



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0107974
(43) 공개일자 2019년09월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/85 (2006.01) *A01K 67/027* (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01) *C12N 15/67* (2006.01)
G01N 33/50 (2017.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/8509 (2013.01)
A01K 67/027 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0029359

(22) 출원일자 2018년03월13일

심사청구일자 2018년03월13일

(71) 출원인

대한민국 (식품의약품안전처장)

충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

박지원

세종특별자치시 달빛로 135, 605동 1003호(상록어
울림아파트 6단지)

장대영

서울특별시 서초구 신반포로 9, 반포아파트 76동
203호

고영호

경기도 안양시 동안구 관평로170번길 15, 일송빌
딩 801호

(74) 대리인

조정환

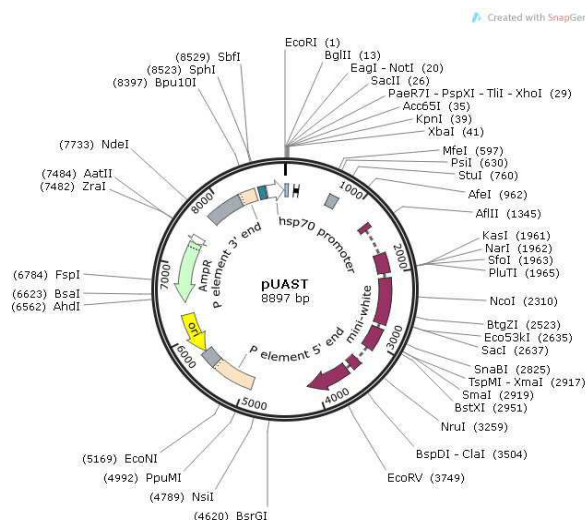
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 위암 연관 유전자 발현 초파리 모델 제작: TP53

(57) 요약

본 발명의 위암 연관 유전자가 과발현된 형질전환 초파리 및 이의 제조방법에 따르면, 기존의 생쥐모델과 비교하여 조작이 용이하고, 다양한 형질전환 모델의 제작비용이 적게 들어 경제성이 우수하며, 위암 관련 표현형치료제의 스크리닝에 유용하게 사용될 수 있으며, 다양한 유전학적인 상호작용 연구를 수행하여 종양의 발생, 증식과 전이에 연관되는 기전을 밝혀내는데 도움을 줄 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07K 14/4703 (2013.01)

C12N 15/67 (2013.01)

G01N 33/5088 (2013.01)

A01K 2227/706 (2013.01)

A01K 2267/0331 (2013.01)

C12N 2015/8572 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 15182 한임평 512

부처명 식품의약품안전처

연구관리전문기관 독성평가연구부 임상연구과

연구사업명 주요사업

연구과제명 한국인 특이적 위암 원인유전자 발굴 및 표적치료제 선별 연구

기 여 율 1/1

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2015.06.01 ~ 2017.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 1로 기재되는 염기서열로 표시되는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하며, 도 1에 기재된 개열지도로 표현되는 것을 특징으로 하는 pUAST 벡터

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 pUAST 벡터는 Gal4-pUAST 벡터인 것을 특징으로 하는 pUAST 벡터

청구항 3

서열번호 1로 기재되는 염기서열로 표시되는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하며 도 1에 기재된 개열지도로 표현되는 pUAST 벡터를 제조하는 단계; 및

상기 제조된 pUAST 벡터를 초파리에 도입하여 상기 초파리를 형질전환시키는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 위암 연관 유전자 TP53를 과발현하는 형질전환 초파리의 제조방법

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 pUAST 벡터는 Gal4-pUAST 벡터인 것을 특징으로 하는 형질전환 초파리의 제조방법

청구항 5

제 3 항에 있어서, 상기 제조방법은 P-인자 매개 생식세포 형질전환방법(P-element-mediated germ line transformation)을 이용하는 것을 특징으로 하는 형질전환 초파리의 제조방법

청구항 6

제 3 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 위암 연관 유전자 TP53가 과발현된 형질전환 초파리

청구항 7

제 3 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항의 제조방법으로 제조되고 위암 연관 유전자 TP53의 175번째 염기가 결손된 형질전환 초파리

청구항 8

서열번호 1로 기재되는 염기서열로 표시되는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하며 도 1에 기재된 개열지도로 표현되는 pUAST 벡터를 제조하는 단계;

상기 제조된 pUAST 벡터를 초파리에 도입하여 상기 초파리를 형질전환시켜 위암 연관 유전자인 TP53 형질전환 초파리를 제조하는 단계;

실험군으로 상기 TP53 형질전환 초파리에 피검물질을 처리하는 단계;

상기 피검물질이 처리된 TP53 형질전환 초파리에서 초파리의 수명을 측정하는 단계; 및

무처리 대조군과 비교하여 상기 TP53 형질전환 초파리의 수명을 연장시키는 피검물질을 선별하는 단계를 포함하여 이루어지는 것을 특징으로 하는 위암 예방 및 개선용 조성물의 스크리닝 방법

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 pUAST 벡터는 Gal4-pUAST 벡터인 것을 특징으로 하는 위암 예방 및 개선용 조성물의 스크리닝 방법

청구항 10

제 8 항에 있어서, 상기 형질전환 초파리를 제조하는 단계는 P-인자 매개 생식세포 형질전환방법(P-element-mediated germ line transformation)을 이용하는 것을 특징으로 하는 위암 예방 및 개선용 조성물의 스크리닝 방법

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 위암 연관 유전자가 과발현된 형질전환 초파리 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 식생활의 서구화에 따라서 다양한 암 환자가 크게 늘고 있으며, 실제 암 환자는 지난 23년간 11배나 급증했다. 종래에는 암을 진단하기 위하여 검사 또는 최근에 개발된 진단키트를 이용해 조기검진이 가능하며, 단일 항체를 통한 진단법으로 암진단 외의 여러 다양한 질병들을 진단할 수 있었다. 그러나 이러한 단일항체 생산은 동물세포에서 가능하며 동물세포 배양은 경제적으로 가치효율성이 떨어진다는 단점을 가지고 있다. 또한, 현재까지의 진단용 항체 생산은 항원결정기 부위만 생산되는 기술에 불과하다. 따라서 항체를 저렴하고 대량 생산할 수 있는 기술과 더불어 신속하고 정확한 항원-항체 반응을 통해 암을 진단할 수 있는 새로운 진단키트의 개발이 요구된다. 본 연구팀이 곤충세포를 이용하여 항체를 생산하는 기술력을 확보한다면, 대장암뿐만 아니라 다른 질병에 관하여도 단일항체 형태의 진단항체를 생산 가능할 것으로 생각된다.

[0003] 초파리는 생물학 분야의 연구에서 가장 많이 사용되고 있는 모델동물의 하나로 1910년 미국 컬럼비아 대학의 모건박사에 의해 유전학연구 재료로 사용되기 시작한 이후 돌연변이 유발법, 타선 염색체를 이용한 유전자 맵핑(mapping)법, 밸런서 염색체(balancer chromosome)등 다양한 유전학적 실험기법이 개발되면서 유전자 기능연구를 위한 가장 뛰어난 연구모델의 하나로 자리잡았다.

[0004] 초파리 모델은 인간의 질병 유전자의 80% 이상이 잘 보존되어 있으며, 이전의 많은 연구결과들도 초파리가 인간의 질병에 대한 증상이 같고, 저렴한 비용으로 대량의 실험 스크리닝이 가능한 장점을 가지고 있어 신약개발에 대한 이용가치가 높음을 보고하고 있다.

[0005] 초파리는 일생주기가 10일 정도로 매우 짧고, 저렴하게 대량사육이 가능하므로 치료약물 스크리닝, 약품성능 테스트 등 전임상 테스트 및 유전자 발현을 위한 스크리닝 등에 매우 유용하게 이용될 수 있는 장점이 있으며, 인체질병과 관련된 주요 유전자들이 잘 보존되어 있어 인체질병연구에 유용한 모델동물로 이용되고 있다. 특히 파킨슨씨병, 알츠하이머병등과 같은 신경퇴행성 질병과 대사성 질병의 연구에 많이 이용되어 병인규명 및 치료전략 개발에 중요한 연구결과들을 도출할 수 있는 연구모델로 인정되고 있다.

[0006] 따라서 기존의 생쥐모델과 비교하여 조작이 용이하고, 경제성이 우수하며 위암 증상을 쉽게 관찰할 수 있으며, 위암 관련 표현형치료제를 스크리닝하는데 유용하게 사용될 수 있는 위암 연관 유전자 발현 초파리 모델이 요구된다.

[0007] 본 출원에서 임의의 참조 문헌의 언급은, 참조 문헌이 본 출원에 대한 관련 선행 기술이라는 것을 허용하는 것은 아니다.

[0008] 선행기술문헌

[0009] -특허문헌

[0010] (특허문헌 1) KR 10-2009-0036028

[0011] (특허문헌 2) KR 10-1447560

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 출원은 위암 연관 유전자가 과발현된 형질전환 초파리 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 출원에서는 위암 연관 유전자가 과발현된 형질전환 초파리 및 이의 제조방법을 제공한다.
- [0014] 하나의 예시에서, 본 발명은 서열번호 1로 기재되는 염기서열을 갖는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하는, 도 1에 기재된 개열지도를 갖는 pUAST 벡터를 제공한다.
- [0015] 하나의 예시에서, 본 발명은 서열번호 1로 기재되는 염기서열을 갖는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하는, 도 1에 기재된 개열지도를 갖는 pUAST 재조합 벡터를 제조하는 단계; 및 상기 제조된 벡터를 초파리에 형질전환시키는 단계를 포함하는 위암 연관 유전자 TP53를 과발현하는 형질전환 초파리의 제조방법을 제공한다.
- [0016] 상기 제조방법의 재조합 벡터는 pUAST 벡터인 것이 바람직하고, 위암 연관 유전자 TP53를 포함하는 pUAST 벡터는 초파리에서 유전자를 조직 특이적으로 발현시킬 수 있는 발현시스템인 Gal4-pUAST을 활용하여 위암 연관 유전자를 과발현시키는 형질전환 초파리 모델을 제조할 수 있다.
- [0017] 또한, 상기 위암 연관 유전자 TP53를 포함하는 pUAST 벡터는 P-인자 매개 생식세포 형질전환방법(P-element-mediated germ line transformation)을 이용하여 초파리에 도입되는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0018] 하나의 예시에서, 본 발명에서는 위암 연관 유전자인 TP53 유전자를 포함하는 형질전환 초파리를 제조하기 위하여, TP53 유전자를 포함하는 pUAST 발현 벡터를 제조한 다음, 상기 pUAST 발현 벡터로 형질전환된 초파리를 제조하였다.
- [0019] 또한, 본 발명자들은 위암 연관 유전자인 TP53 형질전환 초파리가 각각 TP53 유전자의 발현을 유도할 수 있는지 확인하기 위하여, Gal4-pUAST 시스템을 이용하여 TP53 유전자를 과발현시킨 결과, TP53 유전자가 형질전환된 초파리는 TP53 유전자가 대조군에 비해 약 100배 이상 유의적으로 발현이 증가되는 것을 확인하였다.
- [0020] 또한, 본 발명자들은 TP53 유전자에 의한 초파리 수명 단축효과를 확인하기 위하여, Gal4-pUAST 시스템을 이용하여 TP53 유전자를 각각 과발현시킨 결과, TP53 유전자의 발현이 유도된 형질전환초파리는 대조군과 비교하여 수명 단축 효과가 있는 것이 확인하였다.
- [0021] 하나의 예시에서, 본 발명은 서열번호 1로 기재되는 염기서열을 갖는 위암 연관 유전자 TP53를 포함하는, 도 1에 기재된 개열지도를 갖는 pUAST 벡터를 제조하는 단계; 상기 제조된 pUAST 벡터를 초파리에 형질전환시켜 위암 연관 유전자인 TP53 형질전환 초파리를 제조하는 단계; 실험군으로 상기 TP53 형질전환 초파리에 피검물질을 처리하는 단계; 상기 피검물질이 처리된 TP53 형질전환 초파리에서 초파리의 수명을 측정하는 단계; 및 무처리 대조군과 비교하여 상기 TP53 형질전환 초파리의 수명을 연장시키는 피검물질을 선별하는 단계를 포함하는 위암 예방 및 개선용 조성물 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0022] 본 발명의 위암 연관 유전자인 TP53 형질전환 초파리 및 이의 제조방법에 따르면, 기존의 생쥐모델과 비교하여 조작이 용이하고, 다양한 형질전환 모델의 제작비용이 적게 들어 경제성이 우수하다. 또한, 본 발명의 TP53 형질전환 초파리는 위암 증상을 쉽게 관찰할 수 있는 표현형을 나타내므로 효과적으로 위암 관련 표현형치료제의 스크리닝에 유용하게 사용될 수 있으며, 다양한 유전학적인 상호작용 연구를 수행하여 종양의 발생, 증식과 전이에 연관되는 기전을 밝혀내는데 도움을 줄 수 있다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명의 위암 연관 유전자가 과발현된 형질전환 초파리 및 이의 제조방법에 따르면, 기존의 생쥐모델과 비교하여 조작이 용이하고, 다양한 형질전환 모델의 제작비용이 적게 들어 경제성이 우수하며, 위암 관련 표현형치료제의 스크리닝에 유용하게 사용될 수 있으며, 다양한 유전학적인 상호작용 연구를 수행하여 종양의 발생, 증식과 전이에 연관되는 기전을 밝혀내는데 도움을 줄 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 pUAST 벡터의 개열지도를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

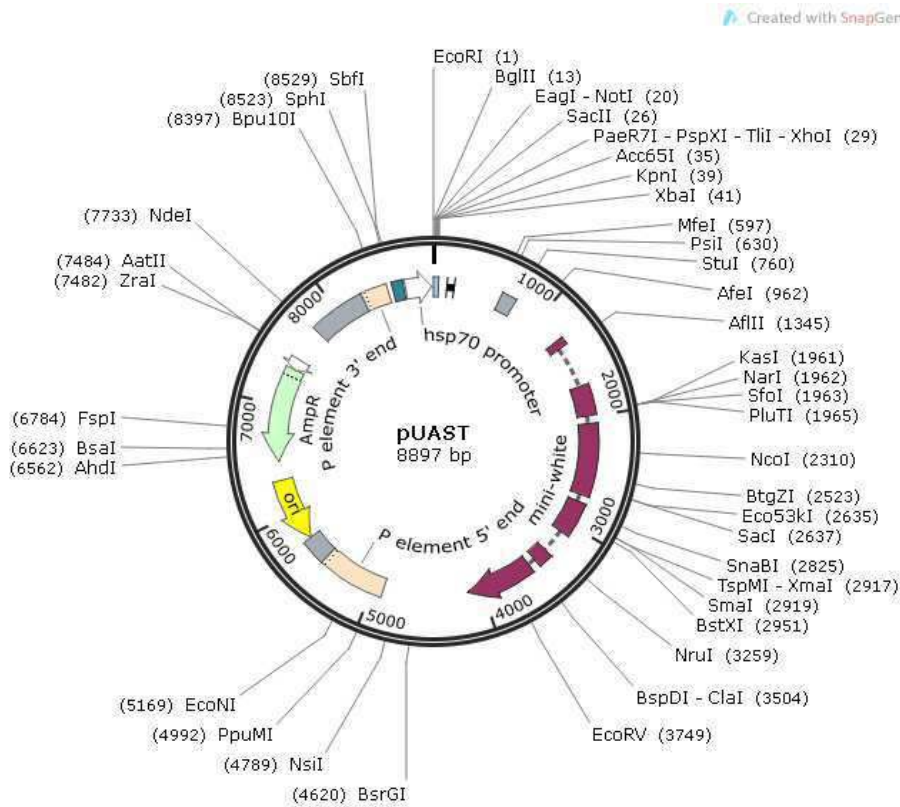
- [0025] 이하 본 출원에 따르는 실시예를 통하여 본 출원을 보다 상세히 설명하나, 본 출원의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다. 본 출원의 실시예는 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 본 출원을 보다

완전하게 설명하기 위하여 제공하는 것이다.

1. 위암 연관 유전자인 TP53를 과발현 시키는 형질전환 초파리 모델 제작

초파리에서 유전자를 조직 특이적으로 발현시킬 수 있는 발현시스템인 Gal4-pUAST을 활용하여 위암 연관 유전자를 과발현 시키는 형질전환(transgenic) 초파리 모델을 확립하기 위하여 위암연관 돌연변이들을 pUAST germ-line 형질전환벡터에 서브클로닝(subcloning)하였다.

1) 위암 연관 유전자인 TP53를 포함하는 초파리 형질전환용 벡터의 제작



2) 확립한 유전자벡터를 표준 생식세포계 유전자전달(standard germline transformation) 방법으로 전달하여 형질전환된 초파리를 제작

3) Gal4 프로모터를 이용하여 위암 연관 유전자인 TP53를 과발현 시키는 모델을 완성함

Promotor	Expression pattern
Gal4 ^{Tubulin}	All tissue and cells
Gal4 ^{ActinSC}	All tissue and cells
Gal4 ^{Drn}	Alimentary canal
Gal4 ^{DI}	Mid-gut stem cell
Gal4 ^{Kruppel}	Alimentary canal+fat body

UAS-lines	Comment
TP53 R175H	mutation

[0035]

[0036]

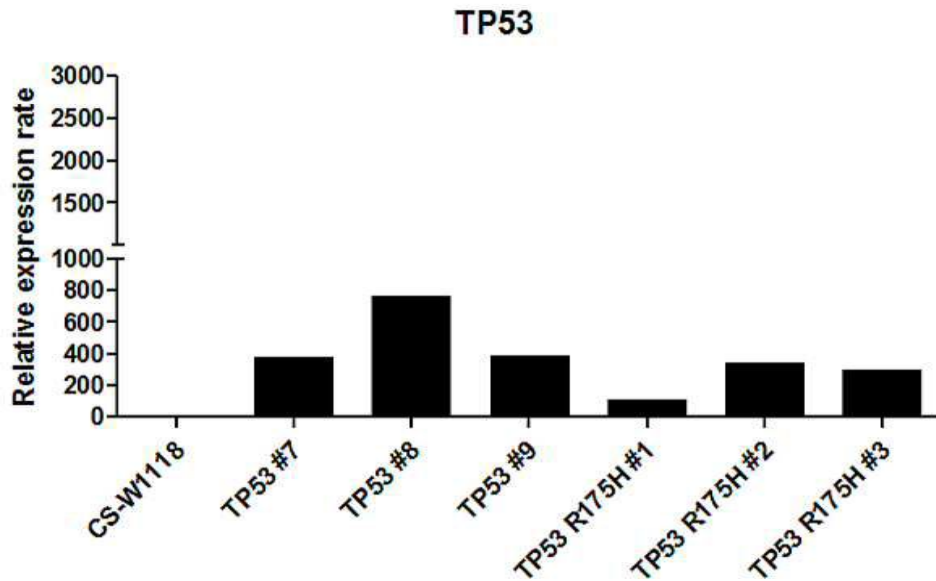
형질전환 초파리 TP53-pUAST 모델 9 계통 및 TP53_R175H-pUAST 모델 6 계통을 생산하였다.

[0038]

2. 형질전환 초파리의 TP53 유전자 발현 확인

[0039]

1) RT-PCR 확인



[0040]

[0041]

2) Western blot 확인



[0042]

[0043]

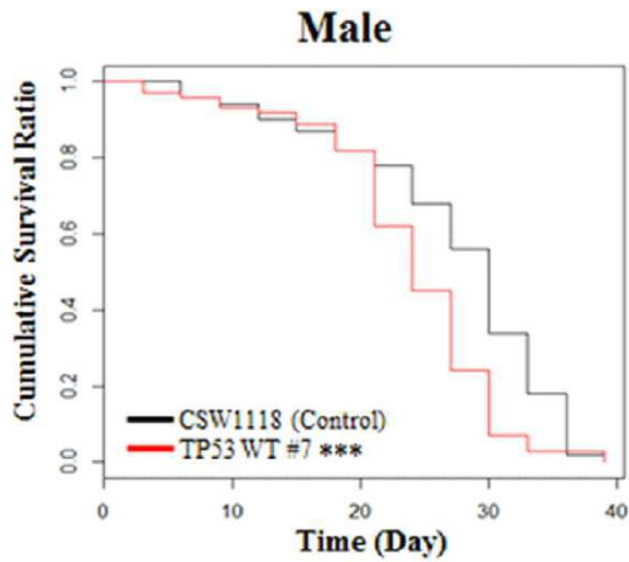
확립된 형질전환 초파리 계통 중 일부 계통들의 발현을 RT-PCR과 Western blotting으로 확인하여 검증하였다.

[0045]

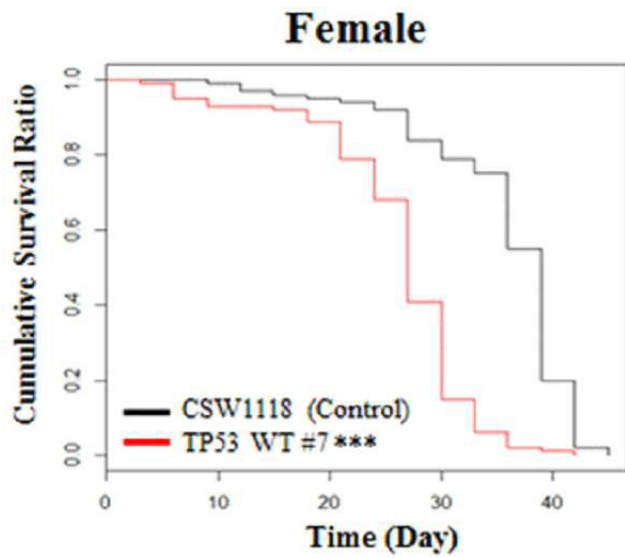
3. TP53 유전자가 삽입된 형질전환 초파리의 생존율

[0046]

1) TP53 유전자가 삽입된 초파리 모델(TP53 WT)과 형질전환되지 않은 초파리 모델(CSW118)의 생존율을 확인한 결과, 암컷과 수컷 모두 TP53 유전자가 삽입된 초파리 모델(TP53 WT)은 형질전환되지 않은 초파리 모델(CSW118)보다 생존율이 감소함을 확인하였다. (**p<0.01, *p<0.05)



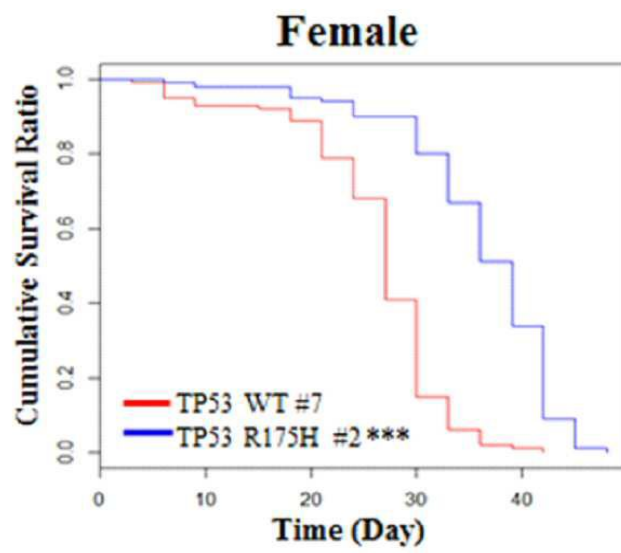
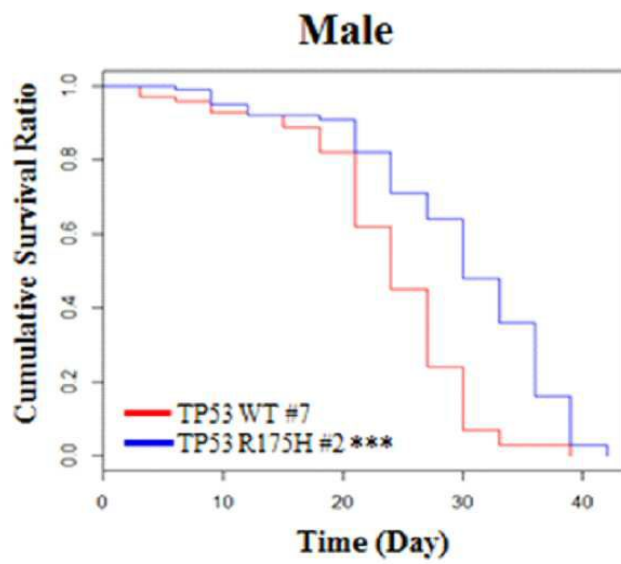
[0047]



[0048]

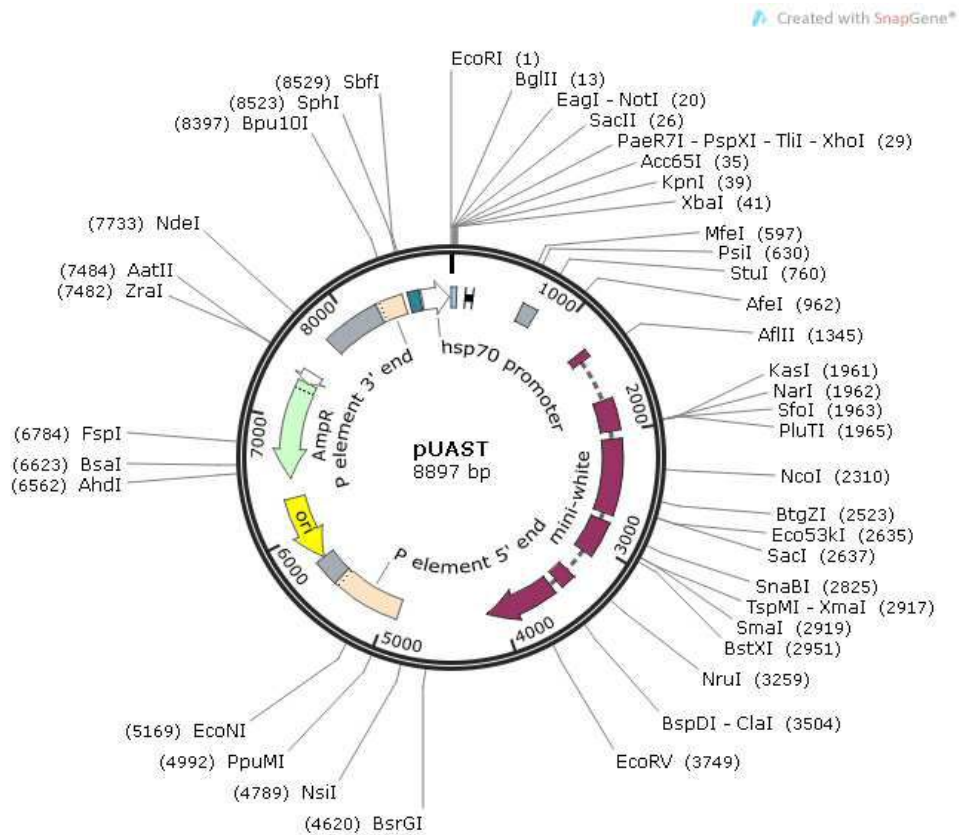
[0050]

2) TP53 유전자가 삽입된 초파리 모델(TP53 WT)과 염기가 한 개 결손된 초파리 모델(TP53 175deletion)의 생존율을 확인한 결과, 암컷과 수컷 모두 염기가 한 개 결손된 초파리 모델(TP53 175deletion)은 TP53 유전자가 삽입된 초파리 모델(TP53 WT)보다 생존율이 증가함을 확인하였다. (**p<0.001, **p<0.01, *p<0.05)



도면

도면1



서열 목록

- <110> Industry Academic Cooperation Foundation, Hallym University
- KOREA FOOD & DRUG ADMINISTRATION
- <120> A method for manufacturing Drosophila model, wherein the Drosophila expressing genome related to a gastric cancer
- <130> 18-FP-023
- <160> 5
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 1182
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> TP53
- <400> 1

atggaggagc cgcagtcaga tcttagcgtc gagccccctc tgagtcagga aacattttca

gacctatgga aactacttcc tgaaaacaac gttctgtccc ccttgccgtc ccaagcaatg	120
gatgatttga tgctgtcccc ggacgatatt gaacaatggt tcaactgaaga cccaggtcca	180
gatgaagctc ccagaatgcc agaggctgct ccccgctgg cccctgcacc agcagctcct	240
acaccggcgg cccctgcacc agccccctcc tggccccctgt catcttctgt cctttcccag	300
aaaacctacc agggcagcta cggtttccgt ctgggcttct tgcattcttg gacagccaag	360
tctgtgactt gcacgtactc cctgcccctc aacaagatgt tttgccaact ggccaagacc	420
tgccctgtgc agctgtgggt tgattccaca cccccgccg gcaccgcgt ccgcgccatg	480
gccatctaca agcagtcaca gcacatgacg gaggttgtga ggcgtgccc ccacatgag	540
cgctgctcag atagcgatgg tctggcccct cctcagcatc ttatccgagt ggaaggaaat	600
ttgcgtgtgg agtatttga tgacagaaac acttttcgac atagtgtggt ggtgccctat	660
gagccgcctg aggttggctc tgactgtacc accatccact acaactacat gtgtaacagt	720
tcctgcatgg gcggcatgaa ccggaggccc atcctcacca tcatcacact ggaagactcc	780
agtggtaatc tactgggacg gaacagcttt gaggtgcgtg tttgtgcctg tgctgggaga	840
gaccggcgca cagaggaaga gaatctccgc aagaaagggg agcctcacca cgagctgccc	900
ccaggagca ctaagcgagc actgccaac aacaccagct cctctccca gccaaagaag	960
aaaccactgg atggagaata ttaccctt cagatccgtg ggcgtgagcg cttcgagatg	1020
ttccgagagc tgaatgagc cttggaactc aaggatgccc aggcctgggaa ggagccaggg	1080
gggagcaggg ctactccag ccacctgaag tcaaaaagg gtcagtctac ctccgccat	1140
aaaaaactca tgttcaagac agaaggcct gactcagact ga	1182
<210> 2	
<211> 1182	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TP53 R175H	
<400> 2	
atggaggagc cgcagtcaga tcttagcgtc gagccccctc tgagtcagga aacattttca	60
gacctatgga aactacttcc tgaaaacaac gttctgtccc ccttgccgtc ccaagcaatg	120
gatgatttga tgctgtcccc ggacgatatt gaacaatggt tcaactgaaga cccaggtcca	180
gatgaagctc ccagaatgcc agaggctgct ccccgctgg cccctgcacc agcagctcct	240
acaccggcgg cccctgcacc agccccctcc tggccccctgt catcttctgt cctttcccag	300
aaaacctacc agggcagcta cggtttccgt ctgggcttct tgcattcttg gacagccaag	360

tctgtgactt gcacgtactc ccctgccctc aacaagatgt tttgccaact ggccaagacc 420
 tgcctgtgac agctgtgggt tgattccaca cccccgccg gcaccgcgt ccgcgccatg 480
 gccatctaca agcagtcaca gcacatgacg gaggttgtga ggcaactgcc ccacatgag 540

cgctgctcag atagcgatgg tctggcccct cctcagcatc ttatccgagt ggaaggaaat 600
 ttgcgtgtgg agtatttggg tgacagaaac acttttcgac atagtgtggt ggtgccctat 660
 gagccgcctg aggttggctc tgactgtacc accatccact acaactacat gtgtaacagt 720
 tcctgcatgg gcggcatgaa ccggaggccc atcctcacca tcacacact ggaagactcc 780
 agtggtaatc tactgggacg gaacagcttt gaggtgcgtg tttgtgcctg tgctgggaga 840
 gaccggcgca cagaggaaga gaatctccgc aagaaagggg agcctcacca cgagctgccc 900
 ccaggggagca ctaagcgagc actgcccac aacaccagct cctctcccca gccaaagaag 960

aaaccactgg atggagaata tttcacctt cagatccgtg ggctgagcg cttcgagatg 1020
 ttccgagagc tgaatgagc cttggaactc aaggatgcc aggctgggaa ggagccaggg 1080
 gggagcaggg ctactccag ccacctgaag tcaaaaagg gtcagtctac ctccgccat 1140
 aaaaaactca tgttcaagac agaaggcct gactcagact ga 1182

<210> 3

<211> 1182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TP53 R175H amino acid

<400> 3

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1 5 10 15

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

35 40 45

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

50 55 60

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

65 70 75 80

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

85 90 95
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
100 105 110
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
115 120 125
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
130 135 140
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
165 170 175
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
180 185 190
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
195 200 205
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
210 215 220
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

225 230 235 240
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
245 250 255
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
260 265 270
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
275 280 285
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
290 295 300

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
305 310 315 320
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
325 330 335
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

340 345 350

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

370 375 380

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

405 410 415

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

420 425 430

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

435 440 445

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
450 455 460

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
465 470 475 480

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
485 490 495

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
500 505 510

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

515 520 525

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a A|a

565 570 575

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

580 585 590

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
595 600 605

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
610 615 620

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
625 630 635 640

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
645 650 655

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
660 665 670

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
675 680 685

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
690 695 700

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
705 710 715 720

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
725 730 735

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
740 745 750

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
755 760 765

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
770 775 780

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
785 790 795 800

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
805 810 815

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
820 825 830

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
835 840 845

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
850 855 860
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
865 870 875 880

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
885 890 895
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
900 905 910
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
915 920 925
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
930 935 940
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

945 950 955 960
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
965 970 975
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
980 985 990
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
995 1000 1005
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1010 1015 1020

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1025 1030 1035 1040
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1045 1050 1055
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1060 1065 1070
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1075 1080 1085
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1090 1095 1100
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1105 1110 1115 1120
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1125 1130 1135
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1140 1145 1150
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1155 1160 1165

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1170 1175 1180
<210> 4
<211> 8904
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> pUAST
<400> 4

aagcttgggc tgcattcttc cggatccaag ctgcatgcc tgcaggctcg agtactgtcc 60
tccgagcgga gtactgtcct ccgagcggag tactgtcttc cgagcggagt actgtcctcc 120
gagcggagta ctgtcctccg agcggagact ctgagcgcg ccggagtata aatagaggcg 180
cttcgtctac ggagcgacaa ttcaattcaa acaagcaaag tgaacacgtc gctaagcgaa 240

agctaagcaa ataaacaagc gcagctgaac aagctaaaca atctgcagta aagtgaagt 300
taaagtgaat caattaaaag taaccagcaa ccaagtaaat caactgcaac tactgaaatc 360
tgccaagaag taattattga atacaagaag agaactctga atagggaatt gggaattcgt 420
taacagatct tgcggccgcg ctcgagggtta cctctagagg atctttgtga aggaacctta 480
cttctgtggt gtgacataat tggacaaact acctacagag atttaaagct ctaaggtaaa 540
tataaaattt ttaagtgtat aatgtgttaa actactgatt ctaattgttt gtgtatttta 600
gattccaacc tatggaactg atgaatggga gcagtgtgtg aatgccttta atgaggaaaa 660

cctgttttgc tcagaagaaa tgccatctag tgatgatgag gctactgctg actctcaaca 720
ttctactcct caaaaaaga agagaaaggt agaagacccc aaggactttc cttcagaatt 780
gctaagtttt ttgagtcatg ctgtgttttag taatagaact cttgcttgct ttgctattta 840
caccacaaag gaaaaagctg cactgctata caagaaaatt atggaaaaat atttgatgta 900

tagtgccttg actagagatc ataatcagcc ataccacatt tgtagaggtt ttacttgctt	960
taaaaaacct cccacacctc cccctgaacc tgaaacataa aatgaatgca attgtgttg	1020
ttaacttggt tattgcagct tataatggtt acaataaag caatagcatc acaaatttca	1080
caaataaagc atttttttca ctgcatttca gttgtggttt gtccaaactc atcaatgttn	1140
cttatcatgt ctggatccac tagaaggcct aattcaattc tagtatgtat gtaagttaat	1200
aaaacccttt ttggagaat gtagatttaa aaaaacatat tttttttta ttttttactg	1260
cactggatat cattgaactt atctgatcag ttttaaattt acttcgatcc aagggtattt	1320
gaagtaccag gttcttttca ttacctctca ctcaaaatga cattccactc aaagtcagcg	1380
ctgtttgcct ccttctctgt ccacagaaat atcgccgtct ctttcgccgc tgcgtccgct	1440
atctctttcg ccaccgtttg tagcgttacc tagcgtcaat gtccgccttc agttgcactt	1500
tgtcagcggg ttctgtacga agctccaagc ggtttacgcc atcaattaaa cacaaagtgc	1560
tgtagccaaa ctctctctgc ttcttatttt tgtttgtttt ttgagtgatt ggggtggtga	1620
ttggttttgg gtgggtaagc aggggaaagt gtgaaaaatc ccggcaatgg gccaaagagga	1680
tcaggagcta ttaattcgcg gaggcagcaa acaccatct gccgagcatc tgaacaatgt	1740
gagtagtaca tgtgcataca tcttaagttc acttgatcta taggaactgc gattgcaaca	1800
tcaaattgtc tgcggcgtga gaactgcgac ccacaaaaat cccaaaccgc aatcgacaaa	1860
acaaatagtg acacgaaaca gattattctg gtagctgtgc tcgctatata agacaatttt	1920
taagatcata tcatgatcaa gacatctaaa ggcattcatt ttcgactaca ttctttttta	1980
caaaaaatat aacaaccaga tattttaagc tgatcctaga tgcacaaaaa ataaataaaa	2040
gtataaacct acttcgtagg atacttcgtt ttgttcgggg ttagatgagc ataacgcttg	2100
tagttgatat ttgagatccc ctatcattgc aggggtgacag cggacgcttc gcagagctgc	2160
attaaccagg gcttcgggca ggccaaaaac tacggcacgc tctgccacc cagtcgcgcg	2220
gaggactccg gttcaggagg cggccaacta gccgagaacc tcacctatgc ctggcacaat	2280
atggacatct ttggggcggt caatcagccg ggctccggat ggcggcagct ggtcaaccgg	2340
acacgcggac tattctgcaa cgagcgacac ataccggcgc ccaggaaaca ttgtctcaag	2400
aacggtgagt ttctattcgc agtcggctga tctgtgtgaa atcttaataa agggccaat	2460
taccaatttg aaactcagtt tgcggcgtgg cctatccggg cgaacttttg gccgtgatgg	2520
gcagttccgg tgccggaaag acgaccctgc tgaatgcctt tgccttttga tcgccgcagg	2580
gcatccaagt atcgccatcc gggatgcgac tgctcaatgg ccaacctgtg gacgccaagg	2640
agatgcaggc cagggtgcgc tatgtccagc aggatgacct ctttatcggc tccctaaccg	2700

ccagggaaca cctgattttc caggccatgg tgcggatgcc acgacatctg acctatcggc	2760
agcgagtggc ccgcgtggat caggatgatcc aggagctttc gctcagcaaa tgtcagcaca	2820
cgatcatcgg tgtgcccggc aggggtgaaag gtctgtccgg cggagaaaagg aagcgtctgg	2880
cattcgcttc cgaggcacta accgatccgc cgcttctgat ctgcgatgag cccacctccg	2940
gactggactc atttaccgcc cacagcgtcg tccagggtgt gaagaagctg tcgcagaagg	3000
gcaagaccgt catcctgacc attcatcagc cgtcttccga gctgtttgag ctctttgaca	3060
agatccttct gatggccgag ggcagggtag ctttcttggg cactcccagc gaagccgtcg	3120
acttcttttc ctagttagtt cgatgtgttt attaagggtg tctagcatta cattacatct	3180
caactcctat ccagcgtggg tgcccagtgt cctaccaact acaatccggc ggacttttac	3240
gtacaggtgt tggccgttgt gcccggacgg gagatcgagt cccgtgatcg gatcgccaag	3300
atatggcgac aattttgcta ttagcaaatg agcccgggat atggagcagt tgttggccac	3360
caaaaatttg gagaagccac tggagcagcc ggagaatggg tacacctaca aggccacctg	3420
gttcatgcag ttccggcgcg tctgtggcg atcctggctg tcggtgctca aggaaccact	3480
cctcgtaaaa gtgcgactta ttacagacaac ggtgagtggt tccagtggaa acaaatgata	3540
taacgcctac aattcttggg aacaaattcg ctgattttta gttagaattg cctgattcca	3600
cacccttctt agtttttttc aatgagatgt atagtttata gttttgcaga aaataaataa	3660
atttcattta actcgcgaac atgttgaaga tatgaatatt aatgagatgc gagtaacatt	3720
ttaatttgca gatgggtgcc atcttgattg gcctcatctt tttgggcaa caactcacgc	3780
aagtggcgt gatgaatata aacggagcca tcttctctt cctgaccaac atgacctttc	3840
aaaacgtctt tgccacgata aatgtaagtc ttgttttaga tacatttgca tattaataat	3900
ttactaactt tctaataaat cgattcgatt taggtgttca cctcagagct gccagttttt	3960
atgagggagg cccgaagtcg actttatcgc tgtgacacat actttctggg caaacgatt	4020
gccgaattac cgctttttct cacagtgcc ctggtcttca cggcgattgc ctatccgatg	4080
atcggaactgc gggccggagt gctgcacttc ttcaactgcc tggcgtggt cactctggtg	4140
gccaatgtgt caacgtcctt cggatatcta atatcctgcg ccagctctc gacctcgatg	4200
gcgtgtctg tgggtccgcc ggttatcata ccattcctgc tctttggcgg cttcttcttg	4260
aactcgggt cggtgccagt atacctcaaa tggttgtcgt acctctcatg gtccgttac	4320
gccaacgagg gtctgctgat taaccaatgg gcggacgtgg agccgggcga aattagctgc	4380
acatcgtcga acaccacgtg cccagttcg ggcaaggtca tcctggagac gcttaacttc	4440

tccgccgccc atctgccgct ggactacgtg ggcttgcca ttctcatcgt gagcttccgg	4500
gtgctcgcat atctggctct aagacttcgg gcccgacgca aggagtagcc gacatatatc	4560
cgaaataact gcttgttttt ttttttacca ttattacat cgtgtttact gttttattgcc	4620
ccctcaaaaa gctaatgtaa ttatatgtt gcccaataaaa acaagatatg acctatagaa	4680
tacaagtatt tccccttcga acatccccac aagtagactt tggatttgtc ttctaaccaa	4740
aagacttaca caccitgcata ctttaccatca aaaactcggt tatcgctaca taaaacaccg	4800
ggatatatgt tttatataca tacttttcaa atcgcgcgcc ctcttcataa ttcacctcca	4860
ccacaccacg tttcgtagt gtcttttcgc tgcctccac ccgctctccg caacacattc	4920
accttttggt cgacgacctt ggagcgactg tcgttagttc cgcgcgattc ggttcgctca	4980
aatggttccg agtgggtcat ttctgtcaa tagaaattag taataaatat ttgtatgtac	5040
aattttattg ctccaatata ttgtatata ttccctcac agctatatgt attctaatgt	5100
aatattatga ctttttaagg taattttttg tgacctgttc ggagtgttta gcgttacaat	5160
ttgaactgaa agtgacatcc agtgtttgtt cttgtgttag atgcatctca aaaaaatggt	5220
gggcataata gtgttgttta tatatatcaa aaataacaac tataataata agaatacatt	5280
taatttagaa aatgcttggg tttcactgga actagaatta attcggctgc tgctctaac	5340
gacgcatttc gtactccaaa gtacgaattt ttccctcaa gctcttattt tcattaaaca	5400
atgaacagga cctaacgcac agtcacgtta ttgtttacat aaatgatttt ttttactatt	5460
caaacttact ctgttttgtt actccactg gtatagcctt cttttatctt ttctggttca	5520
ggctctatca ctttactagg tacggcatct gcgttgagtc gcctcctttt aaatgtctga	5580
ccttttgtag gtgcagcctt ccactgcgaa tctttaaagt gggtatcaca aatttgggag	5640
ttttcaccaa ggctgcaccc aaggctctgc tcccacaatt ttctcttaat agcacacttc	5700
ggcacgtgaa ttaattttac tccagtcaca gctttgcagc aaaatttgca atatttcatt	5760
tttttttatt ccacgtaagg gttaatgttt tcaaaaaaaa attcgtccgc acacaacctt	5820
tcctctcaac aagcaaacgt gcaactgaatt taagtgtata cttcggttag cttcggtat	5880
cgacgggacc accttatgtt atttcatcat gggccagacc cacgtagtcc agcggcagat	5940
cggcggcgga gaagttaagc gtctccagga tgaccttgcc cgaactgggg cacgtggtgt	6000
tcgacgatgt gcagctaatt tcgcccggct ccactgcgc ccattggtta atcagcagac	6060
cctcgttggc gtaacggaac catgagaggt acgacaacca tttgaggtat actggcaccg	6120
agcccagatt caagaagaag gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca	6180
aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt	6240
ttccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc	6300

tgccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca atgctcacgc ttaggtatc	6360
tcagttcggg ttaggtcggt gcctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc	6420
ccgaccgtg cgccttatcc ggtaactatc gtcttagtc caaccggta agacacgact	6480
tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcgggtg	6540
ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttggtg	6600
tctgcgtctt gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca	6660
aacaaccac cgctggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa	6720
aaaaaggatc tcaagaagt cctttgatct ttctacggg gtctgacgt cagtgaacg	6780
aaaactcacg ttaagggtt ttggcatga gattatcaa aaggatctt acctagatcc	6840
ttttaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg	6900
acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta ttctgttcat	6960
ccatagttag ctgactcccc gtcgttaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg	7020
gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgtcacc ggctccagat ttatcagcaa	7080
taaacaccgc agccggaagg gccgagcgca gaagtgggtc tgcaacttta tccgcctcca	7140
tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag ttccccagtt aatagtttgc	7200
gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tgggtgcacg ctctgtctt ggtatggctt	7260
cattcagtc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg atccccatg ttgtgcaaaa	7320
aagcggttag ctcttcggg cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtgttat	7380
caatcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct	7440
tttctgtgac tggtagtagt tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga	7500
gttgccttgc cccggcgta atacgggata ataccgccc acatagcaga actttaaaag	7560
tgctcatcat tgaaaaagc tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgtgttga	7620
gatccagttc gatgtaaccc actcgtgcac ccaactgac ttcagcatct ttactttca	7680
ccagcgttgc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggg	7740
cgacacggaa atgttgaata ctactactct tctttttca atattattga agcatttacc	7800
agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag	7860
gggttcgcgc cacatttccc gaaaaagtgc cacctgacgt ctaagaaacc attattatca	7920
tgacattaac ctataaaaat aggcgtatca cgaggccctt tcgtctcgcg cgtttcgggtg	7980
atgacgggtg aaacctctga cacatgcagc tcccggagac ggtcacagct tgtctgtaag	8040
cggatgccgg gagcagacaa gcccgtcagg gcgcgtcagc ggggtgttggc ggggtgtcggg	8100
gctggcttaa ctatcggcca tcagagcaga ttgtactgag agtgcacat atgcggtgtg	8160

aaataccgca ccgaatcgcg cggaactaac gacagtcgct ccaaggtcgt cgaacaaaag	8220
gigaatgtgt tgcggagagc ggggtgggaga cagcgaaaga gcaactacga aacgtggtgt	8280
ggtaggagtg aattatgaag agggcgcgcg atttgaaaag tatgtatata aaaaatatat	8340
cccgtgtttt tatgtagcga taaacgagtt ttgatgtaa ggtatgcagg tgtgtaagtc	8400
ttttggttag aagacaaatc caaagtctac ttgtggggat gttcgaagg gaaatacttg	8460
tattctatag gtcatatctt gtttttattg gcacaaatat aattacatta gctttttgag	8520
ggggcaataa acagtaacac cgatggtaat aatggtaaaa aaaaaacaa gcagttattt	8580
cggatatatg tcggctactc cttgcgtcgg gcccgaaagtc ttagagccag atatgcgagc	8640
acccggaagc tcacgatgag aatggccaga ccatgatgaa ataacataag gtggcccgt	8700
cggcaagaga catccactta acgtatgctt gcaataagtg cgagtgaag gaatagtatt	8760
ctgagtgtcg tattgagctt gagttagaca gcgatatgat tgttgattaa cccttagcat	8820
gtccgtgggg ttgaattaa ctcataatat taattagacg aaattatttt taaagtttta	8880
ttttaataa ttgctgagta cgca	8904
<210> 5	
<211> 5015	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> pcDNA3.1/Zeo(+)	
<400> 5	
gacggatcgg gagatctccc gatccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg	60
ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg	120
cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc	180
ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt	240
gattattgac tagttattaa tagtaataca ttacggggtc attagttcat agcccatata	300
tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggtgacgcg cccaacgacc	360
cccgccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc	420
attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccc cttggcagta catcaagtgt	480
atcatatgcc aagtacgcc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt	540
atgccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca	600
tcgtatttac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg	660
actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc	720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg	780
gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca	840
ctgcttactg gcttatcgaa attaatcaga ctactatag ggagacccaa gctggctagc	900
gtttaaactt aagcttggtg ccgagctcgg atccactagt ccagtggtgt ggaattctgc	960
agatatccag cacagtggcg gccgctcgag tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca	1020
gcctcgactg tgccttctag ttgccageca tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc	1080
ttgaccttgg aaggtgccac tccactgtc ctttctaata aaaatgagga aattgcatcg	1140
cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg	1200
gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag	1260
gcggaaagaa ccagctgggg ctctaggggg tatccccacg cgccctgtag cggcgcatca	1320
agcgcgccgg gtgtggtggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg	1380
cccgtcctt tcgttttctt ccttccctt ctgccacgt tcgccggctt tccccgtcaa	1440
gctctaaatc ggggcatccc tttaggggtc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc	1500
aaaaaacttg attagggtga tggttcacgt agtgggcat cgccctgata gacggttttt	1560
cgcccttga cgttgagtc cagttcttt aatagtggac tcttgttcca aactggaaca	1620
acactcaacc ctatctcggc ctattctttt gatttataag ggattttggg gatttcggcc	1680
tattggttaa aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg	1740
tgtgtcagtt aggtgttgga aagtccccag gtcccccagg caggcagaag tatgcaaagc	1800
atgcatctca attagtgcgc aaccagggtg ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga	1860
agtatgcaaa gcatgcatct caattagtca gcaacatag tcccgcctt aactccgccc	1920
atccccccc taactccgcc cagtccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt	1980
tttatttatg cagaggccga ggccgcctct gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga	2040
ggcttttttg gaggcctagg cttttgcaaa aagctcccgg gagcttgat atccattttc	2100
ggatctgac agcacgtgtt gacaattaat catcggcata gtatatcggc atagtataat	2160
acgacaaggt gaggaactaa accatggcca agttgaccag tgccgttccg gtgctcaccg	2220
cgcgcgacgt cgccggagcg gtcgagttct ggaccgaccg gctcgggttc tcccgggact	2280
tcgtggagga cgacttcgcc ggtgtggtcc gggacgacgt gacctgttc atcagcgcg	2340
tccaggacca ggtggtgccg gacaacaccc tggcctgggt gtgggtgccc ggcctggacg	2400
agctgtacgc cgagtggtcg gaggtcgtgt ccacgaactt ccgggacgcc tccgggccgg	2460

ccatgaccga gatcggcgag cagccgtggg ggcgggagtt cgcctgcgc gacccggccg	2520
gcaactgcgt gcacttcgtg gccgaggagc aggactgaca cgtgctacga gatttcgatt	2580
ccaccgccgc ctctatgaa aggttgggct tcggaatcgt tttccgggac gccggctgga	2640
tgatcctcca gcgcggggat ctcatgctgg agttcttcgc ccacccaac ttgtttattg	2700
cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatitt	2760
tttactgca ttctagtgtt ggtttgctca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgta	2820
taccgtcgac ctctagctag agcttggcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa	2880
attgttatcc gtcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct	2940
ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc	3000
agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg	3060
gtttgcgtat tgggcgtctt tccgtttcct cgtcactga ctgcgtgcgc tcggtcgttc	3120
ggctgcggcg agcgggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag	3180
gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa	3240
aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc	3300
gacgtcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc	3360
ctggaagctc cctcgtgcgc tctctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg	3420
cctttctccc ttcggaagc gtggcgcttt ctcaatgctc acgctgtagg tatctcagtt	3480
cggtagtagt cgttcgtcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt cagcccgacc	3540
gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacce ggtaagacac gacttatcgc	3600
cactggcagc agccactggt aacaggattia gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag	3660
agttcttgaa gtgtggcct aactacggct aactagaag gacagtatct ggtatctgcg	3720
ctctgctgaa gccagttacc ttcgaaaaaa gatttggtag ctcttgatcc ggcaaaaaa	3780
ccaccgtgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaag	3840
gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact	3900
cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa	3960
attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt	4020
accaatgctt aatcagttag gcaacctatc cagcgatctg tctatctcgt tcatccatag	4080
ttgcctgact ccccgctcgt tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca	4140
gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc	4200

agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt	4260
ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg	4320
ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca	4380
gtcccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg	4440
ttagtccttt cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca	4500
tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg	4560
tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct	4620
cttccccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgtca	4680
tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca	4740
gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg	4800
tttctgggtg agcaaaaaa ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac	4860
ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt	4920
attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca ataggggttc	4980
cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtc	5015