇκ軽鎖のフラグメントを増幅するためのプライマーを提供する。１つの制限されない実施形態では、このフラグメントを増幅するために使用されるプライマーは、５’組換えアームを生成するためにＪ領域（配列番号２１または１０などであるが、これに制限されない）の一部に相補的であり、３’組換えアームを生成するために定常領域（配列番号１４、２４、または１８などであるが、これに制限されない）の３’側のゲノム配列に相補的であり得る。別の実施形態では、ブタＩｇ重鎖（配列番号２０などであるが、これに制限されない）をサブクローン化し、ターゲッティングベクターにアセンブリし得る。

【０１８１】

（ＩＩ．免疫グロブリン遺伝子の遺伝子ターゲッティング）

本発明は、免疫グロブリン遺伝子（例えば、上記の免疫グロブリン遺伝子）を不活化するために遺伝子改変された細胞を提供する。遺伝子改変し得る動物細胞を、種々の異なる生物および組織（皮膚、間充組織、肺、膵臓、心臓、腸、胃、膀胱、血管、腎臓、尿道、生殖器、および胚、胎児、または成体動物の全部または一部の脱凝集調製物などであるが、これらに限定されない）から得ることができる。本発明の１つの局面では、細胞を、以下からなる群から選択し得るが、これらに限定されない：上皮細胞、線維芽細胞、神経細胞、ケラチノサイト、造血細胞、メラノサイト、軟骨細胞、リンパ球（ＢおよびＴ）、マクロファージ、単球、単核細胞、心筋細胞、他の筋細胞、顆粒膜細胞、卵丘細胞、表皮細胞、内皮細胞、ランゲルハンス島細胞、血球、血液前駆細胞、骨細胞、骨前駆細胞、神経幹細胞、始原幹細胞、肝細胞、ケラチノサイト、臍帯静脈内皮細胞、大動脈内皮細胞、微小血管内皮細胞、線維芽細胞、肝臓星細胞、大動脈平滑筋細胞、心筋細胞、ニューロン、クッパー細胞、平滑筋細胞、シュワン細胞、および上皮細胞、赤血球、血小板、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、脂肪細胞、軟骨細胞、膵島細胞、甲状腺細胞、副甲状腺細胞、耳下腺細胞、腫瘍細胞、グリア細胞、アストロサイト、赤血球、白血球、マクロファージ、上皮細胞、体細胞、下垂体細胞、副腎細胞、有毛細胞、膀胱細胞、腎細胞、網膜細胞、桿状体細胞、錐状体細胞、心臓細胞、ペースメーカー細胞、脾臓細胞、抗原提示細胞、記憶細胞、Ｔ細胞、Ｂ細胞、形質細胞、筋細胞、卵巣細胞、子宮細胞、前立腺細胞、膣上皮細胞、精細胞、精巣細胞、生殖細胞、卵細胞、ライディッヒ細胞、尿細管周囲細胞、セルトリ細胞、黄体細胞、頚部細胞、子宮内膜細胞、乳房細胞、卵胞細胞、粘膜細胞、繊毛細胞、非角化上皮細胞、角化上皮細胞、肺細胞、杯細胞、円柱上皮細胞、扁平上皮細胞、骨細胞、骨芽細胞、および破骨細胞。１つの別の実施形態では、胚性幹細胞を使用し得る。胚性幹細胞株を使用し得るか、胚性幹細胞を、宿主（ブタ動物など）から新た

に得ることができる。細胞を、適切な線維芽細胞支持層上で成長させるか、白血病抑制因子（ＬＩＦ）の存在下で成長させることができる。

【０１８２】

特定の実施形態では、細胞は線維芽細胞であり得る。１つの特定の実施形態では、細胞は、胎児線維芽細胞であり得る。成長中の胎児および成体動物から大量に得ることができるので、線維芽細胞は、適切な体細胞型である。これらの細胞を、急速な倍加期間にてインビトロで容易に増殖するか、遺伝子ターゲッティング手順で使用するためにクローニングによって増殖させることができる。

【０１８３】

（ターゲッティング構築物）

（相同組換え）

１つの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子を、相同組換えによって細胞中で遺伝子をターゲッティングし得る。相同組換えにより、内因性遺伝子が部位特異的に改変され、それにより、ゲノムに対して新規の変化を改変し得る。相同組換えでは、入ってくるＤＮＡは、実質的に相同なＤＮＡ配列を含むゲノム中の部位と相互作用して組み込まれる。非相同（「無作為」または「不規則（ｉｌｌｉｃｉｔ）」）組込みでは、入ってくるＤＮＡは、ゲノム中の相同配列で見出されないが、他の場所（多数の潜在的な位置の１つ）で組み込まれる。一般に、高等真核細胞を使用した研究により、相同組換えの頻度が無作為な組込みの頻度よりはるかに少ないことが明らかとなった。これらの頻度の比は、「遺伝子ターゲッティング」と直接的な関係を示し、これは、相同組換え（すなわち、ゲノム中の外因性「ターゲッティングＤＮＡ」と対応する「標的ＤＮＡ」との間の組換え）による組込みに依存する。

【０１８４】

哺乳動物細胞における相同組換えの使用は、多数の論文に記載されている。これらの論文の例は以下である：Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：３１５３－３１５７，１９８４；Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏ．５：７１４－７２０，１９８５；Ｓｍｉｔｈｉｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ３１７：２３０－２３４，１９８５；Ｗａｋｅら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏ．８：２０８０－２０８９，１９８５；Ａｙａｒｅｓら、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １１１：３７５－３８８，１９８５；Ａｙａｒｅｓら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏ．７：１６５６－１６６２，１９８６；Ｓｏｎｇら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８４：６８２０－６８２４，１９８７；Ｔｈｏｍａｓら、Ｃｅｌｌ ４４：４１９－４２８，１９８６；ＴｈｏｍａｓおよびＣａｐｅｃｃｈｉ，Ｃｅｌｌ ５１：５０３－５１２，１９８７；Ｎａｎｄｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：３８４５－３８４９，１９８８；およびＭａｎｓｏｕｒら、Ｎａｔｕｒｅ ３３６：３４８－３５２，１９８８；ＥｖａｎｓおよびＫａｕｆｍａｎ，Ｎａｔｕｒｅ ２９４：１４６－１５４，１９８１；Ｄｏｅｔｓｃｈｍａｎら、Ｎａｔｕｒｅ ３３０：５７６－５７８，１９８７；ＴｈｏｍａおよびＣａｐｅｃｃｈｉ，Ｃｅｌｌ ５１：５０３－５１２，４９８７；Ｔｈｏｍｐｓｏｎら、Ｃｅｌｌ ５６：３１６－３２１，１９８９。

【０１８５】

本発明は、細胞（上記の細胞など）中で免疫グロブリン細胞を不活化させるために相同組換えを使用し得る。ＤＮＡは、特定の遺伝子座に遺伝子の少なくとも一部を含むことができる。このＤＮＡは、天然の遺伝子の少なくとも１つ、任意選択的に両方のコピーを変化させ、それにより、機能的免疫グロブリンの発現が防止される。この変化は、挿入、欠失、置換、またはその組み合わせであり得る。この変化が不活化される遺伝子のたった１つのコピーに導入される場合、標的遺伝子の１つの非変異コピーを有する細胞が増幅し、これを、第２のターゲッティング工程に供し得る。この変化は、第１の変化と同一でも異なっていてもよく、欠失または置換される場合、最初に導入された変化の少なくとも一部と重複し得る。この第２のターゲッティング工程では、同一の相同性アームであるが、異なる哺乳動物選択マーカーを含むターゲッティングベクターを使用し得る。得られた形質

転換体を、機能的標的抗原の不在についてスクリーニングし、細胞のＤＮＡをさらにスクリーニングして、野生型標的遺伝子の非存在を確認し得る。あるいは、表現型に関するホモ接合性を、変異についてヘテロ接合性を示す宿主の交配によって達成し得る。

【０１８６】

（ターゲッティングベクター）

別の実施形態では、核酸ターゲッティングベクター構築物も提供する。細胞中で相同組換えが行われるようにターゲッティングベクターをデザインし得る。これらのターゲッティングベクターを、相同組換えによって有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子をターゲッティングするために哺乳動物細胞に形質転換し得る。１つの実施形態では、ターゲッティングベクターは、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖のゲノム配列（例えば、上記の配列番号１、４、２９、３０、１２、２５、１５、１６、１９、２８、または３１に示す配列）のゲノム配列に相同な３’組換えアームおよび５’組換えアーム（すなわち、隣接配列）を含み得る。相同ＤＮＡ配列は、ゲノム配列に相同な少なくとも１５ｂｐ、２０ｂｐ、２５ｂｐ、５０ｂｐ、１００ｂｐ、５００ｂｐ、１ｋｂｐ、２ｋｂｐ、４ｋｂｐ、５ｋｂｐ、１０ｋｂｐ、１５ｋｂｐ、２０ｋｂｐ、または５０ｋｂｐの配列（特に、連続配列）を含み得る。３’および５’組換えアームを、これらが、ゲノム配列の少なくとも１つの機能的可変領域、連結領域、多様性領域、および／または定常領域の３’末端および５’末端に隣接するようにデザインし得る。機能的領域のターゲッティングによってこれを不活化し、それにより、細胞が機能的免疫グロブリン分子を生成できなくする。別の実施形態では、相同ＤＮＡ配列は、１つ以上のイントロン配列および／またはエクソン配列を含み得る。核酸配列に加えて、発現ベクターは、選択マーカー配列（例えば、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）遺伝子配列など）、開始配列および／またはエンハンサー配列、ポリＡテール配列、ならびに／または原核および／もしくは真核宿主細胞中で構築物を発現させる核酸配列を含み得る。選択マーカーは、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在し得る。

【０１８７】

細胞のターゲッティング遺伝子座を、細胞へのＤＮＡの導入によって改変し得る。ＤＮＡが標的遺伝子座と相同であり、かつマーカー遺伝子を含む場合、組み込まれた構築物を含む細胞を選択可能である。標的ベクター中の相同ＤＮＡは、標的遺伝子座にて染色体ＤＮＡを組み換える。マーカー遺伝子を、相同ＤＮＡ配列、３’組み換えアーム、および５’組み換えアームの両側に隣接させることができる。ターゲッティングベクターの構築方法は、当該分野で説明されている。例えば、Ｄａｉら、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０：２５１－２５５，２００２；ＷＯ００／５１４２４号を参照のこと。

【０１８８】

標的遺伝子座での相同組換えのための種々の構築物を調製し得る。構築物は、標的遺伝子座と相同な５０ｂｐ、１００ｂｐ、５００ｂｐ、１ｋｂｐ、２ｋｂｐ、４ｋｂｐ、５ｋｂｐ、１０ｋｂｐ、１５ｋｂｐ、２０ｋｂｐ、または５０ｋｂｐの配列を含み得る。この配列は、免疫グロブリン遺伝子の任意の連続配列を含み得る。

【０１８９】

標的ＤＮＡ配列の相同性範囲（例えば、標的遺伝子座のサイズ、配列の利用可能性、標的遺伝子座での二重交差事象の相対的効率、および標的配列の他の配列との類似性など）の決定において種々の考慮を行うことができる。

【０１９０】

ターゲッティングＤＮＡは、ＤＮＡが所望の配列改変物（ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ）に実質的に同遺伝子系に隣接し、ゲノム中の対応する標的配列が改変される配列を含み得る。実質的に同遺伝子系の配列は、対応する標的配列（所望の配列改変物を除く）と少なくとも約９５％、９７～９８％、９９．０～９９．５％、９９．６～９９．９％、または１００％同一であり得る。特定の実施形態では、ターゲッティングＤＮＡおよび標的ＤＮＡは、１００％同一の少なくとも約７５、１５０、または５００塩基対のＤＮＡを共有し得る。したがって、ターゲッティングＤＮＡは、ターゲッティングさ

れる細胞株と密接に関連する細胞に由来し得るか、ターゲッティングＤＮＡは、ターゲッティングされる細胞と同一の細胞株または動物の細胞に由来し得る。

【０１９１】

（ブタ重鎖ターゲッティング）

本発明の特定の実施形態では、ブタ重鎖遺伝子座をターゲッティングするためのターゲッティングベクターを提供する。１つの実施形態では、Ｊ６領域の３’および５’隣接配列の相同配列を含む５’および３’組換えアームを含み得る。Ｊ６領域がブタ免疫グロブリン重鎖遺伝子座の機能的連結領域のみであるので、これにより、機能的ブタ重鎖免疫グロブリンの発現が防止される。特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、Ｊ６領域の５’側のゲノム配列（任意選択的にＪ１～４が含まれる）に相同な配列を含む５’組換えアームおよびＪ６領域（μ定常領域が含まれる）の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る（「Ｊ６ターゲッティング構築物」）（例えば、図１を参照のこと）。さらに、このＪ６ターゲッティング構築物はまた、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在する選択マーカー遺伝子を含み得る（例えば、配列番号５および図１を参照のこと）。他の特定の実施形態では、５’ターゲッティングアームは、Ｊ１の５’側の配列（配列番号１および／または配列番号４に示すものなど）を含み得る。別の実施形態では、５’ターゲッティングアームは、例えば、配列番号４のおおよその残基１～３００、１～５００、１～７５０、１～１０００、および／または１～１５００に示すＪ１、Ｊ２、および／またはＪ３の５’側の配列を含み得る。さらなる実施形態では、５’ターゲッティングアームは、例えば、配列番号４のおおよその残基１～３００、１～５００、１～７５０、１～１０００、１～１５００、および／または１～２０００またはその任意のフラグメントまたは配列番号４の任意の連続配列またはそのフラグメントに示す定常領域の５’側の配列を含み得る。別の実施形態では、３’ターゲッティングアームは、定常領域の３’側の配列を含み、そして／または定常領域（例えば、配列番号４の残基７０００～８０００および／または８０００～９０００またはそのフラグメントなど）を含み得る。他の実施形態では、ターゲッティングベクターは、配列番号４の任意の連続配列またはそのフラグメントを含み得る。他の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ重鎖遺伝子座の多様性領域の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアームおよび多様性領域の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。さらなる実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ重鎖遺伝子座のμ定常領域の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアーム、μ定常領域の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。

【０１９２】

さらなる実施形態では、ターゲッティングベクターには、任意の以下の配列が含まれ得るが、これらに限定されない：重鎖の多様性領域を、例えば、配列番号２９の残基１０８９～１０９９（Ｄ（偽））に示し、重鎖の連結領域を、例えば、配列番号２９の残基１８８７～３３５２（例えば、Ｊ（偽）：配列番号２９の１８８７～１９３１、Ｊ（偽）：配列番号２９の２３６４～２４１１、Ｊ（偽）：配列番号２９の２７５６～２８０４、Ｊ（機能的Ｊ）：配列番号２９の３２９６～３３５２）に示し、組換えシグナルを、例えば、配列番号２９の残基３００１～３２６１（ノナマー）、配列番号２９の３２９２～３２９８（ヘプタマー）に示し、定常領域を、以下の残基に示す：配列番号２９の３３５３～９０７０（Ｊ～Ｃμイントロン）、配列番号２９の５５２２～８７００（スイッチ領域）、配列番号２９の９０７１～９３８８（μエクソン１）、配列番号２９の９３８９～９４６９（μイントロンＡ）、配列番号２９の９４７０～９８０２（μエクソン２）、配列番号２９の９８３０～１００６９（μイントロンＢ）、配列番号２９の１００７０～１０３８７（μエクソン３）、配列番号２９の１０３８８～１０５１７（μイントロンＣ）、配列番号２９の１０８１５～１１０５２（μエクソン４）、配列番号２９の１１０３４～１１０３９（ポリ（Ａ）シグナル）またはその任意のフラグメントもしくは組み合わせ。なおさらに、配列番号２９の少なくとも約１７、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、または３００ヌクレオチドの任意の連続配列またはそのフラグメントおよび／も

しくは組み合わせを、重鎖ターゲッティングベクターのターゲッティング配列として使用し得る。一般に、ターゲッティング構築物をデザインする場合、一方のターゲッティングアームは、他方のターゲッティングアームの５’側であると理解される。

【０１９３】

他の実施形態では、ブタ重鎖遺伝子の発現を破壊するようにデザインされたターゲッティングベクターは、重鎖の定常領域をターゲッティングする組換えアーム（例えば、３’または５’組換えアーム）を含み得る。１つの実施形態では、組換えアームは、μ定常領域（上記またはＳｕｎ　＆　Ｂｕｔｌｅｒ　Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ（１９９７）４６：４５２－４６０に開示のＣμ配列）をターゲッティングし得る。別の実施形態では、組換えアームは、δ定常領域（Ｚｈａｏら（２００３）Ｊ　ｉｍｕｎｏｌ　１７１：１３１２－１３１８に開示の配列など）またはα定常領域（Ｂｒｏｗｎ　＆　Ｂｕｔｌｅｒ（１９９４）Ｍｏｌｅｃ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　３１：６３３－６４２に開示の配列など）をターゲッティングし得る。

【０１９４】

【化７４】

配列番号５	GGCCAGACTTCCTCGGAACAGCTCAAAGAGCTCTGTCAAAGCCAGATCCC ATCACACGTGGGCACCAATAGGCCATGCCAGCCTCCAAGGGCCGAACTGG GTTCTCCACGGCGCACATGAAGCCTGCAGCCTGGCTTATCCTCTTCCGTG GTGAAGAGGCAGGCCCGGGACTGGACGAGGGGCTAGCAGGGTGTGGTAGG

【０１９５】

【化７５】

	CACCTTGCGCCCCCCACCCCGGCAGGAACCAGAGACCCTGGGGCTGAGAG TGAGCCTCCAAACAGGATGCCCCACCCTTCAGGCCACCTTTCAATCCAGC TACACTCCACCTGCCATTCTCCTCTGGGCACAGGGCCCAGCCCCTGGATC TTGGCCTTGGCTCGACTTGCACCCACGCGCACACACACACTTCCTAACGT GCTGTCCGCTCACCCCTCCCCAGCGTGGTCCATGGGCAGCACGGCAGTGC GCGTCCGGCGGTAGTGAGTGCAGAGGTCCCTTCCCCTCCCCCAGGAGCCC CAGGGGTGTGTGCAGATCTGGGGGCTCCTGTCCCTTACACCTTCATGCCC CTCCCCTCATACCCACCCTCCAGGCGGGAGGCAGCGAGACCTTTGCCCAG GGACTCAGCCAACGGGCACACGGGAGGCCAGCCCTCAGCAGCTGGCTCCC AAAGAGGAGGTGGGAGGTAGGTCCACAGCTGCCACAGAGAGAAACCCTGA CGGACCCCACAGGGGCCACGCCAGCCGGAACCAGCTCCCTCGTGGGTGAG CAATGGCCAGGGCCCCGCCGGCCACCACGGCTGGCCTTGCGCCAGCTGAG AACTCACGTCCAGTGCAGGGAGACTCAAGACAGCCTGTGCACACAGCCTC GGATCTGCTCCCATTTCAAGCAGAAAAAGGAAACCGTGCAGGCAGCCCTC AGCATTTCAAGGATTGTAGCAGCGGCCAACTATTCGTCGGCAGTGGCCGA TTAGAATGACCGTGGAGAAGGGCGGAAGGGTCTCTCGTGGGCTCTGCGGC CAACAGGCCCTGGCTCCACCTGCCCGCTGCCAGCCCGAGGGGCTTGGGCC GAGCCAGGAACCACAGTGCTCACCGGGACCACAGTGACTGACCAAACTCC CGGCCAGAGCAGCCCCAGGCCAGCCGGGCTCTCGCCCTGGAGGACTCACC ATCAGATGCACAAGGGGGCGAGTGTGGAAGAGACGTGTCGCCCGGGCCAT TTGGGAAGGCGAAGGGACCTTCCAGGTGGACAGGAGGTGGGACGCACTCC AGGCAAGGGACTGGGTCCCCAAGGCCTGGGGAAGGGGTACTGGCTTGGGG GTTAGCCTGGCCAGGGAACGGGGAGCGGGGCGGGGGGCTGAGCAGGGAGG ACCTGACCTCGTGGGAGCGAGGCAAGTCAGGCTTCAGGCAGCAGCCGCAC ATCCCAGACCAGGAGGCTGAGGCAGGAGGGGCTTGCAGCGGGGCGGGGGC CTGCCTGGCTCCGGGGGCTCCTGGGGGACGCTGGCTCTTGTTTCCGTGTC CCGCAGCACAGGGCCAGCTCGCTGGGCCTATGCTTACCTTGATGTCTGGG GCCGGGGCGTCAGGGTCGTCGTCTCCTCAGGGGAGAGTCCCCTGAGGCTA CGCTGGGG*GGGGACTATGGCAGCTCCACCAGGGGCCTGGGGACCAGGGG CCTGGACCAGGCTGCAGCCCGGAGGACGGGCAGGGCTCTGGCTCTCCAGC ATCTGGCCCTCGGAAATGGCAGAACCCCTGGCGGGTGAGCGAGCTGAGAG CGGGTCAGACAGACAGGGGCCGGCCGGAAAGGAGAAGTTGGGGGCAGAGC CCGCCAGGGGCCAGGCCCAAGGTTCTGTGTGCCAGGGCCTGGGTGGGCAC ATTGGTGTGGCCATGGCTACTTAGACGCGTGATCAAGGGCGAATTCCAGC ACACTGGCGGCCGTTACTAGTggatcccggcgcgcccctaccgggtagggg aggcgcttttcccaaggcagtctggagcatgcgctttagcagccccgctg ggcacttggcgctacacaagtggcctctggcctcgcacacattccacatc caccggtaggcgccaaccggctccgttctttggtggcccctttcgcgccac cttctactcctcccctagtcaggaagttcccccccgccccgcagctcgcg tcgtgcaggacgtgacaaatggaagtagcacgtctcactagtctcgtgca gatggacagcaccgctgagcaatggaagcgggtaggcctttggggcagcg gccaatagcagctttggctccttcgctttctgggctcagaggctgggaag gggtgggtccgggggcgggctcaggggcgggctcaggggcggggcgggcg cccgaaggtcctccggaagcccggcattctgcacgcttcaaaagcgcacg tctgccgcgctgttctcctcttcctcatctccgggcctttcgacctgcag ccaatatgggatcggccattgaacaagatggattgcacgcaggttctccg gccgcttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaacagacaat cggctgctctgatgccgccgtgttccggctgtcagcgcaggggcgcccgg ttctttttgtcaagaccgacctgtccggtgccctgaatgaactgcaggac gaggcagcgcggctatcgtggctggccacgacgggcgttccttgcgcagc tgtgctcgacgttgtcactgaagcgggaagggactggctgctattgggcg aagtgccggggcaggatctcctgtcatctcaccttgctcctgccgagaaa gtatccatcatggctgatgcaatgcggcggctgcatacgcttgatccggc tacctgcccattcgaccaccaagcgaaacatcgcatcgagcgagcacgta ctcggatggaagccggtcttgtcaatcaggatgatctggacgaagagcat caggggctcgcgccagccgaactgttcgccaggctcaaggcgcgcatgcc

【０１９６】

【化７６】

	cgacggcgaggatctcgtcgtgacccatggcgatgcctgcttgccgaata tcatggtggaaaatggccgcttttctggattcatcgactgtggccggctg ggtgtggcggatcgctatcaggacatagcgttggctacccgtgatattgc tgaagagcttggcggcgaatgggctgaccgcttcctcgtgctttacggta tcgccgctcccgattcgcagcgcatcgccttctatcgccttcttgacgag ttcttctgaggggatcaattcTCTAGATGCATGCTCGAGCGGCCGCCAGT GTGATGGATATCTGCAGAATTCGCCCTtCCAGGCGTTGAAGTCGTCGTGT CCTCAGGTAAGAACGGCCCTCCAGGGCCTTTAATTTCTGCTCTCGTCTGT GGGCTTTTCTGACTCTGATCCTCGGGAGGCGTCTGTGCCCCCCCCGGGGA TGAGGCCGGCTTGCCAGGAGGGGTCAGGGACCAGGAGCCTGTGGGAAGTT CTGACGGGGGCTGCAGGCGGGAAGGGCCCCACCGGGGGGCGAGCCCCAGG CCGCTGGGCGGCAGGAGACCCGTGAGAGTGCGCCTTGAGGAGGGTGTCTG CGGAACCACGAACGCCCGCCGGGAAGGGCTTGCTGCAATGCGGTCTTCAG ACGGGAGGCGTCTTCTGCCCTCACCGTCTTTCAAGCCCTTGTGGGTCTGA AAGAGCCATGTCGGAGAGAGAAGGGACAGGCCTGTCCCGACCTGGCCGAG AGCGGGCAGCCCCGGGGGAGAGCGGGGCGATCGGCCTGGGCTCTGTGAGG CCAGGTCCAAGGGAGGACGTGTGGTCCTCGTGACAGGTGCACTTGCGAAA CCTTAGAAGACGGGGTATGTTGGAAGCGGCTCCTGATGTTTAAGAAAAGG GAGACTGTAAAGTGAGCAGAGTCCTCAAGTGTGTTAAGGTTTTAAAGGTC AAAGTGTTTTAAACCTTTGTGACTGCAGTTAGCAAGCGTGCGGGGAGTGA ATGGGGTGCCAGGGTGGCCGAGAGGCAGTACGAGGGCCGTGCCGTCCTCT AATTCAGGGCTTAGTTTTGCAGAATAAAGTCGGCCTGTTTTCTAAAAGCA TTGGTGGTGCTGAGCTGGTGGAGGAGGCCGCGGGCAGCCCTGGCCACCTG CAGCAGGTGGCAGGAAGCAGGTCGGCCAAGAGGCTATTTTAGGAAGCCAG AAAACACGGTCGATGAATTTATAGCTTCTGGTTTCCAGGAGGTGGTTGGG CATGGCTTTGCGCAGCGCCACAGAACCGAAAGTGCCCACTGAGAAAAAAC AACTCCTGCTTAATTTGCATTTTTCTAAAAGAAGAAACAGAGGCTGACGG AAACTGGAAAGTTCCTGTTTTAACTACTCGAATTGAGTTTTCGGTCTTAG CTTATCAACTGCTCACTTAGATTCATTTTCAAAGTAAACGTTTAAGAGCC GAGGCATTCCTATCCTCTTCTAAGGCGTTATTCCTGGAGGCTCATTCACC GCCAGCACCTCCGCTGCCTGCAGGCATTGCTGTCACCGTCACCGTGACGG CGCGCACGATTTTCAGTTGGCCCGCTTCCCCTCGTGATTAGGACAGACGC GGGCACTCTGGCCCAGCCGTCTTGGCTCAGTATCTGCAGGCGTCCGTCTC GGGACGGAGCTCAGGGGAAGAGCGTGACTCCAGTTGAACGTGATAGTCGG TGCGTTGAGAGGAGACCCAGTCGGGTGTCGAGTCAGAAGGGGCCCGGGGC CCGAGGCCCTGGGCAGGACGGCCCGTGCCCTGCATCACGGGCCCAGCGTC CTAGAGGCAGGACTCTGGTGGAGAGTGTGAGGGTGCCTGGGGCCCCTCCG GAGCTGGGGCCGTGCGGTGCAGGTTGGGCTCTCGGCGCGGTGTTGGCTGT TTCTGCGGGATTTGGAGGAATTCTTCCAGTGATGGGAGTCGCCAGTGACC GGGCACCAGGCTGGTAAGAGGGAGGCCGCCGTCGTGGCCAGAGCAGCTGG GAGGGTTCGGTAAAAGGCTCGCCCGTTTCCTTTAATGAGGACTTTTCCTG GAGGGCATTTAGTCTAGTCGGGACCGTTTTCGACTCGGGAAGAGGGATGC GGAGGAGGGCATGTGCCCAGGAGCCGAAGGCGCCGCGGGGAGAAGCCCAG GGCTCTCCTGTCCCCACAGAGGCGACGCCACTGCCGCAGACAGACAGGGC CTTTCCCTCTGATGACGGCAAAGGCGCCTCGGCTCTTGCGGGGTGCTGGG GGGGAGTCGCCCCGAAGCCGCTCACCCAGAGGCCTGAGGGGTGAGACTGA CCGATGCCTCTTGGCCGGGCCTGGGGCCGGACCGAGGGGGACTCCGTGGA GGCAGGGCGATGGTGGCTGCGGGAGGGAACCGACCCTGGGCCGAGCCCGG CTTGGCGATTCCCGGGCGAGGGCCCTCAGCCGAGGCGAGTGGGTCCGGCG GAACCACCCTTTCTGGCCAGCGCCACAGGGCTCTCGGGACTGTCCGGGGC GACGCTGGGCTGCCCGTGGCAGGCCTGGGCTGACCTGGACTTCACCAGAC AGAACAGGGCTTTCAGGGCTGAGCTGAGCCAGGTTTAGCGAGGCCAAGTG GGGCTGAACCAGGCTCAACTGGCCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGACCT GGGCTGAGCTGAGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCTGGGCT GGACTGGCTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGAGCTGGCCTGGGTTG AGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGTTGAGCTGGGTTG

【０１９７】

【化７７】

	ATCTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGGTGAGCTGGGCTG AGCTGGTTTGAGTTGGGTTGAGCTGAGCTGAGCTGGGCTGTGCTGGCTGA GCTAGGCTGAGCTAGGCTAGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAG GCTGGGCTGATTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCGTTGAGCTGG CTGGGCTGGATTGAGCTGGCTGAGCTGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCT GGGTTGAGCTGAGCTGGACTGGTTTGAGCTGGGTCGATCTGGGTTGAGCT GTCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCT CAGCAGAGCTGGGTTGGGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCT GGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGTGTT GAGCTGGGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGGATTGAGCTGGGTTGAGCT GAGCTGGGCTGGGCTGTGCTGACTGAGCTGGGCTGAGCTAGGCTGGGGTG AGCTGGGCTGAGCTGATCCGAGCTAGGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTG AGCTGAGCTAGGCTGGATTGATCTGGCTGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGG GCTGAGCTGGTCTGAGCTGGCCTGGGTCGAGCTGAGCTGGACTGGTTTGA GCTGGGTCGATCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGTTGA GCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGGGCTGGGGTGAGCTGGGCT GAACTAGCCTAGCTAGGTTGGGCTGAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTG AGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGGCCTGG GGTGAGCTGGGCTAGGTGGAGCTGAGCTGGGTCGAGCTGAGTTGGGCTGA GCTGGCCTGGGTTGAGGTAGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGA GCTGGCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGG TTGAGCTGGGCTCGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCCGACCTAGGCTGGG ATGAGCTGGGCTGATTTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAG CAGGCTGAGCTGGGCCTGGAGCCTGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCTG CGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGCTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAA GCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGATGAGCTGGGCCGGTTTGGGCTGAGCTGA GCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGG GTGAGCTGGGCTGAGCTAAGCTGAGCTGGGCTGGTTTGGGCTGAGCTGGC TGAGCTGGGTCCTGCTGAGCTGGGCTGAGCTGACCAGGGGTGAGCTGGGC TGAGTTAGGCTGGGCTCAGCTAGGCTGGGTTGATCTGGCAGGGCTGGTTT GCGCTGGGTCAAGCTCCCGGGAGATGGCCTGGGATGAGCTGGGCTGGTTT GGGCTGAGCTGAGCTGAGCTGAGCTAGGCTGCATTGAGCAGGCTGAGCTG GGCTGAGCTGGCCTGGGGTGAGCTGGGCTGGGTGGAGCTGAGCTGGGCTG AACTGGGCTAAGCTGGCTGAGCTGGATCGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGG CCTGGGGTTAGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGG CTGGGCTGGTTTGCGCTGGGTCAAGCTGGGCCGAGCTGGCCTGGGTTGAG CTGGGCTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGGGCTGGGCTGAG CTGAGCTAGGCTGCATTGAGCTGGCTGGGATGGATTGAGCTGGCTGAGCT GGCTGAGCTGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTGGGTTGAGCTGGGCTGG GTTGAGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTCAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGA GCTGGGTTGAGCTGGGGTGAGCTGGGCTGAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGA GCTGGGTTGAGCTGGGCTCGAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTG AGCTGGGCTCAGCAGAGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTG AGCTAGCTGGGCTCAGCTAGGCTGGGTTGAGCTGAGCTGGGCTGAACTGG GCTGAGCTGGGCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCAGA GCTGGGCTGAGCAGAGCTGGGTTGGTCTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGA GCTGGGCTGAGCAGAGTTGGGTTGAGCTGAGCTGGGTTCAGCTGGGCTGA GCTAGGCTGGGTTGAGCTGGGTTGAGTTGGGCTGAGCTGGGCTGGGTTGA GCGGAGCTGGGCTGAACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCGGAACTGGGTTGA TCTGAATTGAGCTGGGCTGAGCCGGGCTGAGCCGGGCTGAGCTGGGCTAG GTTGAGCTTGGGTGAGCTTGCCTCAGCTGGTCTGAGCTAGGTTGGGTGGA GCTAGGCTGGATTGAGCTGGGCTGAGCTGAGCTGATCTGGCCTCAGCTGG GCTGAGGTAGGCTGAACTGGGCTGTGCTGGGCTGAGCTGAGCTGAGCCAG TTTGAGCTGGGTTGAGCTGGGCTGAGCTGGGCTGTGTTGATCTTTCCTGA ACTGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGCCTAGCTGGATTGAACGGGGGTAAG CTGGGCCAGGCTGGACTGGGCTGAGCTGAGCTAGGCTGAGCTGAGTTGAA

【０１９８】

【化７８】

	TTGGGTTAAGCTGGGCTGAGATGGGCTGAGCTGGGCTGAGCTGGGTTGAG CCAGGTCGGACTGGGTTACCCTGGGCCACACTGGGCTGAGCTGGGCGGAG CTCGATTAACCTGGTCAGGCTGAGTCGGGTCCAGCAGACATGCGCTGGCC AGGCTGGCTTGACCTGGACACGTTCGATGAGCTGCCTTGGGATGGTTCAC CTCAGCTGAGCCAGGTGGCTCCAGCTGGGCTGAGCTGGTGACCCTGGGTG ACCTCGGTGACCAGGTTGTCCTGAGTCCGGGCCAAGCCGAGGCTGCATCA GACTCGCCAGACCCAAGGCCTGGGCCCCGGCTGGCAAGCCAGGGGCGGTG AAGGCTGGGCTGGCAGGACTGTCCCGGAAGGAGGTGCACGTGGAGCCGCC CGGACCCCGACCGGCAGGACCTGGAAAGACGCCTCTCACTCCCCTTTCTC TTCTGTCCCCTCTCGGGTCCTCAGAGAGCCAGTCTGCCCCGAATCTCTAC CCCCTCGTCTCCTGCGTCAGCCCCCCGTCCGATGAGAGCCTGGTGGCCCT GGGCTGCCTGGCCCGGGACTTCCTGCCCAGCTCCGTCACCTTCTCCTGGAA

（ブタκ鎖ターゲッティング）

本発明の特定の実施形態では、ブタκ鎖遺伝子座をターゲッティングするためのターゲッティングベクターを提供する。１つの特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタ免疫グロブリンκ軽鎖遺伝子座の定常領域の３’および５’隣接配列の相同配列を含む５’および３’組換えアームを含み得る。ブタ免疫グロブリンκ軽鎖遺伝子座の定

常領域が１つしか存在しないことが本発明で発見されたので、これにより、機能的ブタκ軽鎖免疫グロブリンの発現が防止される。特定の実施形態では、ターゲッティングベクターは、定常領域の５’側のゲノム配列（任意選択的に、連結領域が含まれる）に相同な配列を含む５’組換えアームおよび定常領域の３’側のゲノム配列（任意選択的に、エンハンサー領域の少なくとも一部が含まれる）に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る（「κ定常ターゲッティング構築物」）（例えば、図２を参照のこと）。さらに、このκ定常ターゲッティング構築物はまた、５’組換えアーム配列と３’組換えアーム配列との間に存在する選択マーカー遺伝子を含み得る（例えば、配列番号２０および図２を参照のこと）。他の実施形態では、ターゲッティングベクターは、ブタκ軽鎖遺伝子座の連結領域の５’側のゲノム配列に相同な配列を含む５’組換えアームおよび連結領域の３’側のゲノム配列に相同な配列を含む３’組換えアームを含み得る。他の実施形態では、ターゲッティングベクターの５’アームには、配列番号１２および／または配列番号２５またはその任意の連続配列もしくはフラグメントが含まれ得る。別の実施形態では、ターゲッティングベクターの３’アームには、配列番号１５、１６、および／または１９またはその任意の連続配列もしくはフラグメントが含まれ得る。

【０１９９】

さらなる実施形態では、ターゲッティングベクターには、以下の任意の配列が含まれ得るが、これらに限定されない：κ軽鎖のコード領域を、例えば、配列番号３０の１～５４９および配列番号３０の１００２６～１０５４９に示すのに対して、κ軽鎖のイントロン配列を、例えば、配列番号３０の５５０～１００２５に示し、連結領域を、例えば、配列番号３０の５８２２～７２０７（例えば、Ｊ１：配列番号３０の５８２２～５８５９、Ｊ２：配列番号３０の６１８０～６２１８、Ｊ３：配列番号３０の６４８６～６５２３、Ｊ４：配列番号３０の６８２６～６８６３、Ｊ５：配列番号３０の７１７０～７２０７）に示し、定常領域を、以下の残基に示す：配列番号３０の１００２６～１０５４９（Ｃエクソン）および配列番号３０の１００２６～１０３５４（Ｃコード）、配列番号３０の１０５２４～１０５２９（ポリ（Ａ）シグナル）、および配列番号３０の１１１６０～１１２６４（ＳＩＮＥエレメント）、またはその任意のフラグメントもしくは組み合わせ。なおさらに、配列番号３０の少なくとも約１７、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、または３００ヌクレオチドの任意の連続配列またはそのフラグメントおよび／もしくは組み合わせを、重鎖ターゲッティングベクターのターゲッティング配列として使用し得る。一般に、ターゲッティング構築物をデザインする場合、一方のターゲッティングアームは、他方のターゲッティングアームの５’側であると理解される。

【０２００】

【化７９】

配列番号２０	ctcaaacgtaagtggctttttccgactgattctttgctgtttctaattgt tggttggctttttgtccatttttcagtgttttcatcgaattagttgtcag ggaccaaacaaattgccttcccagattaggtaccagggaggggacattgc tgcatgggagaccagagggtggctaatttttaacgtttccaagccaaaat aactggggaaggggggcttgctgtcctgtgagggtaggttttatagaagt ggaagttaaggggaaatcgctatggttcacttttggctcggggaccaaag tggagcccaaaattgagtacattttccatcaattatttgtgagatttttg tcctgttgtgtcatttgtgcaagtttttgacattttggttgaatgagcca ttcccagggacccaaaaggatgagaccgaaaagtagaaaagagccaactt ttaagctgagcagacagaccgaattgttgagtttgtgaggagagtagggt ttgtagggagaaaggggaacagatcgctggctttttctctgaattagcct ttctcatgggactggcttcagaggggttttgatgagggaagtgttcta gagccttaactgtgggttgtgttcggtagcgggaccaagctggaaatcaa acgtaagtgcacttttctactccttttctttcttatacgggtgtgaaat tggggacttttcatgtttggagtatgagttgaggtcagttctgaagagag tgggactcatccaaaaatctgaggagtaagggtcagaacagagttgtctc atggaagaacaaagacctagttagttgatgaggcagctaaatgagtcagt tgacttgggatccaaatggccagacttcgtctgtaaccaacaatctaatg agatgtagcagcaaaaagagatttccattgaggggaaagtaaaattgtta atattgtggatcaccttggtgaagggacatccgtggagattgaacgtaa gtatttttctctactaccttctgaaatttgtctaaatgccagtgttgac ttttagaggcttaagtgtcagttttgtgaaaaatgggtaaacaagagcat ttcatatttatatcagtttcaaaagttaaactcagctccaaaaatgaat ttgtagacaaaaagattaatttaagccaaattgaatgattcaaaggaaaa aaaaattagtgtagatgaaaaaggaattcttacagctccaaagagcaaaa gcgaattaatttttctttgaactttgccaaatcttgtaaatgatttttgtt ctttacaatttaaaaaggttagagaaatgtatttcttagtctgttttctc tcttctgtctgataaattattatatgagataaaaatgaaaattaatagga tgtgctaaaaaatcagtaagaagttagaaaaatatatgtttatgttaaag

【０２０１】

【化８０】

	ttgccacttaattgagaatcagaagcaatgttatttttaaagtctaaaat gagagataaactgtcaatacttaaatttctgcagagattctatatcttgac agatatctcctttttcaaaaatccaatttctatggtagactaaatttgaa atgatcttcctcataatggagggaaaagatggactgaccccaaaagctca gattt*aagaaaacctgtttaag*gaaagaaaataaaagaactgcatttt ttaaaggcccatgaatttgtagaaaaatataggaaatattttaataagtgta ttcttttatttttcctgttattacttgatggtgtttttatacccgccaagga ggccgtggcaccgtcagtgtgatctgtagaccccatggcggcctttttc gcgattgaatgaccttggcggtgggtccccagggctctggtggcagcgca ccagccgctaaaagccgctaaaaactgccgctaaaggccacagcaacccc gcgaccgcccgttcaactgtgctgacacagtgatacagataatgtcgcta acagaggagaatagaaatatgacgggcacacgctaatgtgggggaaaagag ggagaagcctgatttttatttttagagattctagagataaaattcccag tattatatccttttaataaaaaatttctattaggagattataaagaattt aaagctatttttttaagtggggtgtaattctttcagtagtctcttgtcaa atggatttaagtaatagaggcttaatccaaatgagagaaatagacgcata acccttttcaaggcaaaagctacaagagcaaaaattgaacacagcagccag ccatctagccactcagattttgatcagttttactgagtttgaagtaaata tcatgaaggtataattgctgataaaaaaaataagatacaggtgtgacacat ctttaagtttcagaaatttaatggcttcagtaggattatatttcacgtat acaaagtatctaagcagataaaaatgccattaatggaaacttaatagaaa tatatttttaaattccttcattctgtgacagaaattttctaatctgggtc ttttaatcacctaccctttgaaagagtttagtaatttgctatttgccatc gctgtttactccagctaatttcaaaagtgatacttgagaaagattatttt tggtttgcaaccacctggcaggactatttttagggccattttaaaactctt ttcaaactaagtatttttaaactgttctaaaccatttagggccttttaaaa atcttttcatgaatttcaaacttcgttaaaagttattaaggtgtctggca agaacttccttatcaaatatgctaatagtttaatctgttaatgcaggata taaaattaaagtgatcaaggcttgacccaaacaggagtatcttcatagca tatttccccctccttttttttctagaattcatatgattttgctgccaaggct attttatataatctctggaaaaaaaatagtaatgaaggttaaaagagaag aaaatatcagaacattaagaattcggtattttactaactgcttggttaac atgaaggttttattttattaaggtttctatctttataaaaatctgttcc cttttctgctgatttctccaagcaaaagattcttgatttgtttttaact cttactctcccacccaagggcctgaatgcccacaaaggggacttccagga ggccatctggcagctgctcaccgtcagaagtgaagccagccagttcctcc tgggcaggtggccaaaattacagttgacccctcctggtctggctgaacct tgccccatatggtgacagccatctggccagggcccaggtctccctctgaa gcctttgggaggagagggagagtggctggcccgatcacagatgcggaagg ggctgactcctcaaccggggtgcagactctgcagggtgggtctgggccca acacacccaaagcacgcccaggaaggaaaggcagcttggtatcactgccc agagctaggagaggcaccgggaaaatgatctgtccaagacccgttcttgc ttctaaactccgaggggtcagatgaagtggttttgtttcttggcctgaa gcatcgtgttccctgcaagaagcggggaacacagaggaaggagagaaaag atgaactgaacaaagcatgcaaggcaaaaaaggGGGTCTAGCCGCGGTCT AGGAAGCTTTCTAGGGTACCTCTAGGGATCCCGGCGCGCCCTACCGGGTA GGGGAGGCGCTTTTCCCAAGGCAGTCTGGAGCATGCGCTTTAGCAGCCCC GCTGGGCACTTGGCGCTACACAAGTGGCCTCTGGCCTCGCACACATTCCA CATCCACCGGTAGGCGCCAACCGGCTCCGTTCTTTGGTGGCCCCTTCGCG CCACCTTCTACTCCTCCCCTAGTCAGGAAGTTCCCCCCCGCCCCGCAGCT CGCGTCGTGCAGGACGTGACAAATGGAAGTAGCACGTCTCACTAGTCTCG TGCAGATGGACAGCACCGCTGAGCAATGGAAGCGGGTAGGCCTTTGGGGC AGCGGCCAATAGCAGCTTTGGCTCCTTCGCTTTCTGGGCTCAGAGGCTGG GAAGGGGTGGGTCCGGGGGCGGGCTCAGGGGCGGGCTCAGGGGCGGGGCG GGCGCCCGAAGGTCCTCCGGAAGCCCGGCATTCTGCACGCTTCAAAAGCG CACGTCTGCCGCGCTGTTCTCCTCTTCCTCATCTCCGGGCCTTTCGACCT

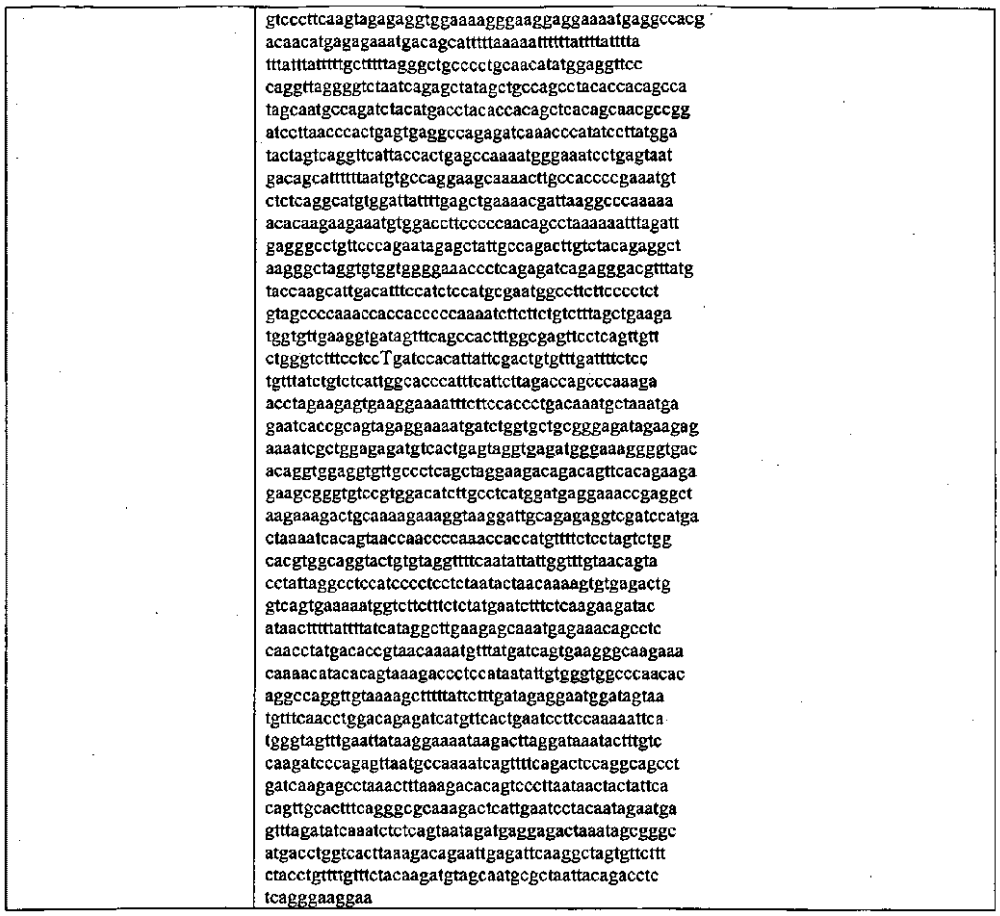
【０２０２】

【化８１】

GCAGCCAATATGGGATCGGCCATTGAACAAGATGGATTGCACGCAGGTTC
TCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGA
CAATCGGCTGCTCTGATGCCGCCGTGTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGC
CCGGTTCTTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGAACTGCA
GGACGAGGCAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGCG
CAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTGAAGCGGGAAGGGACTGGCTGCTATTG
GGCGAAGTGCCGGGGCAGGATCTCCTGTCATCTCACCTTGCTCCTGCCGA
GAAAGTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGATC
CGGCTACCTGCCCATTCGACCACCAAGCGAAACATCGCATCGAGCGAGCA
CGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTCAATCAGGATGATCTGGACGAAGA
GCATCAGGGGCTCGCGCCAGCCGAACTGTTCGCCAGGCTCAAGGCGCGCA
TGCCCGACGGCGAGGATCTCGTCGTGACCCATGGCGATGCCTGCTTGCCG
AATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTCTGGATTCATCGACTGTGGCCG
GCTGGGTGTGGCGGATCGCTATCAGGACATAGCGTTGGCTACCCGTGATA
TTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCCTCGTGCTTTAC
GGTATCGCCGCTCCCGATTCGCAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGA
CGAGTTCTTCTGAGGGGATCAATTCTCTAGAGCTCGCTGATCAGCCTCGA
CTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCCTCCCCCGTGCCT
TCCTTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGA
GGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTG
GGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCAT
GCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGGCTTCTGAGGCGGAAAGAACCAGCTG
GGGGCGCGCCCctcgagcggccgccagtgtgatggatatctgcagaattc
gcccttggatcaaacacgcatcctcatggacaatatgttgggttcttagc
ctgctgagacacaacaggaactcccctggcaccactttagaggccagaga
aacagcacagataaaattccctgcctcatgaagcttatagtctagctgg
ggagatatcataggcaagataaacacatacaaatacatcatcttaggtaa
taatatatactaaggagaaaattacaggggagaaagaggacaggaattgc
tagggtaggattataagttcagatagttcatcaggaacactgttgctgag
aagataacatttaggtaaagaccgaagtagtaaggaaatggaccgtgtgc
ctaagtgggtaagaccattctaggcagcaggaacagcgatgaaagcactg
aggtgggtgttcactgcacagagttgttcactgcacagagttgtgtgggg
aggggtaggtcttgcaggctcttatggtcacaggaagaattgttttactc
ccaccgagatgaaggttggtggattttgagcagaagaataattctgcctg
gtttatatataacaggatttccctgggtgctctgatgagaataatctgtc
aggggtgggataggagagatatggcaataggagccttggctaggagccc
acgacaataattccaagtgagaggtggtgctgcattgaaagcaggactaa
caagacctgctgacagtgtggatgtagaaaaagatagaggagacgaaggt
gcatctagggttttctgcctgaggaattagaaagataaagctaaagctta
tagaagatgcagcgctctgggagaaagaccagcagctcagttttgatcc
atctggaattaattttggcataaagtatgaggtatgtgggttaacattat
ttgttttttttttttccatgtagctatccaactgtcccagcatcatttat
tttaaaagactttccttttcccctattggattgttttggcaccttcactga
agatcaactgagcataaaattgggtctatttctaagctcttgattccatt
ccatgacctatttgttcatctttaccccagtagacactgccttgatgatt
aaagccccctgttaccatgtctgttttggacatggtaaatctgagatgcct
attagccaaccaagcaagcacggcccttagagagctagatatgagagcct
ggaattcagacgagaaaggtcagtcctagagacatacatgtagtgccatc
accatgcggatggtgttaaaagccatcagactgcaacagactgtgagagg
gtaccaagctagagagcatggatagagaaacccaagcactgagctgggag
gtgctcctacattaagagattagtgagatgaaggactgagaagattgatc
agagaagaaggaaaatcaggaaaatggtgctgtcctgaaaatccaaggga
agagatgttccaaagaggagaaaactgatcagttgtcagctagcgtcaat
tgggatgaaaatggaccattggacagagggatgtagtgggtcatgggtga
atagataagagcagcttctatagaatggcaggggcaaaattctcatctga
tcggcatgggttctaaagaaaacgggaagaaaaaattgagtgcatgacca

【０２０３】

【化８２】



（ブタλ鎖ターゲッティング）

本発明の特定の実施形態では、ブタ重鎖遺伝子座をターゲッティングするためのターゲッティングベクターを提供する。１つの実施形態では、λを、最初のＪＣクラスターの５’側に存在する配列を含む５’アームおよび最後のＪＣクラスターの３’側の配列を含む３’アームを含むターゲッティング構築物をデザインし、それにより、λ遺伝子座の機能的発現を防止することによってターゲッティングし得る（図３～４を参照のこと）。１つの実施形態では、ターゲッティングベクターは、配列番号２８の任意の連続配列（連続配列の約１７、２０、３０、４０、５０、７５、１００、２００、３００、または５０００ヌクレオチドなど）またはそのフラグメントを含み得る。１つの実施形態では、５’ターゲッティングアームは、配列番号３２（ブタλ軽鎖ゲノム配列の最初のλＪ／Ｃ領域の５’隣接配列または任意の連続配列（連続配列の約１７、２０、３０、４０、５０、７５、１００、２００、３００、または５０００ヌクレオチドなど）またはそのフラグメントが含まれる）を含み得る（例えば、図５も参照のこと）。別の実施形態では、３’ターゲッティングアームは、１つ以上の以下を含み得るが、これらに限定されない：配列番号３３（ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスターの３’隣接配列（λＪ／Ｃの約２００塩基対下流から）を含む）；配列番号３４（ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスターの３’隣接配列（Ｊ／Ｃクラスターの約１１．８Ｋｂ下流でエンハンサー付近）を含む）；配列番号３５（エンハンサーを含め、λの約１２Ｋｂ下流を含む）；配列番号３６（λの約１７．６Ｋｂ下流を含む）；配列番号３７（λの約１９．１Ｋｂ下流を含む）；配列番号３８（λの約２１．３Ｋｂ下流を含む）；配列番号３９（λの約２７Ｋｂ下流を含む）、または配列番号３２～３９の任意の連続配列（連続配列の約１７、２０、３０、４０、５０、７５、１００、２００、３００、または５０００ヌクレオチドなど）またはそのフラグメント（例えば、図６も参照のこと）。一般に、ターゲッティング構築物をデザインする場合、一方のターゲッティングアームは、他方のターゲッティングアームの５’側であると理解される。

【０２０４】
さらなる実施形態では、λ遺伝子座のためのターゲッティング構築物は、部位特異的組換え部位（例えば、ｌｏｘなど）を含み得る。１つの実施形態では、ターゲッティングアームは、ターゲッティングされた領域内に部位特異的リコンビナーゼ部位を挿入し得る。次いで、２つの部位特異的リコンビナーゼ部位間の介在ヌクレオチド配列が切り出されるように、部位特異的リコンビナーゼを活性化し、そして／または細胞に適用し得る（例えば、図６を参照のこと）。
【０２０５】
（選択マーカー遺伝子）
内因性標的免疫グロブリン遺伝子を改変するようにＤＮＡ構築物をデザインし得る。構築物のターゲッティングのための相同配列は、１つ以上の欠失、挿入、置換、またはその組み合わせを有し得る。標的遺伝子の上流配列を有する読み取り枠中に融合された選択マーカー遺伝子の挿入によって変化させることができる。
【０２０６】
適切な選択マーカー遺伝子には、以下が含まれるが、これらに限定されない：一定の培地基質で成長する能力を付与する遺伝子（ＨＡＴ培地（ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン）で成長する能力を付与するｔｋ遺伝子（チミジンキナーゼ）またはｈｐｒｔ遺伝子（ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ）など）；ＭＡＸ培地（マイコフェノール酸、アデニン、およびキサンチン）で成長可能な細菌ｇｐｔ遺伝子（グアニン／キサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ）。例えば、Ｓｏｎｇ，Ｋ－Ｙ．，ら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８４：６８２０－６８２４（１９８７）；Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｊ．，ら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ－Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），Ｃｈａｐｔｅｒ １６。選択マーカーの他の例には、以下が含まれる：抗生物質などの化合物に対する耐性を付与する遺伝子、選択された基質で成長する能力を付与する遺伝子、発光体などの検出可能なシグナルを発するタンパク質（緑色蛍光タンパク質、増強緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）など）をコードする遺伝子。広範な種々のこのようなマーカーが公知かつ利用可能であり、例えば、以下が含まれる：ネオマイシン耐性遺伝子（ｎｅｏ）（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ，Ｐ．，およびＰ．Ｂｅｒｇ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ａｐｐｌ．Ｇｅｎｅｔ．１：３２７－３４１（１９８２））およびハイグロマイシン耐性遺伝子（ｈｙｇ）（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ １１：６８９５－６９１１（１９８３）およびＴｅ Ｒｉｅｌｅ，Ｈ．，ら、Ｎａｔｕｒｅ ３４８：６４９－６５１（１９９０））などの抗生物質耐性遺伝子。他の選択マーカー遺伝子には、以下が含まれる：アセトヒドロキシ酸合成酵素（ＡＨＡＳ）、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）、βガラクトシダーゼ（ＬａｃＺ）、βグルクロニダーゼ（β－ｇｌｕｃｏｒｏｎｉｄａｓｅ）（ＧＵＳ）、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（ＣＡＴ）、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、赤色蛍光タンパク質（ＲＦＰ）、黄色蛍光タンパク質（ＹＦＰ）、シアン蛍光タンパク質（ＣＦＰ）、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、ルシフェラーゼ（Ｌｕｃ）、ノパリンシンターゼ（ＮＯＳ）、オクトピンシンターゼ（ＯＣＳ）、およびその誘導体。アンピシリン、ブレオマイシン、クロラムフェニコール、ゲンタマイシン、ハイグロマイシン、カナマイシン、リンコマイシン、メトトレキサート、フォスフィノスリシン、ピューロマイシ、およびテトラサイクリンに対する耐性を付与する複数の選択マーカーが利用可能である。
【０２０７】
抗生物質耐性遺伝子およびネガティブ選択因子の組込み方法は、当業者によく知られている（例えば、ＷＯ９９／１５６５０；米国特許第６，０８０，５７６号；米国特許第６，１３６，５６６号；Ｎｉｗａら、Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１１３：３４３－３４９（１９９３）；およびＹｏｓｈｉｄａら、Ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ４：２７７－２８７（１９９５）を参照のこと）。

【０２０８】
選択マーカーの組み合わせも使用し得る。例えば、免疫グロブリン遺伝子をターゲッティングするために、ｎｅｏ遺伝子（上記考察のように、それ自体のプロモーターを含むか含まない）を、免疫グロブリン遺伝子に相同なＤＮＡ配列にクローン化し得る。マーカーの組み合わせを使用するために、ターゲッティングＤＮＡの外側に存在するようにＨＳＶ－ｔｋ遺伝子をクローン化し得る（必要に応じて、別の選択マーカーを、反対側に隣接させて配置し得る）。ターゲッティングすべき細胞へのＤＮＡ構築物の導入後、細胞を、適切な抗生物質について選択し得る。この特定の例では、Ｇ４１８およびガンシクロビルに耐性を示す細胞は、相同組換えによって生じた可能性が最も高く、この相同組換において、ｎｅｏ遺伝子は免疫グロブリン遺伝子に組み込まれたが、二重交差領域の外側に存在するので、ｔｋ遺伝子は喪失している。

【０２０９】
欠失は、少なくとも約５０ｂｐ、より通常には、少なくとも約１００ｂｐ、一般に、多くて２０ｋｂｐであり得る。欠失には、通常、コード領域の少なくとも一部（１つ以上のエクソンの一部、１つ以上のイントロンの一部が含まれる）を含むことができ、隣接非コード領域の一部（特に、５’非コード領域（転写調節領域））を含んでも含まなくてもよい。したがって、相同領域は、コード領域を超えて５’非コード領域まで伸長するか、３’非コード領域まで伸長し得る。挿入は、一般に、１０ｋｂｐを超えず、通常、５ｋｂｐを超えず、一般に、少なくとも５０ｂｐ、より通常には少なくとも２００ｂｐであり得る。

【０２１０】
相同性領域は変異を含むことができ、フレームシフトが起こるか重要なアミノ酸が変化する場合に変異によって標的遺伝子をさらに不活化し得るか、変異によって機能障害性対立遺伝子などを修復し得る。変異は、わずかな変化であり得るが、相補性隣接配列の約５％を超えない。遺伝子の変異が望ましい場合、マーカー遺伝子を、イントロンまたはエクソンに挿入し得る。

【０２１１】
当該分野で公知の方法にしたがって構築物を調製することができ、種々のフラグメントを、接合し、適切なベクターに導入し、クローン化し、分析し、次いで、所望の構築物が得られるまでさらに改変する。制限分析、切り出し、プローブの同定などのために、配列に種々の改変を行うことができる。必要に応じて、サイレント変異を導入し得る。種々の段階で、制限分析、配列決定、ポリメラーゼ連鎖反応を用いた増幅、プライマー修復、インビトロ変異誘発などを使用し得る。

【０２１２】
細菌ベクター（原核生物複製系（例えば、大腸菌によって認識可能な複製起点）が含まれる）を使用して構築物を調製することができ、各段階で、構築物をクローン化し、分析し得る。マーカー（挿入で使用されるマーカーと同一か異なる）を使用することができ、これを、標的細胞への導入前に除去し得る。一旦構築物を含むベクターが完成すると、これを、細菌配列の欠失、線状化、相同配列の短い欠失などによってさらに改変し得る。最後の改変後、構築物を細胞に導入し得る。

【０２１３】
本発明は、さらに、免疫グロブリン遺伝子配列を含む組換え構築物を含む。構築物は、順方向または逆方向で本発明の配列が挿入されているベクター（プラスミドベクターまたはウイルスベクターなど）を含む。構築物は、配列に作動可能に連結された調節配列（例えば、プロモーターが含まれる）も含み得る。多数の適切なベクターおよびプロモーターが当業者に公知であり、かつ市販されている。例として、以下のベクターを示す。細菌：ｐＢｓ、ｐＱＥ－９（Ｑｉａｇｅｎ）、ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔ、ＰｓｉＸ１７４、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＳＫ、ｐＢｓＫＳ、ｐＮＨ８ａ、ｐＮＨ１６ａ、ｐＮＨ１８ａ、ｐＮＨ４６ａ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）；ｐＴｒｃ９９Ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＫＫ２３３－３、ｐＤＲ５４０、ｐＲＴＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）。真核生物：ｐＷＬｎｅｏ、

ｐＳｖ２ｃａｔ、ｐＯＧ４４、ｐＸＴ１、ｐＳＧ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）ｐＳＶＫ３、ｐＢＰｖ、ｐＭＳＧ、ｐＳＶＬ（Ｐｈａｒｍｉａｃｉａ）、ウイルス起源のベクター（Ｍ１３ベクター、細菌ファージ１ベクター、アデノウイルスベクター、およびレトロウイルスベクター）、高、低、および調整可能なコピー数のベクター、１つの宿主と組み合わせて使用するための適合性レプリコンを有するベクター（ｐＡＣＹＣ１８４およびｐＢＲ３２２）、および真核生物エピソーム複製ベクター（ｐＣＤＭ８）。他のベクターには、ｐｃＤＮＡ　ＩＩ、ｐＳＬ３０１、ｐＳＥ２８０、ｐＳＥ３８０、ｐＳＥ４２０、ｐＴｒｃＨｉｓＡ、Ｂ、およびＣ、ｐＲＳＥＴ　Ａ、Ｂ、およびＣ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃｏｒｐ．）、ｐＧＥＭＥＸ－１、およびｐＧＥＭＥＸ－２（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｉｎｃ．）、ｐＥＴベクター（Ｎｏｖａｇｅｎ，Ｉｎｃ．）、ｐＴｒｃ９９Ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＧＥＸベクター、ｐＥＺＺ１８、ｐＲＩＴ２Ｔ、およびｐＭＣ１８７１（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｉｎｃ．）、ｐＫＫ２３３－２およびｐＫＫ３８８－１（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．）、およびｐＰｒｏＥｘ－ＨＴ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃｏｒｐ．）などの原核生物発現ベクターならびにその変異形および誘導体が含まれる。他のベクターには、ｐＦａｓｔＢａｃ、ｐＦａｓｔＢａｃＨＴ、ｐＦａｓｔＢａｃＤＵＡＬ、ｐＳＦＶ、およびｐＴｅｔ－Ｓｐｌｉｃｅ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＥＵＫ－Ｃ１、ｐＰＵＲ、ｐＭＡＭ、ｐＭＡＭｎｅｏ、ｐＢＩ１０１、ｐＢＩ１２１、ｐＤＲ２、ｐＣＭＶＥＢＮＡ、およびｐＹＡＣｎｅｏ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）、ｐＳＶＫ３、ｐＳＶＬ、ｐＭＳＧ、ｐＣＨ１１０、およびｐＫＫ２３２－８（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｉｎｃ．）、ｐ３’ＳＳ、ｐＸＴ１、ｐＳＧ５、ｐＰｂａｃ、ｐＭｂａｃ、ｐＭＣ１ｎｅｏ、およびｐＯＧ４４（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｉｎｃ．）、およびｐＹＥＳ２、ｐＡＣ３６０、ｐＢｌｕｅＢａｃＨｉｓ　Ａ、Ｂ、およびＣ、ｐＶＬ１３９２、ｐＢｌｕｅＢａｃＩＩＩ、ｐＣＤＭ８、ｐｃＤＮＡ１、ｐＺｅｏＳＶ、ｐｃＤＮＡ３　ｐＲＥＰ４、ｐＣＥＰ４、およびｐＥＢＶＨｉｓ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃｏｒｐ．）などの真核生物発現ベクターおよびその変異形または誘導体が含まれる。使用し得るさらなるベクターには、以下が含まれ得る：ｐＵＣ１８、ｐＵＣ１９、ｐＢｌｕｅＳｃｒｉｐｔ、ｐＳＰＯＲＴ、コスミド、ファージミド、ＹＡＣ（酵母人工染色体）、ＢＡＣ（細菌人工染色体）、Ｐ１（大腸菌ファージ）、ｐＱＥ７０、ｐＱＥ６０、ｐＱＥ９（ｑｕａｇａｎ）、ｐＢＳベクター、ＰｈａｇｅＳｃｒｉｐｔベクター、ＢｌｕｅＳｃｒｉｐｔベクター、ｐＮＨ８Ａ、ｐＮＨ１６Ａ、ｐＮＨ１８Ａ、ｐＮＨ４６Ａ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）、ｐｃＤＮＡ３（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＧＥＸ、ｐＴｒｓｆｕｓ、ｐＴｒｃ９９Ａ、ｐＥＴ－５、ｐＥＴ－９、ｐＫＫ２２３－３、ｐＫＫ２３３－３、ｐＤＲ５４０、ｐＲＩＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）、ｐＳＰＯＲＴ１、ｐＳＰＯＲＴ２、ｐＣＭＶＳＰＯＲＴ２．０、およびｐＳＶ－ＳＰＯＲＴ１（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＴｒｘＦｕｓ、ｐＴｈｉｏＨｉｓ、ｐＬＥＸ、ｐＴｒｃＨｉｓ、ｐＴｒｃＨｉｓ２、ｐＲＳＥＴ、ｐＢｌｕｅＢａｃＨｉｓ２、ｐｃＤＮＡ３．１／Ｈｉｓ、ｐｃＤＮＡ３．１（－）／Ｍｙｃ－Ｈｉｓ、ｐＳｅｃＴａｇ、ｐＥＢＶＨｉｓ、ｐＰＩＣ９Ｋ、ｐＰＩＣ３．５Ｋ、ｐＡＯ８１５、ｐＰＩＣＺ、ｐＰＩＣＺ□、ｐＧＡＰＺ、ｐＧＡＰＺ□、ｐＢｌｕｅＢａｃ４．５、ｐＢｌｕｅＢａｃＨｉｓ２、ｐＭｅｌＢａｃ、ｐＳｉｎＲｅｐ５、ｐＳｉｎＨｉｓ、ｐＩＮＤ、ｐＩＮＤ（ＳＰ１）、ｐＶｇＲＸＲ、ｐｃＤＮＡ２．１、ｐＹＥＳ２、ｐＺＥｒＯ１．１、ｐＺＥｒＯ－２．１、ｐＣＲ－Ｂｌｕｎｔ、ｐＳＥ２８０、ｐＳＥ３８０、ｐＳＥ４２０、ｐＶＬ１３９２、ｐＶＬ１３９３、ｐＣＤＭ８、ｐｃＤＮＡ１．１、ｐｃＤＮＡ１．１／Ａｍｐ、ｐｃＤＮＡ３．１、ｐｃＤＮＡ３．１／Ｚｅｏ、ｐＳｅ、ＳＶ２、ｐＲｃ／ＣＭＶ２、ｐＲｃ／ＲＳＶ、ｐＲＥＰ４、ｐＲＥＰ７、ｐＲＥＰ８、ｐＲＥＰ９、ｐＲＥＰ１０、ｐＣＥＰ４、ｐＥＢＶＨｉｓ、ｐＣＲ３．１、ｐＣＲ２．１、ｐＣＲ３．１－Ｕｎｉ、およびｐＣＲＢａｃ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）；□ＥｘＣｅｌｌ、□ｇｔ１１、ｐＴｒｃ９９Ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＧＥＸ－１□Ｔ、ｐＧＥＸ－２Ｔ、ｐＧＥＸ－２ＴＫ、ｐＧＥＸ－４Ｔ－１、ｐＧＥＸ－４Ｔ－２、ｐＧＥＸ－４Ｔ－３、ｐＧＥＸ－３Ｘ、ｐＧＥＸ－５Ｘ－１、ｐＧＥＸ－５Ｘ－２、ｐＧＥＸ－５Ｘ－３、ｐＥＺＺ１８、ｐＲＩＴ２Ｔ、ｐＭＣ１８７１、ｐＳＶＫ３、ｐＳＶＬ、ｐＭＳＧ、ｐＣＨ１１０、ｐＫＫ２３２－８、ｐＳＬ１１８０、ｐＮＥＯ、およびｐＵＣ４

Ｋ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）；ｐＳＣＲＥＥＮ－１ｂ（＋）、ｐＴ７Ｂｌｕｅ（Ｒ）、ｐＴ７Ｂｌｕｅ－２、ｐＣＩＴＥ－４ａｂｃ（＋）、ｐＯＣＵＳ－２、ｐＴＡｇ、ｐＥＴ－３２ＬＩＣ、ｐＥＴ－３０ＬＩＣ、ｐＢＡＣ－２ｃｐ　ＬＩＣ、ｐＢＡＣｇｕｓ－２ｃｐ　ＬＩＣ、ｐＴ７Ｂｌｕｅ－２　ＬＩＣ、ｐＴ７Ｂｌｕｅ－２、□ＳＣＲＥＥＮ－１、□ＢｌｕｅＳＴＡＲ、ｐＥＴ－３ａｂｃｄ、ｐＥＴ－７ａｂｃ、ｐＥＴ９ａｂｃｄ、ｐＥＴ１１ａｂｃｄ、ｐＥＴ１２ａｂｃ、ｐＥＴ－１４ｂ、ｐＥＴ－１５ｂ、ｐＥＴ－１６ｂ、ｐＥＴ－１７ｂ－ｐＥＴ－１７ｘｂ、ｐＥＴ－１９ｂ、ｐＥＴ－２０ｂ（＋）、ｐＥＴ－２１ａｂｃｄ（＋）、ｐＥＴ－２２ｂ（＋）、ｐＥＴ－２３ａｂｃｄ（＋）、ｐＥＴ－２４ａｂｃｄ（＋）、ｐＥＴ－２５ｂ（＋）、ｐＥＴ－２６ｂ（＋）、ｐＥＴ－２７ｂ（＋）、ｐＥＴ－２８ａｂｃ（＋）、ｐＥＴ－２９ａｂｃ（＋）、ｐＥＴ－３０ａｂｃ（＋）、ｐＥＴ－３１ｂ（＋）、ｐＥＴ－３２ａｂｃ（＋）、ｐＥＴ－３３ｂ（＋）、ｐＢＡＣ－１、ｐＢＡＣｇｕｓ－１、ｐＢＡＣ４ｘ－１、ｐＢＡＣｇｕｓ４ｘ－１、ｐＢＡＣ－３ｃｐ、ｐＢＡＣｇｕｓ－２ｃｐ、ｐＢＡＣｓｕｒｆ－１、ｐｌｇ、Ｓｉｇｎａｌ　ｐｌｇ、ｐＹＸ、Ｓｅｌｅｃｔａ　Ｖｅｃｔａ－Ｎｅｏ、Ｓｅｌｅｃｔａ　Ｖｅｃｔａ－Ｈｙｇ、およびＳｅｌｅｃｔａ　Ｖｅｃｔａ－Ｇｐｔ（Ｎｏｖａｇｅｎ）；ｐＬｅｘＡ、ｐＢ４２ＡＤ、ｐＧＢＴ９、ｐＡＳ２－１、ｐＧＡＤ４２４、ｐＡＣＴ２、ｐＧＡＤ　ＧＬ、ｐＧＡＤ　ＧＨ、ｐＧＡＤ１０、ｐＧｉｌｄａ、ｐＥＺＭ３、ｐＥＧＦＰ、ｐＥＧＦＰ－１、ｐＥＧＦＰ－Ｎ、ｐＥＧＦＰ－Ｃ、ｐＥＢＦＰ、ｐＧＦＰｕｖ、ｐＧＦＰ、ｐ６ｘＨｉｓ－ＧＦＰ、ｐＳＥＡＰ２－Ｂａｓｉｃ、ｐＳＥＡＰ２－Ｃｏｎｔｒａｌ、ｐＳＥＡＰ２－Ｐｒｏｍｏｔｅｒ、ｐＳＥＡＰ２－Ｅｎｈａｎｃｅｒ、ｐ□ｇａｌ－Ｂａｓｉｃ、ｐ□ｇａｌ－Ｃｏｎｔｒｏｌ、ｐ□ｇａｌ－Ｐｒｏｍｏｔｅｒ、ｐ□ｇａｌ－Ｅｎｈａｎｃｅｒ、ｐＣＭＶ□、ｐＴｅｔ－Ｏｆｆ、ｐＴｅｔ－Ｏｎ、ｐＴＫ－Ｈｙｇ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｆｆ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｎ、ｐＩＲＥＳ１ｎｅｏ、ｐＩＲＥＳ１ｈｙｇ、ｐＬＸＳＮ、ｐＬＮＣＸ、ｐＬＡＰＳＮ、ｐＭＡＭｎｅｏ、ｐＭＡＭｎｅｏ－ＣＡＴ、ｐＭＡＭｎｅｏ－ＬＵＣ、ｐＰＵＲ、ｐＳＶ２ｎｅｏ、ｐＹＥＸ４Ｔ－１／２／３、ｐＹＥＸ－Ｓ１、ｐＢａｃＰＡＫ－Ｈｉｓ、ｐＢａｃＰＡＫ８／９、ｐＡｃＵＷ３１、ＢａｃＰＡＫ６、ｐＴｒｉｐｌＥｘ、□ｇｔ１０、□ｇｔ１１、ｐＷＥ１５、および□ＴｒｉｐｌＥｘ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）；Ｌａｍｂｄａ　ＺＡＰ　ＩＩ、ｐＢＫ－ＣＭＶ、ｐＢＫ－ＲＳＶ、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ＫＳ　＋／－、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ＳＫ　＋／－、ｐＡＤ－ＧＡＬ４、ｐＢＤ－ＧＡＬ４　Ｃａｍ、ｐＳｕｒｆｓｃｒｉｐｔ、Ｌａｍｂｄａ　ＦＩＸ　ＩＩ、Ｌａｍｂｄａ　ＤＡＳＨ、Ｌａｍｂｄａ　ＥＭＢＬ３、Ｌａｍｂｄａ　ＥＭＢＬ４、ＳｕｐｅｒＣｏｓ、ｐＣＲ－Ｓｃｒｉｇｔ　Ａｍｐ、ｐＣＲ－Ｓｃｒｉｐｔ　Ｃａｍ、ｐＣＲ－Ｓｃｒｉｐｔ　Ｄｉｒｅｃｔ、ｐＢＳ＋／－、ｐＢＣ　ＫＳ＋／－、ｐＢＣ　ＳＫ＋／－、Ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔ、ｐＣＡＬ－ｎ－ＥＫ、ｐＣＡＬ－ｎ、ｐＣＡＬ－ｃ、ｐＣＡＬ－ｋｃ、ｐＥＴ－３ａｂｃｄ、ｐＥＴ－１１ａｂｃｄ、ｐＳＰＵＴＫ、ｐＥＳＰ－１、ｐＣＭＶＬａｃＩ、ｐＯＰＲＳＶＩ／ＭＣＳ、ｐＯＰＩ３　ＣＡＴ、ｐＸＴ１、ｐＳＧ５、ｐＰｂａｃ、ｐＭｂａｃ、ｐＭＣ１ｎｅｏ、ｐＭＣ１ｎｅｏ　Ｐｏｌｙ　Ａ、ｐＯＧ４４、ｐＯＧ４５、ｐＦＲＴ□ＧＡＬ、ｐＮＥＯ□ＧＡＬ、ｐＲＳ４０３、ｐＲＳ４０４、ｐＲＳ４０５、ｐＲＳ４０６、ｐＲＳ４１３、ｐＲＳ４１４、ｐＲＳ４１５、およびｐＲＳ４１６（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）およびその変異形または誘導体。以下のツーハイブリッドベクターおよび逆ツーハイブリッドベクターも使用し得る：例えば、ｐＰＣ８６、ｐＤＢＬｅｕ、ｐＤＢＴｒｐ、ｐＰＣ９７、ｐ２．５、ｐＧＡＤ１－３、ｐＧＡＤ１０、ｐＡＣｔ、ｐＡＣＴ２、ｐＧＡＤＧＬ、ｐＧＡＤＧＨ、ｐＡＳ２－１、ｐＧＡＤ４２４、ｐＧＢＴ８、ｐＧＢＴ９、ｐＧＡＤ－ＧＡＬ４、ｐＬｅｘＡ、ｐＢＤ－ＧＡＬ４、ｐＨＩＳｉ、ｐＨＩＳｉ－１、ｐｌａｃＺｉ、ｐＢ４２ＡＤ、ｐＤＧ２０２、ｐＪＫ２０２、ｐＪＧ４－５、ｐＮＬｅｘＡ、ｐＹＥＳＴｒｐ、およびその変異形または誘導体。宿主中で複製および生存が可能である限り、任意の他のプラスミドおよびベクターを使用し得る。

【０２１４】

ＤＮＡ構築物を宿主に入れるために使用し得る技術には、例えば、リン酸カルシウム／

ＤＮＡ共沈、核へのＤＮＡの微量注入、エレクトロポレーション、インタクトな細胞の細菌プロトプラスト融合、トランスフェクション、または当業者に公知の任意の他の技術が含まれる。ＤＮＡは、一本鎖もしくは二本鎖、線状もしくは環状、弛緩（ｒｅｌａｘｅｄ）状、またはスーパーコイル状であり得る。哺乳動物細胞の種々のトランスフェクション技術については、例えば、Ｋｅｏｗｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　Ｖｏｌ．１８５，５２７－５３７頁（１９９０）を参照のこと。

【０２１５】

１つの特定の実施形態では、ヘテロ接合性またはホモ接合性のノックアウト細胞を、同遺伝子系ＤＮＡから単離した免疫グロブリン遺伝子配列を含むノックアウトベクターへの初代胎児線維芽細胞のトランスフェクションによって生成し得る。別の実施形態では、ベクターを、例えば、ＩＲＥＳ（内部リボゾーム侵入部位）を使用したプロモーター補足ストラテジーに組み込んで、Ｎｅｏｒ遺伝子の翻訳を開始させることができる。

【０２１６】

（部位特異的リコンビナーゼ）

さらなる実施形態では、ターゲッティング構築物は、部位特異的リコンビナーゼ（例えば、ｌｏｘ）を含み得る。１つの実施形態では、ターゲッティングアームは、一方の部位特異的リコンビナーゼ標的部位が第２の部位特異的リコンビナーゼ標的部位の５’側に存在するように、ターゲッティングされた領域に部位特異的リコンビナーゼ標的部位を挿入し得る。次いで、２つの部位特異的リコンビナーゼ部位間の介在ヌクレオチド配列が切り出されるように、部位特異的リコンビナーゼ部位を活性化し、そして／または細胞に適用し得る。

【０２１７】

部位特異的リコンビナーゼには、短い核酸部位または配列特異的標的部位（すなわち、リコンビナーゼ認識部位）を認識して結合し、これらの部位に関連する核酸の組換えを触媒する酵素またはリコンビナーゼが含まれる。これらの酵素には、リコンビナーゼ、トランスポサーゼ、およびインテグラーゼが含まれる。配列特異的リコンビナーゼ標的部位の例には、ｌｏｘ部位、ａｔｔ部位、ｄｉｆ部位、およびｆｒｔ部位が含まれるが、これらに限定されない。部位特異的リコンビナーゼの限定しない例には、バクテリオファージＰ１Ｃｒｅ　リコンビナーゼ、酵母ＦＬＰリコンビナーゼ、Ｉｎｔｉインテグラーゼ、バクテリオファージλ、φ８０、Ｐ２２、Ｐ２、１８６、およびＰ４リコンビナーゼ、Ｔｎ３リゾルベース、Ｈｉｎリコンビナーゼ、およびＣｉｎリコンビナーゼ、大腸菌ｘｅｒＣおよびｘｅｒＤリコンビナーゼ、バチルス・チューリンゲンシスリコンビナーゼ、ＴｐｎＩおよびβラクタマーゼトランスポゾン、および免疫グロブリンリコンビナーゼが含まれるが、これらに限定されない。

【０２１８】

１つの実施形態では、組換え部位は、バクテリオファージＰ１のＣｒｅリコンビナーゼによって認識されるｌｏｘ部位であり得る。ｌｏｘ部位は、バクテリオファージＰ１のｃｒｅ遺伝子産物（Ｃｒｅリコンビナーゼ）が部位特異的組換え事象を触媒し得るヌクレオチド配列をいう。種々のｌｏｘ部位が当該分野で公知であり、天然に存在するｌｏｘＰ、ｌｏｘＢ、ｌｏｘＬおよびｌｏｘＲ、ならびに多数の変異体または変異形、ｌｏｘ部位（ｌｏｘＰ５１１、ｌｏｘＰ５１４、ｌｏｘ．ＤＥＬＴＡ．８６、ｌｏｘ．ＤＥＬＴＡ．１１７、ｌｏｘＣ２、ｌｏｘＰ２、ｌｏｘＰ３、およびｌｏｘＰ２３など）が含まれる。ｌｏｘ部位のさらなる例には、ｌｏｘＢ、ｌｏｘＬ、ｌｏｘＲ、ｌｏｘＰ、ｌｏｘＰ３、ｌｏｘＰ２３、ｌｏｘΔ８６、ｌｏｘΔ１１７、ｌｏｘＰ５１１、およびｌｏｘＣ２が含まれるが、これらに限定されない。

【０２１９】

別の実施形態では、組換え部位は、Ｃｒｅ以外のリコンビナーゼによって認識される組換え部位である。１つの実施形態では、リコンビナーゼ部位は、酵母の２πプラスミドのＦＬＰリコンビナーゼによって認識されるＦＲＴ部位であり得る。ＦＲＴ部位は、酵母２ミクロンプラスミドのＦＬＰ遺伝子産物（ＦＬＰリコンビナーゼ）が部位特異的組換えを

触媒し得るヌクレオチド配列をいう。非Ｃｒｅリコンビナーゼのさらなる例には、以下が含まれるが、これらに限定されない：部位特異的リコンビナーゼには以下が含まれる：λバクテリオファージのＩｎｔリコンビナーゼによって認識されるａｔｔ部位（例えば、ａｔｔ１、ａｔｔ２、ａｔｔ３、ａｔｔＰ、ａｔｔＢ、ａｔｔＬ、およびａｔｔＲ）、レソルバーゼファミリーによって認識される組換え部位、バチルス・チューリンゲンシスのトランスポサーゼによって認識される組換え部位。

【０２２０】

本発明の特定の実施形態では、ターゲッティング構築物は、本明細書中に記載のブタ免疫グロブリン遺伝子に相同な配列、選択マーカー、および／または部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含み得る。

【０２２１】

（相同組換え細胞の選択）

次いで、細胞を、適切に選択した培地中で成長させて、適切に組み込まれた細胞を同定し得る。免疫グロブリン遺伝子に挿入された選択マーカー遺伝子が存在すれば、宿主ゲノムに標的構築物が組み込まれている。次いで、所望の表現型を示す細胞を、制限分析、電気泳動、サザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応などによってさらに分析して、相同組換えまたは非相同組換えが起こっているかどうかを確証するためにＤＮＡを分析し得る。挿入用プローブの使用およびその後の構築物の隣接領域を超えて伸長した免疫グロブリン遺伝子の存在についてのインサートに隣接する５’および３’領域の配列決定、または欠失が導入された場合の欠失の存在の同定によってこれを決定し得る。構築物内の配列に相補的なプライマーおよび構築物の外側かつ標的遺伝子座中の配列に相補的なプライマーを使用することもできる。この方法では、相同組換えが起こった場合に相補鎖中に存在する両プライマーを有するＤＮＡ二重鎖のみを得ることができる。プライマー配列または予想されるサイズの配列の存在の証明により、相同組換えが起こったことが支持される。

【０２２２】

相同組換え事象のスクリーニングのために使用したポリメラーゼ連鎖反応は、当該分野で公知であり、例えば、ＫｉｍおよびＳｍｉｔｈｉｅｓ，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１６：８８８７－８９０３，１９８８；およびＪｏｙｎｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ ３３８：１５３－１５６，１９８９を参照のこと。ネオマイシン遺伝子を駆動するための変異ポリメラーゼエンハンサーとチミジンキナーゼプロモーターとの特定の組み合わせは、胚性幹細胞およびＥＣ細胞の両方で活性であることが以下によって示されている：ＴｈｏｍａｓおよびＣａｐｅｃｃｈｉ，（上記），１９８７；ＮｉｃｈｏｌａｓおよびＢｅｒｇ（１９８３）ｉｎ Ｔｅｒａｔｏｃａｒｃｉｎｏｍａ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ，ｅｄｓ．Ｓｉｖｅｒ，ＭａｒｔｉｎおよびＳｔｒｉｋｌａｎｄ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（４６９－４９７頁）；ならびにＬｉｎｎｅｙおよびＤｏｎｅｒｌｙ，Ｃｅｌｌ ３５：６９３－６９９，１９８３。

【０２２３】

第１ラウンドのターゲッティングから得た細胞株はターゲッティングされた対立遺伝子にヘテロ接合性を示す可能性が高い。両対立遺伝子が改変されているホモ接合性を、多数の方法で実現し得る。１つのアプローチは、１つのコピーが改変された多数の細胞を増殖させ、その後にこれらの細胞を異なる選択マーカーを使用した別ラウンドのターゲッティングに供することである。あるいは、伝統的なメンデル遺伝学による改変された対立遺伝子にヘテロ接合性を示す動物の交配よってホモ接合性を得ることができる。いくつかの状況では、２つの異なる改変された対立遺伝子を有することが望ましい。連続した遺伝子ターゲッティングまたはヘテロ接合体（それぞれ、所望の改変された対立遺伝子の１つを保有する）の交配によってこれを行うことができる。

【０２２４】

（相同組換えされた細胞の同定）

１つの実施形態では、選択方法は、相同組換えによる免疫グロブリン遺伝子のターゲッ

ティングされたノックアウトまたは非機能的もしくは非発現免疫グロブリンが得られる遺伝子変異のいずれかによって免疫グロブリン遺伝子の枯渇を直接検出し得る。スクリーニングのために、抗生物質耐性による選択が最も一般的に使用されている（上記）。この方法により、ターゲッティングベクター上の耐性遺伝子の存在を検出し得るが、組込みがターゲッティングされた組換え事象または無作為な組込みのいずれであるのかは直接示されない。一定のテクノロジー（ポリＡおよびプロモーター捕捉テクノロジーなど）により、事象がターゲッティングされる確率が高くなるが、所望の表現型（免疫グロブリン遺伝子発現が欠損した細胞）が得られた証拠は直接与えられない。さらに、負の選択形態を使用して、ターゲッティングされた組込みを選択することができ、これらの場合、ターゲッティングされた事象のみによって細胞の死滅が回避されるような方法において細胞に致命的な因子の遺伝子が挿入される。次いで、これらの方法によって選択された細胞を、遺伝子破壊、ベクター組込み、最後に、免疫グロブリン遺伝子の枯渇についてアッセイし得る。これらの場合、選択がターゲッティングベクター組込みの検出に基づくが、表現型の変化には基づかないので、ターゲッティングされたノックアウトのみを検出することができ、点変異、遺伝子再配列もしくは短縮、または他のこのような改変を検出できない。

【０２２５】

機能的免疫グロブリン遺伝子の発現を欠くと考えられる動物細胞を、さらに特徴づけることができる。このような特徴付けを、以下の技術によって行うことができる：ＰＣＲ分析、サザンブロット分析、ノーザンブロット分析、特異的レクチン結合アッセイ、および／または配列決定分析が含まれるが、これらに限定されない。

【０２２６】

当該分野で説明されているＰＣＲ分析を使用して、ターゲッティングベクターの組込みを決定し得る。１つの実施形態では、アンプリマーは、抗生物質耐性遺伝子に由来し、ベクター配列の外側の領域に伸長し得る。サザン分析を使用して、遺伝子座の巨視的改変（免疫グロブリン遺伝子座へのターゲッティングベクターの組込みなど）を特徴づけることもできる。それに対して、ノーザンブロットを使用して、各対立遺伝子から生成された転写物を特徴づけることができる。

【０２２７】

さらに、ＲＮＡ転写物から生成されたｃＤＮＡの配列決定分析を使用して、免疫グロブリン対立遺伝子の任意の変異の正確な位置を決定することもできる。

【０２２８】

本発明の別の局面では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子座の機能的領域の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く有蹄動物細胞を提供する。相同組換えの結果としてこれらの細胞を得ることができる。特に、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子の不活化により、ブタ抗体の発現能力が減少した細胞を生成し得る。他の実施形態では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の両方の対立遺伝子を欠く哺乳動物細胞を、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成し得る。さらなる実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した遺伝子ターゲッティング事象によって、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化されたブタ動物を提供する。本発明の別の局面では、遺伝子ターゲッティング事象によって、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の両方の対立遺伝子が不活化されたブタ動物を提供する。相同組換えによって遺伝子をターゲッティングし得る。他の実施形態では、遺伝子を破壊し（すなわち、遺伝コードの一部を変化させることができる）、それにより、その遺伝子のセグメントの転写および／または翻訳に影響を与えることができる。例えば、置換、欠失（「ノックアウト」）、または挿入（「ノックイン」）技術によって、遺伝子破壊が起こり得る。既存の配列の転写を調整する望ましいタンパク質または調節配列のさらなる遺伝子を挿入し得る。

【０２２９】

本発明の実施形態では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、またはλ軽鎖の遺伝子の対立遺伝子を、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって不活化させ、その結果、機能的有蹄動物免疫グロブリンをもはや生成することができない。１つの実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、ＲＮＡに転写し得るが、タンパク質に翻訳することができない。別の実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、不活性な短縮形態に転写し得る。このような短縮ＲＮＡは、翻訳することができないか、非機能的タンパク質に翻訳し得る。別の実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、遺伝子が転写されないような方法で不活化し得る。さらなる実施形態では、ターゲッティングされた免疫グロブリン遺伝子を、転写し、次いで、非機能的タンパク質に翻訳し得る。

【０２３０】

（ＩＩＩ．ヒト免疫グロブリン遺伝子を含む人工染色体の挿入）

（人工染色体）

本発明の１つの局面は、ヒト抗体（すなわち、免疫グロブリン（Ｉｇ））遺伝子座の少なくとも一部を発現するようにさらに改変された、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成された、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子座の機能的領域の少なくとも１つの対立遺伝子を欠く有蹄動物および有蹄動物細胞を提供する。このヒト遺伝子座は、再配列されて、有蹄動物中で多様なヒト抗体分子集団を発現し得る。これらのクローン化されたトランスジェニック有蹄動物は、ヒト抗体（ポリクローナル抗体など）を補給可能に、理論的には無限大に供給し、治療、診断、精製、および他の臨床に関連する目的のために使用し得る。

【０２３１】

１つの特定の実施形態では、人工染色体（ＡＣ）を使用して、有蹄動物細胞または動物にヒト免疫グロブリン遺伝子を移入ことができる。ＡＣにより、１つ以上の遺伝子を含むメガベースサイズのＤＮＡフラグメントの組込みをターゲッティングすることが可能である。したがって、ＡＣは、外因性ＤＮＡによってコードされた遺伝子産物の生成のために、選択された細胞に外因性ＤＮＡを導入し得る。１つの実施形態では、組み込まれたヒト免疫グロブリンＤＮＡを有する１つ以上のＡＣを、有蹄動物（ブタなど）へのヒトＩｇ遺伝子の導入のためのベクターとして使用し得る。

【０２３２】

１９８３年に酵母に最初に構築されたＡＣは、天然染色体の適切な複製および分配を担う不可欠なシス作用ＤＮＡ配列エレメントから構築された人工線状ＤＮＡ分子である（Ｍｕｒｒａｙら（１９８３），Ｎａｔｕｒｅ　３０１：１８９－１９３）。染色体は、機能するために少なくとも３つのエレメントが必要である。詳細には、人工染色体のエレメントは、少なくとも、（１）自律複製配列（ＡＲＳ）（ＤＮＡ複製開始の部位である複製起源の性質を有する）、（２）動原体（有糸分裂および減数分裂で複製された染色体の適切な破壊を担う動原体アセンブリ部位）、および（３）テロメア（末端を安定化させ、ＤＮＡ分子の最末端（ｅｘｔｒｅｍｅ　ｔｅｒｍｉｎｉ）の完全な複製を容易にする線状染色体の末端に特殊化した構造）を含む。

【０２３３】

１つの実施形態では、ヒトＩｇを、有蹄動物染色体ＤＮＡと離れた独立した単位（エピソーム）として維持し得る。例えば、エピソームベクターは、ＤＮＡ複製および細胞内でのベクターの維持に必要なＤＮＡ配列エレメントを含む。エピソームベクターは市販されている（例えば、Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｔ．ら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ（１９８２）３６８－３６９頁を参照のこと）。ＡＣは、安定して複製し、側面の内因性染色体に沿って分離し得る。別の実施形態では、ヒトＩｇＧ　ＤＮＡ配列を、有蹄動物細胞の染色体に組込み、それにより、新規の情報を複製し、天然染色体の一部として細胞の子孫に分配することが可能である（例えば、Ｗｉｇｌｅｒら（１９７７），Ｃｅｌｌ　１１：２２３を参照のこと）。ＡＣを、有蹄動物細胞の内因性染色体に転位置させるか、挿入し得る。２つまたはそれを超えるＡＣを、同時

または連続的に宿主細胞に導入し得る。

【０２３４】

さらに、ＡＣは、１つ以上の遺伝子（１つのプロモーターに作動可能に連結された１つの遺伝子の複数のコピーまたは個別のプロモーターに連結したいくつかのコピーが含まれる）を含むメガベースサイズのＤＮＡフラグメントのターゲッティングされた組込みのためのゲノム外遺伝子座を提供し得る。ＡＣにより、１つ以上のヒト免疫グロブリン遺伝子を含むメガベースサイズのＤＮＡフラグメントのターゲッティングされた組込みが可能である。当業者に公知の染色体が破壊されてミニ染色体および前に二動原体染色体（ｆｏｒｍｅｒｌｙ　ｄｉｃｅｎｔｒｉｃ　ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅ）を形成する条件下での二動原体染色体（すなわち、２つの動原体を有する染色体）を有する細胞の培養によってＡＣを生成し得る。

【０２３５】

ＡＣを、ヒト（ヒト人工染色体：「ＨＡＣ」）、酵母（酵母人工染色体：「ＹＡＣ」）、細菌（細菌人工染色体：「ＢＡＣ」）、バクテリオファージＰ１由来人工染色体：「ＰＡＣ」）、および他の哺乳動物（哺乳動物人工染色体：「ＭＡＣ」）から構築し得る。ＡＣは、動原体の起源に基づいてその名称が導かれている（例えば、ＹＡＣ、ＢＡＣ、ＰＡＣ、ＭＡＣ、ＨＡＣ）。例えば、ＹＡＣは、その動原体が酵母に由来し、他方では、活性な哺乳動物動原体を含む一方で、ＨＡＣは、ヒト動原体を含む染色体をいう。さらに、植物人工染色体（「ＰＬＡＣ」）および昆虫人工染色体を構築することもできる。ＡＣは、複製および維持の両方を担う染色体に由来するエレメントを含み得る。したがって、ＡＣは、ヒトＩｇＤＮＡなどの巨大なゲノムＤＮＡフラグメントを安定に維持し得る。

【０２３６】

１つの実施形態では、ＹＡＣを含む有蹄動物を提供する。ＹＡＣは、酵母染色体（酵母など）由来のエレメントおよび外来ＤＮＡを含む遺伝子改変された環状染色体であり、従来のクローニングベクター（例えば、プラスミド、コスミド）によって許容されるよりもはるかに大きくし得る。ＹＡＣにより、外因性ＤＮＡの非常に巨大なセグメント（Ｓｃｈｌｅｓｓｉｎｇｅｒ，Ｄ．（１９９０），Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　６：２４８－２５３）を哺乳動物細胞および動物内で増殖させることが可能である（Ｃｈｏｉら（１９９３），Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎ　４：１１７－１２３）。ＹＡＣトランスジェニックアプローチは非常に強力であり、クローン化ＤＮＡを有効に改変する能力によって非常に増強される。酵母の主要な技術上の利点は、特定のゲノム改変をＤＮＡ媒介形質転換および相同組換えによって行うことができる容易さにある（Ｒａｍｓａｙ，Ｍ．（１９９４），Ｍｏｌ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　１：１８１－２０１）。１つの実施形態では、ヒトＩｇＤＮＡが組み込まれた１つ以上のＹＡＣを、ヒトＩｇ遺伝子の有蹄動物（ブタなど）への導入のためのベクターとして使用し得る。

【０２３７】

ＹＡＣベクターは、酵母における複製のための特定の構造成分を含み、これには、以下が含まれる：動原体、テロメア、自律複製配列（ＡＲＳ）、酵母選択マーカー（例えば、ＴＲＰ１、ＵＲＡ３、およびＳＵＰ４）、および５０ｋｂを超える外因性ＤＮＡの巨大セグメントの挿入のためのクローニング部位。マーカー遺伝子により、ＹＡＣを保有する細胞を選択し、特定の制限エンドヌクレアーゼの合成のための部位として使用し得る。例えば、ＴＲＰ１およびＵＲＡ３遺伝子を、確実に完全な人工染色体のみが改変されるための二重選択マーカーとして使用し得る。酵母選択マーカーを動原体の両側に運搬し、インビボでテロメア形成を促進する（ｓｅｅｄ）２つの配列を分離し得る。酵母細胞の総ＤＮＡの１％しか複製に必要ではないが、染色体の中心（動原体（有糸分裂時の姉妹染色分体と紡錘糸部位との間の結合部位としての機能を果たす））、染色体の末端（テロメア（真核生物染色体の末端の維持に必要な配列としての機能を果たす））、および二重らせんがほぐれてそれ自体のコピーを開始し得るＤＮＡセグメントとしての機能を果たすＡＲＳと呼ばれるＤＮＡの別の短いストレッチを含む。

【０２３８】

１つの実施形態では、ＹＡＣを使用して、約１、２、または３Ｍｂまでの免疫グロブリンＤＮＡをクローン化し得る。別の実施形態では、少なくとも２５、３０、４０、５０、６０、７０、７５、８０、８５、９０、または９５キロベース。

【０２３９】

酵母組込みプラスミドである複製ベクター（ＹＡＣのフラグメントである）を使用して、ヒトＩｇを発現することもできる。酵母組込みプラスミドは、細菌（例えば、大腸菌）の成長のための複製起点および薬物耐性遺伝子、酵母中の形質転換体の選択のための酵母マーカー遺伝子、およびＩｇ配列の挿入のための制限部位を供給する細菌プラスミド配列を含み得る。宿主細胞は、染色体へのプラスミドの直接組込みによって、このプラスミドを安定に獲得し得る。酵母複製ベクターを使用して、酵母中に遊離プラスミドサークルとしてヒトＩｇを発現することもできる。動原体配列の付加によって、酵母またはＡＲＳ含有ベクターを安定化させることができる。ＹＡＣは、動原体領域およびテロメア領域の両方を有し、組み換え体が本質的に酵母染色体として維持されるので、非常に巨大なＤＮＡ片のクローニングに使用し得る。

【０２４０】

ＹＡＣを、例えば、以下に開示のように得る：米国特許第６，６９２，９５４号、同第６，４９５，３１８号、同第６，３９１，６４２号、同第６，２８７，８５３号、同第６，２２１，５８８号、同第６，１６６，２８８号、同第６，０９６，８７８号、同第６，０１５，７０８号、同第５，９８１，１７５号、同第５，９３９，２５５号、同第５，８４３，６７１号、同第５，７８３，３８５号、同第５，７７６，７４５号、同第５，５７８，４６１号、および同第４，８８９，８０６号；欧州特許第１３５６０６２号および同第０６４８２６５号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０３／０２５２２２号、ＷＯ０２／０５７４３７号、ＷＯ０２／１０１０４４号、ＷＯ０２／０５７４３７号、ＷＯ９８／３６０８２号、ＷＯ９８／１２３３５号、ＷＯ９８／０１５７３号、ＷＯ９６／０１２７６号、ＷＯ９５／１４７６９号、ＷＯ９５／０５８４７号、ＷＯ９４／２３０４９号、およびＷＯ９４／００５６９号。

【０２４１】

別の実施形態では、ＢＡＣを含む有蹄動物を提供する。ＢＡＣは、細菌（大腸菌など）中で見出されたＦベースのプラスミドであり、約３００ｋｂの外来ＤＮＡを宿主細胞に移入し得る。一旦ＩｇＤＮＡが宿主細胞にクローニングされると、新規に挿入したセグメントを、残りのプラスミドと共に複製し得る。結果として、何十億もの外来ＤＮＡコピーを非常に短期間に作製し得る。特定の実施形態では、ヒトＩｇＤＮＡが組み込まれた１つ以上のＢＡＣを、有蹄動物（ブタなど）へのヒトＩｇ遺伝子の導入のためのベクターとして使用する。

【０２４２】

ＢＡＣクローニング系は、大腸菌Ｆ因子に基づき、その複製は、厳密に調節されるので、巨大構築物が確実に安定に維持される（Ｗｉｌｌｅｔｓ，Ｎ．，およびＲ．Ｓｋｕｒｒａｙ（１９８７），Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｆ－ｆａｃｔｏｒ ａｎｄ ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｏｆ ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ．Ｉｎ Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ ａｎｄ Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ Ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ：Ｃｅｌｌｕｌａｒ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｃ．Ｎｅｉｄｈａｒｄｔ，Ｅｄ）Ｖｏｌ．２ １１１０－１１３３頁，Ａｍ．Ｓｏｃ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，Ｄ．Ｃ．）。ＢＡＣは、種々の真核生物種由来のＤＮＡのクローニングに広範に使用されている（Ｃａｉら（１９９５），Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ２９：４１３－４２５；Ｋｉｍら（１９９６），Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ３４：２１３－２１８；Ｍｉｓｕｍｉら（１９９７），Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ４０：１４７－１５０；Ｗｏｏら（１９９４），Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ ２２：４９２２－４９３１；Ｚｉｍｍｅｒ，Ｒ．およびＧｉｂｂｉｎｓ，Ａ．Ｍ．Ｖ．（１９９７），Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ４２：２１７－２２６）。Ｆ－プラスミドの低発現によってＤＮＡフラグメント間の組換え可能性が減少し、それにより、クローン化細菌遺伝子の致死的過剰発現を回避し得

る。ＢＡＣは、１００またはそれを超える世代の増殖後でさえも、宿主細胞中の１つのコピーベクター中でヒト免疫グロブリン遺伝子を安定に維持し得る。

【０２４３】

ＢＡＣ（またはｐＢＡＣ）ベクターは、約３０～３００ｋｂ対の範囲のインサートに適応し得る。１つの特定のＢＡＣベクター型（ｐＢｅｌｏＢａｃ１１）は、インサート含有組換え分子とＢＡＣベクターを保有するコロニーとを色で区別するためのｌａｃＺ遺伝子の相補性を使用する。ＤＮＡフラグメントがｐＢｅｌｏＢａｃ１１のｌａｃＺ遺伝子にクローン化される場合、挿入活性化により、形質転換後にＸ－Ｇａｌ／ＩＰＴＧプレート上に白色コロニーが得られ（Ｋｉｍら（１９９６），Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　３４：２１３－２１８）、それにより、陽性クローンが容易に同定される。

【０２４４】

例えば、ＢＡＣを、以下などに開示のように得ることができる：米国特許第６，７１３，２８１号、同第６，７０３，１９８号、同第６，６４９，３４７号、同第６，６３８，７２２号、同第６，５８６，１８４号、同第６，５７３，０９０号、同第６，５４８，２５６号、同第６，５３４，２６２号、同第６，４９２，５７７号、同第６，４９２，５０６号、同第６，４８５，９１２号、同第６，４７２，１７７号、同第６，４５５，２５４号、同第６，３８３，７５６号、同第６，２７７，６２１号、同第６，１８３，９５７号、同第６，１５６，５７４号、同第６，１２７，１７１号、同第５，８７４，２５９号、同第５，７０７，８１１号、および同第５，５９７，６９４；欧州特許第０８０５８５１号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０３／０８７３３０号、ＷＯ０２／００９１６号、ＷＯ０１／３９７９７号、ＷＯ０１／０４３０２号、ＷＯ００／７９００１号、ＷＯ９９／５４４８７号、ＷＯ９９／２７１１８、およびＷＯ９６／２１７２５号。

【０２４５】

別の実施形態では、バクテリオファージＰＡＣを含む有蹄動物を提供する。特定の実施形態では、ヒトＩｇＤＮＡが組み込まれた１つ以上のバクテリオファージＰＡＣを、ヒトＩｇ遺伝子の有蹄動物（ブタなど）への導入のためのベクターとして使用し得る。例えば、ＰＡＣを、以下などに開示のように得ることができる：米国特許第６，７４３，９０６号、同第６，７３０，５００号、同第６，６８９，６０６号、同第６，６７３，９０９号、同第６，６４２，２０７号、同第６，６３２，９３４号、同第６，５７３，０９０号、同第６，５４４，７６８号、同第６，４８９，４５８号、同第６，４８５，９１２号、同第６，４６９，１４４，号、同第６，４６２，１７６号、同第６，４１３，７７６号、同第６，３９９，３１２号、同第６，３４０，５９５号、同第６，２８７，８５４号、同第６，２８４，８８２号、同第６，２７７，６２１号、同第６，２７１，００８号、同第６，１８７，５３３号、同第６，１５６，５７４号、同第６，１５３，７４０号、同第６，１４３，９４９号、同第６，０１７，７５５号、および同第５，９７３，１３３；欧州特許第０８１４１５６；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０３／０９１４２６号、ＷＯ０３／０７６５７３号、ＷＯ０３／０２０８９８号、ＷＯ０２／１０１０２２号、ＷＯ０２／０７０６９６号、ＷＯ０２／０６１０７３号、ＷＯ０２／３１２０２号、ＷＯ０１／４４４８６号、ＷＯ０１／０７４７８号、ＷＯ０１／０５９６２号、およびＷＯ９９／６３１０３号。

【０２４６】

さらなる実施形態では、ＭＡＣを含む有蹄動物を提供する。ＭＡＣは、高い有糸分裂安定性を有し、遺伝子発現が一貫して調節されており、クローニング能力が高く、免疫原性を示さない。哺乳動物染色体は、サイズが５０～２５０Ｍｂの範囲の連続した線状のＤＮＡ鎖から構成され得る。ＤＮＡ構築物は、さらに、酵母細胞中ＤＮＡ構築物が増殖するのに必要な１つ以上の配列を含み得る。ＤＮＡ構築物はまた、選択マーカー遺伝子をコードする配列を含み得る。ＤＮＡ構築物は、ＤＮＡ構築物で形質転換された細胞中に染色体として維持されることができる。ＭＡＣにより、目的のタンパク質をコードする遺伝子の導入のためのゲノム外特異的組込み部位が得られ、それにより、メガベースサイズのＤＮＡ組込みが可能となり、その結果、例えば、全代謝経路（非常に巨大な遺伝子（例えば、嚢胞性線維症（ＣＦ）遺伝子（～６００ｋｂ））または数個の遺伝子（多価ワクチンの調製

のための一連の抗原））をコードする遺伝子を、細胞に安定に導入し得る。

【０２４７】

哺乳動物人工染色体（ＭＡＣ）を提供する。ＭＡＣＳを使用して生成した他の高等真核生物種（昆虫および魚類など）の人工染色体も提供する。このような染色体の生成および単離方法を本明細書中に提供する。他の種（昆虫および魚類など）由来の人工染色体を構築するためのＭＡＣの使用方法も提供する。人工染色体は、完全に機能的で安定な染色体である。２つの人工染色体型を提供する。本明細書中でＳＡＴＡＣ（サテライト人工染色体）と呼ぶ一方の型は、安定な異質染色体であり、別の型は、真性染色質の増幅に基づいたミニ染色体である。本明細書中で使用される場合、前二動原体染色体は、それぞれが動原体の１つを有する２つの染色体が生成されるように、二動原体染色体が断片化して新規のテロメアを獲得した場合に生成される染色体である。各フラグメントは、複製可能な染色体であり得る。

【０２４８】

ＭＡＣＳを使用して生成された他の抗体真核生物種（昆虫および魚類など）のための人工染色体も提供する。１つの実施形態では、ＳＡＴＡＣ（サテライト人工染色体）を提供する。ＳＡＴＡＣは、安定な異質染色体である。別の実施形態では、真性染色質の増幅に基づいたミニ染色体を提供する。

【０２４９】

１つの実施形態では、人工染色体を、染色体が破壊されてミニ染色体および前二動原体染色体を形成する条件下での二動原体染色体を有する細胞の培養によって生成し得る。１つの実施形態では、ＳＡＴＡＣを、ミニ染色体フラグメントから生成し得る（例えば、米国特許第５，２８８，６２５号を参照のこと）。別の実施形態では、ＳＡＴＡＣを、前二動原体染色体のフラグメントから生成し得る。ＳＡＴＡＣを、短いサテライトＤＮＡの反復単位から作製することができ、これは、完全に異質染色質であり得る。１つの実施形態では、外因性または外来ＤＮＡを挿入しない場合、ＳＡＴＡＣは、遺伝情報を含まない。他の実施形態では、選択的条件下での培養の繰り返しおよび前二動原体染色体から生成された染色体を含む細胞のサブクローニングによって形成される種々のサイズのＳＡＴＡＣを提供する。これらの染色体は、７．５～１０Ｍｂのサイズの反復単位に基づき得る（すなわち、メガレプリコン）。これらのメガレプリコンは、外因性非サテライトＤＮＡに隣接したサテライトＤＮＡのタンデムブロックであり得る。外因性（「外来」）ＤＮＡに隣接した２つの逆方向メガレプリコンを含む同一染色体セグメント（それぞれ、アンプリコンと呼ばれる）のタンデムアレイを増幅し得る。選択培地で成長させた反復細胞融合および／またはＢｒｄＵ（５－ブロモデオキシウリジン）処理、または他のゲノム不安定化試薬もしくは薬剤（電離放射線（Ｘ線が含まれる）など）、およびサブクローニングにより、安定な異質染色体または部分的な異質染色体（１５０～２００Ｍｂの「ソーセージ」染色体、５００～１０００Ｍｂのギガ染色体、安定な２５０～４００Ｍｂのメガ染色体、およびこれらに由来する種々のより小さな安定な染色体が含まれる）を保有する細胞株を得ることができる。これらの染色体は、これらの反復単位に基づき、発現されるヒト免疫グロブリンＤＮＡを含み得る（米国特許第６，７４３，９６７号も参照のこと）。

【０２５０】

他の実施形態では、例えば、以下に開示のように、ＭＡＣを得ることができる：米国特許第６，７４３，９６７号、同第６，６８２，７２９号、同第６，５６９，６４３号、同第６，５５８，９０２号、同第６，５４８，２８７号、同第６，４１０，７２２号、同第６，３４８，３５３号、同第６，２９７，０２９号、同第６，２６５，２１１号、同第６，２０７，６４８号、同第６，１５０，１７０号、同第６，１５０，１６０号、同第６，１３３，５０３号、同第６，０７７，６９７号、同第６，０２５，１５５号、同第５，９９７，８８１号、同第５，９８５，８４６号、同第５，９８１，２２５号、同第５，８７７，１５９号、同第５，８５１，７６０号、および同第５，７２１，１１８；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０４／０６６９４５号、ＷＯ０４／０４４１２９号、ＷＯ０４／０３５７２９号、ＷＯ０４／０３３６６８号、ＷＯ０４／０２７０７５号、ＷＯ０４／０１６７９１号、

ＷＯ０４／００９７８８号、ＷＯ０４／００７７５０号、ＷＯ０３／０８３０５４号、ＷＯ０３／０６８９１０号、ＷＯ０３／０６８９０９号、ＷＯ０３／０６４６１３号、ＷＯ０３／０５２０５０号、ＷＯ０３／０２７３１５号、ＷＯ０３／０２３０２９号、ＷＯ０３／０１２１２６号、ＷＯ０３／００６６１０号、ＷＯ０３／０００９２１号、ＷＯ０２／１０３０３２号、ＷＯ０２／０９７０５９号、ＷＯ０２／０９６９２３号、ＷＯ０２／０９５００３号、ＷＯ０２／０９２６１５号、ＷＯ０２／０８１７１０号、ＷＯ０２／０５９３３０号、ＷＯ０２／０５９２９６号、ＷＯ００／１８９４１号、ＷＯ９７／１６５３３号、およびＷＯ９６／４０９６５号。

【０２５１】

本発明の別の実施形態では、ＨＡＣを含む有蹄動物および有蹄動物細胞を提供する。特定の実施形態では、組み込まれたヒトＩｇＤＮＡを有する１つ以上のＨＡＣを、有蹄動物（ブタなど）へのヒトＩｇ遺伝子の導入のためのベクターとして使用し得る。特定の実施形態では、ヒトＩｇＤＮＡが組み込まれた１つ以上のＨＡＣを使用して、免疫化に応答してヒトＩｇを発現し、親和性成熟（ａｆｆｉｎｉｔｙ　ｍａｔｕｒａｔｉｏｎ）を受けた核移植によって有蹄動物（例えば、ブタ）を生成する。

【０２５２】

種々のアプローチを使用して、ヒト抗体（「ヒトＩｇ」）を発現する有蹄動物を生成し得る。これらのアプローチには、例えば、有蹄動物への重鎖および軽鎖Ｉｇ遺伝子の両方を含むＨＡＣの挿入またはその胎児期もしくは出生後の有蹄動物（例えば、免疫不全または免疫抑制有蹄動物）へのヒトＢ細胞もしくはＢ細胞前駆体の挿入が含まれる（例えば、２０００年１１月１７出願のＷＯ０１／３５７３５号、２００２年3月２０日出願のＵＳ０２／０８６４５号を参照のこと）。いずれかの場合、細胞および有蹄動物抗体生成Ｂ細胞を生成する両ヒト抗体が、有蹄動物中に存在し得る。ＨＡＣを含む有蹄動物では、１つのＢ細胞は、有蹄動物ならびにヒトの重鎖および軽鎖タンパク質の組み合わせを含む抗体を生成し得る。さらに他の実施形態では、ＨＡＣの全サイズは、少なくとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０Ｍｂである。

【０２５３】

例えば、以下などに開示のように、ＨＡＣを提供し得る：米国特許第６，６４２，２０７号、同第６，５９０，０８９、同第６，５６６，０６６、同第６，５２４，７９９、同第６，５００，６４２、同第６，４８５，９１０、同第６，４７５，７５２、同第６，４５８，５６１、同第６，４５５，０２６、同第６，４４８，０４１、同第６，４１０，７２２、同第６，３５８，５２３、同第６，２７７，６２１、同第６，２６５，２１１、同第６，１４６，８２７、同第６，１４３，５６６、同第６，０７７，６９７、同第６，０２５，１５５、同第６，０２０，１４２、および同第５，９７２，６４９号；米国特許出願番号２００３／００３７３４７号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０４／０５０７０４号、ＷＯ０４／０４４１５６号、ＷＯ０４／０３１３８５号、ＷＯ０４／０１６７９１号、ＷＯ０３／１０１３９６号、ＷＯ０３／０９７８１２号、ＷＯ０３／０９３４６９号、ＷＯ０３／０９１４２６号、ＷＯ０３／０５７９２３号、ＷＯ０３／０５７８４９号、ＷＯ０３／０２７６３８号、ＷＯ０３／０２０８９８号、ＷＯ０２／０９２８１２号、およびＷＯ９８／２７２００号。

【０２５４】

本発明で使用されるヒト免疫グロブリン配列を挿入し得るＡＣのさらなる例には、例えば、ＢＡＣ（例えば、ｐＢｅｌｏＢＡＣ１１またはｐＢＡＣ１０８Ｌ（例えば、Ｓｈｉｚｕｙａら（１９９２），Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８９（１８）：８７９４－８７９７；Ｗａｎｇら（１９９７），Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　２３（６）：９９２－９９４を参照のこと）、バクテリオファージＰＡＣ、ＹＡＣ（例えば、Ｂｕｒｋｅ（１９９０），Ｇｅｎｅｔ　Ａｎａｌ　Ｔｅｃｈ　Ａｐｐｌ　７（５）：９４－９９を参照のこと）、およびＭＡＣ（例えば、Ｖｏｓ（１９９７），Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１５（１２）：１２５７－１２５９；Ａｓｃｅｎｚｉｏｎｉら（１９９７），Ｃａｎｃｅｒ　Ｌｅｔｔ　１１８（２）：１３５－１４２）、ＨＡＣなど（米国特許第

６，７４３，９６７号、同第６，７１６，６０８号、同第６，６９２，９５４号、同第６，６７０，１５４号、同第６，６４２，２０７号、同第６，６３８，７２２号、同第６，５７３，０９０号、同第６，４９２，５０６号、同第６，３４８，３５３号、同第６，２８７，８５３号、同第６，２７７，６２１号、同第６，１８３，９５７号、同第６，１５６，９５３号、同第６，１３３，５０３号、同第６，０９０，５８４号、同第６，０７７，６９７号、同第６，０２５，１５５号、同第６，０１５，７０８号、同第５，９８１，１７５号、同第５，８７４，２５９号、同第５，７２１，１１８号、および同第５，２７０，２０１号；欧州特許第１４３７４００号、同第１２３４０２４号、同第１３５６０６２号、同第０９５９１３４号、同第１０５６８７８号、同第０９８６６４８号、同第０６４８２６５号、および同第０３３８２６６；ＰＣＴ公開番号ＷＯ０４／０１３２９９号、ＷＯ０１／０７４７８号、ＷＯ００／０６７１５号、ＷＯ９９／４３８４２号、ＷＯ９９／２７１１８号、ＷＯ９８／５５６３７号、ＷＯ９４／００５６９、およびＷＯ８９／０９２１９も参照のこと）。さらなる例には、例えば、以下に示されたＡＣが含まれる：ＰＣＴ公開番号ＷＯ０２／０７６５０８号、ＷＯ０３／０９３４６９号、ＷＯ０２／０９７０５９号、ＷＯ０２／０９６９２３号；米国特許公開番号ＵＳ２００３／０１１３９１７号およびＵＳ２００３／００３４３５号；および米国特許第６，０２５，１５５号が含まれる。

【０２５５】

本発明の他の実施形態では、ＡＣは、各世代での雄配偶子形成によって伝達された。ＡＣは、組み込まれても組み込まれなくてもよい。１つの実施形態では、ＡＣを、実質的にすべての分裂細胞における減数分裂によって伝達し得る。別の実施形態では、ＡＣは、ヒト免疫グロブリン核酸配列の位置独立性発現（ｐｏｓｉｔｉｏｎ ｉｎｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ）を行うことができる。特定の実施形態では、ＡＣは、雄および雌の配偶子形成による伝達効率は少なくとも１０％であり得る。１つの特定の実施形態では、ＡＣは、環状であり得る。別の特定の実施形態では、非組込みＡＣは、２０００年３月２７日にＢｅｌｇｉａｎ Ｃｏｏｒｄｉｎａｔｅｄ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ（ＢＣＣＭ）にアクセッション番号ＬＭＢＰ ５４７３ＣＢで寄託されたＡＣであり得る。さらなる実施形態では、雄配偶子形成によって伝達された外因性核酸を含む有糸分裂安定性単位を同定し、有糸分裂安定性単位中の侵入部位によって単位へのヒト免疫グロブリン遺伝子が組込み可能になるＡＣの生成方法を提供する。

【０２５６】

他の実施形態では、機能的動原体、選択マーカー、および／または固有のクローニング部位を含むＡＣを提供する。他の実施形態では、ＡＣは、１つ以上の以下の性質を示し得る：非依存性染色体として安定に分離し得ること、免疫グロブリン配列を制御様式で挿入してＡＣから発現し得ること、雄および雌の生殖系列を介して効率よく伝達し得ること、および／またはトランスジェニック動物がその細胞の約３０、４０、５０、６０、７０、８０、または９０％を超える染色体を保有し得ること。

【０２５７】

特定の実施形態では、ＡＣを、ＡＣが有糸分裂安定性を示す線維芽細胞（任意の哺乳動物またはヒト線維芽細胞）から単離し得る。ハムスター細胞へのＡＣの移入後、ｌｏｘ（ｌｏｘＰなど）部位および選択マーカー部位を挿入し得る。他の実施形態では、ＡＣは、有糸分裂安定性を示すことができ、例えば、選択しない場合、有糸分裂あたりの喪失は約５、２、１、０．５、または０．２５％未満である。ＵＳ２００３／００６４５０９号およびＷＯ０１／７７３５７号も参照のこと。

【０２５８】

（外因性免疫グロブリン遺伝子）

本発明の別の局面では、外因性免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを発現するトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンを、内因性有蹄動物染色体内に組み込まれた免疫グロブリン遺伝子座から発現し得る、トランスジェニック有蹄動物を

提供する。１つの実施形態では、トランスジェニック動物由来の有蹄動物細胞を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、子孫に遺伝し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を、雄生殖系列を介して子孫に遺伝し得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【０２５９】

他の実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現するようにさらに遺伝子改変し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を含むブタ動物を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントであり得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、κ鎖遺伝子座またはそのフラグメントおよび／またはλ鎖遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【０２６０】

他の実施形態では、機能的内因性免疫グロブリンのいかなる発現も欠くトランスジェニック有蹄動物を、外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現するようにさらに遺伝子改変し得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を含むブタ動物を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントであり得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、κ鎖遺伝子座もしくはそのフラグメントおよび／またはλ鎖遺伝子座もしくはそのフラグメントであり得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロ

ブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【０２６１】

別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座を含むブタ動物を提供する。１つの実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、重鎖および／または軽鎖免疫グロブリンまたはそのフラグメントであり得る。別の実施形態では、外因性免疫グロブリン遺伝子座は、κ鎖遺伝子座もしくはそのフラグメントおよび／またはλ鎖遺伝子座もしくはそのフラグメントであり得る。なおさらなる実施形態では、人工染色体（ＡＣ）は、外因性免疫グロブリンを含み得る。１つの実施形態では、ＡＣは、酵母ＡＣまたは哺乳動物ＡＣであり得る。さらなる実施形態では、外因性遺伝子座は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントであり得る。１つの実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、ヒト第１４染色体、ヒト第２染色体、およびヒト第２２染色体、またはそれらのフラグメントであり得る。別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリンの任意のフラグメントを含み得る。さらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、再配列を受け得るヒト免疫グロブリン重鎖およびヒト免疫グロブリン軽鎖の任意のフラグメントを含み得る。なおさらなる実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座は、抗原への曝露の際に抗体を生成し得る任意のヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。特定の実施形態では、外因性ヒト免疫グロブリンを、Ｂ細胞中で発現させて、１つ以上の抗原への曝露に応答して外因性免疫グロブリンを生成し得る。

【０２６２】

ヒト免疫グロブリン遺伝子（Ｉｇ重鎖遺伝子（ヒト第４１４染色体）、Ｉｇκ軽鎖遺伝子（ヒト第２染色体）、および／またはＩｇλ鎖遺伝子（ヒト第２２染色体）など）を、上記のようにＡｃｓに挿入し得る。特定の実施形態では、ヒト重鎖、κ、および／またはλＩｇ遺伝子の任意の部分を、ＡＣに挿入し得る。１つの実施形態では、核酸は、ヒト由来の天然に存在する核酸の対応する領域と少なくとも７０、８０、９０、９５、または９９％同一であり得る。他の実施形態では、１つを超えるヒト抗体クラスが有蹄動物によって生成される。種々の実施形態では、１つを超える異なるヒトＩｇまたは抗体が有蹄動物によって生成される。１つの実施形態では、ヒトＩｇ重鎖遺伝子およびＩｇ軽鎖遺伝子の両方を含むＡＣ（自律ヒト人工染色体（「ＡＨＡＣ」、内因性に発現する制限エンドヌクレアーゼによってインビボで線状ヒト染色体に変換される環状組換え核酸分子））を導入し得る。１つの実施形態では、ヒト重鎖遺伝子座および軽鎖遺伝視座は、異なる染色体アーム上（すなわち、異なる動原体側）に存在する。１つの実施形態では、重鎖にはμ重鎖が含まれ、軽鎖はλまたはκ軽鎖であり得る。Ｉｇ遺伝子を、１つまたは１つを超えるＡＣに同時または連続的に導入し得る。

【０２６３】

特定の実施形態では、有蹄動物または有蹄動物細胞は、再配列して１つを超えるヒトＩｇ分子（ヒト抗体タンパク質など）を発現するヒトＩｇ遺伝子の全部または一部をコードする１つ以上の核酸を発現する。したがって、ヒトＩｇ鎖または抗体をコードする核酸は、非再配列状態である（すなわち、核酸は、Ｖ（Ｄ）Ｊ組換えを受けていない）。特定の実施形態では、抗体軽鎖のＶ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントを、１つ以上のヌクレオチドによってＪ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントから単離し得る。特定の実施形態では、抗体重鎖のＶ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントを、１つ以上のヌクレオチドによってＤ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントから単離することができ、そして／または抗体重鎖のＤ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントを、１つ以上のヌクレオチドによってＪ遺伝子セグメントをコードするすべての核酸セグメントから単離し得る。非再配列ヒト

Ｉｇ遺伝子を含むトランスジェニック有蹄動物への抗原の投与後、ヒトＩｇ遺伝子座中で核酸セグメントを再配列し、抗原と反応性を示すヒト抗体を生成する。

【０２６４】

１つの実施形態では、ＡＣは、免疫グロブリン遺伝子を含むヒト染色体の一部またはフラグメントを発現し得る。１つの実施形態では、Ｄａｖｉｅｓら、１９９３ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １１：９１１－９１４などに記載のように、ＡＣは、少なくとも３００または１３００ｋｂのヒト軽鎖遺伝子座を発現し得る。

【０２６５】

別の実施形態では、ＡＣは、少なくともλ軽鎖遺伝子座（V_{λ}遺伝子セグメント、J_{λ}遺伝子セグメント、および１つのC_{λ}遺伝子が含まれる）を含むヒト第２２染色体の一部を発現し得る。別の実施形態では、ＡＣは、少なくとも１つのV_{λ}遺伝子セグメント、少なくとも１つのJ_{λ}遺伝子セグメント、およびC_{λ}遺伝子を発現し得る。他の実施形態では、Ｐｏｐｏｖら、Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．１９９９ Ｍａｙ １７；１８９（１０）：１６１１－２０などに記載のように、ＡＣは、λ遺伝子座の一部を含み得る。

【０２６６】

別の実施形態では、ＡＣは、少なくともκ軽鎖遺伝子座（V_{κ}遺伝子セグメント、J_{κ}遺伝子セグメント、および１つのC_{κ}遺伝子が含まれる）を含むヒト第２染色体の一部を発現し得る。別の実施形態では、ＡＣは、少なくとも１つのV_{κ}遺伝子セグメント、少なくとも１つのJ_{κ}遺伝子セグメント、およびC_{κ}遺伝子を発現し得る。他の実施形態では、κ軽鎖遺伝子座の一部を含むＡＣは、例えば、Ｌｉら、２０００ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １６４：８１２－８２４およびＬｉ Ｓ Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．１９８７ Ｊｕｎ；８４（１２）：４２２９－３３に記載のＡＣであり得る。別の実施形態では、Ｚｏｕら、ＦＡＳＥＢ Ｊ．１９９６ Ａｕｇ；１０（１０）：１２２７－３２などに記載のように、約１．３Ｍｂのヒトκ遺伝子座を含むＡＣを提供する。

【０２６７】

さらなる実施形態では、ＡＣは、少なくともヒト重鎖遺伝子座（V_{H}、D_{H}、J_{H}、およびC_{H}遺伝子セグメントが含まれる）を含むヒト第１４染色体の一部を発現し得る。別の実施形態では、ＡＣは、少なくとも１つのV_{H}遺伝子セグメント、少なくとも１つのD_{H}遺伝子セグメント、少なくとも１つのJ_{H}遺伝子セグメント、および少なくとも１つのC_{H}遺伝子セグメントを発現し得る。他の実施形態では、Ｃｈｏｉら、１９９３ Ｎａｔ Ｇｅｎ ４：１１７－１２３および／またはＺｏｕら、１９９６ ＰＮＡＳ ９６：１４１００－１４１０５などに記載のように、ＡＣは、少なくとも８５ｋｂのヒト重鎖遺伝子座を発現し得る。

【０２６８】

他の実施形態では、例えば、Ｇｒｅｅｎら、１９９４ Ｎａｔ Ｇｅｎ ７：１３－２２；Ｍｅｎｄｅｚら、１９９５ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ２６：２９４－３０７；Ｍｅｎｄｅｚら、１９９７ Ｎａｔ Ｇｅｎ １５：１４６－１５６；Ｇｒｅｅｎら、１９９８ Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １８８：４８３－４９５および／またはＦｉｓｈｗｉｌｄら、１９９６ Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈ １４：８４５－８５１に開示のように、ＡＣは、重鎖および軽鎖の両遺伝子座の一部（少なくとも２２０、１７０、８００、または１０２０ｋｂなど）を発現し得る。別の実施形態では、Ｎｉｃｈｏｌｓｏｎ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９９ Ｄｅｃ １５；１６３（１２）：６８９８－９０６およびＰｏｐｏｖ Ｇｅｎｅ．１９９６ Ｏｃｔ ２４；１７７（１－２）：１９５－２０１などに記載のように、ＡＣは、メガベース量のヒト免疫グロブリンを発現し得る。さらに、特定の実施形態では、Ｒｏｂｌらの米国特許公開番号２００４／００６８７６０号などに記載のように、ヒト第１４染色体（Ｉｇ重鎖遺伝子を含む）、ヒト第２染色体（Ｉｇκ鎖遺伝子を含む）、およびヒト第２２染色体（Ｉｇλ鎖遺伝子）由来のＭＡＣを、同時または連続的に導入し得る。別の実施形態では、ＭＡＣの全サイズは、約１０、９、８、７メガベース以下である。

【０２６９】

特定の実施形態では、例えば、Ｂａｂｒａｈａｍ Ｉｎｓｔｔｉｔｕｔｅの米国特許第

５，５４５，８０７号に記載のように、Ｖｈ、Ｄｈ、Ｊｈ、およびμＤＮＡセグメントがヒトＤＮＡセグメントに対応する部分を含む免疫グロブリンのレパートリーを形成するように、生殖系列立体配置におけるヒト免疫グロブリンのヒトＶｈ、ヒトＤｈ、ヒトＪｈセグメントおよびヒトμセグメントを、ＡＣ（ＹＡＣなど）に挿入し得る。有蹄動物細胞への挿入および有蹄動物の生成後、このようなＡＣは、重鎖免疫グロブリンを生成し得る。１つの実施形態では、これらの免疫グロブリンは、機能的重鎖－軽鎖免疫グロブリンを形成し得る。別の実施形態では、これらの免疫グロブリンを、有蹄動物の適切な細胞または体液からの回収が可能な量で発現し得る。このような免疫グロブリンを、Ｂｕｒｋｅ，ＤＴ，Ｃａｒｌｅ，Ｇ Ｆ ａｎｄ Ｏｌｓｏｎ，Ｍ Ｖ（１９８７）”Ｃｌｏｎｉｎｇ ｏｆ ｌａｒｇｅ ｓｅｇｍｅｎｔｓ ｏｆ ｅｘｏｇｅｎｏｕｓ ＤＮＡ ｉｎｔｏ ｙｅａｓｔ ｂｙ ｍｅａｎｓ ｏｆ ａｒｔｉｆｉｃａｌ ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅ ｖｅｃｔｏｒｓ” Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３６，８０６－８１２などに記載のように、酵母人工染色体ベクターに挿入するか、または染色体フラグメントの導入（Ｒｉｃｈｅｒ，Ｊａｎｄ Ｌｏ，Ｃ Ｗ（１９８９）”Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ ＤＮＡ ｉｎｔｏ ｍｏｕｓｅ ｅｇｇｓ ｂｙ ｉｎｊｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ｄｉｓｓｅｃｔｅｄ ｈｕｍａｎ ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅ ｆｒａｇｍｅｎｔｓ” Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４５，１７５－１７７などに記載）を行うことができる。

【０２７０】

ヒト免疫グロブリン遺伝子を含む特異的ＡＣに関するさらなる情報を、例えば、Ｇｉｒａｌｄｏ ＆ Ｍｏｎｔｏｌｉｕ（２００１）Ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ Ｒｅｓｅａｒｃｈ １０：８３－１０３およびＰｅｔｅｒｓｏｎ（２００３）Ｅｘｐｅｒｔ Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ５：１－２５による最近の概説に見出すことができる。

【０２７１】

（ＡＣ移入法）

ヒト免疫グロブリン遺伝子を、最初にＡＣに挿入し、次いで、ヒト免疫グロブリン含有ＡＣを有蹄動物細胞に挿入し得る。あるいは、ＡＣを、有蹄動物細胞への挿入前に中間（ｉｎｔｅｒｍｅｄｉａｒｙ）哺乳動物細胞（ＣＨＯ細胞など）に移入し得る。１つの実施形態では、中間哺乳動物細胞はＡＣも含み、第１のＡＣを、哺乳動物細胞のＡＣに挿入し得る。特に、酵母細胞中にヒト免疫グロブリン遺伝子またはそのフラグメントを含むＹＡＣを、ＭＡＣを保有する哺乳動物細胞に移入し得る。ＹＡＣを、ＭＡＣに挿入し得る。次いで、ＭＡＣを、有蹄動物細胞に移入し得る。ヒトＩｇ遺伝子を、相同組換えによって、ＡＣに挿入し得る。次いで、得られたヒトＩｇ遺伝子を含むＡＣを、有蹄動物細胞に導入し得る。ヒトＩｇを含むＡＣを含む１つ以上の有蹄動物細胞を、本明細書中に記載されている技術または当該分野で公知の技術によって選択し得る。

【０２７２】

ＡＣの導入に適切な宿主を、本明細書中に提供し、任意の動物もしくは植物またはその細胞もしく組織（哺乳動物、トリ、爬虫類、両生類、昆虫、魚類、クモ形類、タバコ、トマト、コムギ、単子葉植物、双子葉植物、および藻類）が含まれるが、これらに限定されない。１つの実施形態では、ＡＣを、細胞への導入前に、当該分野で公知の任意の試薬（スペルミン、スペルミジン、ポリエチレンイミン、および／またはポリリジンが含まれるが、これらに限定されない）によって凝縮し得る（Ｍａｒｓｃｈａｌｌら、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１９９９ Ｓｅｐ；６（９）：１６３４－７）。ＡＣを、細胞融合または微小核融合によって導入するか、当業者に公知の任意の方法（直接ＤＮＡ移入、エレクトロポレーション、核移植、微小核融合、細胞融合、スフェロプラスト融合、脂質媒介移入、リポフェクション、リポソーム、微粒子銃、微量注入、リン酸カルシウム沈殿、および／または任意の他の適切な方法が含まれるが、これらに限定されない）によってその後に単離し得る。細胞へのＤＮＡの他の導入方法には、微量注入、エレクトロポレーション、インタクトな細胞を使用した細菌プロトプラスト融合が含まれる。ポリカチオン（ポリブレンおよびポリオルニチンなど）を使用することもできる。哺乳動物細胞の種々の形質転換技術

については、例えば、Ｋｅｏｗｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ（１９９０）Ｖｏｌ．１８５，５２７－５３７頁；およびＭａｎｓｏｕｒら（１９８８）Ｎａｔｕｒｅ ３３６：３４８－３５２を参照のこと。

【０２７３】

直接ＤＮＡ形質転換、細胞または胚における微量注入、植物のためのプロトプラスト再生、エレクトロポレーション、微粒子銃、および当業者に公知の他のこのような方法によってＡＣを導入し得る（例えば、Ｗｅｉｓｓｂａｃｈら（１９８８）Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ Ｐｌａｎｔ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．，Ｓｅｃｔｉｏｎ ＩＩＩ，４２１－４６３頁；Ｇｒｉｅｒｓｏｎら（１９８８）Ｐｌａｎｔ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２ｄ Ｅｄ．，Ｂｌａｃｋｉｅ，Ｌｏｎｄｏｎ，Ｃｈ．７－９を参照のこと；米国特許第５，４９１，０７５号；同第５，４８２，９２８号；および同第５，４２４，４０９号も参照のこと；例えば、米国特許第５，４７０，７０８号も参照のこと）。

【０２７４】

特定の実施形態では、ヒトＩｇ遺伝子を保有する１つ以上の単離ＹＡＣを使用し得る。単離ＹＡＣを、当該分野で公知の任意の試薬（スペルミン、スペルミジン、ポリエチレンイミン、および／またはポリリジンが含まれるが、これらに限定されない）によって凝縮し得る（Ｍａｒｓｃｈａｌｌら、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．１９９９ Ｓｅｐ；６（９）：ｊｌ６３４－７）。次いで、凝縮ＹＡＣを、当該分野で公知の任意の方法（例えば、微量注入、エレクトロポレーション、脂質媒介トランスフェクションなど）によってブタ細胞に移入し得る。あるいは、凝縮ＹＡＣを、精子媒介遺伝子移入または卵細胞質内精子注入法（ＩＣＳＩ）媒介遺伝子移入によって卵母細胞に移入し得る。１つの実施形態では、スフェロプラスト融合を使用して、ヒトＩｇ遺伝子を保有するＹＡＣをブタ細胞に移入し得る。

【０２７５】

本発明の他の実施形態では、ヒトＩｇを含むＡＣを、成体、胎児、または胚有蹄動物細胞に挿入し得る。有蹄動物細胞のさらなる例には、未分化細胞（胚細胞（例えば、胚性幹細胞）など）、分化細胞または体細胞（上皮細胞、神経細胞、上皮細胞、ケラチノサイト、造血細胞、メラノサイト、軟骨細胞、Ｂリンパ球、Ｔリンパ球、赤血球、マクロファージ、単球、線維芽細胞、筋細胞など）、女性生殖器形細胞（乳腺、卵丘、顆粒膜、または卵管細胞、生殖細胞、胎盤細胞など）、または任意の器官由来の細胞（膀胱、脳、食道、卵管、心臓、腸、胆嚢、腎臓、肝臓、肺、卵巣、膵臓、前立腺、脊髄、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、尿管、尿道、および子宮など）および本明細書中に記載の任意の他の細胞型が含まれる。

【０２７６】

（部位特異的リコンビナーゼ媒介移入）

本発明の特定の実施形態では、部位特異的リコンビナーゼ媒介移入によって、ブタ細胞（本明細書中に記載されているか当該分野で公知の細胞）へのヒト免疫グロブリン遺伝子を含むＡＣの移入を行うことができる。１つの特定の実施形態では、ＡＣを、ブタ線維芽細胞に移入し得る。別の特定の実施形態では、ＡＣは、ＹＡＣであり得る。

【０２７７】

本発明の他の実施形態では、部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含む環状化ＤＮＡ（ＡＣなど）を、そのゲノム内に部位特異的リコンビナーゼ標的部位を有する細胞株に移入し得る。１つの実施形態では、細胞の部位特異的リコンビナーゼ標的部位を、外因性染色体内に配置し得る。外因性染色体は、宿主の内因性ゲノムに組み込まれない人工染色体であり得る。１つの実施形態では、ＡＣを、生殖系列伝達を介して子孫に移入し得る。１つの特定の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子またはそのフラグメントを含むＹＡＣを、部位特異的リコンビナーゼによって環状化し、次いで、ＭＡＣを含む宿主細胞に移入することができ、ここで、ＭＡＣは、部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含む。この時点でヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含むこのＭＡＣを、ブタ細胞

（線維芽細胞などであるが、これに限定されない）と融合し得る。次いで、ブタ細胞を、核移植のために使用し得る。

【０２７８】

本発明の一定の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子またはそのフラグメントを含むＡＣを、有蹄動物細胞への移入前に、哺乳動物細胞（ＣＨＯ細胞など）に移入し得る。１つの実施形態では、中間哺乳動物細胞はＡＣも含み、第１のＡＣを、哺乳動物細胞のＡＣに挿入し得る。特に、酵母細胞中にヒト免疫グロブリン遺伝子またはそのフラグメントを含むＹＡＣを、ＭＡＣを保有する哺乳動物細胞に移入し得る。ＹＡＣを、ＭＡＣに挿入し得る。次いで、ＭＡＣを、有蹄動物細胞に移入し得る。特定の実施形態では、ヒトＩｇ遺伝子またはそのフラグメントを保有するＹＡＣは、部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含み得る。ＹＡＣを、最初に、適切な部位特異的リコンビナーゼの適用によって環状化し、次いで、それ自体の部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含む哺乳動物細胞に挿入し得る。次いで、部位特異的リコンビナーゼを適用して、中間哺乳動物細胞中でＭＡＣにＹＡＣを組み込むことができる。部位特異的リコンビナーゼを、シスまたはトランスで適用し得る。特に、部位特異的リコンビナーゼを、トランスで適用し得る。１つの実施形態では、部位特異的リコンビナーゼを、部位特異的リコンビナーゼ発現プラスミド（Ｃｒｅ発現プラスミドなど）のトランスフェクションによって発現し得る。さらに、ＹＡＣのテロメア領域を、選択マーカー（本明細書中に記載されているか当該分野で公知の選択マーカーなど）で改良することもできる。次いで、中間哺乳動物細胞のＭＡＣ内のヒトＩｇ遺伝子またはそのフラグメントを、有蹄動物細胞（線維芽細胞など）に移入し得る。

【０２７９】

あるいは、ヒトＩｇ遺伝子またはそのフラグメントを保有するＡＣ（ＹＡＣなど）は、各テロメア付近に任意選択的に存在する部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含み得る。ＹＡＣを、最初に、適切な部位特異的リコンビナーゼの適用によって環状化し、次いで、ゲノム内にそれ自体の部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含む有蹄動物細胞に直接挿入し得る。あるいは、有蹄動物細胞は、部位特異的リコンビナーゼ標的部位を含むそれ自体のＭＡＣを保有し得る。この実施形態では、ＹＡＣを、有蹄動物細胞の内因性ゲノムに直接挿入し得る。特定の実施形態では、有蹄動物細胞は、線維芽細胞または核移植に使用し得る任意の他の適切な細胞であり得る。例えば、図７、Ｃａｌｌら、Ｈｕｍ　Ｍｏｌ　Ｇｅｎｅｔ．２０００　Ｊｕｌ　２２；９（１２）：１７４５－５１を参照のこと。

【０２８０】

他の実施形態では、部位特異的リコンビナーゼによってＤＮＡを宿主細胞に組み込むことができる、少なくとも１００ｋｂのＤＮＡを環状化する方法を提供する。１つの実施形態では、少なくとも１００、２００、３００、４００、５００、１０００、２０００、５０００、１０，０００ｋｂのＤＮＡを環状化し得る。別の実施形態では、少なくとも１０００、２０００、５０００、１０，０００、または２０，０００メガベースのＤＮＡを環状化し得る。１つの実施形態では、ＤＮＡ配列の各末端に部位特異的リコンビナーゼ標的部位を結合させ、その後に、部位特異的リコンビナーゼを適用してＤＮＡを環状化することによって、ＤＮＡの環状化を行うことができる。１つの実施形態では、部位特異的リコンビナーゼ標的部位は、ｌｏｘであり得る。別の実施形態では、部位特異的リコンビナーゼ標的部位は、Ｆｌｔであり得る。一定の実施形態では、ＤＮＡは、人工染色体（本明細書中に記載されているか当該分野で公知のＹＡＣまたは任意のＡＣなど）であり得る。別の実施形態では、ＡＣは、ヒト免疫グロブリン遺伝子座またはそのフラグメントを含み得る。

【０２８１】

別の好ましい実施形態では、ＹＡＣを、人工哺乳動物染色体に変換するか、組み込むことができる。哺乳動物人工染色体を、ブタ細胞に移入するか、ブタ細胞内に保有させる。人工染色体を、当該分野で公知の任意の方法（分裂中期染色体の直接注入、脂質媒介遺伝子移入、または微小核融合が含まれるが、これらに限定されない）によってブタゲノム内に導入し得る。

【０２８２】
部位特異的リコンビナーゼには、短い核酸部位または配列特異的リコンビナーゼ標的部位（すなわち、リコンビナーゼ認識部位）を認識して結合し、これらの部位に関連する核酸の組換えを触媒する酵素またはリコンビナーゼが含まれる。これらの酵素には、リコンビナーゼ、トランスポサーゼ、およびインテグラーゼが含まれる。配列特異的リコンビナーゼ標的部位の例には、ｌｏｘ部位、ａｔｔ部位、ｄｉｆ部位、およびｆｒｔ部位が含まれるが、これらに限定されない。部位特異的リコンビナーゼの限定しない例には、バクテリオファージＰ１Ｃｒｅ リコンビナーゼ、酵母ＦＬＰリコンビナーゼ、Ｉｎｔｉインテグラーゼ、バクテリオファージλ、φ８０、Ｐ２２、Ｐ２、１８６、およびＰ４リコンビナーゼ、Ｔｎ３リゾルベース、Ｈｉｎリコンビナーゼ、およびＣｉｎリコンビナーゼ、大腸菌ｘｅｒＣおよびｘｅｒＤリコンビナーゼ、バチルス・チューリンゲンシスリコンビナーゼ、ＴｐｎＩおよびβラクタマーゼトランスポゾン、および免疫グロブリンリコンビナーゼが含まれるが、これらに限定されない。

【０２８３】
１つの実施形態では、組換え部位は、バクテリオファージＰ１のＣｒｅリコンビナーゼによって認識されるｌｏｘ部位であり得る。ｌｏｘ部位は、バクテリオファージＰ１のｃｒｅ遺伝子産物（Ｃｒｅリコンビナーゼ）が部位特異的組換え事象を触媒し得るヌクレオチド配列をいう。種々のｌｏｘ部位が当該分野で公知であり、天然に存在するｌｏｘＰ、ｌｏｘＢ、ｌｏｘＬおよびｌｏｘＲ、ならびに多数の変異体または変異形、ｌｏｘ部位（ｌｏｘＰ５１１、ｌｏｘＰ５１４、ｌｏｘ．ＤＥＬＴＡ．８６、ｌｏｘ．ＤＥＬＴＡ．１１７、ｌｏｘＣ２、ｌｏｘＰ２、ｌｏｘＰ３、およびｌｏｘＰ２３など）が含まれる。ｌｏｘ部位のさらなる例には、ｌｏｘＢ、ｌｏｘＬ、ｌｏｘＲ、ｌｏｘＰ、ｌｏｘＰ３、ｌｏｘＰ２３、ｌｏｘΔ８６、ｌｏｘΔ１１７、ｌｏｘＰ５１１、およびｌｏｘＣ２が含まれるが、これらに限定されない。

【０２８４】
別の実施形態では、組換え部位は、Ｃｒｅ以外のリコンビナーゼによって認識される組換え部位である。１つの実施形態では、リコンビナーゼ部位は、酵母の２πプラスミドのＦＬＰリコンビナーゼによって認識されるＦＲＴ部位であり得る。ＦＲＴ部位は、酵母２ミクロンプラスミドのＦＬＰ遺伝子産物（ＦＬＰリコンビナーゼ）が部位特異的組換えを触媒し得るヌクレオチド配列をいう。非Ｃｒｅリコンビナーゼのさらなる例には、以下が含まれるが、これらに限定されない：部位特異的リコンビナーゼには以下が含まれる：λバクテリオファージのＩｎｔリコンビナーゼによって認識されるａｔｔ部位（例えば、ａｔｔ１、ａｔｔ２、ａｔｔ３、ａｔｔＰ、ａｔｔＢ、ａｔｔＬ、およびａｔｔＲ）、レソルバーゼファミリーによって認識される組換え部位、バチルス・チューリンゲンシスのトランスポサーゼによって認識される組換え部位。

【０２８５】
（ＩＶ．遺伝子改変動物の生成）
本発明のさらなる局面では、本明細書中に記載の遺伝子改変を含む有蹄動物を、当業者に公知の任意の方法によって生成し得る。このような方法には、以下が含まれるが、これらに限定されない：核移植、卵細胞質内精子注入法、接合体の直接改変、および精子媒介遺伝子移入。

【０２８６】
別の実施形態では、このような動物（例えば、ブタ）のクローン化方法には、以下が含まれる：卵母細胞の除核、少なくとも１つの免疫グロブリン細胞の少なくとも１つの対立遺伝子が不活化された細胞由来のドナー核との卵母細胞の融合、および代理母への核移植由来の胚の移植。

【０２８７】
あるいは、胚性幹細胞中の免疫グロブリン遺伝子の両方の対立遺伝子の不活化による、機能的免疫グロブリンのいかなる発現も欠く生きた動物の生成方法を提供し、その後、この動物を使用して子孫を生成し得る。

【０２８８】
別の局面では、本発明は、免疫グロブリン遺伝子の両方の対立遺伝子が不活化された生きた動物（ブタなど）の生成方法を提供する。１つの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子の両方の対立遺伝子が不活化された細胞由来のドナー核を使用したクローニングによって動物を生成する。１つの実施形態では、遺伝子ターゲッティング事象によって免疫グロブリン遺伝子の両方の対立遺伝子を不活化する。
【０２８９】
接合体の直接改変によって作製し得る遺伝子が変化した動物。哺乳動物について、改変接合体を、動物を妊娠し得る偽妊娠雌の子宮に導入し得る。例えば、免疫グロブリン遺伝子を欠く全動物が望ましい場合、この動物由来の胚性幹細胞をターゲッティングし、その後に、改変細胞をキメラ動物に成長させるために線維芽細胞に導入し得る。胚性幹細胞について、胚性幹細胞株または新たに得た幹細胞のいずれかを使用し得る。
【０２９０】
本発明の適切な実施形態では、全能性細胞は、胚性幹（ＥＳ）細胞である。線維芽細胞からのＥＳ細胞の単離、ＥＳ細胞株の確立、およびその後の培養を、例えば、以下に記載の従来の方法によって行う：Ｄｏｅｔｃｈｍａｎｎら、Ｊ．Ｅｍｂｒｙｏｌ．Ｅｘｐ．Ｍｏｒｐｈ．８７：２７－４５（１９８５）；Ｌｉら、Ｃｅｌｌ ６９：９１５－９２６（１９９２）；Ｒｏｂｅｒｔｓｏｎ，Ｅ．Ｊ．「Ｔｅｔｒａｃａｒｃｉｎｏｍａｓ ａｎｄ Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ」Ｅ．Ｊ．Ｒｏｂｅｒｔｓｏｎ編，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，Ｏｘｆｏｒｄ，Ｅｎｇｌａｎｄ（１９８７）；Ｗｕｒｓｔ ａｎｄ Ｊｏｙｎｅｒ，「Ｇｅｎｅ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ」Ａ．Ｌ．Ｊｏｙｎｅｒ編，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，Ｏｘｆｏｒｄ，Ｅｎｇｌａｎｄ（１９９３）；Ｈｏｇｅｎら、「Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」Ｈｏｇａｎ，Ｂｅｄｄｉｎｇｔｏｎ，ＣｏｓｔａｎｔｉｎｉおよびＬａｃｙ編，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９４）；およびＷａｎｇら、Ｎａｔｕｒｅ ３３６：７４１－７４４（１９９２）。本発明の別の適切な実施形態では、全能性細胞は、胚性生殖（ＥＧ）細胞である。胚性生殖細胞は、ＥＳ細胞と機能的に等価な未分化の細胞であり、これらを、培養してインビトロでトランスフェクトし、キメラの体細胞系列および生殖細胞系列に寄与し得る（Ｓｔｅｗａｒｔら、Ｄｅｖ．Ｂｉｏｌ．１６１：６２６－６２８（１９９４））。ＥＧ細胞は、始原生殖細胞（配偶子の前駆体）の成長因子（白血病抑制因子、スチール因子（ｓｔｅｅｌｆａｔｏｒ）、および塩基性線維芽細胞成長因子）と組み合わせた培養によって誘導する（Ｍａｔｓｕｉら、Ｃｅｌｌ ７０：８４１－８４７（１９９２）；Ｒｅｓｎｉｃｋら、Ｎａｔｕｒｅ ３５９：５５０－５５１（１９９２））。Ｄｏｎｏｖａｎら「Ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ Ａｎｉｍａｌｓ，Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｕｓｅ」Ｌ．Ｍ．Ｈｏｕｄｅｂｉｎｅ編，Ｈａｒｗｏｏｄ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ（１９９７）の文献および本明細書中に引用した元の文献に記載の方法を使用して、ＥＧ細胞の培養を行うことができる。
【０２９１】
例えば、Ｊａｍｅｓら、Ｇｅｎｅｔ．Ｒｅｓ．Ｃａｍｂ．６０：１８５－１９４（１９９２）；ＮａｇｙおよびＲｏｓｓａｎｔ，「Ｇｅｎｅ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ」Ａ．Ｌ．Ｊｏｙｎｅｒ編，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，Ｏｘｆｏｒｄ，Ｅｎｇｌａｎｄ（１９９３）；またはＫｕｂｉａｋおよびＴａｒｋｏｗｓｋｉ，Ｅｘｐ．Ｃｅｌｌ Ｒｅｓ．１５７：５６１－５６６（１９８５）に記載のように、天然の接合体生成および成長または２細胞胚の電気融合による公知の方法によって本発明で使用される四倍体線維芽細胞を得て、その後に培養し得る。
【０２９２】
線維芽細胞へのＥＳ細胞の導入を、当該分野で公知の任意の方法によって行うことができる。本発明の目的に適切な方法は、Ｗａｎｇら、ＥＭＢＯ Ｊ．１０：２４３７－２４

５０（１９９１）に記載の微量注入法である。
【０２９３】
あるいは、改変胚性幹細胞トランスジェニック動物を生成し得る。遺伝子改変された胚性幹細胞を、従来の技術にしたがって線維芽細胞に注入し、雌宿主哺乳動物を妊娠させた。次いで、ヘテロ接合性子孫を、ＰＣＲまたはサザンブロッティングなどの技術を使用して、標的遺伝子座部位の変化の存在についてスクリーニングし得る。同種の野生型宿主との交配後、得られたキメラ子孫を交差交配（ｃｒｏｓｓ－ｍａｔｅｄ）させて、ホモ接合性宿主を得ることができる。
【０２９４】
免疫グロブリン遺伝子を変化させるためのターゲッティングベクターでの胚性幹細胞の形質転換後、細胞を、適切な培地（例えば、ウシ胎児血清増強ＤＭＥＭ）中の支持層にプレートし得る。構築物を含む細胞を、選択培地の使用によって検出し、コロニーを十分な時間成長させた後、コロニーを選別し、相同組換えの発生について分析し得る。構築物配列を持つか持たないが、標的遺伝子座を対象とするプライマーを使用したポリメラーゼ連鎖反応を使用し得る。次いで、相同組換えを示すコロニーを、胚の改変および胚盤胞注入に使用し得る。胚盤胞を、過剰排卵雌から得ることができる。次いで、胚性幹細胞をトリプシン処理し、胚盤胞を含む液滴に改変細胞を添加し得る。少なくとも１つの改変胚性幹細胞を、胚盤胞の胚盤腔に注入し得る。注入後、少なくとも１つの胚盤胞を、擬妊娠雌の各子宮角に戻すことができる。次いで、雌を認識させ、得られた同腹子を、構築物を有する変異細胞についてスクリーニングする。胚盤胞を、形質転換したＥＳ細胞と異なる起源のために選択する。胚盤胞およびＥＳ細胞の異なる表現型を得ることによって、キメラ子孫を容易に検出し、改変免疫グロブリン遺伝子の存在を探索するために遺伝子型同定を行うことができる。
【０２９５】
他の実施形態では、精子媒介遺伝子移入を使用して、本明細書中に記載の遺伝子改変された有蹄動物を生成し得る。内因性免疫グロブリン遺伝子の発現を排除するか、外因性免疫グロブリン遺伝子を挿入するための本明細書中に記載の方法および組成物を使用して、本明細書中に記載されているか当該分野で公知の任意の技術によって精子細胞を遺伝子改変し得る。次いで、遺伝子改変された精子を使用して、人工受精、細胞質内精子注入法、または他の公知の技術によって雌レシピエントを妊娠させることができる。１つの実施形態では、精子および／または精子の頭部を、外因性核酸と十分な時間インキュベートし得る。十分な時間には、約３０秒間～約５分間、典型的には約４５秒間～約３分間、より典型的には約１分間～約２分間が含まれる。特定の実施形態では、本明細書中に記載の有蹄動物中での外因性（例えば、ヒト）免疫グロブリン遺伝子の発現を、細胞質内精子注入法によって行うことができる。
【０２９６】
遺伝子移入のためのベクターとしての精子細胞の潜在的用途は、Ｂｒａｃｋｅｔｔら、Ｐｒｏｃ，Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ６８：３５３－３５７（１９７１）によって最初に示唆されていた。これに続いて、裸のＤＮＡによってインキュベートされた精子での卵母細胞のインビトロでの受精後のトランスジェニックマウスおよびブタの生成が報告されたが（例えば、Ｌａｖｉｔｒａｎｏら、Ｃｅｌｌ ５７：７１７－７２３（１９８９）およびＧａｎｄｏｌｆｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｒｅｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｆｅｒｔｉｌｉｔｙ Ａｂｓｔｒａｃｔ Ｓｅｒｉｅｓ ４，１０（１９８９）を参照のこと）、他の研究者はこれらの実験を繰り返すことができなかった（例えば、Ｂｒｉｎｓｔｅｒら、Ｃｅｌｌ ５９：２３９－２４１（１９８９）およびＧａｖｏｒａら、Ｃａｎａｄｉａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｎｉｍａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ ７１：２８７－２９１（１９９１）を参照のこと）。それ以来、ニワトリ（例えば、ＮａｋａｎｉｓｈｉおよびＩｒｉｔａｎｉ，Ｍｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｄｅｖ．３６：２５８－２６１（１９９３）を参照のこと）；マウス（例えば、Ｍａｉｏｎｅ，Ｍｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｄｅｖ．５９：４０６（１９９８）を参照のこと）；およびブタ（例えば、Ｌａｖｉｔｒ

ａｎｏら、Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ．Ｐｒｏｃ．２９：３５０８－３５０９（１９９７）；Ｌａｖｉｔｒａｎｏら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９９：１４２３０－５（２００２）；Ｌａｖｉｔｒａｎｏら、Ｍｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｄｅｖ．６４－２８４－９１（２００３）を参照のこと）における首尾のよい精子媒介遺伝子移入がいくつか報告されている。類似の技術は、以下にも記載されている：２００２年４月２３日に付与された米国特許第６，３７６，７４３号；２００１年１１月２２日に公開された米国特許公開番号２００１００４４９３７号および２００２年８月８日に公開された同第２００２０１０８１３２号。

【０２９７】

他の実施形態では、細胞質内精子注入法を使用して、本明細書中に記載の遺伝子改変有蹄動物を生成し得る。不受精卵母細胞の細胞質への外因性核酸および精子の同時挿入によってこれを行って、トランスジェニック受精卵母細胞を形成し、トランスジェニック受精卵母細胞をトランスジェニック胚、必要に応じて、生きた子孫に成長させることができる。精子は、膜破壊精子頭部または脱膜（ｄｅｍｅｎｂｒａｎａｔｅｄ）精子頭部であり得る。同時挿入工程は、精子の外因性核酸との十分な時間（例えば、約３０秒間～約５分間、典型的には、約４５秒間～約３分間、より典型的には約１分間～約２分間）のプレインキュベーションサブ工程を含み得る。精子および外因性核酸の卵母細胞への同時挿入を、微量注入によって行うことができる。精子と混合される外因性核酸は、本明細書中に記載の１つを超える導入遺伝子にトランスジェニックな胚を生成するための１つを超える導入遺伝子を含み得る。当該分野で公知の任意の技術によって細胞質内精子注入法を行うことができる（例えば、米国特許第６，３７６，７４３号を参照のこと）。特定の実施形態では、本明細書中に記載の有蹄動物中での外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子の発現を、細胞質内精子注入法によって行うことができる。

【０２９８】

当該分野で公知の任意のさらなる技術を使用して、動物に導入遺伝子を導入し得る。このような技術には、以下が含まれるが、これらに限定されない：前核微量注入（例えば、Ｈｏｐｐｅ，Ｐ．Ｃ．ａｎｄ　Ｗａｇｎｅｒ，Ｔ．Ｅ．，１９８９，米国特許第４，８７３，１９１号を参照のこと）；生殖系列へのレトロウイルス媒介遺伝子移入（例えば、Ｖａｎ　ｄｅｒ　Ｐｕｔｔｅｎら、１９８５，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ　８２：６１４８－６１５２を参照のこと）；胚性幹細胞における遺伝子ターゲッティング（例えば、Ｔｈｏｍｐｓｏｎら、１９８９，Ｃｅｌｌ　５６：３１３－３２１；Ｗｈｅｅｌｅｒ，Ｍ．Ｂ．，１９９４，ＷＯ９４／２６８８４を参照のこと）；胚のエレクトロポレーション（例えば、Ｌｏ，１９８３，Ｍｏｌ　Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．３：１８０３－１８１４を参照のこと）；細胞銃；トランスフェクション；形質導入；レトロウイルス感染；アデノウイルス感染；アデノ随伴ウイルス感染；リポソーム媒介遺伝子移入；裸のＤＮＡの移入；および精子媒介遺伝子移入（例えば、Ｌａｖｉｔｒａｎｏら、１９８９，Ｃｅｌｌ　５７：７１７－７２３を参照のこと）など。このような技術の概説については、例えば、Ｇｏｒｄｏｎ，１９８９，Ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ　Ａｎｉｍａｌｓ，Ｉｎｔｌ．Ｒｅｖ．Ｃｙｔｏｌ．１１５：１７１－２２９を参照のこと。特定の実施形態では、本明細書中に記載の有蹄動物外因性（ヒトなど）免疫グロブリン遺伝子の発現を、これらの技術によって行うことができる。

【０２９９】

（クローン化トランスジェニック子孫を生成するための体細胞核移植）

本発明のさらなる局面では、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の１つの対立遺伝子、任意選択的に両方の対立遺伝子を欠く有蹄動物（ブタまたはウシなど）の細胞を、レシピエント細胞への核移植のドナー細胞として使用して、クローン化されたトランスジェニック動物を生成し得る。あるいは、有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子ノックアウトを胚性幹細胞中で作製し、次いで、これを使用して子孫を生成し得る。本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した機能的な有蹄動物の重鎖、κ軽鎖、および／またはλ軽鎖の遺伝子の１つの

対立遺伝子を欠く子孫を交配して、メンデル型遺伝によって両対立遺伝子の機能性を欠く子孫をさらに生成し得る。

【０３００】

別の実施形態では、本発明は、α－１，３－ＧＴ遺伝子についてヘテロ接合性の雄ブタとα－１，３－ＧＴ遺伝子についてヘテロ接合性の雌ブタとの交配による、機能的なα－１，３－ＧＴ遺伝子のいかなる発現も欠く生きたブタの生成方法を提供する。１つの実施形態では、α－１，３－ＧＴ遺伝子の１つの対立遺伝子をこの対立遺伝子の発現を妨害するように遺伝子改変されているので、ブタはヘテロ接合性である。別の実施形態では、α－１，３－ＧＴ遺伝子の１つの対立遺伝子に点変異が存在するので、ブタはヘテロ接合性である。別の実施形態では、点変異は、α－１，３－ＧＴ遺伝子のエクソン９の第２の塩基でのＴ→Ｇ点変異であり得る。１つの特定の実施形態では、α－１，３－ＧＴ遺伝子のエクソン９の第２の塩基でのＴ→Ｇ点変異を含む雄ブタを、α－１，３－ＧＴ遺伝子のエクソン９の第２の塩基でのＴ→Ｇ点変異を含む雌ブタと交配させる、機能的なα－１，３－ＧＴのいかなる発現も欠くブタ動物の生成方法を提供する。

【０３０１】

本発明は、体細胞核移植による機能的な免疫グロブリン遺伝子を欠く動物（ブタなど）のクローニング方法を提供する。一般に、以下の工程：ドナー核供給源として使用すべき所望の分化細胞を得る工程と、動物から卵母細胞を得る工程と、卵母細胞を除核する工程と、例えば、融合または注入によって所望の分化細胞または細胞核を除核卵母細胞に移入してＮＴ単位を形成する工程と、得られたＮＴ単位を活性化する工程と、培養したＮＴ単位を宿主動物に移入して、ＮＴ単位を胎児に成長させる工程とを含む核移植プロセスによって動物を生成し得る。

【０３０２】

核移植技術または核移植（ｎｕｃｌｅａｒ　ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ）技術は、当該分野で公知である（Ｄａｉら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２０：２５１－２５５；Ｐｏｌｅｊａｅｖａら、Ｎａｔｕｒｅ　４０７：８６－９０（２０００）；Ｃａｍｐｂｅｌｌら、Ｔｈｅｒｉｏｇｅｎｏｌｏｇｙ，４３：１８１（１９９５）；Ｃｏｌｌａｓら、Ｍｏｌ．Ｒｅｐｏｒｔ　Ｄｅｖ．，３８：２６４－２６７（１９９４）；Ｋｅｅｆｅｒら、Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．，５０：９３５－９３９（１９９４）；Ｓｉｍｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，ＵＳＡ，９０：６１４３－６１４７（１９９３）；ＷＯ９４／２６８８４；ＷＯ９４／２４２７４，およびＷＯ９０／０３４３２，米国特許第４，９４４，３８４号、および同第５，０５７，４２０号）。

【０３０３】

免疫グロブリン遺伝子を変化させるように改変したドナー細胞核を、レシピエント卵母細胞に移入する。この方法の使用は、特定のドナー細胞型に制限されない。ドナー細胞は、本明細書中に記載のとおりであり得る（例えば、Ｗｉｌｍｕｔら、Ｎａｔｕｒｅ　３８５　８１０（１９９７）；Ｃａｍｐｂｅｌｌら、Ｎａｔｕｒｅ　３８０　６４－６６（１９９６）；Ｄａｉら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２０：２５１－２５５，２００２、またはＣｉｂｅｌｌｉら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８０　１２５６－１２５８（１９９８）も参照のこと）。正常な核型の全細胞（核移植で首尾よく使用し得る胚細胞、胎児細胞、成体体細胞が含まれる）を使用し得る。胎児線維芽細胞は、特に有用なドナー細胞クラスである。一般に適切な核移植法は、Ｃａｍｐｂｅｌｌら、Ｔｈｅｒｉｏｇｅｎｏｌｏｇｙ　４３　１８１（１９９５），Ｄａｉら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２０：２５１－２５５，Ｐｏｌｅｊａｅｖａら、Ｎａｔｕｒｅ　４０７：８６－９０（２０００），Ｃｏｌｌａｓら、Ｍｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｄｅｖ．３８　２６４－２６７（１９９４），Ｋｅｅｆｅｒら、Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．５０　９３５－９３９（１９９４），Ｓｉｍｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０　６１４３－６１４７（１９９３），ＷＯ－Ａ－９４２６８８４，ＷＯ－Ａ－９４２４２７４，ＷＯ－Ａ－９８０７８４１，ＷＯ－Ａ－９００３４３２，米国特許第４，９９４，３８４号、および米国特許第５，０５７，４２０号に記載されている。分化したまたは少な

くとも部分的に分化したドナー細胞も使用し得る。休止期の核ドナー細胞は、インビトロで休止期に入るか休止期から出るように誘導し得る細胞である。先行技術の方法は、クローニング手順で胚細胞型も使用していた（Ｃａｍｐｂｅｌｌら（Ｎａｔｕｒｅ，３８０：６４－６８，１９９６）およびＳｔｉｃｅら（Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．，２０　５４：１００－１１０，１９９６）。

【０３０４】

体細胞性核ドナー細胞を、種々の異なる生物および組織（皮膚、間充組織、肺、膵臓、心臓、腸、胃、膀胱、血管、腎臓、尿道、生殖器、および胚、胎児、または成体動物の全部または一部の脱凝集調製物などであるが、これらに限定されない）から得ることができる。本発明の適切な実施形態では、核ドナー細胞は、上皮細胞、線維芽細胞、神経系細胞、ケラチノサイト、造血細胞、メラノサイト、軟骨細胞、リンパ球（ＢおよびＴ）、マクロファージ、単球、単核細胞、心筋細胞、他の筋細胞、□ｘｔｅｎｄｅｄ□細胞、卵丘細胞、上皮細胞、内皮細胞からなる群から選択される。別の実施形態では、核ドナーは胚性幹細胞である。特定の実施形態では、ドナー細胞として線維芽細胞を使用し得る。

【０３０５】

本発明の別の実施形態では、本発明の核ドナー細胞は、動物の胚細胞である。胚期、胎児期、または成体期での動物種の任意の胚細胞を、核ドナー細胞として使用し得る。適切な実施形態では、核ドナー細胞は、胚生殖細胞である。

【０３０６】

アクセプター細胞と確実に同調させるために、核ドナー細胞を、細胞周期の任意の段階（Ｇ０、Ｇ１、Ｇ２、Ｓ、Ｍ）で停止させることができる。当該分野で公知の方法を使用して、細胞周期を改変し得る。細胞周期の調節方法には、以下が含まれるが、これらに限定されない：培養細胞の接触阻害によって誘導されたＧ０休止期、血清または他の必須栄養素の除去によって誘導されたＧ０休止期、老化よって誘導されたＧ０休止期、特定の成長因子の添加よって誘導されたＧ０休止期、物理的または化学的手段（熱ショック、高圧、または化学物質、ホルモン、成長因子、もしくは他の物質での他の処理など）よって誘導されたＧ０またはＧ１休止期、複製手順の任意の時点を妨害する化学物質での処理によるＳ期抑制、蛍光標識細胞分取、有糸分裂シェイクオフ（ｍｉｔｏｔｉｃ　ｓｈａｋｅ　ｏｆｆ）、微小管破壊薬での処理、または有糸分裂の進行を破壊する任意の化学物質を使用した選択によるM基抑制（Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，Ｒ．Ｉ，．「Ｃｕｌｔｕｒｅ　ｏｆ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌｓ：Ａ　Ｍａｎｕａｌ　ｏｆ　Ｂａｓｉｃ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ」Ａｌａｎ　Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９８３）参照のこと）。

【０３０７】

卵母細胞の単離方法は、当該分野で周知である。本質的に、これは、動物の卵巣または生殖器官からの卵母細胞の単離を含み得る。容易に利用可能な卵母細胞の供給源は、食肉処理場の材料である。遺伝子改変、核移植、およびクローニングなどの技術の組み合わせのために、卵母細胞を、一般に、インビトロで変異させなければならず、その後に、これらの細胞を核移植のためのレシピエント細胞として使用するか、精子細胞によって受精させて胚に成長させることができる。このプロセスは、一般に、哺乳動物卵巣（例えば、食肉処理場から得たウシ卵巣）からの成熟（前期Ｉ）卵母細胞の回収、受精または除核前から卵母細胞が中期ＩＩ段階に達するまで成熟培地中で卵母細胞を成熟させること（ウシ卵母細胞の場合、一般に、吸引後約１８～２４時間で起こる）が必要である。この期間は、「成熟期」として公知である。一定の実施形態では、未経産ブタ（ｇｉｌｔ）から卵母細胞を得る。「未経産雌ブタ」は、子孫を産んだことのない雌ブタである。他の実施形態では、卵母細胞を、経産ブタ（ｓｏｗ）から得る。「経産ブタ」は、以前に子孫を産んでいる雌ブタである。

【０３０８】

中期ＩＩ段階の卵母細胞は、レシピエント卵母細胞となることができ、この段階では、受精した精子と同様に卵母細胞が導入された核を処理するのに十分に「活性化」され得るか、活性化されると考えられる。インビボで成熟した中期ＩＩ段階の卵母細胞を、核移植

技術で首尾よく使用されている。本質的に、成熟中期ＩＩの卵母細胞を、発情期発生またはヒト絨毛性ゴナドトロピン（ｈＣＧ）または類似のホルモンの注射から３５～４８時間後または３９～４１時間後に非過剰排卵動物または過剰排卵動物から外科的に回収し得る。卵母細胞を、適切な培地（ヒアルロニダーゼ（ｈｙａｌｕｒｏｄａｓｅ）溶液など）中に入れることができる。

【０３０９】

約１０～４０時間、約１６～１８時間、約４０～４２時間、または約３９～４１時間の範囲の定時成熟期後、卵母細胞を除核し得る。除核前に、卵母細胞を取り出し、卵丘細胞の除去前に適切な培地（１ｍｇ／ｍｌのヒアルロニダーゼを含むＨＥＣＭなど）に入れることができる。次いで、裸の卵母細胞を、極体についてスクリーニングし、極体の存在によって決定した中期ＩＩ卵母細胞を選択し、核移植に使用し得る。除核を以下に示す。

【０３１０】

公知の方法（米国特許第４，９９４，３８４号に記載の方法など）によって除核を行うことができる。例えば、中期ＩＩ卵母細胞を、任意選択的に７．５μｇ／ｍｌサイトカラシンＢを含むＨＥＣＭに入れるか（迅速な除核用）、適切な培地（例えば、胚培養培地（ＣＲ１ａａ）＋１０％発情期ウシ精子）に入れ、次いで、２４時間以下または１６～１８時間以下などで除核し得る。

【０３１１】

マイクロピペットを使用して顕微外科的に除核して極体および隣接細胞質を除去し得る。次いで、卵母細胞をスクリーニングして、首尾よく除核されているものを同定し得る。卵母細胞の１つのスクリーニング方法は、卵母細胞を１μｇ／ｍｌ３３３４２Ｈｏｅｃｈｓｔ色素のＨＥＣＭ溶液で染色し、次いで、１０秒未満の紫外線照射下で卵母細胞を目視することである。次いで、首尾よく除核された卵母細胞を、適切な培養培地（例えば、ＣＲ１ａａ＋１０％血清）に入れることができる。

【０３１２】

次いで、除核した卵母細胞と同種の１つの哺乳動物細胞を、ＮＴ単位を生成するために使用した除核卵母細胞の卵黄周囲腔に移入し得る。当該分野で公知の方法にしたがって、哺乳動物細胞および除核卵母細胞を使用して、ＮＴ単位を生成し得る。例えば、細胞を、電気融合によって融合し得る。原形質膜が一過性に破壊するのに十分な電気パルスの印加によって電気融合を行う。膜が迅速に再形成されるので、原形質膜のこの破壊は非常に短い。したがって、２つの隣接する膜の破壊が誘導されて、再形成の際に脂質二重層が混ざり合う場合、２細胞間に小さな通路を開けることができる。このような小開口部の熱力学的不安定性により、２つの細胞が１つになるまで、開口部は大きくなる。例えば、Ｐｒａｔｈｅｒらの米国特許第４，９９７，３８４号を参照のこと。種々の電気融合培地を使用することができ、例えば、スクロース、マンノース、ソルビトール、およびリン酸緩衝溶液が含まれる。融合誘導因子としてセンダイウイルスを使用して融合を行うこともできる（Ｇｒａｈａｍ，Ｗｉｓｔｅｒ Ｉｎｏｔ．Ｓｙｍｐ．Ｍｏｎｏｇｒ．，９，１９，１９６９）。また、エレクトロポレーション融合を使用するよりも、卵母細胞中に核を直接注入し得る。例えば、ＣｏｌｌａｓおよびＢａｒｎｅｓ，Ｍｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．Ｄｅｖ．，３８：２６４－２６７（１９９４）を参照のこと。融合後、得られた融合ＮＴ単位を、活性化するまで適切な培地（例えば、ＣＲ１ａａ培地）に入れる。典型的には、その後に短期間で（例えば、融合から２４時間未満、約４～９時間後、または、最適には、１～２時間後）活性化し得る。特定の実施形態では、融合から少なくとも１時間後および成熟から４０～４１時間後に活性化する。

【０３１３】

ＮＴ単位を、公知の方法によって活性化し得る。このような方法には、例えば、生理学的温度未満でのＮＴ単位の培養、非常に低温（ｃｏｌｄ）または実際には低温（ｃｏｏｌ）でのＮＴ単位のショックが含まれる。胚が通常曝露される生理学的温度条件と比較して低い室温でＮＴ単位を培養することによってこれを最も都合よく行うことができる。あるいは、公知の活性化剤の適用によって活性化し得る。例えば、受精時の精子による卵母細

胞の穿通により、融合前の卵母細胞を刺激して、より多数の生存可能な妊娠が得られ、核移植後に複数の遺伝的に同一の子牛が得られることが示されている。また、電気ショックおよび化学的ショックなどの処理を使用して、融合後のＮＴ胚を活性化し得る。例えば、Ｓｕｓｋｏ－Ｐａｒｒｉｓｈらの米国特許第５，４９６，７２０号を参照のこと。ＥＣＭ２００１ Ｅｌｅｃｔｒｏｃｅｌｌ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｏｒ（ＢＴＸ Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を使用して、５Ｖで５秒間のＡＣパルスおよびその後の１．５ｋＶ／ｃｍで６０μ秒のＤＣパルスの印加によって融合および活性化を誘導し得る。さらに、卵母細胞中の２価陽イオンの増加および卵母細胞中の細胞タンパク質のリン酸化の減少を同時または連続的に行うことによって活性化し得る。一般に、例えば、イオノフォアの形態の２価の陽イオン（例えば、マグネシウム、ストロンチウム、バリウム、またはカルシウム）を卵母細胞の細胞質に導入することによってこれを行うことができる。２価陽イオンレベルの他の増加方法には、電気ショック、エタノールでの処理、およびケージ化（ｃａｇｅｄ）キレート剤での処理が含まれる。公知の方法（例えば、キナーゼインヒビター（例えば、セリン－トレオニンキナーゼインヒビター（６－ジメチル－アミノプリン、スタウロスポリン、２－アミノプリン、およびスフィンゴシンなど））の添加）によってリン酸化を減少させることができる。あるいは、卵母細胞へのホスファターゼ（例えば、ホスファターゼ２Ａおよびホスファターゼ２Ｂ）の導入によって、細胞タンパク質のリン酸化を阻害し得る。

【０３１４】

次いで、活性化ＮＴ単位（すなわち、「融合胚」）を、細胞コロニーが生成するまでインビトロの培養培地中で培養し得る。胚の培養および維持に適切な培養培地は、当該分野で周知である。胚の培養および維持のために使用し得る公知の培地の例には、Ｈａｍ Ｆ－１０＋１０％ウシ胎児血清（ＦＣＳ）、組織培養培地－１９９（ＴＣＭ－１９９）＋１０％ウシ胎児血清、Ｔｙｒｏｄｅｓ－アルブミン－ラクテート－ピルベート（ＴＡＬＰ）、Ｄｕｌｂｅｃｃｏリン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）、Ｅａｇｌｅ培地、Ｗｈｉｔｔｅｎ培地が含まれ、１つの特定の例では、活性化ＮＴ単位を、ＮＣＳＵ－２３培地にて、約３８．６℃の加湿５％CO_2大気下で約１～４時間培養し得る。

【０３１５】

その後、培養ＮＴ単位を、洗浄し、次いで、適切な培地を含み、適切なコンフルエントの支持細胞層を含み得るウェルプレートに入れることができる。適切な支持層には、例として、線維芽細胞および上皮細胞が含まれる。ＮＴ単位がレシピエント雌への移入または細胞コロニーを生成するために使用し得る細胞を得るために適切なサイズに到達するまで、ＮＴ単位を支持層上で培養する。これらのＮＴ単位を、少なくとも約２～４００細胞、約４～１２８細胞、または少なくとも約５０細胞まで培養し得る。

【０３１６】

次いで、活性化ＮＴ単位を、雌ブタの卵管に移入し得る。１つの実施形態では、雌ブタは、発情期同調化レシピエント未経産ブタであり得る。交雑未経産ブタ（ラージホワイト／Ｄｕｒｏｃ／Ｌａｎｄｒａｃｅ）（２８０～４００ｌｂ）を使用し得る。試料に混合した１８～２０ｍｇのＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ（Ａｌｔｒｅｎｏｇｅｓｔ，Ｈｏｅｃｈｓｔ，Ｗａｒｒｅｎ，ＮＪ）の経口投与によって未経産ブタをレシピエントブタと同調化し得る。Ｒｅｇｕ－Ｍａｔｅを、１４日間連続して与えることができる。１０００単位のヒト絨毛ゴナドトロピン（ｈＣＧ，Ｉｎｔｅｒｖｅｔ Ａｍｅｒｉｃａ，Ｍｉｌｌｓｂｏｒｏ，ＤＥ）を、最後のＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ処置から約１０５時間後に筋肉内（ｉ．ｍ．）投与し得る。次いで、ｈＣＧ注射から約２２～２６時間後に胚移入を行うことができる。１つの実施形態では、妊娠し、５匹の生きた子孫を得ることができる。別の実施形態では、妊娠を初期に終了させ、胚細胞を採取し得る。

【０３１７】

（所望のホモ接合性ノックアウトマウスの交配）

別の局面では、本発明は、免疫グロブリン遺伝子にヘテロ接合性雄と免疫グロブリン遺伝子にヘテロ接合性の雌との交配による、機能的免疫グロブリン遺伝子のいかなる発現も

欠く生きた動物の生成方法を提供する。１つの実施形態では、動物は、免疫グロブリン遺伝子の１つの対立遺伝子のこの対立遺伝子の発現を防止するための遺伝子改変により、ヘテロ接合性である。別の実施形態では、α－免疫グロブリン遺伝子の１つの対立遺伝子中の点変異の存在により、動物はヘテロ接合性である。さらなる実施形態では、このようなヘテロ接合性ノックアウトを、外因性免疫グロブリン（ヒトなど）を発現する有蹄動物と交配し得る。１つの実施形態では、内因性免疫グロブリンの少なくとも１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物であって、免疫グロブリンが、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖、またはその任意の組み合わせからなる群から選択される、トランスジェニック有蹄動物と、外因性免疫グロブリンを発現する有蹄動物との交配によって動物を得ることができる。別の実施形態では、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖の１つの対立遺伝子の発現を欠くトランスジェニック有蹄動物と、外因性（ヒトなど）免疫グロブリンを発現する有呈動物との交配によって動物を得ることができる。さらなる実施形態では、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖の１つの対立遺伝子の発現を欠き、かつ外因性（ヒトなど）免疫グロブリンを発現するトランスジェニック有蹄動物と、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖の１つの対立遺伝子の発現を欠き、かつ外因性（ヒトなど）免疫グロブリンを発現する別のトランスジェニック有蹄動物とを交配し、それにより、重鎖、κ軽鎖、およびλ軽鎖の１つの対立遺伝子の発現を欠き、かつ外因性（ヒトなど）免疫グロブリンを発現するホモ接合性トランスジェニック有蹄動物が生成されることによって動物を得ることができる。このような動物の生成方法も提供する。

【０３１８】

１つの実施形態では、免疫グロブリン遺伝子が二重ノックアウトされているドナー細胞由来の核移植から生成した性的に成熟している動物を交配し、その子孫を、ホモ接合性ノックアウトについて試験し得る。次いで、これらのホモ接合性ノックアウト動物を交配して、より多くの動物を生成し得る。

【０３１９】

別の実施形態では、性的に成熟している二重ノックアウト動物由来の卵母細胞を、２つの遺伝的に異なるブタ系列由来の野生型精子を使用してインビトロで受精させ、適切な代理動物に胚を移植し得る。これらの交配由来の子孫を、ノックアウトの存在について試験し得る。例えば、これらを、ｃＤＮＡ配列決定および／またはＰＣＲによって試験し得る。次いで、性的に成熟時に、これらの各同腹子由来の動物を作製し得る。本発明の局面の一定の方法では、早期に妊娠を終了させ、それにより、胎児線維芽細胞を単離し、表現型および／または遺伝子型についてさらに特徴づけることができる。次いで、免疫グロブリン遺伝子の発現を欠く線維芽細胞を、本明細書中に記載の方法にしたがって核移植のために使用して、複数を妊娠させ、所望の二重ノックアウトを保有する子孫を生成し得る。

【０３２０】

（さらなる遺伝子改変）

他の実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した機能的免疫グロブリンの発現を欠く動物または細胞は、異種抗原の発現を排除するためのさらなる遺伝子改変を含み得る。本明細書中に記載のトランスジェニック細胞および動物から得た細胞のさらなる遺伝子改変、または本明細書中に記載の動物と、さらに遺伝子改変した動物との交配によるさらなる遺伝子改変を行うことができる。このような動物を、α－１，３－ガラクトシルトランスフェラーゼ遺伝子、ＣＭＰ－Ｎｅｕ５ＡｃヒドロキシラーゼＵＳＳＮ　１０／８６３，１１６号を参照のこと）、ｉＧｂ３シンターゼ遺伝子（例えば、米国特許出願６０／５１７，５２４号を参照のこと）、および／またはＦｏｒｓｓｍａｎシンターゼ遺伝子（例えば、米国特許出願６０／５６８，９２２号を参照のこと）の少なくとも１つの対立遺伝子の発現を排除するように改変し得る。さらなる実施形態では、本明細書中に開示の動物はまた、フコシルトランスフェラーゼ、シアリルトランスフェラーゼ、および／またはグルコシルトランスフェラーゼファミリーの任意のメンバーを発現するための遺伝子改変を含み得る。これらのさらなる遺伝子改変を達成するために、１つの実施形態では、複数の遺伝子が改変されるよう

に細胞を改変し得る。他の実施形態では、動物を交配させて、複数の遺伝子を改変し得る。１つの特定の実施形態では、本明細書中に記載のプロセス、配列、および／または構築物にしたがって生成した機能的免疫グロブリンの発現を欠く動物（ブタなど）を、α－１，３－ガラクトシルトランスフェラーゼ発現を欠く動物（ブタなど）と交配し得る（例えば、ＷＯ０４／０２８２４３号に記載）。

【０３２１】

別の実施形態では、外因性拒絶を担うさらなる遺伝子の発現を、排除または減少させることができる。このような遺伝子には、ＣＭＰ－ＮＥＵＡｃヒドロキシラーゼ遺伝子、イソグロビオシド３シンターゼ遺伝子、およびＦｏｒｓｓｍａｎシンターゼ遺伝子が含まれるが、これらに限定されない。さらに、補体媒介溶解の抑制を担う補体関連タンパク質をコードする遺伝子またはｃＤＮＡを、本発明の動物および組織中で発現することもできる。このような遺伝子には、以下が含まれるが、これらに限定されない：ＣＤ５９、ＤＡＦ、ＭＣＰ、およびＣＤ４６（例えば、ＷＯ９９／５３０４２号；Ｃｈｅｎら、Ｘｅｎｏｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ，Ｖｏｌｕｍｅ ６ Ｉｓｓｕｅ ３頁１９４－Ａｕｇｕｓｔ １９９９（ＣＤ５９／ＤＡＦ導入遺伝子を発現するブタを記載している）；Ｃｏｓｔａ Ｃら、Ｘｅｎｏｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ．２００２ Ｊａｎ；９（１）：４５－５７（ヒトＣＤ５９およびＨ－トランスフェラーゼを発現するトランスフェニックブタを記載している）；Ｚｈａｏ Ｌら；Ｄｉａｍｏｎｄ ＬＥらＴｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ．２００１ Ｊａｎ １５；７１（１）：１３２－４２（ヒトＣＤ４６トランスジェニックブタを記載している）。

【０３２２】

さらなる修飾には、以下が含まれ得る：組織因子経路インヒビター（ＴＦＰＩ）、ヘパリン、アンチトロンビン、ヒルジン、ＴＦＰＩ、ダニ抗凝固ペプチド、またはヘビ毒因子、（ＷＯ９８／４２８５０号および米国特許第６，４２３，３１６号，タイトル「Ａｎｔｉｃｏａｇｕｌａｎｔ ｆｕｓｉｏｎ ｐｒｏｔｅｉｎ ａｎｃｈｏｒｅｄ ｔｏ ｃｅｌｌ ｍｅｍｂｒａｎｅ」などに記載）；または細胞によって細胞接着分子の発現が下方制御される抗体などの化合物（ＷＯ００／３１１２６号，タイトル「Ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｘｅｎｏｇｒａｆｔ ｒｅｊｅｃｔｉｏｎ ｂｙ ｄｏｗｎ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｃｅｌｌ ａｄｈｅｓｉｏｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」などに記載）、および外因性ドナー生物由来のＣＴＬＡ－４の可溶性形態の器官レシピエントへの投与などによってシグナル２による同時刺激が妨害される化合物（例えば、ＷＯ９９／５７２６６号，タイトル「Ｉｍｍｕｎｏｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ ｂｙ ｂｌｏｃｋｉｎｇ Ｔ ｃｅｌｌ ｃｏ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｓｉｇｎａｌ ２（Ｂ７／ＣＤ２８ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ）」に記載）。

【０３２３】

本発明の一定の局面を、以下の非限定的な実施例でより詳細に説明する。

【実施例】

【０３２４】

（実施例１：ブタ重鎖ターゲッティングおよび重鎖発現を欠くブタ動物の生成）

ブタＩｇ重鎖遺伝子座の一部を、３Ｘ重複（ｒｅｄｕｎｄａｎｔ）ブタＢＡＣライブラリーから単離した。一般に、ＢＡＣライブラリーを、ブタ総ゲノムＤＮＡの断片化によって生成し、次いで、これを使用して、全動物のゲノムの３倍に相当するＢＡＣライブラリーを駆動し得る。次いで、ブタ重鎖免疫グロブリンを含むＢＡＣを、本明細書中に記載のブタ重鎖免疫グロブリンに選択性を示すプローブのハイブリダイズによって選択し得る。

【０３２５】

クローン由来の配列（配列番号１）を使用して、Ｊ領域の一部に相補的なプライマーを生成した（プライマーを、配列番号２に示す）。個別に、Ｉｇ重鎖μ定常領域の一部に相補的なプライマーをデザインした（プロモーターを、配列番号３に示す）。これらのプライマーを使用して、ブタＩｇ重鎖の一部（配列番号４に示す）を増幅し、機能的連結領域（Ｊ領域）およびターゲッティングベクターのデザインおよび構築に十分に隣接した領域

を得た。このフラグメントおよびこのフラグメントのサブクローンを元の状態で維持するために、これらのフラグメントを保有する大腸菌（Ｓｔａｂｌｅ　２，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ番号１０２６－０１９）を、３０℃で維持した。配列番号４の領域をサブクローン化し、これを使用して、配列番号５に示すターゲッティングベクターをアセンブリした。このベクターを、ブタ胎児線維芽細胞にトランスフェクトし、その後、Ｇ４１８での選択に供した。得られたクローンを、ＰＣＲによってスクリーニングして、潜在的なターゲッティング事象を検出した（配列番６および配列番号７、５’スクリーニングプライマー；および配列番号８および配列番号９、３’スクリーニングプライマー）。ターゲッティングを示すスキームについては、図１を参照のこと。サザンブロッティングによってターゲッティングを確認した。核ドナーとしてターゲッティングされた胎児線維芽細胞を使用した核移植によって子孫を生成した。

【０３２６】

（核移植）

ターゲッティングされた胎児線維芽細胞を、核ドナー細胞として使用した。当該分野で周知の方法によって核移植を行った（例えば、Ｄａｉら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２０：２５１－２５５，２００２；およびＰｏｌｅｊａｅｖａら、Ｎａｔｕｒｅ　４０７：８６－９０，２０００を参照のこと）。

【０３２７】

ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ；４ｇｌ$^{-1}$）を含む予め加温したＤｕｌｂｅｃｃｏ　リン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）を使用した卵管の逆噴流によって、ｈＣＧ注入から４６～５４時間後に卵母細胞を回収した（Ｐｏｌｅｊａｅｖａ，Ｉ．Ａ．，ら（Ｎａｔｕｒｅ　４０７，８６－９０（２０００）に記載）。Ｐｏｌｅｊａｅｖａ，Ｉ．Ａ．，ら（Ｎａｔｕｒｅ　４０７，８６－９０（２０００））に記載のように、インビトロで成熟させた卵母細胞（ＢｉｏＭｅｄ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）の除核を、成熟から４０～４２時間後に開始した。回収した卵母細胞を、４ｇｌ$^{-1}$ＢＳＡを含む３８℃のＰＢＳで洗浄し、ライブラリーに輸送するために３８℃の無カルシウムリン酸緩衝化ＮＣＳＵ－２３培地に移した。除核のために、本発明者らは、５μｇｍｌ$^{-1}$サイトカラシンＢ（Ｓｉｇｍａ）および７．５μｇｍｌ$^{-1}$Ｈｏｅｃｈｓｔ　３３３４２（Ｓｉｇｍａ）を含む無カルシウムリン酸緩衝化ＮＣＳＵ－２３培地中で卵母細胞を３８℃で２０分間インキュベートした。次いで、第１の極体の真下の少量の細胞質を、１８μＭガラスピペット（Ｈｕｍａｇｅｎ，Ｃｈａｒｌｏｔｔｅｓｖｉｌｌｅ，Ｖｉｒｇｉｎｉａ）を使用して吸引した。吸引した核質を紫外線に曝露して、中期板の存在を確認した。

【０３２８】

核移植のために、１つの線維芽細胞を、核除核卵母細胞と接触させて透明帯下に置いた。ＥＣＭ２００１　Ｅｌｅｃｔｒｏｃｅｌｌ　Ｍａｎｉｐｕｌａｔｏｒ（ＢＴＸ　Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を使用した５Ｖで５秒間のＡＣパルスおよびその後の１．５ｋＶ／ｃｍで６０μ秒のＤＣパルスの印加によって、融合および活性化を行った。融合した胚を、ＮＣＳＵ－２３培地にて、約３８．６℃の加湿５％CO_2大気下で約１～４時間培養し、発情期同調レシピエント未経産ブタの卵管に移した。交配未経産ブタ（ｌａｒｇｅ　ｗｈｉｔｅ／Ｄｕｒｏｃ／ｌａｎｄｒａｃｅ）（２８０－４００ｌｂ）を、試料に混合した１８～２０ｍｇのＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ（Ａｌｔｒｅｎｏｇｅｓｔ，Ｈｏｅｃｈｓｔ，Ｗａｒｒｅｎ，ＮＪ）の経口投与によってレシピエントブタと同調化した。Ｒｅｇｕ－Ｍａｔｅを、１４日間連続して与えた。ヒト絨毛ゴナドトロピン（ｈＣＧ，１０００単位；Ｉｎｔｅｒｖｅｔ　Ａｍｅｒｉｃａ，Ｍｉｌｌｓｂｏｒｏ，ＤＥ）を、最後のＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ処置から約１０５時間後に筋肉内投与した。ｈＣＧ注射から約２２～２６時間後に胚移入を行った。

【０３２９】

核移植によって、４つの同腹子から１８頭の健康なブタが誕生した。これらの動物は、１つの機能的な野生型Ｉｇ重鎖遺伝子座および１つの破壊Ｉｇ重鎖遺伝子座を有する。

【０３３０】

【化８３】

配列番号２：Ｊ～Ｃ重鎖の増幅のためのＢｕｔｌｅｒサブクローン由来のプライマー（６３７Ｘｂａ５’）	ggccagacttcctcggaacagctca
配列番号３：Ｊ～Ｃ重鎖の増幅のためのＣのプライマー（ＪＭ１Ｌ）	ttccaggagaaggtgacggagct
配列番号６：５’スクリーニング用の重鎖５’プライマー（ＨＣＫＯＸｂａ５’２）	tctagaagacgctggagagaggccag
配列番号７：５’スクリーニング用の重鎖３’プライマー（５’ａｒｍ５’）	taaagcgcatgctccagactgcctt
配列番号５：３’スクリーニング用の重鎖５’プライマー（ＮＥＯ４４２５）	catcgccttctatcgccttctt
配列番号９：３’スクリーニング用の重鎖３’プライマー（６５０＋ＣＡ）	Aagtacttgcgcgcctctcagga

細胞およびブタ組織サンプルのサザンブロット分析。細胞または組織サンプルを、溶解緩衝液（１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．５）、１０ｍＭ　ＥＤＴＡ、１０ｍＭ　ＮａＣｌ、０．５％（ｗ／ｖ）Ｓａｒｃｏｓｙｌ、１ｍｇ／ｍｌプロテイナーゼＫ）中で６０℃で一晩溶解し、エタノールでＤＮＡを沈殿させた。次いで、ＤＮＡを、ＮｃｏＩおよびＸｂａＩ（使用プローブによる）で消化し、１％アガロースゲルで分離した。電気泳動後、ＤＮＡを、ナイロンメンブレンに移し、ジゴキシゲニン標識プローブ（ＮｃｏＩ消化物については配列番号４、ＸｂａＩ消化物については配列番号４０）で探索した。化学発光基質系（Ｒｏｃｈｅ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を使用してバンドを検出した。

【０３３１】

（重鎖サザン用のプローブ）

（ＨＣＪプローブ（ＸｂａＩ消化物と使用））

【０３３２】

【化８４】

CTCTGCACTCACTACCGCCGGACGCGCACTGCCGTGCTGCCCATGGACCA
CGCTGGGGAGGGGTGAGCGGACAGCACGTTAGGAAGTGTGTGTGTGCGCG
TGGGTGCAAGTCGAGCCAAGGCCAAGATCCAGGGGCTGGGCCCTGTGCCC
AGAGGAGAATGGCAGGTGGAGTGTAGCTGGATTGAAAGGTGGCCTGAAGG
GTGGGGCATCCTGTTTGGAGGCTCACTCTCAGCCCCAGGGTCTCTGGTTC
CTGCCGGGGTGGGGGGCGCAAGGTGCCTACCACACCCTGCTAGCCCCTCG
TCCAGTCCCGGGCCTGCCTCTTCACCACGGAAGAGGATAAGCCAGGCTGC
AGGCTTCATGTGCGCCGTGGAGAACCCAGTTCGGCCCTTGGAGG（配列番号４０）

（ＨＣ　Ｍｕプローブ、（ＮｃｏＩ消化物と使用））

【０３３３】

【化８５】

GGCTGAAGTCTGAGGCCTGGCAGATGAGCTTGGACGTGCGCTGGGGAGTA
CTGGAGAAGGACTCCCGGGTGGGGACGAAGATGTTCAAGACGGGGGGCTG
CTCCTCTACGACTGCAGGCAGGAACGGGGCGTCACTGTGCCGGCGGCACC
CGGCCCCGCCCCCGCCACAGCCACAGGGGGAGCCCAGCTCACCTGGCCCA
GAGATGGACACGGACTTGGTGCCACTGGGGTGCTGGACCTCGCACACCAG
GAAGGCCTCTGGGTCCTGGGGGATGCTCACAGAGGGTAGGAGCACCCGGG
AGGAGGCCAAGTACTTGCCGCCTCTCAGGACGG（配列番号４１）

（実施例２：ブタκ軽鎖ターゲッティングおよびκ軽鎖発現を欠くブタの生成）
ブタＩｇκ軽鎖遺伝子座の一部を、３Ｘ重複（ｒｅｄｕｎｄａｎｔ）ブタＢＡＣライブラリーから単離した。一般に、ＢＡＣライブラリーを、ブタ総ゲノムＤＮＡの断片化によって生成し、次いで、これを使用して、全動物のゲノムの３倍に相当するＢＡＣライブラリーを誘導し得る。次いで、ブタ軽鎖免疫グロブリンを含むＢＡＣを、本明細書中に記載のブタκ差免疫グロブリンに選択性を示すプローブのハイブリダイズによって選択し得る。

【０３３４】
Ｊ領域の一部に相補的なプライマー（プライマーを、配列番号１０に示す）およびＣ領域の一部に相補的なプライマー（配列番号１１に示す）を使用して、ブタＩｇ軽鎖κのフラグメントを増幅した。得られたアンプリマーを、プラスミドベクターにクローン化し、Ｓｔａｂｌｅ２細胞中にて３０℃で維持した（配列番号１２）。略図については、図２を参照のこと。

【０３３５】
個別に、Ｃ領域の一部に相補的なプライマー（配列番号１３）およびκエンハンサー領域の一部に相補的なプライマー（配列番号１４）を使用して、ブタＩｇ軽鎖κのフラグメントを増幅した。得られたプライマーを、制限酵素によって断片化し、生成されたＤＮＡフラグメントをクローン化し、３０℃でＳｔａｂｌｅ２中に維持し、配列検定した。この配列決定の結果として、２つの非重複コンティグをアセンブリした（配列番号１５、アンプリマーの５’部分および配列番号１６、アンプリマーの３’部分）。下流コンティグ由来の配列（配列番号１６）を使用して、プライマー組（配列番号１７および配列番号１８）をデザインし、これを使用して、エンハンサー（配列番号１９）付近の連続フラグメントを増幅した。配列番号１２および配列番号１９のサブクローンを使用して、ターゲッティングベクター（配列番号２０）を構築した。このベクターを、ブタ胎児線維芽細胞にトランスフェクトし、その後に、Ｇ４１８での選択に供した。得られたコロニーを、ＰＣＲによってスクリーニングして、潜在的なターゲッティング事象を検出した（配列番号２１および配列番号２２、５’スクリーニングベクター；および配列番号２３および配列番号４３、３’スクリーニングベクター、および配列番号２４および配列番号２４、内因性スクリーニングプライマー）。サザンブロッティングによってターゲッティングを確認した。さらなるκ配列のクローニングによってサザンブロットストラテジーデザインを容易にし、これは、生殖系列κ転写物（配列番号２５）のテンプレートに対応する。核移植によって胎児ブタを生成した。

【０３３６】
（核移植）
ターゲッティングされた胎児線維芽細胞を、核ドナー細胞として使用した。当該分野で周知の方法によって核移植を行った（例えば、Ｄａｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０：２５１－２５５，２００２；およびＰｏｌｅｊａｅｖａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ４０７：８６－９０，２０００を参照のこと）。

【０３３７】
ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ；４ｇｌ$^{-1}$）を含む予め加温したＤｕｌｂｅｃｃｏ リン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）を使用した卵管の逆噴流によって、ｈＣＧ注入から４６～５４時間後に卵母細胞を回収した（Ｐｏｌｅｊａｅｖａ，Ｉ．Ａ．，ｅｔ ａｌ（Ｎａｔｕｒｅ ４０７，８６－９０（２０００）に記載）。Ｐｏｌｅｊａｅｖａ，Ｉ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ ４０７，８６－９０（２０００））に記載のように、ｉｎｖｉｔｒｏで成熟させた卵母細胞（ＢｉｏＭｅｄ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）の除核を、成熟から４０～４２時間後に開始した。回収した卵母細胞を、４ｇｌ$^{-1}$ＢＳＡを含む３８℃のＰＢＳで洗浄し、ライブラリーに輸送するために３８℃の無カルシウムリン酸緩衝化ＮＣＳＵ－２３培地に移した。除核のために、本発明者らは、５μｇｍｌ$^{-1}$サイトカラシンＢ（Ｓｉｇｍａ）および７．５μｇｍｌ$^{-1}$Ｈｏｅｃｈｓｔ ３３３４２（Ｓｉｇｍａ）を含む無カルシウムリン酸緩衝化ＮＣＳＵ－２３培地中で卵母細胞を３８℃で２０

分間インキュベートした。次いで、第１の極体の真下の少量の細胞質を、１８μＭガラスピペット（Ｈｕｍａｇｅｎ，Ｃｈａｒｌｏｔｔｅｓｖｉｌｌｅ，Ｖｉｒｇｉｎｉａ）を使用して吸引した。吸引した核質を紫外線に曝露して、中期板の存在を確認した。

【０３３８】

核移植のために、１つの線維芽細胞を、各除核卵母細胞と接触させて透明帯下に置いた。ＥＣＭ２００１　Ｅｌｅｃｔｒｏｃｅｌｌ　Ｍａｎｉｐｕｌａｔｏｒ（ＢＴＸ　Ｉｎｃ．，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を使用した５Ｖで５秒間のＡＣパルスおよびその後の１．５ｋＶ／ｃｍで６０μ秒のＤＣパルスの印加によって、融合および活性化を行った。融合した胚を、ＮＣＳＵ－２３培地にて、約３８．６℃の加湿５％CO_2大気下で約１～４時間培養し、発情期同調レシピエント未経産ブタの卵管に移した。交配未経産ブタ（ｌａｒｇｅ　ｗｈｉｔｅ／Ｄｕｒｏｃ／ｌａｎｄｒａｃｅ）（２８０－４００ｌｂ）を、試料に混合した１８～２０ｍｇのＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ（Ａｌｔｒｅｎｏｇｅｓｔ，Ｈｏｅｃｈｓｔ，Ｗａｒｒｅｎ，ＮＪ）の経口投与によってレシピエントブタと同調化した。Ｒｅｇｕ－Ｍａｔｅを、１４日間連続して与えた。ヒト絨毛ゴナドトロピン（ｈＣＧ，１０００単位；Ｉｎｔｅｒｖｅｔ　Ａｍｅｒｉｃａ，Ｍｉｌｌｓｂｏｒｏ，ＤＥ）を、最後のＲｅｇｕ－Ｍａｔｅ処置から約１０５時間後筋肉内投与した。ｈＣＧ注射から約２２～２６時間後に胚移入を行った。

【０３３９】

κターゲッティングされた細胞を使用した核移植によって、５つの同腹子から３３頭の健康なブタが誕生した。これらのブタは、１つの機能的な野生型ブタＩｇ軽鎖κ対立遺伝子および１つの破壊Ｉｇ軽鎖κ対立遺伝子を有する。

【０３４０】

【化８６】

配列番号１０：Ｊ－κＪ～Ｃ５’プライマー（ｋｊｃ５’１）	caaggaqaccaagctggaactc
配列番号１１：κＪ～Ｃ３’プライマー（ｋｊｃ３’２）	tgatcaagcacaccacagagacag
配列番号１３：κＣ～Ｅ用の５’プライマー（ｐｏｒＫＣＳ１）	gatgccaagccatccgtcttcatc

【０３４１】

【化８７】

配列番号１４：κC～E用の3’プライマー（porKCA1）	tgaccaaagcagtgtgacggttgc
配列番号１７：エンハンサー領域の増幅のためのκ５’プライマー（Ｋ３’ａｒｍ１Ｓ）	ggatcaaacacgcatcctcatggac
配列番号１８：エンハンサー領域の増幅のためのκ３’プライマー（Ｋ３’ａｒｍ１Ａ）	ggtgattggggcatggttgagg
配列番号２１：κスクリーニング、５’プライマー、５’（ｋａｐｐａ５ａｒｍＳ）	cgaacccctgtgtatatagtt
配列番号２２：κスクリーニング、３’プライマー、５’（ｋａｐｐａＮｅｏＡ）	gagatgaggaagaggagaaca
配列番号２３：κスクリーニング、５’プライマー、３’（ｋａｐｐａＮｅｏＳ）	gcattgtctgagtaggtgtcatt
配列番号２４：κスクリーニング、３’プライマー、５’（ｋａｐｐａ５ａｒｍＰｒｏｂｅ３’）	cgcttcttgcagggaacacgat
配列番号４３：κスクリーニング、３’プライマー（ｋａｐｐａ３ａｒｍＡ２）	GTCTTTGGTTTTTGCTGAGGGTT

細胞およびブタ組織サンプルのサザンブロット分析。細胞または組織サンプルを、溶解緩衝液（１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．５）、１０ｍＭ　ＥＤＴＡ、１０ｍＭ　ＮａＣｌ、０．５％（ｗ／ｖ）Ｓａｒｃｏｓｙｌ、１ｍｇ／ｍｌプロテイナーゼＫ）中で６０℃で一晩溶解し、エタノールでＤＮＡを沈殿させた。次いで、ＤＮＡを、ＳａｃＩで消化し、１％アガロースゲルで分離した。電気泳動後、ＤＮＡを、ナイロンメンブレンに移し、ジゴキシゲニン標識プローブ（配列番号４０）で探索した。化学発光基質系（Ｒｏｃｈｅ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を使用してバンドを検出した。

【０３４２】

（κサザン用のプローブ）

（Kappa５ＡｒｍＰｒｏｂｅ５’/３’）

【０３４３】

【化８８】

gaagtgaagccagccagttcctcctgggcaggtggccaaaattacagttg
acccctcctggtctggctgaaccttgccccatatggtgacagccatctgg
ccagggcccaggtctccctctgaagcctttgggaggagagggagagtggc
tggcccgatcacagatgcggaaggggctgactcctcaaccggggtgcaga
ctctgcagggtgggtctgggcccaacacacccaaagcacgcccaggaagg
aaaggcagcttggtatcactgcccagagctaggagaggcaccgggaaaat
gatctgtccaagacccgttcttgcttctaaactccgaggggtcagatga
agtggttttgtttcttggcctgaagcatcgtgttccctgcaagaagcgg（配列番号４２）

（実施例３：ブタλ遺伝子座の特徴付け）

無効なブタλを破壊するために、Ｊ～Ｃ発現カセットのコンカテマーを含むλ遺伝子座領域を除去または破壊するターゲッティングストラテジーを導いた。ブタゲノムの一部を含むＢＡＣクローンを、生成し得る。ブタＩｇλ鎖遺伝子座の一部を、３Ｘ重複ブタＢＡＣライブラリーから単離した。一般に、一般に、ＢＡＣライブラリーを、ブタ総ゲノムＤＮＡの断片化によって生成し、次いで、これを使用して、全動物のゲノムの３倍に相当す

るＢＡＣライブラリーを誘導し得る。次いで、ブタλ鎖免疫グロブリンを含むＢＡＣを、本明細書中に記載のブタλ鎖免疫グロブリンに選択性を示すプローブのハイブリダイズによって選択し得る。

【０３４４】

λＪ～Ｃ領域を含むＢＡＣクローン（図３を参照のこと）を、独立して断片化し、プラスミドベクターにサブクローン化した。各サブクローンを、Ｊ～Ｃイントロンの一部の存在についてＰＣＲによってスクリーニングした。一方のＣ領域から次のＣ領域までの増幅によってこれらのカセットのいくつかをクローン化した。任意の１つのＣ領域内のを多岐にわたって伸長するように配向したプライマーの使用によってこの増幅を行った（配列番号２６および配列番号２７）。首尾よく増幅させるために、伸長産物は、隣接Ｃ領域を起源とする伸長産物に収斂する（同一のＣ領域と対立する）。このストラテジーにより、主に、一方のＣ領域から次のＣ領域まで伸長したアンプリマーが生成される。しかし、いくつかのアンプリマーは、隣接Ｃから隣接Ｃを超えて存在する次のＣにわたる増幅の結果である。これらの多遺伝子アンプリマーは、Ｃの一部、次のＪ単位～Ｃ単位のＪおよびＣ領域、第３のＪ単位～Ｃ単位のＪ領域、および第３のＪ単位～Ｃ単位のＣ領域の一部を含む。配列番号２８は、１つのこのようなアンプリマーであり、除去または破壊されなければならない配列を示す。

【０３４５】

クローン化された他のブタλ鎖配列には、以下が含まれる：配列番号３２（ブタλ軽鎖の第１のλＪ／Ｃ領域の５’隣接配列を含む）、配列番号３３（ブタλ軽鎖ゲノム配列のλＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列を含む（λＪ／Ｃの約２００塩基対下流から））、配列番号３４（ブタλ軽鎖ゲノム配列のＪ／Ｃクラスター領域の３’隣接配列を含む（Ｊ／Ｃクラスターの約１１．８Ｋｂ下流））、配列番号３５（λの約１２Ｋｂ下流を含む（エンハンサー配列が含まれる））、配列番号３６（λの約１７．６Ｋｂ下流を含む）、配列番号３７（λのｙａｋｕ１９．１Ｋｂ下流を含む）、配列番号３８（λの約２１．３Ｋｂ下流を含む）、配列番号３９（λの約２７Ｋｂ下流を含む）。

【０３４６】

【化８９】

配列番号２６：λＣ～Ｃアンプリマー用の５’プライマー（ｌａｍＣ５’）	ccttcctcctgcacctgtcaac
配列番号２７：λＣ～Ｃアンプリマー用の３’プライマー（ｌａｍＣ３’）	tagacacaccagggtggccttg

（実施例４：λ遺伝子ターゲッティングベクターの生成）

１つの例では、Ｊ１の上流領域に相同な１つのアームおよび最後のＣの下流の領域に相同な他のアームを使用して、ベクターをデザインし、構築した。Ｊ１の下流をターゲッティングするように１つのターゲッティングベクターをデザインした。本明細書中に記載されているか当該分野で公知の正および負の選択マーカーの任意の組み合わせを使用し得る。単純ヘルペスチミジンキナーゼ（ＴＫ）およびＴｎ５アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ（Ｎｅｏ耐性）遺伝子のコード領域から構成される融合遺伝子を使用する。この融合遺伝子は、本明細書中に記載されているか当該分野で公知の任意の部位特異的リコンビナーゼ（ＳＳＲＲＳ）の認識部位（ｌｏｘ部位など）に隣接している。Ｇ４１８選択の使用によるターゲッティングされた細胞の単離の際、マーカー遺伝子を欠失するためにＣｒｅがトランスで供給される（図５を参照のこと）。マーカー遺伝子を欠失した細胞を、ＴＫによって有毒産物（ガンシクロビルなど）に代謝され得る当該分野で公知の任意の薬物の付加によって選択する。次いで、得られた遺伝子型を、第２ベクターでターゲッティングする。第２のターゲッティングベクター（図６）を、最後のＣの下流をターゲッテ

ィングするようにデザインし、特異的リコンビナーゼ部位（ｌｏｘ）と１つの端のみが隣接する正／負選択系を使用する。組換え部位を、第１のターゲッティング事象に関して離れて配置する。ターゲッティングされた遺伝子型の単離の際、第１のターゲッティング事象中で提供された組換え部位から第２のターゲッティング事象中で送達された組換え部位までの欠失を媒介するために、Ｃｒｅは、再度トランスで供給される。全Ｊ～Ｃクラスターが除去される。適切な遺伝子型を、ガンシクロビルの投与によって再度選択する。

【０３４７】

別の例では、挿入ターゲッティングベクターを使用して、独立して各Ｃ領域を破壊する。個別のＣ領域遺伝子を破壊するように挿入ターゲッティングベクターをデザインし、アセンブリする。Ｊ～Ｃクラスター中に少なくとも３つのＪ～Ｃ領域が存在する。本発明者らは、第１および最後のＣ領域をターゲッティングし、かつターゲッティングベクター中に部位特異的リコンビナーゼ部位を含むようなベクターのデザインを始めている。一旦両インサートが作製されると、部位特異的リコンビナーゼを使用して、介在領域を欠失する。

【０３４８】

（実施例５：κ単一ノックアウトブタを使用した重鎖単一ノックアウトの交配）

１つの破壊されたＩｇ重鎖遺伝子座および１つの破壊されたＩｇ軽鎖κ対立遺伝子の両方を有するブタを生成するために、単一ノックアウト動物を交配した。第１の妊娠によって４頭の胎児が得られ、そのうちの２頭は、ＰＣＲおよびサザンの両方によって重鎖およびκターゲッティング事象について陽性とスクリーニングされた（プライマーについては、実施例１および２を参照のこと）。胎児線維芽細胞を単離し、拡大し、凍結した。重鎖単一ノックアウトを使用したκ単一ノックアウトの交配に由来する第２の妊娠により、４頭の健康な子豚が得られた。

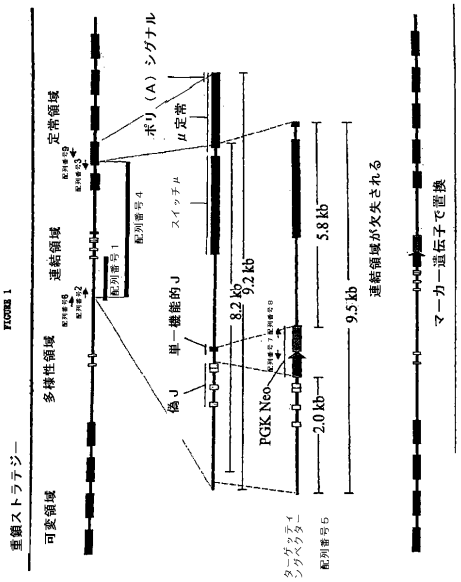
【０３４９】

重鎖単一ノックアウトおよびκ鎖単一ノックアウトを含む胎児線維芽細胞を、さらなるターゲッティングに使用する。このような細胞を使用して、本明細書中に記載の方法および組成物によってλ遺伝子座をターゲッティングする。得られた子孫は、重鎖、κ鎖、およびλ鎖についてヘテロ接合性ノックアウトである。これらの動物を、本明細書中に記載のヒトＩｇ遺伝子を含む動物とさらに交配し、その後に他の単一ＩｇノックアウトＩ動物と交配して、ヒトＩｇ置換遺伝子を有する豚Ｉｇ二重ノックアウト動物が得られる。

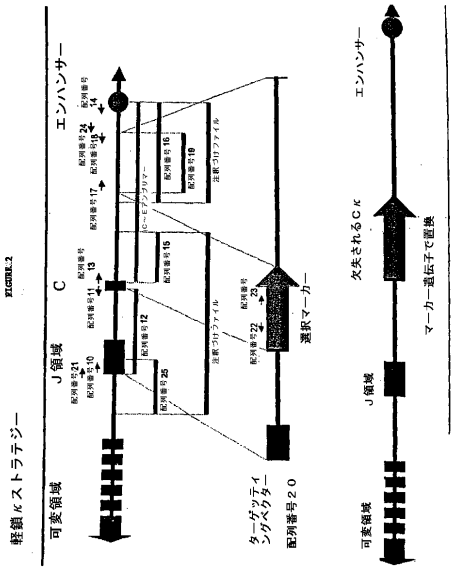
【０３５０】

本発明を、その好ましい実施形態を参照して説明した。本発明の上記の詳細な説明から、本発明の種々の変更形態および修正形態が当業者に明らかである。

【図１】

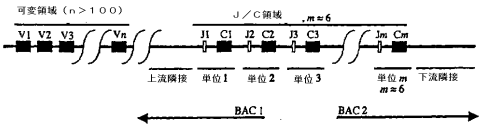


【図２】



【図３】

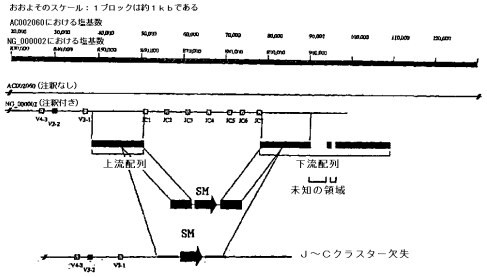
Figure 3



【図４】

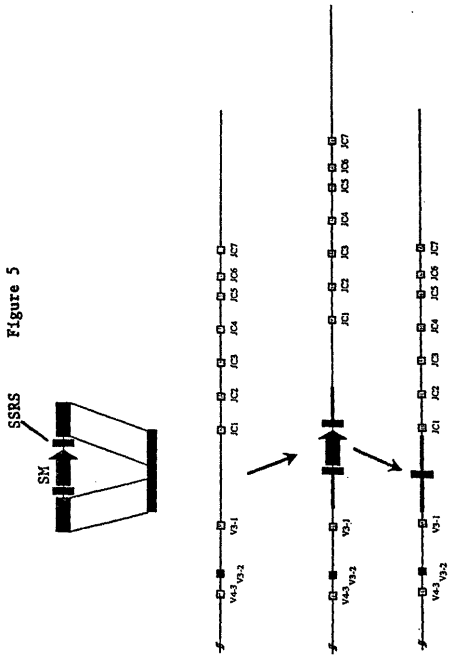
Figure 4

ＪＣクラスターに隣接するプタｘコンティグを有するヒト配列
ＡＣ００２０６０およびＮＧ＿０００００２のグラフ図

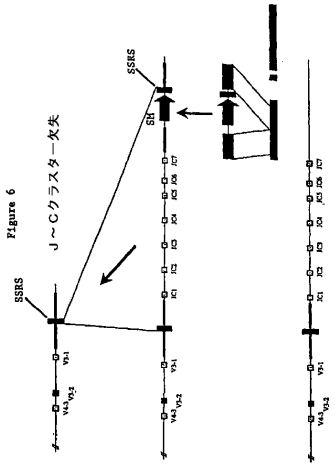


【図５】

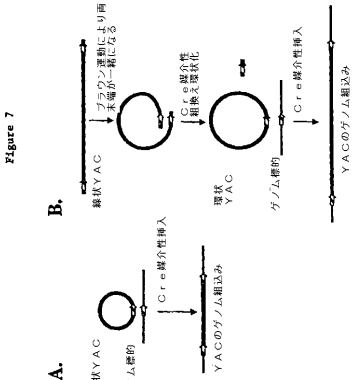
Figure 5



【図６】



【図７】



【配列表】
2012196234000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ　1/21	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21	
Ａ０１Ｋ　67/027	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/00　１０１	
		Ａ０１Ｋ	67/027	

(72)発明者　デイビッド　アヤレス
アメリカ合衆国　バージニア　２４０６０，　ブラックスバーグ，　セミノル　ドライブ　３００

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA61 CA04 CA20 DA02 EA04 GA03 GA10
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90X AB01 AB04 AC14 BA02 CA25
CA44
4H045 AA11 AA50 FA74

【外国語明細書】
2012196234000001.pdf