



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년03월13일
(11) 등록번호 10-0888377
(24) 등록일자 2009년03월05일

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01) *C12Q 1/70* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2003-7017171

(22) 출원일자 2003년12월29일

심사청구일자 2007년04월06일

번역문제출일자 2003년12월29일

(65) 공개번호 10-2005-0119220

(43) 공개일자 2005년12월21일

(86) 국제출원번호 PCT/US2002/020684

국제출원일자 2002년06월28일

(87) 국제공개번호 WO 2003/002753

국제공개일자 2003년01월09일

(30) 우선권주장

60/302,077 2001년06월28일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

J. Viol. Met., 44(2-3), Abstract(1993)*

J. Virol., 58(3), 921-936(1986)*

J. Clin., Virol., 13, 95-103(1999)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

노바티스 백신즈 앤드 다이아그노스틱스 인코포레이티드

미합중국 캘리포니아 94608-2916 엠머리빌 호튼 스트리트 4560

(72) 발명자

피추안테스 서지오

미국 캘리포니아 94530 엘 세리토 알링톤 불러바드 1505

시아말라 벤카타리쉬나

미국 캘리포니아 94605 오클랜드 선 밸리 드라이브 11430

(74) 대리인

김정옥, 박종혁, 송봉식, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 허주형

(54) 파르보바이러스 B19의 진단 분석

(57) 요약

파르보바이러스 B19 게놈의 보존성 영역으로부터 유래된 사람 파르보바이러스 B19 프라이머 및 프로브가 개시된다. 또, 프라이머 및 프로브를 이용한 핵산-기초 분석이 개시된다.

(30) 우선권주장

60/365,956 2002년03월19일 미국(US)

60/369,224 2002년03월29일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19를 검출하는 방법에 있어서,

사람 파르보바이러스를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로부터 핵산을 분리하는 단계로서, 여기에서 (i) 표적 핵산 가닥이 생물학적 샘플에 존재하는 경우 포착 핵산과 혼성화하는 생물학적 샘플과, 고체 지지체와 결합된 포착 핵산을 포함하는 자성 비드를 포함하는 상기 고체 지지체를 접촉시키는 단계, 및 (ii) 생물학적 샘플로부터 고체 지지체를 분리하는 단계를 포함하는 방법에 의해, 생물학적 샘플로부터 핵산을 분리하는 단계, 여기에서 상기 포착 핵산은 SEQ ID NOS:49-54의 올리고뉴클레오타이드 중 하나 이상과 SEQ ID NO:55의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 것이다;

센스 및 안티센스 프라이머를 사용하여 분리된 핵산을 증폭하는 단계로서, (a) 상기 센스 프라이머는 SEQ ID NO:88로 구성되고, (b) 상기 안티센스 프라이머는 SEQ ID NO:89로 구성되는 단계; 및

샘플에서 사람 파르보바이러스 B19의 존재의 표시로서 증폭된 핵산의 존재를 검출하는 단계를 포함하고,

상기 증폭 단계는 상기 센스 및 안티센스 프라이머를 사용한 형광성 5' 뉴클레아제 분석을 사용하고, 상기 검출 단계는 검출가능한 표지를 포함하는 하나 이상의 프로브를 사용하여 수행하고, 상기 방법은 SEQ ID NO:92의 뉴클레오타이드 서열로부터 유래한 내부 대조표준 서열을 사용하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은, 포착 핵산을 고체 지지체에 연결하기 위한 호모폴리머 사슬을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 호모폴리머 사슬은 폴리 A 사슬인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항에 있어서, 검출가능한 표지는 6-카르복시플루오레세인(6-FAM), 테트라메틸로다민(TAMRA), 및 2',4',5',7'-테트라클로로-4-7-디클로로플루오레세인 (TET)으로 구성된 군으로부터 선택된 형광 표지인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 프로브는 5' 말단 및 3' 말단에 검출가능한 표지를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제 1 항에 있어서, 내부 대조표준 서열에 대한 검출가능하게 표지된 프로브 서열을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:49 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:50 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:51 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:52 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:53 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:54 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:49, 52, 53 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NO:55의 올리고뉴클레오타드 및 SEQ ID NOS:49-54의 올리고뉴클레오타드 중 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 포착 핵산은 SEQ ID NOS:49, 52, 53 및 55의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19를 검출하는 키트에 있어서,

SEQ ID NOS:49-55로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 올리고뉴클레오타드를 포함하는 포착 핵산;

프라이머 올리고뉴클레오타드 중 하나는 SEQ ID NO:88로 구성되고, 나머지 하나의 프라이머 올리고뉴클레오타드는 SEQ ID NO:89로 구성되는, 한 쌍의 프라이머 올리고뉴클레오타드;

검출가능한 표지를 포함하는 하나 이상의 프로브 올리고뉴클레오타드; 및

SEQ ID NO:92의 뉴클레오타드 서열로부터 유래한 내부 대조표준 서열을 포함하는 키트.

청구항 22

제 21 항에 있어서, 중합효소와 완충액을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 23

삭제

청구항 24

제 21 항에 있어서, 검출가능한 표지는 6-카르복시플루오레세인(6-FAM), 테트라메틸로다민(TAMRA), 및 2',4',5',7'-테트라클로로-4-7-디클로로플루오레세인 (TET)으로 구성된 군으로부터 선택된 형광 표지인 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 25

제 24 항에 있어서, 프로브는 5' 말단 및 3' 말단에 검출가능한 표지를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 바이러스 진단에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 파르보바이러스 B19 감염을 정확히 진단하기 위한 핵산-기초 분석, 및 이 분석에서 사용하는 프라이머 및 프로브에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 사람 파르보바이러스 B19는 파르보비리데 과, 에리트로바이러스 속의 구성원이다. 약 5,600 뉴클레오티드의 선형 단일 가닥 DNA 분자를 가지고 있는 작은 22-nm 20면체의 외피 없는 바이러스이다. 바이러스 게놈은 VP1, VP2 및 NS1의 3가지 주요 단백질을 암호화한다. Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936 및 도 1 참조.
- <3> VP1(83kDa)과 VP2(58kDa)는 캡시드의 구조 단백질이다. 이 2개의 단백질은 약 뉴클레오티드 2444에서 4789까지 그리고 3125에서 4789까지의 중복 리딩 프레임에서 각각 암호화된다. VP2는 캡시드의 95%를 구성하고, 큰 VP1 단백질이 캡시드의 5%를 구성한다. VP1은 바이러스의 성숙한 형태에 필요하다. NS1(77kDa)는 비구조적 단백질이고, 감염된 세포의 핵 부분에만 존재하며, 세포질에는 없고, 혈청에는 완전한 비리온으로 있다.
- <4> 파르보바이러스 B19는 정상적 혈액 공여자의 혈청에서 처음으로 발견되었으며, 사람에서 병원성인 것으로 알려진 파르보비리데 과의 유일한 구성원이다. 이 바이러스는 넓은 범위의 질병 징후와 관련되어 있다. 통상, 사람 파르보바이러스 B19는 아이들에게 증상이 없거나 가벼운 자기-제한적 감염을 야기한다. 성인에서는 파르보바이러스 B19는 발진성, 일시적 대칭 복수관절통 및 관절염을 야기한다. 파르보바이러스 B19는 잠재적 용혈성 질병이 있는 환자에서 일시적 골수무형성 위기(TAC)와 관련되어 있다. 만성적 B19 감염과 지속적인 빈혈증이 급성 백혈병, 선천적 면역결핍증, AIDS 그리고 이후의 골수이식을 받은 면역손상된 환자에서 보고되었다. 파르보바이러스 B19는 또한 임신부에서의 태아사망과 관련된다.
- <5> 대부분의 나라에서는 일반적으로 어린 시절에 B19 바이러스 감염이 일어나는데, 약 50%의 아이들이 15세까지 항-B19 항체를 가진다. 일생 동안 B19 항체 유병율은 더욱 증가할 수 있고, 노인들에서는 90% 이상의 값에 도달한다.
- <6> 사람 파르보바이러스 B19 감염에서, 초기 바이러스 복제는 호흡기에서 발생하는 것으로 여겨진다. 그 다음에 바이러스는 골수에 있는 세포를 표적으로 한다. 이는 대규모 바이러스 복제를 가져오는데, $10^2 \sim 10^{14}$ 입자/ml의 바이러스혈증이 보고되었으며, 감염된 후 증상이 개시되기 전까지는 7-10일이 걸린다. 바이러스혈증의 정지는 2-3개월 동안 상승된 채로 있는 특이적 IgM 항체의 검출과 일치한다. IgM 항체가 나타난 후 수일 내에 항-B19 항체가 검출되고 일생 동안 지속된다.
- <7> 지질 외피의 부재와 제한된 DNA 내용이 파르보바이러스 B19를 물리화학적 비활성화에 내성으로 만든다. 특히, 고 농도에서 파르보바이러스 B19는 혈액 산물에 대한 종래의 열처리를 견딜 수 있으며, 용매-세제 처리된 인자 VIII 및 증기 또는 건조-가열된 인자 VIII와 IV 제제의 투여를 통한 전달이 보고되었다.
- <8> 사람 파르보바이러스 B19는 보편적인 세포 배양으로 기를 수 없기 때문에 실험실에서 바이러스를 검출하고 분리하는 것이 매우 어렵다. 따라서, 오랫동안 항원의 유일한 출처는 바이러스혈증 환자로부터의 혈청으로 구성되었다. 이들 문제를 회피하고자 하는 시도로 혈청학적 분석에서 사용하기 위한 재조합 항원이 생산되었다. Sisk and Berman, *Biotechnology* (1987) 5:1077-1080; U.S. Patent No. 6,204,044 참조.
- <9> 최근의 B19 감염을 진단할 뿐만 아니라 항-B19 IgM를 검출하기 위해서 면역효소적 IgM 포착 분석이 사용되었다. 그러나, 많은 상업적으로 입수가능한 시험의 진단적 성능은 동질적이지 않다. 추가로, IgM에 기초한 진단 시험은 감염의 바이러스혈증 단계 동안에는 바이러스를 검출할 수 없으며, 일단 IgM 항체가 합성되면, 이들은 바이러스혈증 단계가 끝난 후에 수 개월 동안 순환계 중에 남아 있을 수 있다.
- <10> 높은 바이러스혈증은 통상 일주일 동안만 지속된다는 사실과 함께 정상 모집단에서 B19 항체의 높은 유병율로 인하여 혈청학적 시험을 이용하는 것은 비실용적이다. 추가로, 면역손상된 환자에서의 혈청학적 진단은 신뢰할 수 없다.
- <11> 닷 블랏과 *in situ* 혼성화와 같은 핵산에 기초한 혼성화 분석이 B19 검출을 위해 사용되었다. 이러한 분석의 검출한계는 일반적으로 1~0.1pg 바이러스 DNA(약 $10^4 \sim 10^5$ 바이러스 입자)이다. PCR은 감수성이 더 높다(약 100 게놈 카피). 그러나, DNA 혼성화 기술은 시간-소모적이며 사용하는데 한계가 있고, PCR은 많은 수의 샘플을 스크리닝하는데 비실용적이다.
- <12> 따라서, 혈액 및 혈장 유도체를 통한 또는 개인의 밀접한 접촉에 의한 바이러스 전달을 막기 위해서, 바이러스혈증 샘플에서 파르보바이러스 B19를 검출하기 위한 신뢰할 만한 진단 시험을 개발할 필요성이 남아 있다.
- <13> 발명의 개요

- <14> 본 발명은 핵산-기초 분석에서 사용하기 위한 독특한 프라이머 및 프로브의 발견과, 감염의 가능성이 있는 개체의 생물학적 샘플에서 파르보바이러스 B19 DNA를 검출하기 위한 민감하고 신뢰할 만한 핵산-기초 진단 시험의 개발에 기초한다. 여기에 설명된 기술은, 전사-매개 증폭(TMP)을 사용하고, 뿐만 아니라 TaqMan™ 기술과 같은 5' 뉴클레아제 분석에서, B19 서열의 보존된 게놈 영역을 증폭하기 위한 주형으로서 추출된 샘플 DNA를 이용한다. 이 방법으로 10^3 바이러스 입자/ml 정도의 낮은 바이러스 역가를 갖는 바이러스혈증 샘플에서 B19 DNA를 검출할 수 있다. 따라서, 감염된 샘플이 확인될 수 있고, 이들이 수혈뿐만 아니라 혈액 유도체의 제제로부터 제외될 수 있다. 여기에 설명된 프로브 및 프라이머는, 예를 들어 표준 혼성화 방법에서뿐만 아니라, PCR-기초 기술, 핵산 서열-기초 증폭(NASBA), 분기된 DNA 분자를 이용한 분석에서 유용하다.
- <15> 삭제
- <16> 따라서, 한 구체예에서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19 감염을 검출하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 다음 단계들을 포함한다:
- <17> (a) 사람 파르보바이러스 B19 DNA를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로부터, RNA 표적 서열을 포함하는 핵산을 분리하는 단계;
- <18> (b) 분리된 파르보바이러스 B19 핵산과, 복합체를 이를 만큼 RNA 표적 서열의 3'-말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 포함하는 제 1 프라이머를 포함하는 제 1 올리고뉴클레오타이드를 반응시키는 단계, 여기서 제 1 프라이머는 DNA-의존성 RNA 중합효소 5'에 대한 프로모터를 더 포함하고, 복합 서열에 작동가능하게 연결되어 있으며, 반응은 올리고뉴클레오타이드/표적 서열 복합체의 형성 및 DNA 합성의 개시를 제공하는 조건 하에서 행하고;
- <19> (c) 주형으로서 RNA 표적 서열을 사용한 확장 반응으로 제 1 프라이머를 확장시켜, RNA 표적 서열에 상보적인 제 1 DNA 프라이머 확장 산물을 제공하는 단계;
- <20> (d) RNA 표적 서열을 선택적으로 분해하는 효소를 사용하여 RNA 표적 서열로부터 제 1 DNA 프라이머 확장 산물을 분리하는 단계;
- <21> (e) 올리고뉴클레오타이드/표적 서열 복합체의 형성 및 DNA 합성의 개시를 제공하는 조건 하에서, 복합체를 이를 만큼 DNA 프라이머 확장 산물의 3'-말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 포함하는 제 2 프라이머를 포함하는 제 2 올리고뉴클레오타이드로 DNA 프라이머 확장 산물을 처리하는 단계;
- <22> (f) DNA 확장 반응으로 제 2 프라이머의 3'-말단을 확장시켜 제 2 DNA 프라이머 확장 산물을 제공함으로써, DNA-의존성 RNA 중합효소에 대한 주형을 생산하는 단계;
- <23> (g) 주형을 사용하여, 프로모터 서열을 인식하는 DNA-의존성 RNA 중합효소를 사용하여 표적 서열의 다수 RNA 카피를 생산하는 단계; 및
- <24> (h) (g) 단계의 RNA 카피를 사용하여 (b) 단계부터 (g) 단계까지 자가촉매적으로 반복하여 표적 서열을 증폭하는 단계
- <25> 어떤 구체예에서, 방법은 다음 단계들을 더 포함한다:
- <26> (i) 프로브와 표적 서열의 혼성화를 제공하는 조건 하에서 표적 서열의 일부에 상보적인 표지된 올리고뉴클레오타이드 프로브를 (h) 단계의 산물에 첨가하여 프로브:표적 복합체를 형성하는 단계; 및
- <27> (j) 표적 서열의 존재 또는 부재를 표시하는 것인 표지의 존재 또는 부재를 검출하는 단계
- <28> 삭제
- <29> 추가의 구체예에서, 표지는 아크리디늄 에스테르이다.
- <30> 추가의 구체예에서, 상기 방법에서 사용된 제 1 및 제 2 프라이머, 및 프로브는 사람 파르보바이러스 B19 게놈의 VP1 영역으로부터, 예를 들어 도 2A-2U 또는 11A-11Z의 어느 하나에 나타낸 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 유래된다.

- <31> 또 다른 구체예에서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19 감염을 검출하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 다음 단계들을 포함한다:
- <32> (a) 사람 파르보바이러스 B19 DNA를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로부터, RNA 표적 서열을 포함하는 핵산을 분리하는 단계;
- <33> (b) 분리된 파르보바이러스 B19 핵산과, 복합체를 이를 만큼 RNA 표적 서열의 3'-말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 포함하는 제 1 프라이머를 포함하는 제 1 올리고뉴클레오타이드를 반응시키는 단계, 여기서 제 1 프라이머는 DNA-의존성 RNA 중합효소 5'에 대한 프로모터를 더 포함하고, 복합 서열에 작동가능하게 연결되어 있으며, 제 1 프라이머는 도 2A-2U 또는 11A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 유래된 서열을 포함하고, 반응은 올리고뉴클레오타이드/표적 서열 복합체의 형성 및 DNA 합성의 개시를 제공하는 조건 하에서 행하고;
- <34> (c) 주형으로서 RNA 표적 서열을 사용한 확장 반응으로 제 1 프라이머를 확장하여, RNA 표적 서열에 상보적인 제 1 DNA 프라이머 확장 산물을 제공하는 단계;
- <35> (d) RNA 표적 서열을 선택적으로 분해하는 효소를 사용하여 RNA 표적 서열로부터 제 1 DNA 프라이머 확장 산물을 분리하는 단계;
- <36> (e) 올리고뉴클레오타이드/표적 서열 복합체의 형성 및 DNA 합성의 개시를 제공하는 조건 하에서, 복합체를 이를 만큼 DNA 프라이머 확장 산물의 3'-말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 포함하는 제 2 프라이머를 포함하는 제 2 올리고뉴클레오타이드로 DNA 프라이머 확장 산물을 처리하는 단계, 여기서 제 2 프라이머는 도 2A-2U 또는 11A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 유래되고;
- <37> (f) DNA 확장 반응에서 제 2 프라이머의 3'-말단을 확장하여 제 2 DNA 프라이머 확장 산물을 제공함으로써, DNA-의존성 RNA 중합효소에 대한 주형을 생산하는 단계;
- <38> (g) 주형을 사용하여, 프로모터 서열을 인식하는 DNA-의존성 RNA 중합효소를 사용하여 표적 서열의 다수 RNA 카피를 생산하는 단계;
- <39> (h) (g) 단계의 RNA 카피를 사용하여 (b) 단계부터 (g) 단계까지 자가촉매적으로 반복하여 표적 서열을 증폭하는 단계;
- <40> (i) (h) 단계의 산물에 아크리디늄 에스테르-표지된 올리고뉴클레오타이드 프로브를 첨가하는 단계, 여기서 올리고뉴클레오타이드 프로브는 상기 표적 서열의 일부에 상보적이고, 프로브는 도 2A-2U의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 유래되고, 프로브는 프로브와 표적 서열의 혼성화를 제공함으로써 프로브:표적 복합체를 형성하는 조건 하에서 첨가되고; 및
- <41> (j) 표적 서열의 존재 또는 부재를 표시하는 것인 표지의 존재 또는 부재를 검출하는 단계
- <42> 또 다른 구체예에서, 발명은 표적 파르보바이러스 B19 뉴클레오타이드 서열을 증폭하기 위한 방법에 관한 것이다. 이 방법은 다음 단계들을 포함한다:
- <43> (a) 사람 파르보바이러스 B19 DNA를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로부터 RNA 표적 서열을 포함하는 핵산을 분리하는 단계;
- <44> (b) RNA 표적 서열에 혼성화할 수 있는 도 2A-2U 및 도 11A-11Z에 나타난 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 유래된 하나 이상의 프라이머를 첨가하는 단계;
- <45> (c) 하나 이상의 프라이머와 관련하여 RNA 표적 서열 3'에 혼성화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 첨가하는 단계; 및
- <46> (d) 중합효소를 사용하여 하나 이상의 프라이머를 확장하는 단계
- <47> 어떤 구체예에서, (a) 단계의 RNA 표적 서열은 역전사되어 cDNA를 제공하며, 방법은 중합효소 연쇄반응(RT-PCR) 또는 비대칭적 겔 리가아제 연쇄반응(RT-PCR)을 사용하여 cDNA를 증폭하는 단계를 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 중합효소는 Taq 중합효소 혹은 Vent 중합효소와 같은 열안정성 중합효소이지만, 이들에 한정되지는 않는다. 추가의 구체예에서, 중합효소는 *E.coli* DNA 중합효소 I, *E.coli* DNA 중합효소 I의 Klenow 단편, 또는 T4 DNA 중합효소이다.

- <48> 상기 설명된 다양한 방법의 어떤 구체예에서 내부 대조표준이 제공된다. 내부 대조표준은 도 12(SEQ ID NO:92)의 서열로부터 유래될 수 있다. 추가의 구체예에서, 내부 대조표준은 SEQ ID NO:90을 포함한다.
- <49> 추가의 구체예에서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19 감염을 검출하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 다음 단계들을 포함한다:
- <50> (a) 사람 파르보바이러스 B19 DNA를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플로부터 표적 서열을 포함하는 핵산을 분리하는 단계;
- <51> (b) 프로브/표적 서열 복합체의 형성을 제공하는 조건 하에서, 분리된 파르보바이러스 B19 핵산과, 표적 서열에 충분히 상보적이며 그와 혼성화할 수 있는 검출가능하게 표지된 프로브를 반응시키는 단계, 여기서 프로브는 도 2A-2U 및 도 11 A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오티드 서열로부터 유래되고; 및
- <52> (c) 표적 서열의 존재 또는 부재를 표시하는 것인 표지의 존재 또는 부재를 검출하는 단계
- <53> 추가의 구체예에서, 본 발명은 도 2A-2U 또는 도 11A-11Z에 나타난 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- <54> 추가의 구체예에서, 본 발명은 상기와 같은, 폴리뉴클레오티드에 관한 것으로서, 여기서 뉴클레오티드 서열은 도 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G, 2H, 2I, 2J, 2K, 2L, 2M, 2N, 2O, 2P, 2Q, 2R, 2S, 2T, 2U, 11A, 11B, 11C, 11D, 11E, 11F, 11G, 11H, 11I, 11J, 11K, 11L, 11M, 11N, 11O, 11P, 11Q, 11R, 11S, 11T, 11U, 11V, 11W, 11X, 11Y, 또는 11Z에 나타난 뉴클레오티드 서열로 구성된다.
- <55> 삭제
- <56> 삭제
- <57> 추가의 구체예에서, 본 발명은 도 3A-3C 또는 도 4A-4C에 나타난 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나를 포함하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 관한 것이다.
- 추가에 구체예에서, 본 발명은 상기와 같은 폴리뉴클레오티드에 관한 것으로서, 여기서 뉴클레오티드 서열은 도 3A-3C 또는 도 4A-4C에 나타난 뉴클레오티드 서열로 구성된다.
- <58> 또 다른 구체예에서, 본 발명은 약 10 내지 약 75 뉴클레오티드의 사람 파르보바이러스 B19-특이적 복합 서열에 작동가능하게 연결된 DNA-의존성 RNA 중합효소에 의해 인식되는 프로모터 영역으로 구성된 올리고뉴클레오티드 프라이머에 관한 것이다. 어떤 구체예에서, 프로모터 영역은 T7 프로모터이고, 상기 중합효소는 T7 RNA 중합효소이다. 추가적으로, 사람 파르보바이러스 B19-특이적 서열은 사람 파르보바이러스 B19 게놈의 VP1 영역으로부터, 예를 들어 도 2A-2U 또는 도 11A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오티드 서열로부터 유래할 수 있다.
- <59> 또 다른 구체예에서, 본 발명은 약 10 내지 약 75 뉴클레오티드의 사람 파르보바이러스 B19-특이적 복합 서열에 작동가능하게 연결된 T7 프로모터로 구성된 올리고뉴클레오티드 프라이머에 관한 것으로서, 여기서 사람 파르보바이러스 B19-특이적 복합 서열은 도 2A-2U 또는 도 11A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오티드 서열로부터 유래된다.
- <60> 또 다른 구체예에서, 본 발명은 아크리디늄 에스테르 표지에 연결된 약 10 내지 약 50 뉴클레오티드의 파르보바이러스 B19-특이적 혼성화 서열을 함유하는 올리고뉴클레오티드 프로브에 관한 것이다. 어떤 구체예에서, 사람 파르보바이러스 B19-특이적 혼성화 서열은 사람 파르보바이러스 B19 게놈의 VP1 영역으로부터, 예를 들어 도 2A-2U 또는 도 11A-11Z의 어느 하나에 나타난 폴리뉴클레오티드 서열로부터 유래된다.
- <61> 또 다른 구체예에서, 본 발명은 본원에 설명된 하나 이상의 올리고뉴클레오티드 프라이머, 및 진단 시험을 수행하기 위한 설명서를 포함하는 진단 시험 키트에 관한 것이다. 어떤 구체예에서, 시험 키트는 아크리디늄 에스테르 표지에 연결된 약 10 내지 약 50 뉴클레오티드의 파르보바이러스 B19-특이적 혼성화 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 프로브를 더 포함한다.
- <62> 삭제

- <63> 본 발명의 이러한 그리고 다른 양태는 다음 상세한 설명과 첨부된 도면을 참고하면 명백하다.
- <64> 도면의 간단한 설명
- <65> 도 1은 사람 파르보바이러스 B19 게놈을 간략하게 나타낸 것으로, 바이러스의 다양한 암호 영역을 묘사한다. 3 개의 PCR 단편이 묘사되었는데, 하나는 Shade et al., J. Virol.(1986) 58:921-936에 기술된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 2936-3635에 해당하는 약 700bp를 갖는 것이고, 하나는 Shade et al., J. Virol.(1986) 58:921-936에 기술된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 3073-3442에 해당하는 약 370bp에서 약 700bp 이내의 단편을 갖는 것이고, 그리고 하나는 Shade et al., J. Virol. (1986) 58:921-936에 기술된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 4728-4941에 해당하는 약 214bp를 갖는 것이다.
- <66> 도 2A 내지 2U(SEQ ID NOS:1-21)는, Shade et al., J. Virol.(1986) 58:921-936에 기술된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 2936-3635에 해당하는 서열을 포함하는 다양한 파르보바이러스 B19 분리주로부터의 DNA 서열을 묘사한다(도 1로부터 700bp 단편). 도 2A(SEQ ID NO:1)는 분리주 CH47-26로부터 상응하는 서열; 도 2B(SEQ ID NO:2)는 CH48-29로부터 상응하는 서열; 도 2C(SEQ ID NO:3)는 분리주 CH33-2로부터 상응하는 서열; 도 2D(SEQ ID NO:4)는 분리주 CH33-3으로부터 상응하는 서열; 도 2E(SEQ ID NO:5)는 분리주 CH33-4로부터 상응하는 서열; 도 2F (SEQ ID NO:6)는 분리주 CH42-7로부터 상응하는 서열; 도 2G(SEQ ID NO:7)는 분리주 CH42-18로부터 상응하는 서열; 도 2H(SEQ ID NO:8)는 분리주 CH42-19로부터 상응하는 서열; 도 2I(SEQ ID NO:9)는 분리주 CH46-23으로부터 상응하는 서열; 도 2J (SEQ ID NO:10)는 분리주 CH1-1로부터 상응하는 서열; 도 2K(SEQ ID NO:11)는 분리주 CH1-6으로부터 상응하는 서열; 도 2L(SEQ ID NO:12)는 분리주 CH2-8로부터 상응하는 서열; 도 2M(SEQ ID NO:13)는 분리주 CH2-10로부터 상응하는 서열; 도 2N(SEQ ID NO:14)는 분리주 CH2-11C로부터 상응하는 서열; 도 2O(SEQ ID NO:15)는 분리주 CH5-13로부터 상응하는 서열; 도 2P(SEQ ID NO:16)는 분리주 CH7-22로부터 상응하는 서열; 도 2Q(SEQ ID NO:17)는 분리주 CH13-27로부터 상응하는 서열; 도 2R(SEQ ID NO:18)는 분리주 CH14-33로부터 상응하는 서열; 도 2S(SEQ ID NO:19)는 분리주 CH62-2로부터 상응하는 서열; 도 2T(SEQ ID NO:20)는 분리주 CH64-2로부터 상응하는 서열; 및 도 2U(SEQ ID NO:21)는 분리주 CH67-2로부터 상응하는 서열이다.
- <67> 도 3A-3C(SEQ ID NO:22)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1으로부터의 도 1에 나타낸 약 4.7 kbp PCR 단편의 서열을 나타낸다. 이 서열은 Shade et al., J. Virol.(1986) 58:921-936의 뉴클레오티드 위치 217-4893에 해당하는 4677 뉴클레오티드 단편이다. 묘사된 서열은 NS1,VP1, 및 VP2를 암호화하는 파르보바이러스 B19 전장 오픈 리딩 프레임과 추가로 5' 및 3' 미번역 서열을 함유한다.
- <68> 삭제
- <69> 도 4A-4C(SEQ ID NO:23)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6으로부터의 도 1에 나타낸 약 4.7 kbp PCR 단편의 서열을 나타낸다. 서열은 Shade et al., J. Virol. (1986)58:921-936의 뉴클레오티드 위치 217-4893에 해당하는 4677 뉴클레오티드 단편이다. 묘사된 서열은 NS1, VP1, 및 VP2를 암호화하는 파르보바이러스 B19 전장 오픈 리딩 프레임과 추가로 5' 및 3' 미번역 서열을 함유한다.
- <70> 삭제
- <71> 도 5A(SEQ ID NO:24) 및 도 5B(SEQ ID NO:25)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1로부터의 NS1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.
- <72> 도 6A(SEQ ID NO:26) 및 도 6B(SEQ ID NO:27)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1로부터 VP1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.
- <73> 도 7A(SEQ ID NO:28) 및 도 7B(SEQ ID NO:29)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1로부터의 VP2 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.
- <74> 도 8A(SEQ ID NO:30) 및 도 8B(SEQ ID NO:31)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6로부터의 NS1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.
- <75> 도 9A(SEQ ID NO:32) 및 도 9B(SEQ ID NO:33)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6로부터의 VP1 뉴클레오티드 및

단백질 서열을 각각 나타낸다.

<76> 도 10A(SEQ ID NO:34) 및 도 10B(SEQ ID NO:35)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6로부터의 VP2 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.

<77> 도 11A 내지 11Z(SEQ ID NO:62-87)는 Shade et al., J. Virol.(1986) 58:921 -936에 기술된 파르보바이러스 B19 계통의 뉴클레오티드 위치 2936-3635에 해당하는 서열을 포함하는 다양한 파르보바이러스 B19 분리주로부터의 DNA 서열을 나타낸다. 도 11A(SEQ ID NO:62)는 분리주 CH80-1로부터의 상응하는 서열; 도 11B(SEQ ID NO:63)는 분리주 CH81-3로부터의 상응하는 서열; 도 11C(SEQ ID NO:64)는 분리주 B19SCL1-4로부터의 상응하는 서열; 도 11D(SEQ ID NO:65)는 분리주 B19SCL2-1로부터의 상응하는 서열; 도 11E(SEQ ID NO:66)는 분리주 B19SCL3-1로부터의 상응하는 서열; 도 11F(SEQ ID NO:67)는 분리주 B19SCL4-3로부터의 상응하는 서열; 도 11G(SEQ ID NO:68)는 분리주 B19SCL5-2로부터 상응하는 서열; 도 11H(SEQ ID NO:69)는 분리주 B19SCL6-2로부터의 상응하는 서열; 도 11I(SEQ ID NO:70)는 분리주 B19 SCL7-3로부터의 상응하는 서열; 도 11J(SEQ ID NO:71)는 분리주 B19SCL8-2로부터의 상응하는 서열; 도 11K(SEQ ID NO:72)는 분리주 B19SCL9-1로부터의 상응하는 서열; 도 11L(SEQ ID NO:73)는 분리주 B19SCL9-9로부터의 상응하는 서열; 도 11M(SEQ ID NO:74)는 분리주 B19SCL10-2로부터의 상응하는 서열; 도 11N(SEQ ID NO:75)는 분리주 B19SCL11-1로부터의 상응하는 서열; 도 11O(SEQ ID NO:76)는 분리주 B19SCL12-1로부터의 상응하는 서열; 도 11P(SEQ ID NO:77)는 분리주 B19SCL13-3로부터의 상응하는 서열; 도 11Q(SEQ ID NO:78)는 분리주 B19SCL14-1로부터의 상응하는 서열; 도 11R(SEQ ID NO:79)는 분리주 B19SCL15-3로부터의 상응하는 서열; 도 11S(SEQ ID NO:80)는 분리주 B19SCL16-2로부터의 상응하는 서열; 도 11T(SEQ ID NO:81)는 분리주 B19SCL17-1로부터의 상응하는 서열; 도 11U(SEQ ID NO:82)는 분리주 B19SCL18-1로부터의 상응하는 서열; 도 11V(SEQ ID NO:83)는 분리주 B19SCL19-1로부터의 상응하는 서열; 도 11W(SEQ ID NO:84)는 분리주 B19SCL20-3로부터의 상응하는 서열; 도 11X(SEQ ID NO:85)는 분리주 B19SCL21-3로부터의 상응하는 서열; 도 11Y(SEQ ID NO:86)는 분리주 B19SCL22-11로부터의 상응하는 서열; 도 11Z(SEQ ID NO:87)는 분리주 B19SCL2-14로부터의 상응하는 서열이다.

도 12(SEQ ID NO:92)는 표적 포착 및 증폭을 위한 내부 대조표준(IC)이 유래될 수 있는 전형적인 서열을 나타낸다.

<78> 삭제

<79> 삭제

<80> 삭제

<81> 삭제

<82> 발명의 상세한 설명

<83> 다르게 기재되지 않으면 본 발명의 수행은 당업계내의 화학, 생화학, 재조합 DNA 기술 그리고 바이러스학의 통상적인 방법을 사용한다. 그러한 기술은 본문에 상세하게 기술되어 있다. Fundamental Virology, 2nd Edition, vol. I & II(B.N. Fields and D.M. Knipe, eds); A. L. Lehninger, Biochemistry(Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., Molecular cloning: A laboratory Manual(2nd Edition,1989); Methods In Enzymology(S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Oligonucleotide Synthesis(N. Gait, ed., 1984); A Practical Guide to Molecular Cloning(1984) 참조.

<84> 삭제

<85> 본 명세서와 첨부된 청구항에서 사용되듯이 본문에서 다르게 명시되지 않으면, 단수 형태 "한", "하나", "그"는 복수 형태를 함유한다는 것이 주지되어야 한다. 따라서, 예를 들어, "항원"을 언급하는 것은 두 개 혹은 그 이상의 항원의 혼합물을 포함한다.

다음의 아미노산 약어가 본문에서 사용된다:

- <86> 알라닌: Ala (A) 아르기닌: Arg (R)
- <87> 아스파라긴: Asn (N) 아스파르트산: Asp (D)
- <88> 시스테인: Cys(C) 글루타민: Gln (Q)
- <89> 글루탐산: Glu(E) 글리신: Gly(G)
- <90> 히스티딘: His(H) 이소류신: Ile(I)
- <91> 류신: Leu (L) 리신: Lys(K)
- <92> 메티오닌: Met(M) 페닐알라닌: Phe(F)
- <93> 프롤린: Pro(P) 세린: Ser(S)
- <94> 트레오닌: Thr(T) 트립토판: Trp(W)
- <95> 티로신: Tyr(Y) 발린: Val(V)

<96> I. 정의

<97> 본 발명을 기술하는데 있어서, 다음 용어를 사용하고 하기 지시된 대로 정의하는 것으로 의도한다.

<98> "폴리펩티드"와 "단백질"은 아미노산 잔기의 폴리머를 말하며, 산물의 최소 길이에 제한되지 않는다. 따라서, 펩티드, 올리고펩티드, 다이머, 멀티머, 그리고 유사물은 정의 내부에 포함된다. 전장 단백질과 단편은 정의 내에 포함된다. 이 용어는 폴리펩티드의 발현 후 변경, 예를 들어, 당화, 아세틸화, 인산화 등등을 함유한다. 그리고, 단백질이 바람직한 활성을 유지하는 한, 본 발명의 목적상 "폴리펩티드"는 원 서열에 결실, 첨가, 치환(일반적으로 자연상태에서 보존적인)과 같은 변형을 포함하는 단백질을 말한다. 이러한 변형은 부위 특이적 돌연변이 유발을 통해 고의적으로, 또는 PCR 증폭 때문에 발생하는 단백질이나, 오차를 생성하는 숙주의 돌연변이 때문에 우연히 발생한다.

<99> 상기 정의된 대로 파르보바이러스 B19는 바이러스 캡시드, VP1(약 781 아미노산 길이)또는 VP2(약 554 아미노산 길이)를 형성하는 단백질, 그리고 비구조 단백질, NS1 및 NS2과 같은, B19 게놈에 의해 암호화된 단백질로부터 유래된 상기 정의된 바의 폴리펩티드이다. 대표적인 NS1, VP1, 및 VP2 서열이 도 5-10에 묘사되어 있다. 폴리펩티드는 실제로 파르보바이러스 B19로부터 유래될 필요는 없고, 합성적으로 또는 재조합적으로 생산될 수도 있다. 게다가, 폴리펩티드는 다양한 파르보바이러스 B19 균주 및 분리주 중 어느 것으로부터 유래될 수 있다. 많은 보존된 그리고 가변 영역이 이러한 균주와 분리주 사이에서 알려져 있으며, 일반적으로 이들 영역으로부터 유래된, 예를 들어 에피토프의 아미노산 서열은, 두 서열이 정렬되었을 때 높은 정도의 서열 상동성, 예를 들어 30% 이상, 바람직하게 40% 이상의 아미노산 서열 상동성을 가질 것이다. 따라서, 예를 들어, "VP1" 폴리펩티드는 다양한 파르보바이러스 B19 균주와 분리주 중 어느 것로부터의 자생 VP1을 말한다. 많은 파르보바이러스 B19 균주 및 분리주 중 상기 단백질의 완전한 유전자형 및 서열이 알려져 있다. Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936; Gallinella et al., *J. Virol. Methods* (1993) 41:203-211 참조. 게다가, 이 영역으로부터 유래된 파르보바이러스 B19의 에피토프가 또 알려져 있다. 미국특허 No. 5,436,127 및 국제출원 No. W091/12269 참조.

<100> "유사체"와 "뮤테인"은 진단 분석에서 면역활성과 같은 바람직한 활성을 보유하고 있는 기준 분자의 생물학적 활성 유도체 또는 그러한 유도체의 단편을 말한다. 일반적으로, "유사체"는 변형이 면역원성 활성을 파괴하지 않는 한, 원 분자와 관련하여 하나 이상의 아미노산 첨가, 치환(일반적으로 자연상태에서 보존적인) 및/또는 결실을 갖는 원 폴리펩티드 서열 및 구조를 갖는 화합물을 말한다. "뮤테인"은 국제출원 No. W091/04282에 기술된 것과 같은, 하나 이상의 펩티드 모방("펩토이드")을 갖는 펩티드를 말한다. 바람직하게, 유사체 또는 뮤테인은 원 분자와 적어도 동일한 면역활성을 가진다. 폴리펩티드 유사체 및 뮤테인을 제조하는 방법은 당업계에 알려져 있으며 아래 설명된다.

<101> 삭제

<102> 특히 바람직한 유사체는 자연상태에서 보존적인 치환, 즉 그들의 측쇄에 관련되는 아미노산 패밀리 내에서 발생

하는 치환이다. 구체적으로, 아미노산은 일반적으로 4개 패밀리로 나뉜다:

<103> (1) 산성 - 아스파르테이트 및 글루타메이트

<104> (2) 염기성 - 리신, 아르기닌, 히스티딘

<105> (3) 비극성 - 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판

<106> (4) 비하전 극성 - 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 시스테인, 세린, 트레오닌, 티로신.

<107> 페닐알라닌, 트립토판, 및 티로신은 때때로 방향족 아미노산으로 분류된다. 예를 들어, 류신을 이소류신 또는 발린으로, 아스파르테이트를 글루타메이트, 트레오닌을 세린으로 분리 치환하는 것, 구조적으로 관련된 아미노산으로 아미노산을 유사 보존성 치환하는 것은 생물학적 활성에 큰 영향을 미치지 않을 것이라고 합리적으로 예측된다. 예를 들어, 분자의 바람직한 기능이 완전히 유지되는 한, 해당 폴리펩티드는 약 5-10개까지의 보존성 또는 비-보존성 아미노산 치환, 또는 심지어 15-25개까지의 보존성 또는 비-보존성 아미노산 치환, 또는 5-25개 사이의 치환을 포함할 수 있다. 당업자는 당업계에 잘 알려진 Hopp/Woods 및 Kyte-Doolittle 플롯을 참조하여 변화를 견딜 수 있는 해당 분자의 영역을 쉽게 결정할 수 있다.

<108> 삭제

<109> 폴리펩티드를 말할 때 "분리된"은, 지시된 분자가, 자연상태에서 분자가 발견되는 전체 유기체로부터 분리되거나, 또는 동일한 종류의 다른 생물학적 거대분자의 실질적인 부재 하에 존재한다는 것을 의미한다. 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 용어 "분리된"은, 그것이 자연상태에서 정상적으로 관련되는 서열, 또는 그것이 자연상태에서 존재하는 대로의 서열은 전부 또는 부분적으로 없지만, 그와 관련된 이중성 서열, 또는 염색체로부터 분리된 분자를 갖는 핵산 분자이다.

<110> 지정된 서열"로부터 유래된" 또는 그"에 특이적인" 폴리뉴클레오타이드는 지정된 뉴클레오타이드 서열의 영역에 상응하는, 즉 동일하거나 상보적인 대략 적어도 약 6개 뉴클레오타이드, 바람직하게 적어도 약 8개 뉴클레오타이드, 더 바람직하게 적어도 약 10-12개 뉴클레오타이드, 더욱더 바람직하게는 적어도 약 15-20개 뉴클레오타이드의 연속 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 말한다. 유래된 폴리뉴클레오타이드는 실제로 해당 뉴클레오타이드 서열로부터 유래될 필요는 없지만, 폴리뉴클레오타이드가 유래된 영역(들)에 있는 염기 서열에 의해 제공된 정보에 기초하여, 제한은 없으나 화학적 합성, 복제, 역전사 또는 전사를 포함하는 어떤 방식으로 생성될 수 있다. 이와 같이, 그것은 원 폴리뉴클레오타이드의 센스 또는 안티센스 배향을 나타낼 수 있다.

<111> "상동성"은 두 폴리뉴클레오타이드 또는 두 폴리펩티드 부분 사이의 상동성 퍼센트를 말한다. 2개의 DNA, 또는 2개의 폴리펩티드 서열은, 서열이 분자의 정해진 길이에 걸쳐서, 적어도 약 50%, 바람직하게 적어도 약 75%, 더 바람직하게 적어도 약 80%-85%, 바람직하게 적어도 약 90%, 가장 바람직하게 적어도 약 95%-98% 서열 상동성을 나타낼 때 서로 "실질적으로 상동성"이다. 본원에서 사용된, 실질적으로 상동성은 또한 특정 DNA 또는 폴리펩티드 서열과의 완전한 동일성을 나타내는 서열을 말한다.

<112> 일반적으로, "동일성"은 두 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 서열 각각의 정확한 뉴클레오타이드 대 뉴클레오타이드 또는 아미노산 대 아미노산 상응을 말한다. 동일성 퍼센트는, 서열을 정렬하고, 두 정렬된 서열 사이에서 일치하는 것의 정확한 수를 세고, 가장 짧은 서열의 길이로 나누고, 그 결과에 100을 곱하는 것에 의하여 두 분자 사이의 서열 정보를 직접 비교함으로써 측정될 수 있다.

<113> 상동성과 동일성 분석을 돕기 위해, 펩티드 분석을 위한 Smith and Waterman Advances in Appl. Math. 2:482-489의 국소적 상동성 알고리즘을 개조한 ALIGN(Dayhoff, M.O. in Atlas of Protein Sequence and Structure M.O. Dayhoff ed., 5 Suppl. 3:353-358, National biomedical Research Foundation, Washington, DC)와 같은 쉽게 입수가 가능한 컴퓨터 프로그램이 사용될 수 있다. 뉴클레오타이드 서열 상동성을 측정하기 위한 프로그램은 Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8(Genetics Computer Group, Madison, WI로부터 입수가 가능)로 입수가 가능하며, 예를 들어 Smith와 Waterman의 알고리즘에 의존하는 BESTFIT, FASTA 및 GAP 프로그램이 있다. 이들 프로그램은 제조자에 의해 추천되고 상기 인용된 Wisconsin Sequence Analysis Package에 설명된 디폴트 변수로 쉽게 이용된다. 예를 들어, 디폴트 점수표와 6개 뉴클레오타이드 위치의 갭 패널티를 갖는 Smith와 Waterman의 상동성 알고리즘을 이용하여, 기준 서열에 대한 특정 뉴클레오타이드 서열의 상동성 퍼센트가 측정될 수 있다.

- <114> 삭제
- <115> 본 발명의 문맥에서, 상동성 퍼센트를 확립하는 다른 방법은 University of Edinburgh가 권리를 소유하고, John F. Collins와 Shane S. Sturrok가 개발했으며, IntelliGenetics, Inc.(Mountain View, CA)가 배포한 프로그램인 MPSRCH 패키지를 사용하는 것이다. 이 한 벌의 패키지에서 점수표에 맞춰 디폴트 변수가 사용되는 경우 Smith-Waterman 알고리즘이 사용될 수 있다(예를 들어, 12의 갭 오픈 패널티, 1의 갭 확장 패널티, 및 6의 갭). 생성된 데이터에서 "일치" 값이 "서열 상동성"을 반영한다. 서열 사이의 동일성 또는 유사성을 계산하기 위한 다른 적합한 프로그램이 본 분야에 일반적으로 알려져 있는데, 예를 들어, 다른 정렬 프로그램은 디폴트 변수와 함께 사용되는 BLAST이다. 예를 들어, BLASTN 및 BLASTP는 다음 디폴트 변수를 사용하여 사용될 수 있다: 지네틱 코드 = 표준; 필터 = 없음; 스트랜드 = 양쪽; 컷오프 = 60; 익스펙트 = 10; 매트릭스 = BLOSUM62; 설명 = 50 서열; 정렬 = 하이 스코어; 데이터베이스 = 비-과잉; GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS 번역 + 스위스 단백질 + Spupdate + PIR. 이들 프로그램의 상세한 사항은 다음 인터넷 주소: <http://www.ncbi.nlm.gov/cgi-bin/BLAST>에서 찾을 수 있다.
- <116> 삭제
- <117> 삭제
- <118> 삭제
- <119> 삭제
- <120> 대안적으로, 상동성 영역 사이에 안정한 중복체를 형성하는 조건에서 폴리뉴클레오타이드의 혼성화하고, 다음 단 일가닥 특이적 뉴클레아제로 효소절단하고, 절단된 단편의 크기를 결정하는 것에 의해 상동성이 측정될 수 있다. 실질적으로 상동성인 DNA 서열이 특정한 시스템에 대해 정의되는, 예를 들어 긴축 조건 하에서 서든 혼성화 실험으로 확인될 수 있다. 적합한 혼성화 조건의 정의는 당업자의 기술범위 이내이다. 예를 들어, Sambrook et al. supra; DNA Cloning, supra; Nucleic acid Hybridization, supra, 참조.
- <121> "작동가능하게 연결된"은 설명된 성분이 그들의 바람직한 기능을 수행하도록 배열된 구성요소의 배열을 말한다. 따라서, 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 주어진 프로모터는 전사를 행할 수 있고, 암호화 서열의 경우에는, 적절한 전사 인자 등이 존재할 때 암호화 서열의 발현을 행할 수 있다. 전사 및/또는 발현을 지지하는 기능을 하는 한, 프로모터가 핵산 서열에 인접할 필요는 없다. 따라서, 예를 들어, 전사된 인트론일 수 있는 것처럼, 개재하고 있는 미번역된 아직 전사되지 않은 서열이 프로모터 서열과 암호화 서열 사이에 존재할 수 있고, 프로모터 서열은 암호화 서열에 "작동가능하게 연결된"다고 여전히 말할 수 있다.
- <122> 핵산 분자를 설명하기 위해 본원에서 사용된 "재조합"은 실제로 그 기원이나 조작이 자연상태에서 관련되는 폴리뉴클레오타이드의 일부 또는 전부와 관련되지 않는 게놈, cDNA, 바이러스, 반합성 또는 합성 기원의 폴리뉴클레오타이드를 의미한다. 단백질 또는 폴리펩티드와 관련하여 사용된 용어 "재조합"은 재조합 폴리뉴클레오타이드의 발현에 의해서 생산된 폴리펩티드를 의미한다. 일반적으로, 형질전환된 유기체에서 해당 유전자가 클로닝된 후 발현되는데, 이것은 이후 더 설명된다. 발현 조건에서 숙주 유기체는 외래 유전자를 발현하여 단백질을 생산한다.
- <123> "조절 요소"는 연결되는 뉴클레오타이드 서열의 전사 및/또는 번역을 돕는 폴리뉴클레오타이드 서열을 말한다. 이 용어는 프로모터, 전사 종결 서열, 상류 조절 도메인, 폴리아데닐화 신호, 5'-UTR 및 3'-UTR을 포함하는 미번역 영역, 그리고 적절한 경우 리서 서열과 인핸서를 포함하고, 이들은 전체적으로 숙주 세포에서 암호화 서열의 전사 및 번역을 제공한다.
- <124> 본원에서 사용된 "프로모터"는 중합효소를 결합시키고 거기에 작동가능하게 연결된 하류(3'-방향) 뉴클레오타이드 서열의 전사를 개시할 수 있는 조절 영역이다. 본 발명의 목적을 위해서, 프로모터 서열은 바탕값 이상의 검출

가능한 수준으로 해당 서열의 전사를 개시하는데 필요한 염기 또는 요소를 최소한의 수만큼 포함한다. 프로모터 서열 내에는 전사 개시 부위가 있을 뿐만 아니라, RNA 또는 DNA 중합효소의 결합을 일으키는 단백질 결합 도메인(공통 서열)이 있다. 예를 들어, 프로모터는 특정 부위에서 핵산에 결합하고 RNA의 전사를 개시하라는 신호로서 DNA-의존성 RNA 중합효소("전사효소")에 의해 인식되는 핵산 서열일 수 있다. 결합을 위해서, 그러한 전사효소는 일반적으로 프로모터 서열과 그의 보체를 포함하는 부분의 이중-가닥인 DNA를 필요로 하며, 주형 부분(전사될 서열)은 이중-가닥일 필요는 없다. 각 DNA-의존성 RNA 중합효소는 전사를 진행시키는 효능을 현저히 변화시킬 수 있는 여러 상이한 프로모터 서열을 인식한다. RNA 중합효소가 전사를 개시하는 프로모터 서열에 결합할 때, 이 프로모터 서열은 전사된 서열의 일부가 아니다. 따라서, 이와 같이 생성된 RNA 전사체는 이 서열을 포함하지 않을 것이다.

RNA 또는 DNA 중합효소가 프로모터 서열에 결합하여 인접한 서열을 전사하는 경우, 조절 서열은 뉴클레오티드 서열의 "전사를 지시한다".

<125> 삭제

<126> "DNA-의존성 DNA 중합효소"는 DNA 주형으로부터 상보성 DNA 카피를 합성하는 효소이다. 예는 *E.coli*로부터의 DNA 중합효소 I 및 박테리오파지 T7 DNA 중합효소이다. 모든 공지된 DNA-의존성 DNA 중합효소는 합성을 개시하기 위해서 상보성 프라이머를 필요로 한다. 적합한 조건에서, DNA-의존성 DNA 중합효소는 RNA 주형으로부터 상보성 DNA 카피를 합성할 수 있다.

<127> 삭제

<128> 삭제

<129> "DNA-의존성 RNA 중합효소" 또는 "전사효소"는 (통상 이중-가닥인) 프로모터 서열을 갖는 이중-가닥 또는 부분적 이중-가닥인 DNA 분자로부터 다수의 RNA 카피를 합성하는 효소이다. RNA 분자("전사체")는 프로모터의 바로 하류의 특정 위치에서 시작하여 5'에서 3' 방향으로 합성된다. 전사효소의 예는 *E.coli* 및 박테리오파지 T7, T3 및 SP6으로부터의 DNA-의존성 RNA 중합효소이다.

<130> 삭제

<131> "RNA-의존성 DNA 중합효소" 또는 "역 전사효소"는 RNA 주형으로부터 상보성 DNA 카피를 합성하는 효소이다. 모든 공지된 역 전사효소는 또한 DNA 주형으로부터 상보성 DNA 카피를 만들 수 있는 능력을 가지며, 따라서 이들은 RNA- 및 DNA-의존성 DNA 중합효소이다. RNA 및 DNA 주형을 가지고 합성을 개시하는 데는 프라이머가 필요하다.

<132> "RNAase H"는 RNA:DNA 듀플렉스의 RNA 부분을 분해하는 효소이다. 이러한 효소는 엔도뉴클레아제 또는 엑소뉴클레아제일 수 있다. 대부분의 역 전사효소는 일반적으로 중합효소 활성에 더하여 RNAase H 활성을 함유한다. 그러나, RNAase H의 다른 출처는 관련된 중합효소 활성 없이 이용가능하다. 분해는 RNA:DNA 복합체로부터 RNA의 분리를 가져올 수 있다. 또는 달리, RNAase H는 다양한 장소에서 RNA를 단순히 절단할 수 있으며, 이로써 RNA의 부분이 용융되거나, 또는 효소가 RNA 부분을 펴도록 허용한다.

<133> 삭제

<134> 본원에서 사용된 용어들 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", "핵산" 및 "핵산 분자"는 어떤 길이의 뉴클레오티드의 중합 형태, 즉 리보뉴클레오티드 또는 디옥시리보뉴클레오티드를 포함한다. 이 용어는 분자의 일차 구조만을 말한다. 따라서, 이들 용어는 3중, 2중 및 단일-가닥 DNA 뿐만 아니라, 3중, 2중 및 단일-가닥 RNA를 포함한다. 또한, 이들은 메틸화 및/또는 캡핑에 의한 것과 같은 변형, 및 폴리뉴클레오티드의 변형되지 않은 형태를 포함한다. 더 구체적으로, "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", "핵산" 및 "핵산 분자"는 폴리데옥시리보뉴클레오티드(2-디옥시-D-리보오스), 폴리리보뉴클레오티드(D-리보오스 함유), 퓨린 또는 피리미

딘 염기의 N-또는 C-글리코시드인 다른 형태의 폴리뉴클레오티드, 및 비-뉴클레오티드 백본을 함유하는 다른 폴리머, 예를 들어 폴리아미드(예를 들어, 펩티드 핵산(PNAs)) 및 폴리모르폴리노(Anti-Virals, Inc., Corvallis, Oregon로부터 Neugene로서 입수가능) 폴리머, 그리고 DNA 및 RNA에서 발견되는 것처럼 염기쌍 만들기 및 염기 쌍기를 허용하는 입체배치의 뉴클레오티드를 함유하는 폴리머를 제공하는 다른 합성 서열-특이적 핵산 폴리머를 포함한다. "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", "핵산" 및 "핵산 분자" 사이에 길이를 의도적으로 구분하지 않으며, 이들 용어는 상호교환하여 사용될 것이다. 이들 용어는 분자의 일차 구조만을 말한다. 따라서, 이들 용어는, 예를 들어 3'-디옥시-2',5'-DNA, 올리고디옥시리보뉴클레오티드 N3' P5' 포스포르아미데이트, 2'-O-알킬-치환 RNA, 이중- 및 단일-가닥 DNA, 뿐만 아니라 이중- 및 단일-가닥 RNA, DNA:RNA 혼성체, PNA와 DNA 또는 RNA 간 혼성체를 포함하며, 또한 공지된 종류의 변형, 예를 들어 당업계에 공지된 표지, 메틸화, "캡핑", 하나 이상의 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드간 변형, 예를 들어 비대전 결합을 갖는 것(예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카르바메이트 등), 음으로 하전된 결합을 갖는 것(포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등), 양으로 하전된 결합을 갖는 것(아미노알킬포스포아미데이트, 아미노알킬포스포트리에스테르), 펜던트 부분을 함유하는 것들, 예를 들어 단백질(뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, 폴리-L-리신을 포함), 개재 인자를 갖는 것(예를 들어, 아크리딘, 솔라렌 등), 킬레이터를 갖는 것들(예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화금속 등), 알킬화 인자를 함유하는 것, 변형된 결합을 갖는 것(예를 들어, 알파 아노머 핵산 등), 뿐만 아니라 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 미변형 형태를 포함한다. 특히, DNA는 디옥시리보핵산이다.

<135> 삭제

<136> 삭제

<137> 삭제

<138> 본원에서 사용된 용어인 "표적 핵산 영역" 또는 "표적 핵산"은 증폭될 "표적 서열"을 가진 핵산 분자를 나타낸다. 표적 핵산은 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있으며, 표적 서열 이외에 증폭되지 않을 수도 있는 다른 서열을 포함할 수 있다. 용어 "표적 서열"은 증폭될 표적 핵산의 특정한 뉴클레오티드 서열을 말한다. 표적 서열은 바람직한 조건에서 프로브와 안정한 혼성체를 형성하는 표적 분자 내에 함유된 프로브-혼성화 영역을 포함할 수 있다. 또한, "표적 서열"은 올리고뉴클레오티드 프라이머와 복합체를 이루고 표적 서열을 주형으로 사용하여 확장되는 복합 서열을 포함할 수 있다. 표적 핵산이 원래 단일-가닥인 경우, 용어 "표적 서열"은 또한 표적 핵산에 존재하는 "표적 서열"에 상보하는 서열을 말한다. "표적 핵산"이 원래 이중-가닥인 경우, 용어 "표적 서열"은 플러스(+) 및 마이너스(-) 가닥을 말한다.

<139> 본원에서 사용된 용어 "프라이머" 또는 "올리고뉴클레오티드 프라이머"는 프라이머 확장 산물의 합성이 유도되는 조건에 있을 때, 즉 DNA 또는 RNA 같은 뉴클레오티드 및 중합-유도 제제가 존재하고, 그리고 적합한 온도, pH, 금속 농도, 및 염 농도에서, 상보성 DNA 가닥의 합성을 개시하는 작용을 하는 올리고뉴클레오티드를 말한다. 최대 증폭 효능을 위해서 프라이머는 바람직하게는 단일-가닥이지만, 대안으로는 이중-가닥일 수도 있다. 이중-가닥인 경우, 프라이머는 먼저 그 가닥이 분리되도록 처리한 후에 확장 산물을 제조하는데 사용된다. 이 변성 단계는 전형적으로 열에 의해 행해지지만, 대안으로는 알칼리를 사용한 후 중화함으로써 행해질 수도 있다. 따라서, "프라이머"는 주형에 상보성이며, 주형과의 수소 결합이나 혼성화에 의해 복합체를 이루어 프라이머/주형 복합체를 제공함으로써 중합효소에 의해 합성을 개시하며, 이것은 DNA 합성 과정에서 공유결합 염기가 주형에 상보하는 3' 단부에 연결되어 추가됨으로써 확장된다.

<140> 본원에서 사용된 용어인 "프로브" 또는 "올리고뉴클레오티드 프로브"는 표적 핵산 분석물질에 존재하는 핵산 서열에 상보하는 핵산 서열을 함유하는, 상기 정의된 바와 같은, 폴리뉴클레오티드로 이루어진 구조를 말한다. 프로브의 폴리뉴클레오티드 영역은 DNA 및/또는 RNA 및/또는 합성 뉴클레오티드 유사체로 이루어질 수 있다. "올리고뉴클레오티드 프로브"가 TaqMan™ 기술과 같은 5' 뉴클레아제 분석에서 사용될 때, 프로브는 적어도 하나의 형광물질과 적어도 하나의 퀀처를 함유하며, 퀀처는 반응에 사용된 중합효소의 5' 엔도뉴클레아제 활성에 의해 효소분해됨으로써 어떤 증폭된 표적 올리고뉴클레오티드 서열이 검출된다. 이 환경에서, 올리고뉴클레오티드 프로브는 5' 단부에 인접한 충분한 수의 포스포디에스테르 결합을 가질 것이며, 이로써 사용된 5'에서 3'

을 향한 뉴클레아제 활성은 결합된 프로브를 효과적으로 분해하여 형광물질과 퀀처를 분리할 수 있다. 올리고뉴클레오티드 프로브가 TMA 기술에 사용될 때, 이것은 하기 설명된 것과 같이 적합하게 표지될 것이다.

<141> 안정한 혼성체를 제공하기 위해서 혼성화 서열이 완벽한 상보성을 가질 필요는 없다는 것이 높이 인정될 것이다. 많은 상황에서, 약 10% 미만의 염기가 불일치되는 경우에 안정한 혼성체가 형성될 것이며, 4개 이상의 뉴클레오티드의 루프는 무시한다. 따라서, 본원에서 사용된 용어 "상보성"은, 일반적으로 약 90% 이상의 상동성이 있는 경우, 분석 조건에서 그것의 "보체"와 안정한 듀플렉스를 형성하는 올리고뉴클레오티드를 말한다.

<142> 용어 "혼성화하다" 및 "혼성화"는 Watson-Crick 염기쌍에 의해 복합체를 형성할 만큼 충분히 상보성인 뉴클레오티드 서열들 사이에 복합체의 형성을 말한다. 프라이머가 표적(주형)과 "혼성화"하는 경우, 그러한 복합체(또는 혼성체)는, 예를 들어 DNA 합성을 개시하는 DNA 중합효소가 필요로 하는 시동 기능을 작용시킬 만큼 충분히 안정하다.

<143> 본원에서 사용된 용어 "결합쌍"은, 핵산 듀플렉스를 형성할 수 있는 상보성 폴리뉴클레오티드 쌍과 같은, 서로 특이적으로 결합하는 제 1 분자와 제 2 분자를 말한다. 샘플 중 결합쌍의 제 1 구성원과 결합쌍의 제 2 구성원의 "특이적 결합"은 제 1 구성원과 제 2 구성원의 결합에 의해 증명되거나, 또는 반대로 샘플 중의 다른 성분들보다 더 큰 친화성 및 특이성으로 결합하는 것에 의해 증명된다. 결합쌍의 구성원 간의 결합은 전형적으로 비-공유결합이다. 문장에서 명백히 달리 나타내지 않는다면, 본원에서 사용된 용어 "친화성 분자" 및 "표적 분석 물질"이 결합쌍의 제 1 분자 및 제 2 분자를 각각 말한다.

<144> 용어 "특이적-결합 분자" 및 "친화성 분자"는 본원에서 상호교환하여 사용되며, 화학적 또는 물리적 수단을 통해 샘플에 존재하는 검출가능한 물질에 선택적으로 결합하는 분자를 말한다. "선택적으로 결합한다"라는 말은 이 분자가 해당 표적에 우선적으로 결합하거나, 또는 다른 분자들보다 표적에 더 큰 친화성으로 결합한다는 의미이다. 예를 들어, DNA 분자는 실질적으로 상보성인 서열에 결합하며, 관련되지 않은 서열에는 결합하지 않는다.

<145> 삭제

<146> 이중-가닥 DNA의 "용융 온도" 또는 "Tm"은, 염기쌍 사이의 수소 결합이 가열이나 그 밖의 다른 해리 작용, 예를 들어 산 또는 알칼리 처리 등으로 인해 DNA의 나선 구조의 반이 상실되는 온도로서 정의된다. DNA 분자의 Tm은 그것의 길이 및 염기 조성에 의존한다. GC 염기쌍이 많은 DNA 분자는 AT 염기쌍이 많은 것보다 Tm이 높다. 온도가 Tm 이하로 저하되었을 때, DNA의 분리된 상보 가닥은 자발적으로 다시 결합하거나 어닐링하여 듀플렉스 DNA를 형성한다. 최고 속도의 핵산 혼성화는 Tm보다 약 25°C 낮은 온도에서 일어난다. Tm은 다음 관계식을 사용하여 추정될 수 있다: $T_m = 69.3 + 0.41(GC)\%$ (Marmur et al.(1962) *J. Mol. Biol.* 5:109-118).

<147> 본원에서 사용된 "생물학적 샘플"은 피험자로부터 분리된 조직 또는 유체의 샘플을 말하며, 이것은 통상 피험자에 의해 생성된 항체를 포함한다. 그러한 항체를 포함하는 전형적인 샘플이 당업계에 공지되어 있고, 그것은 혈액, 혈장, 혈청, 대변, 오줌, 골수, 쓸개즙, 척수액, 림프액, 피부 샘플, 피부, 호흡기, 장, 및 비뇨생식관 분비물, 눈물, 침, 젖, 혈액 세포, 기관, 생검조직, 그리고 또한 제한은 없지만 배양 배지 중 세포 및 조직의 성장에 의해 생긴 컨디셔닝 배지를 포함하는 시험관내 세포 배양 구성물의 샘플, 예를 들어 재조합 세포, 및 세포 성분들을 포함한다.

<148> 본원에서 사용된 용어 "표지" 및 "검출가능한 표지"는, 제한은 없지만, 방사성 동위원소, 형광물질, 화학발광물질, 발색단, 효소, 효소 기질, 효소 보조인자, 효소 억제제, 발색단, 염료, 금속이온, 금속 줄, 리간드(즉, 바이오틴, 아비딘, 스트렙토아비딘 또는 헵텐) 등을 포함하는 검출할 수 있는 분자를 말한다. 용어 "형광물질"은 검출가능한 범위에서 형광을 나타낼 수 있는 물질 또는 물질 부분을 말한다.

<149> 삭제

<150> II. 발명을 수행하는 방식

<151> 본 발명을 상세히 설명하기 전에, 본 발명이 특정한 제제 또는 공정 변수에 제한되지 않으며, 이들은 물론 변화할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본원에서 사용된 용어는 본 발명의 특정한 구체예를 설명하기 위한 것이며 본 발명을 제한하지 않는다.

- <152> 본원에 설명된 것과 유사하거나 동등한 많은 조성물 및 방법이 본 발명을 실시하는데 사용될 수 있으며, 바람직한 재료 및 방법이 본원에 설명된 것이다.
- <153> 상기 주지된 대로, 본 발명은 신규 프라이머 및 프로브 그리고 생물학적 샘플에서 파르보바이러스 B19 감염을 정확히 검출하기 위한 진단 방법의 발견에 기초를 둔다. 본 방법은 소량의 바이러스를 함유하는 샘플에서 파르보바이러스 B19 표적 핵산 서열의 확인을 허용하는 민감한 핵산-기초 검출 기술에 의존한다.
- <154> 특별히, 발명자는 진단 시험에 바람직한 표적인 파르보바이러스 B19 게놈 내의 영역의 특성을 나타낸다. 이 영역으로부터 유도된 프라이머와 프로브는 생물학적 샘플에서 파르보바이러스 B19 감염을 검출하는데 매우 유용하다.
- <155> 상기 기술된 파르보바이러스 B19 프라이머와 프로브는 생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19 감염을 검출하기 위한 핵산-기초한 분석에서 사용된다.
- <156> 특히, 본 출원인은 본원에서 진단 시험을 위한 바람직한 표적인 파르보바이러스 B19 게놈 내의 특성화된 영역을 가진다. 이들 영역으로부터 유래된 프라이머 및 프로브는 생물학적 샘플에서 파르보바이러스 B19 감염의 검출에 대단히 유용하다.
- 상기 설명된 파르보바이러스 B19 프라이머 및 프로브는 생물학적 샘플에서 사람 파르보바이러스 B19 감염을 검출하기 위한 핵산-기초 분석에서 사용된다. 특히, 이들 분석에서 사용되는 프라이머 및 프로브는 바람직하게는 Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936의 뉴클레오타이드 위치 217-4678에 상응하는 파르보바이러스 B19 게놈의 약 4.7kb 단편으로부터 유래된다. 2개의 다른 파르보바이러스 B19 분리주로부터 유래한 이 영역의 뉴클레오타이드 서열이 도 3A-3C 및 4A-4C에 묘사된다. 상기 설명된 대로, 이 단편은 NS1, VP1 및 VP2 암호화 영역을 함유한다.
- <157> 본 분석에서 사용되는 특히 바람직한 프라이머 및 프로브는 파르보바이러스 B19 게놈의 고도로 보존된 영역으로부터 디자인되며, 이로써 다양한 분리주에 의해 야기되는 파르보바이러스 B19 감염의 검출을 허용한다. 본원에 설명된, 파르보바이러스 B19 게놈의 고도로 보존된 영역은 Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈에 관하여 번호 매겨진, 뉴클레오타이드 위치 2936-3635에 걸친 700bp 영역 내에서 발견된다. 이 영역은 게놈의 VP1 영역 내에서 발견된다. 21개의 다른 파르보바이러스 B19 분리주로부터 유래한 이 영역의 서열을 도 2A-2U에 나타낸다. 추가의 26개 분리주로부터 유래한 서열은 도 11A-11Z에 나타낸다. 서열의 비교는 이 영역이 분리주들이 약 98%에서 99.5%까지의 서열 상동성을 나타낸다는 것을 보이는데, 때문에 이것은 매우 바람직한 표적 서열이다. 또한, 프라이머 및 프로브를 디자인하는데 바람직한 것은 Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 관하여 번호 매겨진, 약 뉴클레오타이드 위치 3073-3442에 걸친 VP1 내에서 발견된 370bp 영역과, 뿐만 아니라 4.7kb 단편의 3' 부분 내에서 발생하고, Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 관하여 번호 매겨진, 뉴클레오타이드 위치 4728-4941에 걸친, 도 1에 묘사된 214bp 단편이다.
- <158> 삭제
- <159> 4.7kbp, 700bp, 및 370bp 영역은 본원에 설명되고, 미국특허 제4,683,195호, 제4,683,202호 및 제4,889,818호에 설명된 것과 같이, PCT 반응에서 프라이머로서 이들 특정한 영역 내에서 발견된 파르보바이러스 B19 서열의 부분을 사용하여, 그리고 본원에 제공된 서열에 기초하여, 추가의 분리주로부터 쉽게 얻어질 수 있다. 바람직한 서열을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 획득하기 위한 다른 방법은 종래의 자동 폴리뉴클레오타이드 합성기에서 생산된 중첩하는 합성 올리고뉴클레오타이드의 상보 세트를 어닐링하고, 그 다음 적합한 DNA 리가아제로 리게이션한 후, 리게이션된 뉴클레오타이드 서열을 PCR에 의해 증폭하는 것이다. Jayaraman et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4084-4088 참조. 일단 서열을 제조되고 분리되면, 이들은 어떤 적합한 벡터 또는 복제단위로 클로닝될 수 있다. 많은 클로닝 벡터가 당업자에게 공지되어 있고, 적합한 클로닝 벡터의 선정은 선택의 문제이다. 적합한 벡터는, 제한은 없지만, 적절한 대조표준 요소와 결합되었을 때 복제할 수 있는 플라스미드, 파지, 트랜스포존, 코스미드, 염색체 또는 바이러스를 포함한다. 재조합 클론은 당업계에 잘 공지되고 하기 실시예에 설명된 기술을 사용하여, 제한효소 분석 및 폴리아크릴아미드 또는 아가로스 겔 전기영동으로 쉽게 확인된다.
- <160> 삭제

- <161> 본원에서 분석에 사용되는 프라이머 및 프로브는 이러한 서열로부터 유래되며, 예를 들어 미국특허 제4,458,066호 및 제4,415,732호; Beaucage et al. (1992) *Tetrahedron* 48:2223-2311; 및 Applied Biosystems User Bulletin No. 13(1987.4. 1)에 개시된, 포스포라미다이트 화학에 의한 고체상 합성과 같은 표준 기술에 의해 쉽게 합성된다. 그 밖의 다른 화학적 합성 방법들은, 예를 들어 Narang et al., *Meth. Enzymol.* (1979) 68:90에 의해서 설명된 포스포트리에스테르법 및 Brown et al., *Meth. Enzymol.* (1979) 68:109에 의해서 설명된 포스포디에스테르법을 포함한다. 폴리(A) 또는 폴리(C), 또는 다른 비-상보성 뉴클레오티드 확장체가 이들 동일한 방법을 이용하여 프로브에 통합될 수 있다. 헥사에틸렌 옥시드 확장체가 당업계에 공지된 방법에 의해서 프로브에 결합될 수 있다. Cload et al. (1991) *J. Am.Chem. Soc.* 113:6324-6326; 미국특허 No. 4,914,210, Levenson et al.; Durand et al. (1990) *Nucleic acid Res.* 18:6353-6359; 및 Horn et al. (1986) *Tet.Lett.* 27:4705-4708. 전형적으로, 프라이머 서열은 10 내지 75 뉴클레오티드 길이의 범위, 예를 들어 15 내지 60, 20 내지 40 등등이며, 더 전형적으로는 18 내지 40 뉴클레오티드 길이의 범위이고, 상술된 범위 사이의 어떤 길이여도 된다. 전형적인 프로브는 10 내지 50 뉴클레오티드 길이 범위, 예를 들어 15 내지 40, 18 내지 30 등등이며, 상술된 범위 사이의 어떤 길이여도 된다.
- <162> 더욱이, 프로브는 검출을 위해서 표지와 결합될 수 있다. 표지의 첨가를 허용하는 반응성 작용기를 갖는 올리고뉴클레오티드를 유도하기 위한 몇몇 수단이 공지되어 있다. 예를 들어, 프로브를 바이오틴화하기 위한 몇몇 접근법을 이용할 수 있는데, 여기서는 방사능, 형광, 화학발광, 효소 또는 전자 조밀 표지가 아비딘에 의해 부착될 수 있다. 예를 들어, 페리틴-아비딘-바이오틴 표지의 사용을 개시한 Broken et al., *Nucl. Acids Res.* (1978) 5:363-384; 그리고 아미노알킬포스포라미드 링커 암에 의한 올리고뉴클레오티드 5'-말단의 바이오틴화를 개시한 Chollet et al. *Nucl. Acids Res.* (1985) 13:1529-1541을 참조한다. 또한, 이소티오시아네이트, N-히드록시숙신이미드 등의 아미노-반응성 기에 의해 유도된 형광성 또는 다른 종류의 화합물에 의해서 쉽게 표지되는 아미노-유도체화 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위한 몇몇 방법을 이용할 수 있는데, 예를 들어 Connolly (1987) *Nucl. Acids Res.* 15:3131-3139, Gibson et al. (1987) *Nucl. Acids Res.* 15:6455-6467 및 미국특허 제4,605,735호(Miyoshi et al.)를 참조한다. 또한, 티올-특이적 표지와 반응될 수 있는 술폰히드릴-유도체화 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위한 몇몇 방법을 또한 이용할 수 있는데, 예를 들어 미국특허 제4,757,141호(Fung et al.), Connolly et al. (1985) *Nucl. Acids Res.* 13:4485-4502 및 Spoot et al. (1987) *Nucl. Acids Res.* 15:4837-4848를 참조한다. DNA 단편을 표지하는 방법에 대한 포괄적인 리뷰는 Matthews et al., *Anal. Biochem.* (1988) 169:1-25에 제공된다.
- <163> 삭제
- <164> 삭제
- <165> 예를 들어, 프로브의 비-리게이팅 말단에 형광 분자를 연결함으로써 프로브가 형광 표지될 수 있다. 적합한 형광 표지를 선택하기 위한 지침은 Smith et al. *Meth. Enzymol.*(1987) 155:260-301; Karger et al. *Nucl. Acids Res.*(1991)19:4955 -4962; Haugland (1989) *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals* (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR)에서 찾을 수 있다. 바람직한 형광 표지는 미국특허 No. 4,318,846 및 Lee et al., *Cytometry* (1989) 10:151-164에 개시된 것과 같은, 플루오레세인 및 그 유도체, 및 6-FAM, JOE, TAMRA, ROX, HEX-1, HEX-2, ZOE, TET-1 또는 NAN-2 등을 포함한다.
- <166> 추가로, 프로브는 하기 설명된 기술을 사용하여 아크리디늄 에스테르(AE)로 표지될 수 있다. 현재 기술은 프로브 내의 어떤 장소에라도 AE 표지가 위치되도록 허용한다. 예를 들어, Nelson et al. (1995) "Detection of Acridinium Esters by Chemiluminescence" in *Nonisotopic Probing, Blotting and Sequencing*, Kricka L. J.(ed) Academic Press, San Diego, CA; Nelson et al.(1994) "Application of the Hybridization Protection Assay(HPA) to PCR" in *The Polymerase Chain Reaction*, Mullis et al. (eds.) Birkhauser, Boston, MA; Weeks et al., *Clin. Chem.* (1983) 29:1474-1479; Berry et al., *Clin.Chem.* (1988) 34:2087-2090를 참조한다. AE 분자는 프로브 내의 어떠한 장소에도 표지의 배치를 허용하는 비-뉴클레오티드-기초 링커 암 화학을 이용하여 프로브에 직접 부착될 수 있다. 예를 들어, 미국특허 제5,585,481호 및 제5,185,439호를 참조한다.

- <167> 삭제
- <168> 삭제
- <169> 어떤 구체예에서, 표적 포착 및 증폭을 위해 대조표준으로서 작용하는 내부 대조표준(IC) 또는 내부 기준을 첨가된다. 바람직하게, IC는 표적 서열과 상이하고, 샘플로부터 유래한 유기체에 특이적인 올리고뉴클레오타이드를 분리하는데 사용되는 프로브 서열과 혼성화할 수 있고, 증폭할 수 있는 서열을 포함한다. IC의 사용은 분리 과정, 증폭 과정, 및 검출 시스템의 제어를 허용하고, 분석 성능의 모니터링과 샘플(들)의 정량을 허용한다. IC가 얻어질 수 있는 대표적인 서열이 도12에 도시된다. IC는 어떤 적합한 장소, 예를 들어 세포용해 완충액에 포함될 수 있다. 한 구체예에서, IC는 파르보바이러스 B19로부터 유래한 뉴클레오타이드 서열과, 예를 들어 VP1 영역으로부터 유래한 서열을 포함하는 프로브와 혼성화하는 특정 서열을 함유하는 M13 ssDNA를 포함하며, 이 경우 표적 서열은 5 내지 20 염기 이상, 바람직하게는 5 내지 15 염기, 예를 들어 5, 10 또는 15 염기 또는 이들 범위 내의 어떤 수의 염기를 치환 또는 결실함으로써 변형된다. 치환된 또는 결실된 염기는 바람직하게 표적 서열의 전 길이에 걸쳐 발생하며, 이로써 단지 2 또는 3개의 연속 서열이 대체된다. 따라서, 예를 들어, 표적 서열이 CTACTTGCTGCGGGAGAAAAACACCT (SEQ ID NO:91)라면, IC에서 이 서열은, 예를 들어 AGCTAGACCTGCATGTCCTG(SEQ ID NO:90)로 치환될 수 있다.
- <170> 삭제
- <171> 고체 지지체는 내부 기준(IC 프로브)에 특이적인 프로브를 추가로 포함할 수 있으며, 이로써 IC 프로브를 사용할 때의 포착을 촉진한다. IC 프로브는 선택적으로 표적 서열의 검출가능한 표지와는 다른 검출가능한 표지와 결합될 수 있다. 검출가능한 표지가 형광단인 구체예에서, IC는 분광광도적으로 검출 연구의 한계까지 정량될 수 있다. 전형적으로, 표적 검출을 방해하지 않는 IC의 카피 수는, 바람직하게는 저 종점에서, 표적의 고정된 IU로 IC를 적정함으로써 결정되며, 국제적으로 승인된 IU의 샘플을 희석함으로써 표준 곡선이 생성된다. 파르보바이러스 B19 정량에 대하여, 8000 IU - 125 IU의 8개 부재 패널이 사용될 수 있다.
- <172> 다른 구체예에서, 본원에 설명된 IC는 당업자에게 공지되고 여기 설명된 표준 기술에 따라서 샘플로부터 분리된 RNA와 조합된다. 다음에, RNA가 역 전사효소를 사용하여 역전사되어 카피 DNA가 제공된다. cDNA 서열이 선택적으로 표지된 프라이머를 사용하여 (예를 들어, PCR에 의해) 증폭될 수 있다. 증폭 산물은 전형적으로는 전기영동에 의해 분리되며, (증폭 산물의 양에 비례하는) 방사능의 양이 측정된다. 다음에, 공지된 표준에 의해 생긴 신호와 비교함으로써 샘플 중의 mRNA의 양이 계산된다.
- <173> 삭제
- <174> 생물학적 샘플에서 파르보바이러스 B19 감염을 검출하기 위해서 상기 설명된 프라이머 및 프로브가 중합효소 연쇄 반응(PCR)-기초 기술에 사용될 수 있다. PCR은 핵산 분자 또는 분자의 혼합물에 함유된 원하는 표적 핵산 서열을 증폭하기 위한 기술이다. PCR에서는 한 쌍의 프라이머를 과량으로 사용하여 표적 핵산의 상보성 가닥에 혼성화한다. 표적 핵산을 주형으로 사용하여 중합효소에 의해 프라이머가 각각 확장된다. 확장 산물은 최초의 표적 가닥으로부터의 해리 후에 표적 서열이 된다. 다음에, 새로운 프라이머가 혼성화되고 중합효소에 의해 확장되는데, 이 사이클을 반복하여 표적 서열 분자의 수를 기하급수적으로 증가시킨다. 표적 핵산 서열을 증폭시키는 PCR 방법은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 예를 들어 Innis et al. (eds.) PCR Protocols (Academic Press, NY 1990); Taylor (1991) Polymerase chain reaction: basic principles and automation in PCR: A Practical Approach, McPherson et al. (eds.) IRL Press, Oxford; Saiki et al. (1986) Nature 324; 및 미국 특허 4,683,195, 4,683,202, 및 4,889,818에 설명된다.
- <175> 삭제
- <176> 특히, PCR은 3'-단부가 서로 마주보도록 배향되고, 각 프라이머가 나머지 하나를 향해 확장된, 증폭될 표적 뉴클레오타이드 서열 측면의 비교적 짧은 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용한다. 폴리뉴클레오타이드 샘플이 추출

되고, 바람직하게는 열에 의해 변성되며, 물 과량으로 존재하는 제 1 및 제 2 프라이머와 혼성화된다. 프라이머 확장 산물을 생산할 수 있는 어떤 효소, 예를 들어, *E. coli* DNA 중합효소 I, DNA 중합효소 I의 Klenow 단편, T4 DNA 중합효소, 여러 출처(예를 들어, Perkin Elmer)로부터 입수가 가능한 *Thermus aquaticus*(Taq), *Thermus thermophilus*(United States Biochemicals), *Bacillus streptothermophilus*(Bio-Rad) 또는 *Thermococcus litoralis*("Vent" 중합효소, New England Biolabs)로부터 분리된 열안정성 DNA 중합효소와 같은, 프라이머- 및 주형-의존성 폴리뉴클레오티드 중합 체제를 사용하여 4개의 디옥시리보뉴클레오티드 트리포스페이트(dNTP -- dATP, dGTP, dCTP 및 dTTP)의 존재하에 중합이 촉매된다. 이 결과, 원 가닥의 새로 합성된 보체에 공유결합된 5'-단부에 각 프라이머를 함유하는 2개의 "긴 산물"이 생산된다. 다음에, 예를 들어, 온도를 저하하거나, 변성제를 불활성화하거나, 또는 중합효소를 더 첨가함으로써 반응 혼합물이 중합 조건으로 다시 되돌려지고, 제 2 사이클이 개시된다. 제 2 사이클은 최초의 두 가닥, 제 1 사이클로부터의 2개의 긴 산물, 원 가닥으로부터 복제된 2개의 새로운 긴 산물, 그리고 긴 산물로부터 복제된 2개의 "짧은 산물"을 제공한다. 짧은 산물은 각 단부에 프라이머를 갖는 표적 서열의 서열을 가진다. 각 추가 사이클에 의해, 추가의 2개의 긴 산물이 생산되고, 앞 사이클의 종료시 남은 긴 산물과 짧은 산물의 수와 동등한 많은 짧은 산물이 생산된다. 따라서, 표적 서열을 함유하는 짧은 산물의 수는 각 사이클에 있어 지수적으로 증가한다. 바람직하게, PCR은 상업적으로 입수가 가능한 열 사이클러, 예를 들어 Perkin Elmer를 가지고 수행된다.

<177> 삭제

<178> RNA는 mRNA를 cDNA로 역전사한 후, 상기 설명된 바의 PCR(RT-PCR)을 수행함으로써 증폭될 수 있다. 대안으로, 미국특허 제5,322,770호에 설명된 대로, 단일 효소가 두 단계 모두에서 사용될 수 있다. 또한, mRNA가 cDNA로 역전사되고, 이어서 Marshall et al.(1994) PCR Meth. App. 4:80-84에 설명된, 비대칭 잭 리가아제 연쇄 반응(RT-AGLCR)이 행해질 수 있다.

<179> TaqMan™ 분석(Perkin-Elmer)으로 알려진 형광성 5' 뉴클레아제 분석이 핵산 표적에 대한 강력한 다목적 PCR-기초 검출 시스템이다. 따라서, 본원에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈의 영역으로부터 유래된 프라이머 및 프로브를 TaqMan™ 분석에 사용하여, 생물학적 샘플에서 감염의 존재를 검출할 수 있다. 분석은 열 사이클링과 함께 형광 신호의 발생을 모니터링함으로써 수행된다. 이 분석 시스템에서는 겔 전기영동 분석을 할 필요가 없으며, 정량 데이터를 생성하여 표적 카피 수를 측정할 수 있다.

<180> 형광성 5' 뉴클레아제 분석은, 예를 들어 내인성 5' 뉴클레아제 활성을 갖는 AmpliTaq Gold™ DNA 중합효소를 사용하여, 형광 리포터 염료와 퀀처로 표지된 내부 올리고뉴클레오티드 프로브를 효소절단함으로써 편리하게 수행된다(Holland et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1991) 88:7276-7280; Lee et al., *Nucl. Acids Res.* (1993) 21:3761-3766 참조). 분석 결과는, 증폭 사이클 동안 형광 프로브가 효소절단됨에 따라 발생하는 형광의 변화를 측정하고, 염료와 퀀처 표지의 결합을 풀고, 표적 DNA의 증폭에 비례하여 형광 신호의 증가를 일으킴으로써 검출된다.

<181> 증폭 산물은 용액 중에서 또는 고체 지지체를 사용하여 검출될 수 있다. 이런 방법에서는 TaqMan™ 프로브가 원하는 PCR 산물 내의 표적 서열과 혼성화하도록 디자인된다. TaqMan™ 프로브의 5' 단부는 형광 리포터 염료를 함유한다. 프로브의 3' 단부는 프로브 확장을 방지하기 위해 차단되며, 5' 형광단의 형광을 소멸시키는 염료를 함유한다. 연속 증폭 동안, 5' 엑소뉴클레아제 활성을 갖는 중합효소가 반응물에 존재한다면, 5' 형광 표지가 절단된다. 5' 형광단의 절단 결과 검출될 수 있는 형광이 증가된다.

<182> 특히, 올리고뉴클레오티드 프로브는 혼성화되지 않았을 때 프로브가 적어도 하나의 단일-가닥 형태로 존재하도록 구성되며, 이 경우 퀀처 분자는 리포터 분자의 형광을 소멸시킬 만큼 리포터 분자에 충분히 가까이 있게 된다. 또한, 올리고뉴클레오티드 프로브는 표적 폴리뉴클레오티드와 혼성화되었을 때, 퀀처 분자가 리포터 분자의 형광을 소멸시킬 만큼 충분히 가깝게 위치하지 않도록 하는 적어도 하나의 형태로 존재한다. 이들 혼성화된 형태와 혼성화되지 않은 형태를 채용함으로써, 프로브 상의 리포터 분자 및 퀀처 분자는 프로브가 혼성화될 때와 혼성화되지 않을 때 상이한 형광 신호 강도를 나타낸다. 결과적으로, 리포터 분자, 퀀처 분자 또는 이들의 조합의 형광 강도의 변화에 기초하여 프로브가 혼성화되었는지 혼성화되지 않았는지 측정하는 것이 가능하다. 게다가, 프로브가 혼성화되지 않았을 때는 퀀처 분자가 리포터 분자를 소멸시킬 수 있도록 프로브가 디자인될 수 있기 때문에, 프로브가 혼성화되었는지 효소절단되었는지 관계없이 리포터 분자가 제한된 형광을 나타내도록 프로브가 디자인될 수 있다.

- <183> 따라서, 본 발명은, 5'에서 3'을 향한 뉴클레아제 활성을 갖는 핵산 중합효소, 표적 B19 서열에 혼성화할 수 있는 하나 이상의 프라이머, 및 프라이머에 관하여 표적 B19 서열 3'에 혼성화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하여, 표적 파르보바이러스 B19 뉴클레오타이드 서열을 증폭하는 방법에 관한 것이다. 증폭 동안, 중합효소는, 그것이 표적 서열에 혼성화되었을 때 올리고뉴클레오타이드 프로브를 효소절단함으로써, 퀀처 분자로부터 리포터 분자를 분리한다. 증폭이 수행됨에 따라, 리포터 분자의 형광이 모니터링되는데, 형광은 핵산 증폭의 발생에 상응한다. 리포터 분자는 바람직하게는 플루오레세인 염료이고, 퀀처 분자는 바람직하게는 로다민 염료이다.
- <184> 삭제
- <185> 프라이머 및 프로브의 길이는 변할 수 있으며, 프로브 서열은 프라이머 서열보다 낮은 용융 온도를 가지도록 선택된다. 그러므로, 프라이머 서열은 일반적으로 프로브 서열보다 길다. 전형적으로, 프라이머 서열은 10-75 뉴클레오타이드 길이 범위, 더 전형적으로는 20-45의 범위이다. 전형적인 프로브는 10-50 뉴클레오타이드 길이 범위, 더 전형적으로는 15-40 뉴클레오타이드 길이이다.
- <186> 고체 지지체가 사용되는 경우, 올리고뉴클레오타이드 프로브를 다양한 방식으로 고체 지지체에 부착될 수 있다. 예를 들어, 프로브의 3' 또는 5' 말단 뉴클레오타이드를 고체 지지체에 부착시킴으로써 프로브가 고체 지지체에 부착될 수 있다. 더 바람직하게, 프로브는 프로브와 고체 지지체를 간격을 두고 떨어뜨리는 링커에 의해 고체 지지체에 부착된다. 링커는 일반적으로 적어도 15-30 원자 길이, 더 바람직하게는 15-50 원자 길이이다. 링커의 필요한 길이는 사용된 특정한 고체 지지체에 의존할 것이다. 예를 들어, 고도로 가교결합된 폴리스티렌이 고체 지지체로 사용될 때는 일반적으로 6개 원자의 링커면 충분하다.
- <187> 올리고뉴클레오타이드 프로브를 고체 지지체에 부착하는데 사용될 수 있는 다양한 링커가 당업계에 공지되어 있다. 링커는 표적 서열과 고체 지지체에 부착된 프로브의 혼성화는 유의하게 방해하지 않는 어떤 화합물로 형성될 수 있다. 링커는 자동 합성에 의해 링커 위에 쉽게 부가될 수 있는 호모폴리머 올리고뉴클레오타이드로 형성될 수 있다. 대안으로, 기능적 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리머가 링커로서 사용될 수 있다. 그러한 폴리머는 프로브와 표적 올리고뉴클레오타이드와 혼성화를 유의하게 방해하지 않기 때문에 호모폴리머 올리고뉴클레오타이드보다 바람직하다. 폴리에틸렌 글리콜이 특히 바람직하다.
- <188> 고온의 염기성 조건에서 고체 지지체, 링커, 및 프로브 사이의 결합은 염기 보호기를 제거하는 동안에 절단되지 않는 것이 바람직하다. 바람직한 결합의 예는 카르바메이트 및 아마이드 결합을 포함한다.
- <189> 올리고뉴클레오타이드 프로브를 고정하기 위한 고체 지지체의 바람직한 종류의 예는 제어된 공극을 갖는 유리, 유리 플레이트, 폴리스티렌, 아비딘-코팅 폴리스티렌 비드, 셀룰로오스, 나일론, 아크릴아미드 겔 및 활성화 텍스트라를 포함한다.
- <190> TaqMan™ 분석, 거기에 사용되는 시약 및 조건에 대한 상세한 설명은, 예를 들어 Holland et al., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. (1991) 88:7276-7280; 미국특허 제5,538,848호, 제5,723,591호, 제5,876,930호를 참조한다.
- <191> 또한, 본원에 설명된 파르보바이러스 B19 서열은 전사-매개 증폭(TMA) 분석의 기초로서 사용될 수 있다. TMA는 생물학적 샘플에 매우 소량 존재하는 표적 핵산 서열을 확인하는 방법을 제공한다. 그러한 서열은 직접 분석 방법을 사용하여 검출하기는 어렵거나 불가능할 수 있다. 특히, TMA는 등온 자가촉매 핵산 표적 증폭 시스템으로서, 표적 서열의 10억개 이상의 RNA 카피를 제공할 수 있다. 이 분석은 정성적으로 행해질 수 있으며, 생물학적 샘플에서 표적 서열의 존재 또는 부재를 정확하게 검출한다. 또한, 이 분석은 여러 정도 크기의 농도 범위에 걸쳐 표적 서열의 양을 정량적으로 측정할 수 있다. TMA는 온도, 이온 강도 및 pH와 같은 반응 조건을 반복적 조작 없이도 표적 핵산 서열의 다수 카피를 자가촉매적으로 합성하는 방법을 제공한다.
- <192> 일반적으로, TMA는 다음의
- <193> (a) 파르보바이러스 B19로 감염된 것으로 의심되는 해당 생물학적 샘플로부터 RNA를 함유하여 핵산을 분리하는 단계; 및
- <194> (b) (i) 분리된 핵산,
- <195> (ii) 제 1 및 제 2 올리고뉴클레오타이드 프라이머, 여기서 제 1 프라이머는 RNA 표적 서열의 3' 말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 가짐으로써, 표적 서열이 존재할 경우(예를 들어 (+) 가닥) 그것과 복합체를

이루고, 제 2 프라이머는 복합체를 이를 만큼 보체(예를 들어, (-) 가닥)의 표적 서열의 3' 말단 부분에 충분히 상보적인 복합 서열을 가지며, 여기서 제 1 올리고뉴클레오타이드는 프로모터를 포함하는 복합 서열에 서열 5'를 더 포함하고,

<196> (iii) 역 전사효소 또는 RNA 및 DNA 의존성 DNA 중합효소,

<197> (iv) RNA-DNA 복합체의 RNA 가닥을 선택적으로 분해하는 효소 활성(예를 들어, RNase H), 및

<198> (v) 프로모터를 인식하는 RNA 중합효소

<199> 를 반응 혼합물로 조합하는 단계

<200> 를 포함한다.

<201> 삭제

<202> 반응 혼합물의 성분들은 단계적으로 또는 한번에 조합될 수 있다. 표적 서열의 다수 카피를 제공하기에 충분한 시간 동안, (리보뉴클레오타이드 트리포스페이트 및 디옥시리보뉴클레오타이드 트리포스페이트를 포함하는) DNA 시동 및 핵산 합성 조건을 포함하는, 올리고뉴클레오타이드/표적 서열이 형성되는 조건에서 반응 혼합물이 인큐베이션된다. 성분 효소와 같은 반응 성분들의 안정성이 유지되는데 적합하고, 증폭 반응의 진행과정 동안 반응 조건을 변경하거나 조작할 필요가 없는 조건에서 반응이 일어나는 것이 유리하다. 따라서, 실질적으로 등온이고, 실질적으로 일정한 이온 강도 및 pH를 포함하는 조건에서 반응이 일어날 수 있다. 이 반응은 편리하게도 제 1 DNA 확장 반응에 의해 생산된 RNA-DNA 복합체를 분리하기 위한 변성 단계를 필요로 하지 않는다.

<203> 적합한 DNA 중합효소는 역전사효소, 예를 들어 조류 골수아종 바이러스(AMV) 역전사효소(예를 들어, Seikagaku American, Inc로부터 입수가가능함) 및 Moloney 쥐 백혈병 바이러스(MMLV) 역전사효소(Bethesda Research Laboratories로부터 입수가가능함)를 포함한다.

<204> 프라이머로 통합시키는데 적합한 프로모터 또는 프로모터 서열은, 그 서열을 인식하여 그것에 결합하고, 전사 과정을 개시함으로써 RNA 전사체를 생산하는 RNA 중합효소에 의해 특이적으로 인식되는 핵산 서열(자연발생, 합성생산된 것 또는 제한효소 절단 산물 중 어느 것)이다. 이 서열은 선택적으로 RNA 중합효소의 정확한 제한 자리를 넘어서 확장된 뉴클레오타이드 염기를 포함할 수 있는데, 이것은 분해 과정에 안정성 또는 감수성을 추가로 부여하거나, 또는 전사 효능을 추가로 증가시킬 수 있다. 유용한 프로모터의 예는 어떤 박테리오파지 중합효소, 예를 들어 박테리오파지 T3, T7 또는 SP6로부터 유래한 것들에 의해 인식되는 것들, 또는 *E. coli*로부터의 프로모터를 포함한다. 이들 RNA 중합효소는 New England Biolabs 및 Epicentre와 같은 상업적 출처로부터 쉽게 입수가가능하다.

<205> 본원의 방법에 사용되는 적합한 역 전사효소 중 일부는, AMV 역 전사효소와 같이 RNase H 활성을 가진다. 그러나, AMV 역 전사효소가 사용되었을 때도 *E.coli* RNase H 같은 외인성 RNase H를 첨가하는 것이 바람직할 수 있다. RNase H는, 예를 들어 Bethesda Research Laboratories로부터 쉽게 입수가가능하다.

<206> 이들 방법에 의해 생산된 RNA 전사체는 주형으로서 작용하여 상기 설명된 메카니즘을 통해 표적 서열의 추가의 카피를 생산할 수 있다. 이 시스템은 자가촉매적이며, 온도, pH, 이온 강도 등과 같은 반응 조건을 반복적으로 변경하거나 변화시킬 필요 없이 증폭이 자가촉매적으로 일어난다.

<207> 직접 서열화, 서열-특이적 올리고머와의 혼성화, 겔 전기영동 및 질량분석기를 포함하는, 광범한 방법을 사용하여 검출을 행할 수 있다. 이들 방법은 이중성 또는 동중성 포맷의 동위원소 또는 비-동위원소 표지를 사용할 수 있을 뿐만 아니라, 표지를 전혀 사용하지 않을 수도 있다.

<208> 한 바람직한 검출 방법은 상기 설명된 4.7kbp, 700bp, 370bp 및 214bp 단편으로부터 유래된 표적 서열-특이적 올리고뉴클레오타이드 프로브의 사용이다. 이 프로브는 혼성화 보호 분석(HPA)에서 사용될 수 있다. 이 구체예에서, 프로브는 매우 화학발광성 분자인 아크리딘늄 에스테르(AE)로 공유적으로 표지된다. 예를 들어, Nelson et al.(1995) "Detection of Acridinium Esters by Chemiluminescence" in *Nonisotopic Probing, Blotting and Sequencing*, Kricka L. J. (ed) Academic Press, San Diego, CA; Nelson et al. (1994) "Application of the Hybridization Protection Assay(HPA) to PCR" in *The Polymerase Chain Reaction*, Mullis et al. (eds.) Birkhauser, Boston, MA; Weeks et al., *Clin. Chem.* (1983) 29:1474-1479; Berry et al., *Clin. Chem.*(1983) 29:1474-1479; Berry et al., *Clin. Chem.*(1988) 34:2087-2090 참조. 하나의 AE 분자가 비-뉴클레오타이드-기초

링커 암 화학을 사용하여 프로브에 직접 부착되며, 이것은 프로브 내의 어떤 장소에도 표지가 배치되도록 허용한다. 예를 들어, 미국 특허 제5,585,481호 및 제5,185,439호 참조. 화학발광은 알칼리성 과산화수소와의 반응에 의해 개시되는데, N-메틸 아크리돈이 여기되고, 그 다음 광자가 방출되면서 바닥 상태로 떨어진다. 추가로, AE는 에스테르 가수분해를 일으켜 비-화학발광성 메틸 아크리디늄 카르복실산을 제공한다.

<209> 삭제

<210> 삭제

<211> 삭제

<212> 삭제

<213> AE 분자가 핵산 프로브에 공유 부착될 때, 약한 알칼리성 조건에서는 가수분해가 빨라진다. AE-표지된 프로브가 표적 핵산 서열에 정확히 상보할 때는, AE 가수분해의 속도가 대단히 감소된다. 따라서, 혼성화된 AE-표지된 프로브와 혼성화되지 않은 프로브가 물리적으로 분리할 필요 없이 용액 중에서 직접 검출될 수 있다.

<214> HPA는 일반적으로 다음 단계로 구성된다: (a) AE-표지된 프로브가 약 15 내지 약 30분 동안 용액 중에서 표적 핵산과 혼성화된다. 다음에, 약한 알칼리성 용액이 첨가되고, 혼성화되지 않은 프로브와 결합된 AE가 가수분해된다. 이 반응은 약 5 내지 10분 걸린다. 남은 혼성체-결합 AE가 존재하는 표적의 양을 측정함으로써 검출된다. 이 단계는 약 2 내지 5초 걸린다. 바람직하게, 차등 가수분해 단계는 혼성화 단계와 동일한 온도, 전형적으로 50 내지 70°C에서 수행된다. 또는 달리, 두 번째 차등 가수분해 단계가 실온에서 수행된다. 이것은 사용된 pH를, 예를 들어 10-11의 범위로 상승시키며, 이것은 혼성화된 AE-표지된 프로브와 혼성화되지 않은 프로브 간 가수분해 속도의 차이를 더 크게 한다. HPA는, 예를 들어 미국특허 제6,004,745호; 제5,948,899호; 및 제5,283,174호에 상세히 설명된다.

<215> TMA는, 예를 들어 미국특허 제5,399,491호에 자세히 설명되어 있다. 전형적인 분석에 대한 한 예에서, 파르보바이러스 B19 표적 서열을 함유하는 것으로 의심되는 분리된 핵산 샘플이 완충제, 염, 마그네슘, 뉴클레오티드 트리포스페이트, 프라이머, 디티올트레이톨, 및 스퍼미딘을 함유하는 완충 농축물과 혼합된다. 반응은 선택적으로 약 2분 동안 약 100°C에서 인큐베이션되며, 이로써 어떤 2차 구조가 변성된다. 실온으로 냉각한 후, 역전사효소, RNA 중합효소, 및 RNase H를 첨가하고, 혼합물을 37°C에서 2 내지 4시간 동안 인큐베이션한다. 다음에, 생성물을 변성시키고, 프로브 용액을 첨가하고, 60°C에서 20분 동안 인큐베이션하고, 혼성화되지 않은 프로브를 선택적으로 가수분해하는 용액을 첨가하고, 반응물을 60°C에서 6분 동안 인큐베이션하고, 발광분석기에서 잔류한 화학발광을 측정함으로써 반응물이 분석될 수 있다.

<216> 삭제

<217> 또한, 본 발명의 올리고뉴클레오티드 분자는 핵산 서열-기초 증폭(NASBA)에서 사용될 수 있다. 이 방법은 특정 핵산의 시험관내 연속, 균질 및 등온 증폭을 유도하여 핵산의 RNA 카피를 제공하는 프로모터-관련 효소 과정이다. NASBA를 수행하기 위한 시약은 프로모터를 포함하는 5' 미부를 갖는 제 1 DNA 프라이머, 제 2 DNA 프라이머, 역전사효소, RNase-H, T7 RNA 중합효소, NTP's 및 dNTP's를 포함한다. NASBA를 이용하여, 단일-가닥 RNA 또는 DNA, 또는 이중-가닥 DNA로부터 다량의 단일-가닥 RNA가 생성된다. RNA가 증폭될 때는 ssRNA가 주형으로 작용하여 RNA 중합효소 인식 부위를 함유하는 제 1 프라이머의 신장에 의해 제 1 DNA 가닥이 합성된다. 이 DNA 가닥은 이어서 제 2 프라이머의 신장에 의한 제 2 상보성 DNA 가닥의 합성을 위한 주형으로서 작용하며, 그 결과 이중-가닥 활성 RNA-중합효소 프로모터 부위가 생기고, 이 제 2 DNA 가닥이 주형으로 작용하여 RNA 중합효소의 도움을 받아 제 1 주형인 ssRNA가 다량 합성된다. NASBA 기술은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 유럽 특허 329,822, 국제특허출원 제W091/02814호, 미국특허 제6,063,603호, 제5,554,517호, 및 제5,409,818호에 설명된다.

<218> 또한, 본원에 설명된 파르보바이러스 B19 서열은 분기 DNA 분자를 이용하는 핵산 혼성화 및 증폭 기술에서 유용하다. 기초적인 핵산 혼성화 분석에서, 단일-가닥 분석물질 핵산이 표지된 단일-가닥 핵산 프로브에 혼성화되고, 생성된 표지된 듀플렉스가 검출된다. 외부 물질과 검출될 듀플렉스의 분리를 용이하게 하고, 및/또는 검출되는 신호를 증폭하기 위해서 기초적 계획안의 변형이 개발되었다. 신호를 증폭하는 한 방법은, 분석물질 핵산 또는 분석물질에 결합된 핵산의 가닥에 특이적으로 혼성화하는 제 1 세그먼트 및 표지된 프로브에 특이적으로 혼성화하는 제 2 세그먼트의 반복부를 갖는 폴리뉴클레오티드인 증폭 멀티머를 사용한다. 증폭은 이론적으로 제 2 세그먼트의 반복부의 수에 비례한다. 멀티머는 선형일 수도 분기형일 수도 있다. 분기형 멀티머의 두 일반적인 종류인 포크형 및 빗형이 이들 기술에서 유용하다. 분기형 핵산 분자를 제조하고 이용하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 미국특허 제5,849,481호에 설명된다.

<219> 삭제

<220> 본 발명의 다른 양태에서, 상기 설명된 시험 중 둘 이상이 유기체가 존재하는지를 확인하기 위해서 수행된다. 예를 들어, 제 1 시험에서 검출을 위해 핵산을 증폭하기 위해 전사-매개 증폭(TMA)이 사용되었다면, 다른 핵산 시험(NAT) 분석이, 예를 들어 본원에 설명된 PCR 증폭, RT PCR 등을 사용하여 수행된다. 따라서, 샘플이 예를 들어 HIV, 및 B형 간염 바이러스와 같은 다른 유기체를 함유할 때도 파르보바이러스 B19가 특이적으로 그리고 선택적으로 검출될 수 있다.

<221> 당연히 명백한 바와 같이, 본원에 설명된 분석의 디자인은 많이 변화될 수 있으며, 많은 포맷이 당업계에 공지되어 있다. 상기 설명된 단순히 지침으로서 제공된 것이고, 당업자는 설명된 프로토콜을 당업계에 잘 공지된 기술을 이용하여 쉽게 변형할 수 있다.

<222> 상기 설명된 분석을 수행하기 위해서, 프라이머, 프로브, 프로브가 결합되는 고체 지지체를 포함하는 상기 설명된 분석 시약뿐만 아니라 다른 검출 시약이 적합한 설명서 및 다른 필요한 시약과 함께 키트로 제공될 수 있다. 키트는 일반적으로 프라이머와 프로브의 조합(고체 매트릭스에 이미 결합되어 있거나, 분리되어 있다면 매트릭스에 이들을 결합시키기 위한 시약과 함께 있다), 대조표준 제제(양성 및/또는 음성), 분석 포맷이 같은 것을 필요로 할 때는 표지된 시약들, 그리고 표지가 신호를 직접 생성하지 않는다면 신호발생 시약(예를 들어, 효소 기질)을 분리된 용기들에 함유할 것이다. 분석을 수행하기 위한 설명서(예를 들어, 서면, 테이프, VCR, CD-ROM 등)가 일반적으로 키트에 포함될 것이다. 또한, 키트는 사용되는 특정 분석에 의존하여 다른 패키징된 시약 및 재료들(즉, 세척 완충액 등)을 함유할 수 있다. 상기 설명된 것과 같은 표준 분석이 이들 키트를 사용하여 수행될 수 있다.

<223> III. 실험

<224> 아래는 본 발명을 수행하기 위한 특정 구체예의 실시예들이다. 이 실시예는 예시의 목적으로만 제공되고, 본 발명의 범위를 어떤 식으로도 제한하지 않는다.

<225> 사용된 수(양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 확보하기 위해 노력했지만, 어떤 실험 오차와 편차는 물론 허용되어야 한다.

<226> 다음의 실시예에서 효소는 상업적 출처로부터 구입했으며, 제조자의 지침에 따라서 사용했다. 니트로셀룰로오스 필터 등도 상업적 출처로부터 구입했다.

<227> 주지된 것을 제외하고, DNA 단편의 분리시 모든 DNA 조작은 표준 과정에 따라서 행했다. Sambrook et al., *supra* 참조. 제한효소, T4 DNA 리가아제, *E.coli* DNA 중합효소 I, Klenow 단편, 및 다른 생물학적 시약들은 상업적 공급자로부터 구입할 수 있으며, 제조자의 지침에 따라 사용할 수 있다. 이중-가닥 DNA 단편은 아가로스 겔 상에서 분리했다.

실시예

<228> 실시예 1

<229> PCR을 위한 파르보바이러스 B19 핵산 추출

<230> IgM 또는 PCR 시험에 의해 미리 시험한 사람 파르보바이러스 B19에 대해 양성인 사람 혈청 샘플을 상업적 출처로부터 구입하여, 후속 PCR 실험을 위해 DNA를 분리하는데 사용했다. 사용될 때까지 샘플을 -80℃에 저장했다.

<231> 다음의 주의사항이 적혀진 제조자의 명세서에 따라 QIAamp DNA 혈액 미니 키트(QIAGEN, Valencia, CA)를 사용하여 혈청 0.2mL로부터 DNA를 추출했다. 캐리어 DNA를 세포용해 완충액에 첨가하여 핵산 결합 및 수율을 증진시켰다. 특히, 샘플 당 5.6 μ g의 양으로 폴리-아데닐산 5'(Sigma, St. Louis, MO) 또는 폴리-dA(Roche, Indianapolis, IN)을 첨가했다. 추가로, 파르보바이러스 B19 DNA를 물 대신 완충 AE 200 μ L으로 용출했다.

<232> 삭제

<233> 삭제

<234> 실시예 2

<235> PCR에 의한 파르보바이러스 B19 핵산-양성 샘플을 검출

<236> 두 상이한 PCR 과정을 사용하여 파르보바이러스 B19 단편을 증폭했다. 한 방법이 아래 상세히 설명되는데, 이것을 사용하여 약 700bp, 370bp 및 214bp의 단편을 증폭했다(도 1 참조). 고 충실도 확장 PCR(Roche)을 사용하여 약 4.7kb의 단편을 증폭했다. 약 700 bp의 단편이 Shade et al., *J. Virol.*(1986) 58:921-936에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 2936-3635에 상응한다. 약 370bp는 뉴클레오티드 위치 3073-3442에서 700bp 단편 내에서 발생한다. 약 4.7kb 단편은 Shade et al., *J. Virol.*(1986) 58:921-936의 뉴클레오티드 위치 217-4893에 상응하는 4677 뉴클레오티드 단편이다.

<237> 삭제

<238> 약 700bp, 370bp 및 214bp의 B19 단편을 증폭하기 위해서, 표 1에 나타난 프라이머를 사용했다.

표 1

프라이머 염역	서열	PCR 산물	게놈
VP-5	AGGAAGTTTGCCGGAAGTTC (SEQ ID NO:36)	370 bp	VP1
VP-3	GTGCTGAAACTCTAAAGGTG (SEQ ID NO:37)	370bp	VP1
VP2-5	GACATGGATATGAAAAGCCTGAAG (SEQ ID NO:38)	214 bp	VP1/VP2
VP2-3	GTTGTTTCATATCTGGTTAAGTACT (SEQ ID NO:39)	214 bp	VP1/VP2
K-1sp	ATAAATCCATATACTCATT (SEQ ID NO:40)	700 bp	VP1/VP2
K-2sp	CTAAAGTATCCTGACCTTG (SEQ ID NO:41)	700 bp	VP1/VP2

<239>

<240> 이 실험을 위해, 정제된 파르보바이러스 DNA(상기 설명된 대로 정제된) 2 μ L, 각 디옥시뉴클레오티드 트리포스페이트 0.2mM 및 Pfu DNA 중합효소(Stratagene, La Jolla, CA) 1.25유닛을 사용하여 최종 부피 100 μ L로 PCR을 수행한다. 증폭 프로파일은 94 $^{\circ}$ C에서 2분 변성, 37 $^{\circ}$ C에서 3분 프라이머 어닐링, 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 3분 확장을 포함했고, 35 사이클을 행했다. 35 PCR 사이클의 전후에 각각, 94 $^{\circ}$ C에서 3분 예비-인큐베이션하여 초기 변성을 확실히 하고, 72 $^{\circ}$ C에서 마지막 7분 인큐베이션하여 단편의 충분한 확장을 확실히 한다. PCR 산물을 7% 폴리아크릴아미드 겔 상에서 전기영동하고 에티듐 브로마이드로 염색한 후, UV 광원 아래서 가시화했다. 증폭된 단편의 정제는 QiaQuick PCR 정제 키트(QIAGEN)를 사용하여 수행했다.

<241> 삭제

- <242> 700bp 밴드가 폴리아크릴아미드 겔 상에 보이지 않았을 때는 네스티드 PCR을 수행하여 370bp B19 단편을 증폭했다. 표 1에 나타난 프라이머를 사용한 네스티드 PCT에는 700bp DNA 물질을 사용했다.
- 다음과 같이, 고 충실도 확장 PCR(Roche)을 사용하여 4.7kb의 파르보바이러스 B19 단편을 증폭했다. 판매자의 추천에 따라, 고 충실도 확장 PCR 키트(Roche) 및 프라이머 Hicks-5(5'CCGCGCTTATGCAATGGGCAG3')(SEQ ID NO:42) 및 Hicks-3(5'TT GTGTTAGGCTGTCTTATAGG3')(SEQ ID NO:43)을 사용했다. 증폭 조건은 94℃ 1분, 50℃ 2분, 그리고 68℃ 4분이며, 35 또는 45 사이클을 행했다. 또한, 94℃에서 2분 예비-인큐베이션과 75℃에서 7분 사후 인큐베이션이 포함되었다. PCR 산물을 1% 아가로스 겔 상에서 분리했고, PCR 정제 키트(Promega, Madison, WI)를 사용하여 정제했다.
- <243> 삭제
- <244> 삭제
- <245> 삭제
- <246> 실시예 3
- <247> 파르보바이러스 B19 DNA 단편의 클로닝
- <248> PCR 단편을 TOPO-TA 벡터(Invitrogen, Carlsbad, CA)로 클로닝했다. 이 벡터로의 클로닝은 증폭된 DNA가 그것의 3' 단부에 1개의 디옥시아테노신(A)을 함유할 때 매우 촉진된다. 따라서, 3'(A) 오버헤드를 첨가하기 위한 촉매 반응을 사용했다. 반응 혼합물은 dATP 1.25mM, Taq 중합효소(Perkin Elmer, Boston, MA) 0.5유닛을 함유했고, 72℃에서 15분 동안 진행하였다.
- <249> 삭제
- <250> 제조자의 명세서에 따라 Invitrogen의 TA 클로닝 키트(원 슷 톱 10 일렉트로컴페턴트 세포를 갖는 TOPO™ TA CloningR 키트)를 PCR 단편을 pCR2.1-TOPO 벡터로 클로닝했다. 37℃에서 암피실린 100μg/mL, 0.66mM IPTG 및 0.033% X-Gal을 함유하는 Luria Broth 플레이트 상에서 세균 세포를 인큐베이션했다. Luria Broth 암피실린 (100μg/mL) 4mL에 많은 수의 흰색 콜로니를 접종하고, 셰이킹하면서 37℃에서 하룻밤 인큐베이션했다. QIAprep 미니프랩 키트(QIAGEN)를 사용하여 하룻밤 배양한 배양물 3mL로 플라스미드 DNA를 제조했다. 재조합 클론을 EcoRI(New England and Biolabs) 및 상기 설명된 7% 폴리아크릴아미드 또는 1% 아가로스 겔 전기영동을 사용하여 제한효소 분석에 의해 확인했다.
- <251> 클론의 DNA 서열을 결정하기 위해서, 재조합 클론으로부터 다량의 플라스미드를 상기와 같이 제조하고, 이 DNA를 TE(10mM Tris-HCl, pH 8.0, 1mM EDTA) 중에 2mg/mL로 현탁했다. Applied Biosystems 모델 373(또는 모델 377) DNA 서열화 시스템을 사용하여 파르보바이러스 B19 단편의 뉴클레오티드 서열 결정을 수행했다.
- <252> 삭제
- <253> 도 2A 내지 2U는 상기 설명된 대로 정제, 증폭 및 서열화된 21개 파르보바이러스 B19 분리주로부터의 DNA 서열을 나타내며, 이들은 Shade et al., *J. Viro.* (1986) 58:921-936에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 위치 2936-3635에 상응한다(도 1로부터 상기 설명된 700bp 단편). 도 2A(SEQ ID NO:1)는 분리주 CH47-26로부터 서열; 도 2B(SEQ ID NO:2)는 분리주 CH48-29로부터의 서열; 도 2C(SEQ ID NO:3)는 분리주 CH33-2로부터의 서열; 도 2D(SEQ ID NO:4)는 분리주 CH 33-3로부터의 서열; 도 2E(SEQ ID NO:5)는 분리주 CH33-4로부터의 서열; 도 2F(SEQ ID NO:6)는 분리주 CH42-7로부터의 서열; 도 2G(SEQ ID NO:7)는 분리주 CH42-18로부터의 서열; 도 2H(SEQ ID NO:8)는 분리주 CH42-19로부터의 서열; 도 2I(SEQ ID NO:9)는 분리주 CH46-23로부터의 서열; 도 2J(SEQ ID NO:10)는 분리주 CH1-1로부터의 서열; 도 2K(SEQ ID NO:11)는 분리주 CH1-6로부터의 서열; 도 2L(SEQ ID NO:12)는 분리주 CH2-8로부터의 서열; 도 2M(SEQ ID NO:13)는 분리주 CH2-10로부터의 서열; 도

2N(SEQ ID NO:14)는 분리주 CH2-11C로부터의 서열; 도 20(SEQ ID NO:15)는 분리주 CH5-13로부터의 서열; 도 2P(SEQ ID NO:16)는 분리주 CH7-22로부터의 서열; 도 2Q(SEQ ID NO:17)는 분리주 CH13-27로부터의 서열; 도 2R(SEQ ID NO:18)는 분리주 CH14-33로부터의 서열; 도 2S(SEQ ID NO:19)는 분리주 CH62-2로부터의 서열; 도 2T(SEQ ID NO:20)는 분리주 CH64-2로부터의 서열; 도 2U(SEQ ID NO:21)는 분리주 CH67-2로부터의 서열이다.

<254> 도 11A 내지 11Z(SEQ ID NO:62-87)는 상기 설명된 대로 정제, 증폭 및 서열화된 추가 26개 파르보바이러스 B19 분리주로부터의 DNA 서열을 나타내며, 이들은 Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오타이드 위치 2936-3635에 상응한다(도 1로부터의 상기 설명된 700bp 단편). 도 11A(SEQ ID NO:62)는 분리주 CH80-1로부터의 서열; 도 11B(SEQ ID NO:63)는 분리주 CH81-3로부터의 서열; 도 11C(SEQ ID NO:64)는 분리주 B19SCL1-4로부터의 서열; 도 11D(SEQ ID NO:65)는 분리주 B19SCL2-1로부터의 서열; 도 11E(SEQ ID NO:66)는 분리주 B19SCL3-1로부터의 서열; 도 11F(SEQ ID NO:67)는 분리주 B19SCL4-3로부터의 서열; 도 11G(SEQ ID NO:68)는 분리주 B19SCL5-2로부터의 서열; 도 11H(SEQ ID NO:69)는 분리주 B19SCL6-2로부터의 서열; 도 11I(SEQ ID NO:70)는 분리주 B19SCL7-3로부터의 서열; 도 11J(SEQ ID NO:71)는 분리주 B19SCL8-2로부터의 서열; 도 11K (SEQ ID NO:72)는 분리주 B19SCL9-1로부터의 서열; 도 11L(SEQ ID NO:73)는 분리주 B19SCL9-9로부터의 서열; 도 11M(SEQ ID NO:74)는 분리주 B19SCL10-2로부터의 서열; 도 11N(SEQ ID NO:75)는 분리주 B19SCL11-1로부터의 서열; 도 11O(SEQ ID NO:76)는 분리주 B19SCL12-1로부터의 서열; 도 11P(SEQ ID NO:77)는 분리주 B19SCL13-3로부터의 서열; 도 11Q(SEQ ID NO:78)는 분리주 B19SCL14-1로부터의 서열; 도 11R(SEQ ID NO:79)는 분리주 B19SCL15-3로부터의 서열; 도 11S(SEQ ID NO:80)는 분리주 B19SCL 16-2로부터의 서열; 도 11T(SEQ ID NO:81)는 분리주 B19SCL17-1로부터의 서열; 도 11U(SEQ ID NO:82)는 분리주 B19SCL18-1로부터의 서열; 도 11V(SEQ ID NO:83)는 분리주 B19SCL19-1로부터의 서열; 도 11W(SEQ ID NO:84)는 분리주 B19SCL20-3로부터의 서열; 도 11X(SEQ ID NO:85)는 분리주 B19SCL21-3로부터의 서열; 도 11Y(SEQ ID NO:86)는 분리주 B19SCL22-11로부터의 서열; 도 11Z(SEQ ID NO:87)는 분리주 B19SCL 2-14로부터의 서열이다.

<255> 삭제

<256> 삭제

<257> 삭제

<258> 삭제

<259> 서열 비교에 의해 여러 분리주들 사이에서 이 700bp 서열의 상동성은 약 98% 내지 99.5%인 것으로 밝혀졌다.

<260> 도 3A 내지 3C(SEQ ID NO:22)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1로부터 유래한 도 1에 나타내고 상기 설명한 약 4.7kbp PCR 단편의 서열을 나타낸다. 이 도면에 묘사된 서열은 Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 설명된 뉴클레오타이드 위치 217-4893에 상응하는 4677 뉴클레오타이드 단편이다. 나타낸 서열은 NS1, VP1 및 VP2를 암호화하는 파르보바이러스 B19 전장 오픈 리딩 프레임과, 추가로 5' 및 3' 미번역 서열을 함유한다. 서열화된 단편은 Shade et al., *J. Virol.*(1986) 58: 921-936에 의해 보고된 B19 서열의 뉴클레오타이드 위치 367과 368 사이의 5' 비-암호화 영역에 추가의 뉴클레오타이드를 함유했다.

<261> 삭제

<262> 도 4A 내지 도 4C(SEQ ID NO:23)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6로부터 유래한 도 1에 나타낸 약 4.7kbp PCR 단편의 서열을 나타낸다. 이 서열은 Shade et al., *J. Virol.*(1986) 58:921-936의 뉴클레오타이드 위치 217-4893에 상응하는 4677 뉴클레오타이드 단편이다. 묘사된 서열은 NS1, VP1 및 VP2를 암호화하는 파르보바이러스 B19 전장 오픈 리딩 프레임과, 추가로 5' 및 3' 미번역 서열을 함유한다. 서열화된 단편은 Shade et al., *J. Virol.*(1986) 58:921-936에 의해 보고된 B19 서열의 뉴클레오타이드 위치 367과 368 사이의 5' 비-암호화 영역에 추가의 뉴클레오타이드를 함유했다.

- <263> 삭제
- <264> 삭제
- <265> 실시예 4
- <266> 파르보바이러스 B19 NS1, VP1 및 VP2 재조합 단백질의 클로닝 및 발현
- <267> NS1, VP1 및 VP2를 암호화하는 단편(도 1 참조)을 pCR2.1-TOPO(상기 설명된)로 클로닝된 파르보바이러스 B19의 4.7kb 단편을 이용해 증폭했다. 특히, PCR 프라이머(아래 참조)는 파르보바이러스 B19의 NS1, VP1 및 VP2 영역 밖에서 PCR을 하도록 디자인되었다. 이들 영역의 효모 발현 벡터로의 클로닝을 촉진하기 위해서, 필요에 따라 프라이머에 *Xba*I, *Hind*III 및 *Sal*I 제한 부위를 도입했다.
- <268> 삭제
- <269> NS1, VP1 및 VP2 재조합 단백질의 효모 발현을 위해 파르보바이러스 B19 단편을 클로닝하고 증폭하기 위해서 사용된 프라이머는 상기 얻어진 서열에 기초했으며, 다음과 같다:
- NS1-5 (센스 프라이머)
5'ATACTCTCTAGACAAAACAAAATGGAGCTATTTAGAGGGGTGCTTCAAGTTTCT3'
(SEQ ID NO:44)
- NS1-3 (안티센스 프라이머)
5' GAGTATGTCGACTTACTCATAATCTACAAAGCTTTGCAATCCAGACAG3' (SEQ ID NO:45)
- VP1-5SN (센스 프라이머)
5'ATACTCAAGCTTACAAAACAAAATGAGTAAAGAAAGTGGCAAAATGGTGGGAAAGT3'
(SEQ ID NO:46)
- VPALL-3 (안티센스 프라이머)
5'GAGTATGTCGACTTACAATGGGTGCACACGGCTTTGGCTGTCCACAATTC3' (SEQ ID NO:47)
- VP2-5SN (센스 프라이머)
5'ATACTCAAGCTTACAAAACAAAATGACTTCAGTTAATTCTGCAGAAGCCAGCACT3'
(SEQ ID NO:48)
- <270>
- <271> 삭제
- <272> PCR 프라이머를 합성하고 정제하고 300 μ l의 dH₂O에 현탁한 다음, 260nm에서 광학 밀도를 측정했다. 반응 혼합물은 최종 부피 50 μ l에 주형 0.25ng, 각 프라이머 100pmol, 1.25mM의 각 dNTP 10 μ l, 및 Taq 중합효소(Perkin Elmer, Boston, MA) 1유닛을 함유했다. 증폭 조건은 94 $^{\circ}$ C 1분, 50 $^{\circ}$ C 2분, 그리고 68 $^{\circ}$ C 4분이며, 35 사이클을 행했다. 75 $^{\circ}$ C에서 7분 사후-인큐베이션하는 것을 추가하여 단편의 충분한 확장을 확실히 했다. 5 μ l 알리쿼트를 사용하여 1% 아가로스 겔 상에서 전기영동에 의해 PCR 합성을 체크했다. 다음에, 전체 PCR 산물을 전기영동했고, 판매자의 추천에 따라서 PCR 정제 키트(Promega)를 사용하여, 예상된 크기를 나타낸 단편을 겔로부터 정제했다. 정제된 PCR DNA 약 0.8 μ g을 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 적절한 제한효소(Roche)로 효소절단하고, 그 산물을 Promega PCR 정제 키트를 사용하여 더 정제했다.
- <273> 파르보바이러스 B19 재조합 단백질의 이중성 발현을 위해 플라스미드 pBS24. 1을 사용했다. 이 효모 발현 벡터는, 효모에서의 자발적인 복제를 위한 2 μ 서열 및 역순 반복부(IR), 전사 종결을 확실히 하기 위한 α -인자 종결인자, 선택을 위한 효모 *leu2-d* 및 URA3를 함유한다. 또한, 복제의 ColE1 기원과 β -락타마제 유전자가 *E. coli*에서의 증식 및 선택을 위해서 존재한다(Pichuanes et al. (1996) "Expression of Heterologous Gene Products in Yeast." In: Protein Engineering: A Guide to Design and Production, Chapter 5. J.L. Cleland

and C. Craik, eds., Wiley-Liss, Inc., New York, N.Y. pp.129-161). 판매자에 의해 추천된 조건에서, 플라스미드 pBS24.1을 *Bam*HI/*Sa*II로 효소절단하고, 10유닛의 소 내장 알칼리성 포스파타제(Boheringer Mannheim, Indianapolis, IN)로 탈인산화했다. 효소절단되고 정제된 PCR 단편을 *Bam*HI/*Sa*II 효소절단된 pBS24.1 및 클론될 PCR 단편에 존재하는 제한 부위에 따라서, *Bam*HI/*Sfu*I 또는 *Bam*HI/*Hind*III로 효소절단된 효모 혼성체 프로모터 ADH2/GAPDH(Cousens et al., Gene (1987) 61:265-275)를 함유하는 DNA 단편과 혼합했다. 다음에, 리게이션 혼합물을 사용하여 *E. coli* HB101 컴페턴트 세포를 형질전환하고, 37°C에서 하룻밤 배양한 후 100μg/mL로 암피실린을 함유하는 Luria Broth 플레이트에서 형질전환체를 선택했다. 각 형질전환의 몇몇 콜로니를 채집하여 100 μg/mL로 암피실린을 갖는 Luria Broth 3mL 중에 접종하고 37°C에서 셰이킹하면서 하룻밤 인큐베이션했다.

<274> 삭제

<275> 삭제

<276> 삭제

<277> 배양물 1.5mL 및 QIAprep 미니프렙 키트(QIAGEN)를 사용하여 플라스미드 DNA를 제조했다. *Bam*HI/*Sa*II를 사용한 분석적 제한효소 분석에 의하여 재조합 클론을 확인했다. 재조합 플라스미드의 대규모 체제를 만들어 서열화를 수행하여 클로닝된 파르보바이러스 B19 단편의 뉴클레오티드 서열을 확인했다.

<278> 다음과 같이, NS1, VP1 및 VP2에 대한 예상 서열을 나타내는 효모 발현 플라스미드를 효모 형질전환에 사용했다. 컴페턴트 *Saccharomyces cerevisiae* AD3 세포 [*Mat a*, *trp1*+, *ura3*-52, *prb1*-1122, *pep4*-3, *prc1*-407, [*cir*⁰], ::*pDM15*(*pGAP/ADR 1*::*G418^R*)], *leu2*(Δ*AD*)]를 상기 설명된 대로 클로닝된 NS1, VP1 및 VP2을 암호화한 플라스미드 DNA로 형질전환했다. 48 내지 72시간 동안 30°C에서 인큐베이션한 후, 2 라운드의 우라실-결핍 플레이트, 이어서 1 라운드의 류신-결핍 플레이트에 의해 효모 재조합의 선택을 달성했다. 다음에, 배양물을 류신-결핍 배지에서 성장시킨 다음, 2% 글루코오스로 보충된 YEP(Pichuanes et al., Proteins: Struct. Funct. Genet. (1989) 6:324-337)에서 48시간 성장시킨 후, 재조합 단백질의 발현을 체크했다.

<279> 삭제

<280> 삭제

<281> 2개의 상이한 분리주로부터의 다양한 단백질에 대한 서열을 도 5 내지 10에 나타낸다. 특히, 도 5A(SEQ ID NO:24) 및 도 5B(SEQ ID NO:25)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1으로부터의 NS1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다. 도 6A(SEQ ID NO:26) 및 도 6B(SEQ ID NO:27)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1으로부터의 VP1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다. 도 7A(SEQ ID NO:28) 및 도 7B(SEQ ID NO:29)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B1로부터의 VP2 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 도시한다. 도 8A(SEQ ID NO:30) 및 도 8B(SEQ ID NO:31)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6으로부터의 NS1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다. 도 9A(SEQ ID NO:32) 및 도 9B(SEQ ID NO:33)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6으로부터의 VP1 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다. 도 10A (SEQ ID NO:34) 및 도 10B(SEQ ID NO:35)는 파르보바이러스 B19 클론 2-B6으로부터의 VP2 뉴클레오티드 및 단백질 서열을 각각 나타낸다.

<282> 삭제

<283> 실시예 5

<284> TaqManTM에 의한 파르보바이러스 B19 DNA의 검출 및 정량

- <285> 삭제
- <286> 파르보바이러스 B19 감염을 검출하기 위한 민감한 진단 방법을 다음과 같이 디자인하였다. 특히, TaqMan™ PCR 기술을 사용하여 파르보바이러스 B19 DNA를 검출하고 정량했다. 정량적 PCR은 핵산의 효과적인 추출을 필요로 한다. DNA 추출에 사용되는 혈장/혈청의 부피가 또한 검출의 민감도에 영향을 미친다. 두 접근법을 사용하여 혈장/혈청 0.5mL로부터 핵산을 분리했다. 특히, (a) 실리카와 결합; 및 (b) 표적-특이적 올리고뉴클레오타이드에 대한 어닐링에 의해 DNA를 추출했다.
- <287> 삭제
- <288> 삭제
- <289> (a) 실리카와의 결합에 의한 핵산의 분리
- <290> 구아니디늄 이소티오시아네이트와 같은 고 농도의 카오트로픽 염의 존재하에서 핵산은 실리카에 결합한다. 작은 크기의 핵산은 산성 pH 조건에서 실리카에 더 효과적으로 결합한다. 결합된 핵산은 고온에서 저염, 알칼리성 pH 완충액 중에 효과적으로 용출된다. 규칙적인 실리카를 자화된 실리카로 치환하는 것이 핵산 분리의 세척 및 용출 단계를 촉진한다. 자성 염기를 사용하여 핵산-결합 실리카 입자를 포착함으로써, 규칙적인 실리카 입자를 침전시키기 위해 필요한 원심분리 과정이 제거된다. 사용된 세포용해 완충액은 Organon-Teknika(Durham, NC)로부터 입수했다. 이 세포용해 완충액은 단백질을 용해하고 RNase와 DNase를 불활성화시키는 구아니디늄 이소티오시아네이트를 함유한다. 세제 Triton X-100은 세포 구조와 핵 단백질의 가용화 및 분해 과정을 더 촉진하며, 이로써 핵산이 방출된다. 핵산 결합을 증진시키기 위해서 세포용해 시약을 산성화하며, 알칼리성 용출 완충액 50μL을 사용하여 결합된 핵산을 용출했다. 핵산 분리 후, 아래 설명된 대로 TaqMan™ PCR을 수행하여 파르보바이러스 DNA의 존재를 측정했다.
- <291> 삭제
- <292> 삭제
- <293> 삭제
- <294> (b) 표적-특이적 올리고뉴클레오타이드에 대한 어닐링에 의한 핵산 분리
- <295> 자화된 실리카의 사용은 세척 및 용출 단계 동안 빠르고 손쉬운 취급을 촉진하지만, 핵산의 분리는 여전히 힘들고 시간 소모적이다. 따라서, 자성 비드를 사용하여 혈장 또는 혈청으로부터 특이적 핵산 표적을 1-단계 포착하는 것을 사용했다. 이것을 광범한 바이러스 핵산 포착 시험에 이용할 수 있게 하기 위해서, 올리고 dT와 결합된 일반적인 자성 비드를 사용했다. 14량체의 올리고 dT 길이를 갖는 Sera-Mag 자성 올리고 (dT) 비드 (Seradyn, Indianapolis, IN)를 사용된 파르보바이러스-특이적 서열에 인접한 3'-단부에 20개 폴리 A를 함유하는 포착 올리고뉴클레오타이드와 함께 사용했다(하기 특정된 서열의 끝에 나타냄).
- <296> 삭제

<297> 사용된 안티센스 포착 올리고뉴클레오티드는 700bp 단편으로부터 유래되었으며, 다음과 같다:

VSPC1 - AAAAAAAAAAAAAAAAAAATCCTTAACAGCAATTTCTGATA (nt 3492-3514) (*)
(SEQ ID NO:49)

VSPC2 - AAAAAAAAAAAAAAAAAACGCCCTGTAGTGCTGTCAG (nt 3549-3568)
(SEQ ID NO:50)

VSPC3 - AAAAAAAAAAAAAAAAAATATACCCAAATAGGAAGTTCTG (nt 3639-3660)
(SEQ ID NO:51)

VSPC4 - AAAAAAAAAAAAAAAAAATAAATGCTGATTCTCACTTGC (nt 3737-3759)
(SEQ ID NO:52)

VSPC5 - AAAAAAAAAAAAAAAAAATGCTGTACCTCCTGTACCTA (nt 3789-3808)
(SEQ ID NO:53)

VSPC6 - AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCCCTCTAAATTTTCTGGG (nt 3838-3857)
(SEQ ID NO:54)

VSPC7 - AAAAAAAAAAAAAAAAAACTCCTAATGTGTCAGGAACC (nt 3910-3929)
(SEQ ID NO:55)

(*) 뉴클레오티드 서열: Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 기재됨.

<298>

<299> 삭제

<300> 자성 비드를 Novagen 세포용해 완충액(Madison, WI)에 현탁했고, 7개의 포착 올리고뉴클레오티드 시리즈(VSPC1-VSPC7, 상기 설명됨)를 개별적으로 또는 조합하여 시험하여, 미국 보건사회국, 생물평가연구 FDA 센터(FDA-CBER)로부터 입수한 패널로부터 파르보바이러스 B19 DNA를 포착했다.

<301> 삭제

<302> (c) 세척 완충액으로 비드 세척

포착 후에, 비드를 0.3M NaCl 중에서 pH 7.5로 완충된 10mM Hepes, 및 0.5% NP-40를 함유하는 완충액으로 세척했다. 혈청을 세포용해 완충액으로 처리, 혼성화, 비드의 자성 흡수, 및 세포용해 완충액의 제거 후에, 세척 완충액 1.5mL를 비드에 첨가했다. 일반적인 와동, 자성 흡수, 및 세척 완충액의 제거 후, 비드를 동일한 완충액 0.5mL로 2번 세척했고, 이로써 자성 비드는 압축될 수 있고, Taqman 분석을 위한 모든 시약을 함유하는 Universal PCR 완충액 100mL에 쉽게 현탁된다. DNA가 포착된 비드를 TaqMan™ 플레이트로 옮겨서 하기 설명된 대로 TaqMan™ PCR에 의한 검출을 행했다. TaqMan™ 분석에 의해 검출된 바, 몇몇 올리고뉴클레오티드 조합은 B19를 포착하는데 효과적이었다.

<303> 특히, TaqMan™ 기술은 포착된 표적 핵산을 DNA 앰플리콘으로서 증폭한다. 대안은 포착된 표적을 RNA로서 증폭하는 것이다. 이를 위해서, 증폭 올리고뉴클레오티드를 T7 프로모터 서열을 갖는 파르보바이러스 B19-특이적 프라이머로 구성했으며, 이로써 T7 RNA 중합효소를 사용하여 RNA 앰플리콘이 생성된다. Shade et al., *J. Virol.* (1986) 58:921-936에 설명된 파르보바이러스 B19 게놈의 뉴클레오티드 2936-3635에 상응하는 700bp 서열로부터 유래된, 3개의 증폭 프라이머(VSA1-A3, 아래 설명됨)를 그들의 증폭 능력에 대해서 시험했다. 프라이머는 다음과 같다:

<304> 삭제

센스 가닥 증폭 프라이머

VSA1-AATTCTAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCCATATACTCATTGGACTGT (nt 2942-2961) (SEQ ID NO:56)

VSA2 - AATTCTAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCCAGAGCACCATTATAA (nt 3272-3288) (SEQ ID NO:57)

VSA3 -AATTCTAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCACAATGCCAGTGGAAA (nt 3317-3333) (SEQ ID NO:58)

VSP2-GTGCTGAAACTCTAAAGGT (안티센스 프라이머 - nt 3424-3442) (SEQ ID NO:59)

RNAmplifire 키트(Qiagen) 시약을 사용하여, 표적으로서 파르보바이러스 DNA 50 카피를 최종 부피 20mL로 사용하여 증폭 효능을 시험했다. 증폭 프라이머를 제 2 프라이머로서 VSP2를 사용하여 개별적으로 또는 조합하여 시험했다. 제조자의 추천대로, 42℃에서 한 시간 인큐베이션한 후, 증폭된 물질의 알리퀴트를 100배 희석하여, TaqMan™ 분석을 행하여 증폭 프라이머의 효능을 평가했다. 2개 증폭 프라이머, VSA2 및 VSA3와 VSP2의 조합이 RNA 앰플리콘을 생성하는데 매우 효과적이었다.

삭제

TaqMan™ 분석의 민감도, PCR 프라이머 적합성 및 최적 반응 조건을 상기 설명된 4.7kb 단편을 함유하는 플라스미드 DNA를 사용하여 확립했다. 이 단편은 VP1 영역뿐만 아니라 NS1과 VP2 영역도 포함한다(도 1 참조). 하기 상세히 설명된 VP1 영역으로부터 유래된 PCR 증폭 프라이머를 사용했다. 번호 매기는 것은 Shade et al., J. Virol (1986) 58:921-936에 호응한다. X는 5'-플루오레세인 포스포라미다이트를, Z는 DABCYL-dT를 나타내며, 두 물질은 모두 Glen Research Corporation, Sterling, VA로부터 입수했다. 서열 오른쪽에 표시된 수는 파르보바이러스 B19 서열로부터 유래한 프라이머의 뉴클레오티드를 말한다.

VSP1- GGAGGCAAAGGTTTGCA (센스 프라이머-nt 3334-3350) (SEQ ID NO:60)

VSP2-GTGCTGAAACTCTAAAGGT (안티센스 프라이머-nt 3424-3442) (SEQ ID NO:59)

VSPPR1-XCCCATGGAGATATTTAGATTZ (프로브-nt 3379-3398) (SEQ ID NO:61)

Vpara 8: TCCATATGACCCAGAGCACCA (nt3262-3282) (SEQ ID NO: 88)

Vpara 9: TTTCCACTGGCATTGTGGC (안티센스 프라이머-nt 3315- 3333)(SEQ ID NO: 89)

Vpara10: X TAAGGTGTTTTCTCCCGCAGCGAGT Z (X 는 Fam 이고 Z 는 Tamra 이다.)

(nt3286- 3310) (SEQ ID NO: 93)

플라스미드 DNA 농도를 분광학적으로 추정했으며, 일련의 희석을 수행하여 5,000 내지 10 카피/20μl를 얻었다. 최종 부피 50μl 중에 반응 혼합물은 20μl 샘플, 3.2mM MgCl₂를 갖는 1× Gold Taq 증폭 완충액(Perkin Elmer), dNTP 각각 300 μM, 각 증폭 프라이머 1pmol, 프로브 0.4pmol, 및 AmpliTaq 효소 1유닛을 함유했다. 반응 조건은 효소 활성화를 위한 95℃ 10분을 포함했고, ABI 7700 서열 검출기에서 95℃ 30초와 60℃ 30초를 번갈아서 45 사이클 행했다.

삭제

109bp PCR 산물을 생성했던 프라이머 쌍 VSP1와 VSP2 및 프로브 VSPPR1을 사용하여 분석 당 10 카피 정도의 적은 양을 검출할 수 있었다. 샘플의 부피는 최종 부피 50μl 중에 20μl였으므로, 이것은 파르보바이러스 B19 DNA를 50 카피/ml 정도로 적게 함유하는 혈장 샘플이 추출되고 TaqMan™ 기술에 의하여 검출될 수 있다는 것을 시사한다. 파르보바이러스는 높은 역가의 바이러스이므로, 50μl의 혈장/혈청 부피가 추출될 수 있고 분석에 사용될 수 있다.

- <313> FDA-CBER 파르보바이러스 B19 DNA 양성 샘플(10^6 카피/ml)을 사용하여 분석 당 50 카피 정도의 적은 양을 TaqMan™ 기술로 검출했다. 핵산과 면역역가를 상호관련시키기 위한 시도로서, 바이러스 DNA 로드를 몇몇 항체-양성 샘플에서 정량했다.
- <314> 따라서, 신규한 사람 파르보바이러스 B19 서열 및 이들 서열을 사용한 검출 분석이 개시되었다. 전술한 것으로부터, 본 발명의 특정 구체예가 예시의 목적으로 본원에 설명되었지만, 다양한 변형이 본 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않고 만들어질 수 있다는 것이 인정될 것이다.
- <315> 삭제
- <316> 삭제
- <317> 삭제
- <318> 삭제
- <319> 삭제
- <320> 삭제
- <321> 삭제
- <322> 삭제
- <323> 삭제
- <324> 삭제
- <325> 삭제
- <326> 삭제
- <327> 삭제
- <328> 삭제
- <329> 삭제

<330>	삭제
<331>	삭제
<332>	삭제
<333>	삭제
<334>	삭제
<335>	삭제
<336>	삭제
<337>	삭제
<338>	삭제
<339>	삭제
<340>	삭제
<341>	삭제
<342>	삭제
<343>	삭제
<344>	삭제
<345>	삭제
<346>	삭제
<347>	삭제

<348> 삭제

<349> 삭제

<350> 삭제

<351> 삭제

<352> 삭제

<353> 삭제

<354> 삭제

<355> 삭제

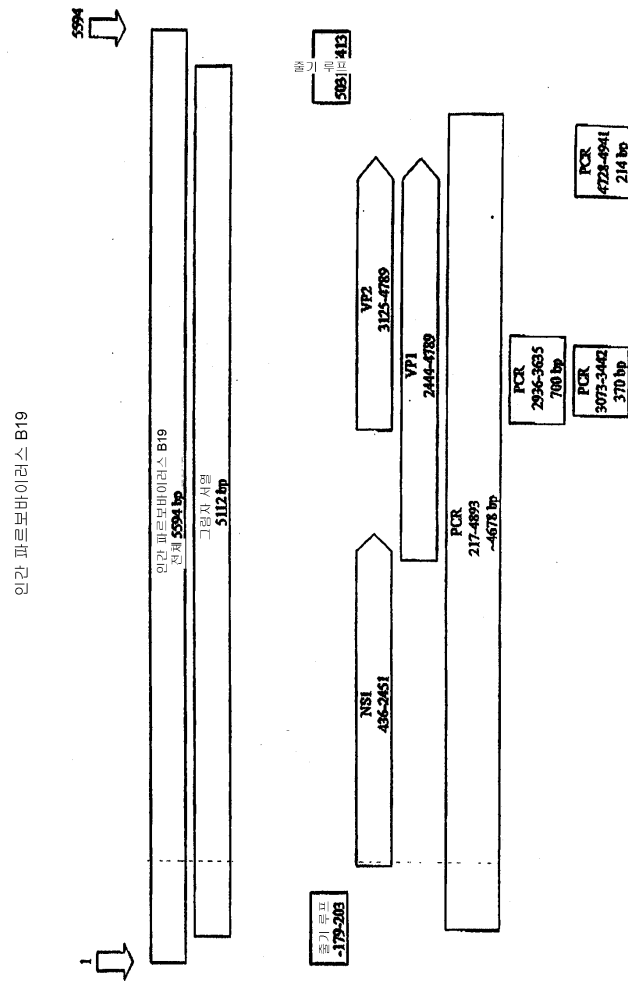
<356> 삭제

<357> 삭제

<358> 삭제

도면

도면1



도면2A

CH47-26

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttacttttaaagggtgcagctgcccctgtggcccattttcaaggaagtttgcc
ggaagtcccgccttacaacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaacctgttaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaact
ctgttaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaggttgaccattagtcccataatgggatactc
aaccatggagataatttagatttaagcttttaattgttttttcaccttagatttcagcatttaattgaaaact
atggaagtatactcctgatgctttaactgtaaccatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactg
gagggggagtacaagttactgacagcactaccgggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatacaagtac
ccatattgtgttagggcaagggtcaggatacttttag

도면2B

CH48-29

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaaggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggagtttggc
ggaagttcccgttacaacgctcagaacaatacccaagcatgacttcagttattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggtggcagtaatcctgccaaaagcatgtggagtggggggccacttttactgccaact
ctgtaacttgtacattttccagacagttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgca
gctagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcaccataatgggatactca
actccatggagatatattagatttaagctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacctaattgaaaattat
ggaagtatagtctctgatgatttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactgg
aggggggggtacaggttactgacagcactacagggcgcctatgcctgttagtagaccatgaatacaagtacc
catatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2C

CH33-2

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaaggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggagtttggc
ggaagttcccgttacaacgctcagaacaatacccaagcatgacttcagttattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggtggcagtaatcctgccaaaagcatgtggagtggggggccacttttactgccaact
ctgtaacttgtacattttccagacagttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgca
gctagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcaccataatgggatactca
actccatggagatatattagatttaagctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacctaattgaaaattat
ggaagtatagtctctgatgatttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactgg
aggggggggtacaggttactgacagcactacagggcgcctatgcctgttagtagaccatgaatacaagtacc
catatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2D

CH33-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaaggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggagtttggc
ggaagttcccgttacaacgctcagaacaatacccaagcatgacttcagttattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggtggcagtaatcctgccaaaagcatgtggagtggggggccacttttactgccaact
ctgtaacttgtacattttccagacagttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgca
gctagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcaccataatgggatactca
actccatggagatatattagatttaagctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacctaattgaaaattat
ggaagtatagtctctgatgatttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactgg
aggggggggtacaggttactgacagcactacagggcgcctatgcctgttagtagaccatgaatacaagtacc
catatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2E

CH33-4

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaaggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggagtttggc
ggaagttcccgttacaacgctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggtggcagtaatcctgccaaaagcatgtggagtggggggccacttttactgccaact
ctgtaacttgtacattttccagacagttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgca
gctagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcaccataatgggatactca
actccatggagatatattagatttaagctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacctaattgaaaattat
ggaagtatagtctctgatgatttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactgg
aggggggggtacaggttactgacagcactacagggcgcctatgcctgttagtagaccatgaatacaagtacc
catatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2F

CH42-7

ataaatccataactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccaggcagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggtgtttctccgc
agcaagtagctgcccaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcaccataatgggatact
caaccccatggagatatagattttaatgctttaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaat
tatggaagtatagtcctgtatgctttaactgtaaccatatacagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggagggggggtacaggttactgacagcactacaggggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2G

CH42-18

ataaatccataactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggtgtttctccgc
agcaagtagctgcccaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcaccataatgggatact
caaccccatggagatatagattttaatgctttaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaat
tatggaagtatagtcctgtatgctttaactgtaaccatatacagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggagggggggtgcaggttactgacagcactacaggggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2H

CH42-19

ataaatccataactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggtgtttctccgc
agcaagtagctgcccaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcaccataatgggatact
caaccccatggagatatagattttaatgctttaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaat
tatggaagtatagtcctgtatgctttaactgtaaccatatacagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggagggggggtacaggttactgacagcactacaggggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2I

CH46-23

attaatccataactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
ncacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccaggcagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggtgtttctccgc
agcaagtagctgcccaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcaccataatgggatact
caaccccatggagatatagattttaatgctttaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaat
tatggaagtatagtcctgtatgctttaactgtaaccatatacagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggagggggggtacaggttactgacagcactacaggggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2J

CH1-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaattatttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaggtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggaggggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면2K

CH1-6

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaattatttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaggtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaact
ggaggggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면2L

CH2-8

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacaaattttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcataatgggatactc
aaccccatggagatatttagattttaatgctttaaattatttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
atggaggtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgtaaggatgttacagacaaaactg
gaggggggggtcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면2M

CH2-10

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacaaattttaattccatatgaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcataatgggatactc
aaccccatggagatatttagattttaatgctttaaattatttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
atggaggtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgtaaggatgttacagacagaactg
gaggggggggtcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면2N

H2-11C

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaac
ctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctcccga
gcaagtagctgccacaatgccagtgaaaaggagcaaaaggtttgcaccattagtcaccataatgggatactc
aaccctatggagatatttagattttaatgctttaaatttattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaattgctgtaaggatgttacagacaaaactg
gaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaataataagtac
ccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2O

CH5-13

ctaaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaact
ctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctcccga
gcaagtagctgccacaatgccagtgaaaaggagcaaaaggtttgcactattagtcaccataatgggatactc
aaccctatggagatatttagattttaatgctttaaatttattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaattat
ggcagtagatgctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaattgctgtaaggatgttacagacaaaactgg
aggggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagtagacc
caatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2P

CH7-22

ataaatccatgtactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaact
ctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctcccga
gcaagtagctgccacaatgccagtgaaaaggagcaaaaggtttgcaccattagtcaccataatgggatactc
aaccctatggagatatttagattttaatgctttaaatgtttttttcaccttagagtttcagcatttaattgaaaact
atggaaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaattgctgtaaggatgttacagacaaaactg
gagggggggtacaggttactgacagcactaccggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagtagacc
ccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2Q

CH13-27

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
ggaagttcccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgctaact
ctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctcccga
gcgagtagctgccacaatgccagtgaaaaggagcaaaaggtttgcaccatcagtcaccataatgggatactc
aaccctatggagatatttagattttaatgctttaaatttattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaattgctgtaaggatgttacagacaaaactg
gaggggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagtagacc
ccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2R

CH14-33

ataaatccatatactcattggactgtgagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtgcccattttcaaggaggtttgcc
ggaagtcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggaggggggggagtaatcctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaactc
tgttaactgtacattttccagacagttttaattccatgatgccagagcaccattataagggtttttctccgcag
caagtagctgccacaatgccagtggaagaggcaaggtttgcaccattagcccataatgggatactcaa
ccccatggagatatttagattttaatgctttaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaattatg
gtagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaagatgttacagacaaaactggag
gggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtgaccatgaatacaagtaacca
tatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면2S

CH62-2

ataaatccatatactcattggactgtgagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtgcccattttcaaggaggtttgcc
ggaagtcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagcact
ggtgcaggaggggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaactc
ctgtaactgtacaktttccagacagttttaattccatgatgccagagcaccattataagggtttttctccgcga
gccagtagctgccacaatgccagtggaagaggcaaggtttgcaccattagcccataatgggatactc
aaccatggagatatttagattttaatgctttaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaatt
atggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaactg
gaggggggtacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtgaccatgaatacaagtaac
ccatatgtttagggcaaggtcaggatactttag

도면2T

CH64-2

ataaatccatatactcattggactgtgagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtgcccattttcaaggaggtttgcc
ggaagtcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggaggggggggcagtaatcctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaactc
ctgtaactgtacattttccagacagttttaattccatgatgccagagcaccattataagggtttttctccgcga
gcaagtagctgccacaatgccagtggaagaggcaaggtttgcaccattagcccataatgggatactc
aaccatggagatatttagattttaatgctttaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaatt
atggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacgacaaaactg
gaggggggtgacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtgaccatgaatacaagtaac
ccatatgtttagggcaaggtcaggatactttag

도면2U

CH67-2

ataaatccatatactcattggactgtgagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtgcccattttcaaggaggtttgcc
ggaagtcccgttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggggagtaatcctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaactc
ctgtaactgtacattttccagacagttttaattccatgatgccagagcaccattataagggtttttctccgcga
gcaagtagctgccacaatgccagtggaagaggcaaggtttgcaccattagcccataatgggatactc
aaccatggagatatttagattttaatgctttaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaatt
atggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacgacaaaactg
gaggggggtgacaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtgaccatgaatacaagtaac
ccatatgtttagggcaaggtcaggatactttag

도면3A

파르보바이러스 B19 클론 #2-B1

1 cccgccttat gcaaatgggc agccatctta agtgttttac tataatttta ttggtcagtt
 61 ttgtaacggg taaatgggc ggagcgtagg caaggactac agtatatata gcacagcact
 121 gccgcagctc tttctttctg ggctgctttt ttctggact tacttgctgt tttttgtgag
 181 ctaactaaca ggtatttata ctacttgta acatactaac atggagctat ttagaggggt
 241 gcttcaagtt tcttctaag ttctggactg tgctaacgat aactgggtgt gctctttact
 301 ggatttagac acttctgact gggaaccact aactcactact aacagactaa tggcaatata
 361 ctaagcagt gtggttctta agcttgactt tactgggggg ccactagcag ggtgcttgta
 421 ctttttcaa gtagaatgta acaaatgta agaaggctat cataattcatg tggttattgg
 481 ggggccaggg ttaaaccceca gaaacctcac agtgtgtgta gagggggtat ttaataatgt
 541 actttatcac ctgttaactg aaaatctgaa gctaaaattt ttgccaggaa tgactacaaa
 601 aggcaaatat ttagagatg gagagcagtt tatagaaaac tatttaatga aaaaaatacc
 661 ttaaatgtt gtatggtgtg ttactaatat tgatggacat atagatacct gtatttctgc
 721 tacttttaga aagggagctt gccatgccaa gaaacccgcg atcaccacag ccaataatga
 781 tactagtact gatgctgggg agtctagcgg cacaggggca gaggttgtgc catttaatgg
 841 gaagggaaact aaggctagca taaagtcca aactatggta aactgggtgt gtgaaaacag
 901 agtgtttaca gaggataagt ggaactagt tgactttaac cagtacactt tactaagcag
 961 tagtcacagt ggaagtcttc aaatfcaaag tgcactaaaa ctagcaattt ataaagcaac
 1021 taatttagtg cctactagca cattttatt gcatacagac ttgagcaag ttatgtgtat
 1081 taaaaacaat aaaattgtta aattgttact ttgtcaaac tatgaccccc tattagtggg
 1141 gcagcatgtg ttaaagtgga ttgataaaaa atgtggcaag aaaaacacac tgtggtttta
 1201 tgggccgcca agtacaggga aaacaaactt ggcaatggcc attgctaaaa gtgtccagt
 1261 atatggcatg gttactgga ataataaaaa ctftccattt aatgatgtag caggaaaaag
 1321 ctgtgtgtgc tgggatgaag gtattattaa gtctacaatt gtagaagctg caaaagccat
 1381 tttagggcgg caaccaccca gggtagatca aaaaatgcgt ggaagtgtag ctgtgcctgg
 1441 agtacctgtg gttataacca gcaatgggtg cattactttt gttgtaagcg ggaacactac
 1501 aacaactgta catgctaaag ccttaaaaga gcgcatggta aagttaaact ttactgtaag
 1561 atgcagccct gacatgggtt tactaacaga ggctgatgta caacagtggc ttacatgggt
 1621 taatgcacaa agctggggacc actatgaaaa ctgggcaata aactacactt ttgatttccc
 1681 tggaaattaat gcagatgccc tccaccaga cctccaaacc accecaattg tcacagacac
 1741 cagtatcagc agcagtgggt gtgaaagctc tgaagaactc agtgaaagca gcttttttaa
 1801 cctcatcacc ccaggcgctt ggaacactga aaccccgccg tctagtacgc ccateccggg
 1861 gaccagttca ggagaatcat ctgtcggaag cccagtttcc tccgaagtgt tagctgcac
 1921 gtgggaagaa gccttctaca cactttggc agaccagttt cgtgaactgt tagttgggt
 1981 tgattatgtg tgggacgggt taaggggttt acctgtctgt tgtgtgcaac atattaaaca

도면3B

2041 tagtggggga ggcttgggac ttgtcccca ttgcattaat gtaggggctt ggtataatgg
 2101 atggaaattt cgagaattta ccccagattt ggtgcgatgt agctgccatg tgggagcttc
 2161 taatcccttt tctgtgctaa cctgcaaaaa atgtgcttac ctgtctggat tgcaagctt
 2221 ttagattat gagtaagaa agtggcaaat ggtgggaaag tgatgataaa ttgtctaaag
 2281 ctgtgtatca gcaatttgg gaattttatg aaaaggttac tggaacagac ttagagctta
 2341 ttcaaatatt aaaagatcat tataatattt ctttagataa tcccctagaa aaccatcct
 2401 cttgtttga cttagtgtct cgtattaaaa ataacctaa aaactctcca gacttatata
 2461 gtcacatitt tcaaagtcac ggacagttat ctgaccaccc ccattgcctta tcatccagta
 2521 gcagtcacgc agaacctaga ggagaagatg cagtattatc tagtgaagac ttacacaagc
 2581 ctgggcaagt tagcgtacaa ctaccgggta ctaactatgt tgggctgggc aatgagctac
 2641 aagctgggcc cccgcaaatg gctgttgaca gtgtgcgaag gattcatgac ttaggtata
 2701 gccaactggc taagtggga ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc
 2761 tttaaaaaa tataaaaaat gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta
 2821 ctttaaaagg tgcagctgcc cctgtggccc attttcaagg aagtttcccg gaagttcccg
 2881 cttacaacgc ctgagaaaaa taccacaaga tgacttcagt taattctgca gaagccagca
 2941 ctggtgcagg aggggggggc agtaatctg tgaanaagcat gtggagttag ggggccactt
 3001 tttagtccaa cctgttaact tttacattt ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc
 3061 agcaccatta taagggtgtt tctcccgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg
 3121 aggcaaaagt ttgcaaccatt agtcccataa tgggatactc aaccctatgg agatatttag
 3181 attttaatgc tttaaatfta ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaaft
 3241 atggaagtat agctcctgat gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaggatg
 3301 ttacggacaa aactggaggg ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca
 3361 ttttagtaga ccatgaatat aagtaacctat atgtgttagg gcaagggtcaa gatactttag
 3421 cccagaact tctatttgg gtatacttcc cccctcaata cgcttactta acagtaggag
 3481 atgttaacac acaaggaatt tctggagaca gcaaaaaatt ggcaagtgaa gaatcagcat
 3541 ttatgtttt ggaacacagt tcttttcage tttaggtac aggaggtaca gcaactatgt
 3601 cttataagtt tctccagtg cccccagaaa atttagaggg ctgcagtcac cacttttatg
 3661 aaatgtacaa ccccttatac ggatcccgct taggggttcc tgacacatta ggaggtgacc
 3721 caaaatttag atctttaaca catgaagacc atgcaattca gcccacaaac ttcatgccag
 3781 ggccactagt aaactcagt tctacaaagg agggagacag ctctagtact ggagctggaa
 3841 aagccttaac aggccttagc acaggtacct ctcaaaacac tagaataatc ttacgcctgt
 3901 ggccagtgtc aggccgtac caccctggg acacagataa atatgtcaca ggaataaatg
 3961 ccatttctca tggtcagacc acttatggta acgtgaaga caaagagtat cagcaaggag
 4021 tgggtagatt tcaaatgaa aaagaacage taaaacagtt acagggttta aacatgcaca
 4081 cctacttccc caataaagga acccagcaat atacagatca aattgagcgc cccctaattg
 4141 tgggttctgt atggaacaga agagcccttc actatgaaag ccagctgtgg agtaaaatc
 4201 caaatttaga tgacagtttt aaaactcagt ttgcagcctt aggaggatgg ggtttgcatc

도면3C

4261 agccacctcc tcaaatattt taaaaaatat taccacaaag tgggccaaft ggaggtatta
 4321 aatcaatggg aattactacc ttagttcagt atgccgtggg aattatgaca gtaacctga
 4381 catttaaatt ggggccccgt aaagctacgg gacgggtggaa tcttcaacct ggagtgtatc
 4441 ccccgacgc agcagggtcat ttacatatg tactatatga cccacagct acagatgcaa
 4501 aacaacacca cagacatgga tatgaaaagc ctgaagaatt gtggacagcc aaaagccgtg
 4561 tgcacccatt gtaaacactc cccacgtgc cctcagccag gatgtgtaac taaagccca
 4621 ccagtaccac ccagactgta cctgccccc cctataccta taagacagcc taacacaa

도면4A

파르보바이러스 B19 클론 #2-B6

1 cccgccttat gcaaatgggc agccatctta agtgttttac tataatttta ttggtcagtt
 61 ttgtaacgggt taaatgggc ggagcgtagg caaggactac agtatatata gcacagcact
 121 gccgcagctc ttctttctg ggctgctttt ttctggact tacttgctgt ttttgtgag
 181 ctaactaaca ggtatttata ctactgtta acatactaac atggagctat ttagaggggt
 241 gcttcaagtt tcttctaag ttctggactg tgctaacgat aactgggtgt gctctttact
 301 ggatttagac acttctgact gggaaccact aactcactac aacagactaa tggcaatata
 361 cttagcaggt gtggcttcta agcttgactt tactgggggg ccactagcag ggtgcttgta
 421 ctttttcaa gtagaatga acaaatitga agaaggctat catattcatg tggttattgg
 481 ggggccagggt taaacccca gaaacctcac agtgtgtgta gaggggttat ttaataatgt
 541 actttatcac ctgttaactg aaaatctgaa gctaaaattt ttgccaggaa tgactacaaa
 601 aggcataac tttagagatg gagagcagtt tatagaaaac tatttaatga aaaaaatacc
 661 ttttaagtgt gtatggtgtg ttactaatat tgatggacat atagataact gtatttctgc
 721 tacttttaga aaggagctt gccatgcaa gaaacccgc atcaccacag ccataaatga
 781 tactagtact gatgctgggg agtctagcgg cacaggggca gaggttggtc cattaatgg
 841 gaagggaact aaggctagca taaagtcca aactatggta aactggtgtg gtgaaaacag
 901 agtgtttaca gaggataagt ggaaactagt tgactttaac cagtacactt tactaagcag
 961 tagtcacagt ggaagtttcc aaattcaag tgcactaaaa ctagcaattt ataaagcaac
 1021 taatttagtg cctactagca catttttatt gcatacagac tttagcaag ttatgtgtat
 1081 taaagacaat aaaattgtta aattgttact ttgtcaaac tatgaccccc tattagtggg
 1141 gcagcatgtg ttaaagtggg ttgataaaaa atgtggcaag aaaaacacac tgtggtttta
 1201 tggaccgcca agtacagga aaacaaactt ggcaatggcc atgtctaaa gtgttccagt
 1261 atatggcatg gttactgga ataataaaaa ctitccattt aatgatgtag caggaaaaag
 1321 ctgtgtgtgc tgggatgaag gtattattaa gtctacaatt gtagaagctg caaaagccat
 1381 tttaggcggg caaccacca gggtagatca aaaaatgcgt ggaagtgtag ctgtgcctgg
 1441 agtaccctgt gttataacca gcaatgggtg cattactttt gttgaagcg ggaacactac
 1501 aacaactgta catgtctaaag ccttaaaaaga gcgcatggta aagttaaact ttactgttaag
 1561 atgcagccct gacatgggtt tactaacaga ggctgatgta caacagtggtc ttacatgggtg
 1621 taatgcacaa agctggggacc actatgaaaa ctgggcaata aactacactt ttgatttccc
 1681 tggaaattaat gcagatgccc tcacccaga cctccaaacc accccaattg tcacagacac
 1741 cagtatcagc agcagtggtg gtgaaagctc tgaagaactc agtgaaagca gcttttttaa
 1801 cctcatcacc ccagcgctt ggaacactga aaccccgccg tctagtacgc ccatccccgg
 1861 gaccagttca ggagaatcat ctgtgggaag cccagtttcc tccgaagtgt tagctgcac
 1921 gtgggaagaa gccttctaca cactttggc agaccagttt cgtgaactgt tagttgggggt
 1981 tgattatgtg tgggacgggt taaggggttt acctgtctgt tgtgtgcaac atattaacaa
 2041 tagtggggga ggcttgggac ttgtcccca ttgcattaat gtaggggctt ggtataatgg

도면4B

2101 atggaaattt cgagaattta cccagattt ggtgcgatgt agctgccatg tgggagcttc
 2161 taateccctt tctgtctaa cctgcaaaaa atgtgcttac ctgtctggat tgcaaaagctt
 2221 tgtagattat gagtaaaaga agtggcaaat ggtgggaaag tgatgataaa ttgtctaaag
 2281 ctgtgtatca gcaatttctg gaattttatg aaaagggttac tggaacagac tttagagctta
 2341 ttcaaatatt aaaagatcat tataatatit cttagataa tccctagaa aacctatct
 2401 cttgtttga cttagttgct cgtattaaaa ataaccttaa aaactctcca gacttatata
 2461 gtcattcatt tcaaagtcag ggacagttat ctgaccaccc ccattgctta tcatccagta
 2521 gcagtcatgc agaacctaga ggagaagatg cagtattatc tagtgaagac ttacacaagc
 2581 ctgggcaagt tagcgtacaa ctaccggta ctaactatgt tgggctggc aatgagctac
 2641 aagctgggccc cccgcaagt gctgtgaca gtgtgcaag gattcatgac tttaggtata
 2701 gccactggc taagtggga ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc
 2761 ttttaaaaaa tataaaaaat gaaactgggt ttaagcaca agtagtaaaa gactacttta
 2821 ctttaaaagg tgcagctgcc cctgtggccc atttcaagg aagttgccc gaagtcccc
 2881 cttacaagc ctcagaaaaa taccgaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca
 2941 ctgggtcagg aggggggggc agtaatctg tgaanaagcat gaggagttag ggggccactt
 3001 ttagtcccaa ctcgttaact tgtacatttt ccagacaatt ttaattcca tatgaccag
 3061 agcaccatta taagggtgtt tctcccgag caagtatgt ccacaatgac agtggaaagg
 3121 aggcaagggt ttgcaaccatt agtccataa tgggatactc aacctcatgg agatatttag
 3181 attttaatgc tttaaattta tttttcac cttagagtt tcagcactta attgaaaatt
 3241 atggaagtat agctcctgat gctttaactg taaccatctc agaaattgct gtaaggatg
 3301 ttacaacaa aactggagg ggggtgcagg ttactgacag cactacaggc cgcctatgca
 3361 tgtagtaga ccatgaatat aagtacccat atgtgttagg gcaaggtaaa gatactttag
 3421 cccagaaact tctatttgg gtatacttc cccctcaata cgttactta acagtaggag
 3481 atgttaacac acnaggaatt tctggagaca gcaaaaaatt ggcaagtga gaatcagcat
 3541 tttatgttt ggaacacagt tctttcagc ttttaggtac agggagtaca gcaactatgt
 3601 cttataagtt tctccagtg cccccagaaa atttagaggc ctgcagtaaa cacttttatg
 3661 aaatgtacaa ccccttatac ggatcccgct taggggttcc tgacacatta ggaggtgacc
 3721 caaaatttag atctttaaca catgaagacc atgcaattca gcccacaaac ttcatgccag
 3781 ggccactagt aaactcagtg tctacaaagg agggagacag cctagtact ggagctggaa
 3841 aagccctaac aggccttagc acaggtacct ctcaaaacac tagaatatcc ttacgccctg
 3901 ggccagtgtc tcagccgtac caccactggg acacagataa atatgtcaca ggaataaatg
 3961 ccatttctca tggtcagacc acttatggta acgtgaaga caaagagtat cagcaaggag
 4021 tgggtagatt tccaaatgaa aaagaacagc taaaacagtt acagggttta aacatgcaca
 4081 cctactttcc caataaagga acceagcaat atacagataa aattgagcgc cccctaatgg
 4141 tgggttctgt atggaacaga agagcccttc actatgaaag ccagctgtgg agtaaaattc
 4201 caaatttaga tgacagtttt aaaactcagt ttgcagcctt agggagatgg ggtttgcatc
 4261 agccacctcc tcaaatattt ttaaaaatat taccacaaag tgggccaatt ggaggtatta

도면4C

4321 aatcaatggg aattactacc ttattcagt atgccgtggg aattatgaca gtaaccatga
 4381 catttaaat ggggcccggt aaagctacgg gacggtggaa tcttcaacct ggagtgtatc
 4441 cccgcacgc agcaggtcat ttacatatt tactatatga cccacagct acagatgcaa
 4501 aacaacacca cagacatgga tatgaaaagc ctgaagaatt gtggacagcc aaaagccgtg
 4561 tgcaaccatt gtaaacactc cccaccgtgc cctcagccag gatgtgtaac taaacgcca
 4621 ccagtaccac ccagactgta cctgccccct cctatactta taagacagcc taacacaa

도면5A

클론 B1-NS1 단일가닥 DNA서열

atactctcgaacaaaacaaatggagctatttagaggggtgttcaagttcttctaattgtcttgactgtgctaacgataactgggtgctctt
tactggtatttagactcttctgactgggaaccactaactactaactaactaactggaataactaactaagcagtggtgcttctaagctgacttta
ctggggggccactagcagggtgcttgaactttttcaagtagaatglaacaaattgaagaaggctatcatatcatgtggtattggggggcca
gggttaaaccccgaaacctcacagtggtgtagaggggtatttaataatgtactttatcactgttaactgaaatctgaagctaaaattttgc
cagggaatgactacaaaaggcaatacttttagagatggagagcagttatagaaaactatttaataaaaaaacctttaaatgttgatgggtg
gttactaatatgatggacatagataacctgtattctgctacttttagaaaggagcgttccatgccagaacacccgcaccacagccat
aaatgatactagctactgatgctggggagctctagcggcacaggggcagaggtgtgccattaatgggaagggaactaaggctagcataaag
tttcaaatctgttaactgtgtgtgtaaaacagaggtgtttacagagataagtggaactagttgactttaaccagtaacacttactaagcag
agtcacagtggaagtttcaaatcaaatgacactaaactagcaattataaagcaactaatattgactgactagcacattttattgcatacag
actttgacaaagttatgtgtatttaaaaaacaataaaattgttaaatgttactttgcaaaactatgacccctattagtggggcagcagctgtttaaag
tggttgataaaaaatgtggcaagaaaaacacactgtggtttatgggcccgaagtacagggaacaaactggcaatggccattgctaa
aagtgttccagatatggcattggttaactggaataatgaaaacttccatttaattgatgtagcaggaaaagctgtggtctgggatgaag
gtattatattagctacaattgtagaagctgcaaaagccatttaggcgggcaaccaccagggtagatcaaaaaatgctgggaagtgtagctg
tgccctggagtacctgtgtgtataaccagcaatggtgacattttgtgtgaaggcgggaacactacaacactgtacatgctaaagccctaaaa
gagcgcatggttaagttaaacttactgtagaatgacccctgacatgggtgtactaacagaggtgatgtacaacagtgcttactacatggt
aatgcaaaaagctgggacactatgaaaactgggcaataaactacacttttgaattccctgggaattaatgagatgcctccaccagacactcc
aaaccaccaccaattgtcacagacacagctatcagcagcagtggtgtgaaagctctgaagaactcagtgaagcagctttttaacctcatca
ccccaggcgcctggaacactgaacccccgcctctagtagcccatccccgggaccagttcaggagaatcatctgcggaagccagtttc
ctccgaagttgtagctgcatctgagggaagccctctacacactttggcagaccagtttctggaactgttagttgggttgattatgtgtggg
acggtgtgaaggggttacctgtctgtgtgtgcaacatattaacaatagtgggggagcgtgggacttgcctccattgcattaatgtagggtc
tggtataatgatggaatttcgagaatttaccacgaattggtgcgatgtgctgcatgtgggagcttctaactccctttctgtactaacctgca
aaaaatggtcttacctgtctgattgcaagcctgtgtagattatgagtaagtcgacatactc

도면5B

클론 B1 NS1 아미노산 서열:

MBLFRGVLQVSSNVLDCAENDNWWCSLLDLDTSDWEPLTHTNRLMAIYLVSSVAS
KLDFTGGFLAGCLYFFQVECNKFEEGYHHIVVIGGFLNPRNLTVCBGLFNNVLYHLVT
ENLKLKFLPGMTTKGKYFRDGEQFIENYLMKKIPLNVVVCVTNDGHIDTCISATFRKGA
CHAKKPRITTAINDTSDAGESSGTGAEEVVPFNGKGTAKSIKFPQTMVNLCENRVFTEDK
WKLVDNFQYTLSSSHSGSFQISALKLAIFYKATNLVPTSTFLLHTDFEQVMCIKNNKIV
KLLLCQNYDPLLVGQHVLLKWDKKCGKKNTLWFYGPSTGKTNLAMAIAKSPVYGMVNW
NNENFPFNDVAGKSLVWVDEGHIKSTIVEAAKAILGGQPTRVDQKMRGSVAVPVGVVVT
SNGDIEFVVSNGNTTTTTHAKALKERMVKNFTVRCSPDMGLLTDADVQQWLTCWNAQSWD
WYENWAINYTFDFPGINADALHPDLQTTPIVTDTISISSGGESSEELSESSFFNLITPGA
HTNETPRSSFTIPGTSSGESSVGSVSSEVVAASWEBAFYTPLADQFRELLVGVDYVWDG
VRGLPVCCVQHINNSGGGLGLCPHCINVGAWYNGWKFRFIPDLVRCSHVGAAGNPSVL
TCKKCAVLSGLQSFVDYE

도면6A

B1VP1 단일가닥 DNA 서열:

atactcaagcttacaacaaacaaatagtaagaagtgcaaatgtgggaagtgatgataatttgcataagctgtgtatcagcaatttggtaattta
tgaagggttactggaacagacttagagcttattcaaatattaaagatcatatattttcttagataatccocctag
aaaacccatctcttcttgaacttagttgctgtattaaataaacttaaaaacttccagacttataatgcatcat
tttcaagctatgacagactatcaccaccccatgcttattatccagtagcagctcagacagacttagaggagaaga
tgcagttattatctagtgaagacttacaaagcctggcgaagttagcgtacactaccgggtactactatgttggcctg
gcaatgagctacaagctgggccccgcgaagtgctgtgacagtgtcgaaggattcatgactttagttatagccactg
gctaagtgggaataatccataactatggaactgtgacagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaactgg
gtttcaagcacagtagtaaaagactacttactttaaaagggtgagctgccccgtggccatttcaagggaatttgc
cgggaagtcccgttacaacgctcagaaaaatacccaagcacttcaacttgaattctgcaagaagccagcagctgtgca
ggaggggggggcagtaactctgtgaaaagcattgtggagtgaggggccacttttagtgccaactctgtaactgttaca
ttccagacaaattttaattccatgacacagagcaccattataagggttttctcccgacgaagctgccccantg
ccagtgaagaggcgaaggtttgcacattatcccaatgggatactcaacccatgagatatttagattttaat
gctttaaatattttttacccttttaggtttacagcacttaattgaaattatgggaagtatgctcctgtatgtttaa
tgttaaccatacagaattgtctgtaaggatgttacggacaaaactggagggggtgcaaggtatcagacactacag
ggcgctatgcatgttagtagccatgaatataagtagccatgtgttagggcagggtcagatatttagccccagaa
cttctatttgggtacttctccocctcaatagcttactaacagtagtagatgaacacagaaggaattctggaga
cagcaaaaattggcaagtgaagaatcagattttatgttttggacaacaggtcttttcaagcttttaggtacagaggta
cagcaactatgtcttataagtttccagtgccccagaaaatttagagggtgcagctcaacacttttagaattgac
aaccccttatcggatcccgcttaggggttctgacacattagagggtgacccaaatttagacttttaacacatgaaga
ccatgcaatcagccccaaactcagccaggccacatgataaactcagtgcttcaaaaggaggacagacgtctgata
ctggagctggaagcccttaacagcccttagcacaggtacctctcaaaacactagaatacttaccgocctgtggccagtg
tctacgctgaccacactgggacacagataaatgtacaggaataaattgcatttctactggtcagaccactatgg
taacgtgcaagcaagagatgacaggaagtggtggtagatttccaaatgaagaagacagctaaacacagttacagggt
taaatgacacacacttctccataaaggacccagcaatatacagataaattgagcggccocctaatgggtgggtct
gtatggaacagaagagccctcactatganaagcagctgtggagtaaaattccaaatttagatgacagttttaaactca
gttgcagcccttagaggatgggggttgcacagccactctcaaatattttaaaatattaccacaaggtgggocaa
ttggaggtataaaatcattggaattactacttagttcagtagtccgtgggaatttagacagtaacatgacattttaa
ttggggcccgtaagctacggagcgtgggaactcacaactggagtgatcccccgacgcagcagaggtcatatccata
tgtactatagccccagctacagatgcaaaacacaccacagacatggatgataaagcctgaagaattgtggacag
ccaaaagccgtgtgcaacccattgtagtcgacatactc

도면 6B

B1 VP1 아미노산 서열:

MTSVNSAEASTGAGGGGSGPNVKSVMSEGATSFASVSTCTFSRQLPFLYDFEHH
YKVFSAASCHNAGSKEAKVCTISPIMGYSTPWRYLDFNALFFSPLEPHLQENYGS
LPADLALTITISIEAVKVDVDTGGGQVVDSTTGRCLMLVDHEYEVPPYVLGGQODTLAPE
LPWVYPPFYQAYLTVGDVNTQGISGDSKKLASBESAFVYLEHSSQLLGTGTATMSYK
FPVPENLEGDSQHGKLEYMNPYLQSRGLGVDPTLGGDPKFRSLTHEDDAJQONFMPGPL
VNSVSTKEGDSSTGAKALTLGSTQTSQNTISRLRPGPGYQHHWHDTKYVTGAINAS
HQGTTIYGNABDEKBYQVGLDGFPEFNEKBQLQLQGLNMLTYFFNKQCTQYVTDQIERPLMVGS
VWNRRALHYBQWLSKPNLDDSFCTQAFALGGWGLHQPPYLFJLKLQSPGPIGKSM
GTTTLVQVAYVGIMTVLTMFKLGRKCATGRWNPGYVPPYPAAGHLPPYVLYDPTADAKQH
HRHGYEKPEBLWATAKSRVHPL

도면7A

B1 VP2 단일가닥 DNA 서열:

atatacagcgttcaaaaacaaatgacttcagttaattctgcagaagccagacagtggtcaggagggggggcagtaactcgtgaaagcatgtgggtgagggggcc
acattttgtgccactcgttaactgtacatttccagacgaattttaaattcattagaccaggagaccatt
ataagggttttcccccagcagtagctgtccaaatgagcagctgtgaaaggcagaaaggttcacacattagtcocata
ctgtgatactcaaccccatgagagatattgattttaagctttaaatttatttccaacttttaggtttcagcact
aatgaaaattatgaaagtatgctctcgttcgttaactgtacatacagaanaatcgtgttaaggatgtatcaggaca
aaactgtgggggggggtgcaggttactgacagcactacagggccgttcgtatgtagtaccatgaataatgataccca
tatctgttgggcacagggtcaagatacttttagccccaactctctatttgggtatcttccctcaactcgtactct
aacgattaggagatgtttacacaaaggaaatttctgcagacagcaaaaattgcagtgaaagatcacatttatgttt
tgggaacacaggtctttcagcttttagtgacagaggtacagcaacattgtcttatgtgtttcttcacgtgcccccaga
aatttagggctgcagctcaacatttatagaattatgaatacccttatagccatgcgttcgtgttgggttctcacaat
agggtgtgaccaaaattttagcttttaacatcatgnaagcatcatctaacgccccaaaacttcatgcaggccagatg
taactatctgtacaaaggaggagacagctctatctgtcagtgaggaaagcgttcacagccttcacagcagcttcc
tctcaaaacactcaaatctcttgcgcctgcggcagctgtcagcgtccacacagtgacagacaataatgttac
aggtaaatgtccatttctcatgtcagaccattatgtttaacgtgacaaagagatgtacacaaagggtgttgatgat
ttccaatgaaaaagacagctcaaaacgattcaggggtttaaacagcacccttcttcocaaatgaagaccacga
atacgtacataaattgagcgccctcattgtgtgtgtgtgtgaacagaaagcccttcattgtgaagccagcgtgtg
ggtgaataatccaaattgatgacagttaaaactcagtttcagccttatggaggtgtgtgtgttcacagaccctc
ctcaaatatttttaaaatatccacaacagtgggccaatgtgggtgttttaaatcattgggattctccttctgtgat
tgtccgtgtggaaattacagataaacatgatcatttaattgtggccgttcgaagtcagtcggcaggtgtgaatccatcc
tggagtgatcccgcagacagcagcagattttacatagtacattatgacacccacagcagatcagatcaaacacaccc
acacactggatgaataagacgctgaagaattgtggacagacacaaagcgtgtgtccacatttaagtctatgctacatc

도면7B

B1 VP2 아미노산 서열:

MTSVNSAEASTAGGAGGGGNSPVKSMWSEGATFSWYSTCFISRQLFLIPDFBHH
YKVFSPAASCHNAGSKEAKVCTISPMQGYSTFWYLDNFNLNFFSLEPFOHLIENYGS
IAPDALVITISBIAVKDVTDKTGGGVQVDTSTTGRICMLVDHBYKYPPYVLQGGQDITLAFE
LPIWVYPPFYQYAVLTVGVNVTQSGHSDSKLLESAFVLEHSSFQLLTGGTATMSYK
FPVPENLNGSCQHFHYEMYNPLVYGSRLGVPTDLGGDKPFSVLTHEDAHQPNFMGPPL
VNSVSTKEBDSSTGAKALTGLSTQNTSRISLRFQVSSVYHHWDTDKYVTGAINAS
HGQTTVYGAEDKEYQGVGRFFNFSEKQLQLGNMLNFTYFNKGTOQYVTDIERPLMVQS
VWNRRALHYBSQVWKSIPNLDNFKBQTFQALAGGQWGLHPPTQYFLKLPQSGPIGKISM
GITTLVQYAVGIMTIVMTFKLGPGRKATGRWNPOPGVYPPHAGHLPLVDTFATDAKQH
HRHGYGKEPBEVLWAKSRVHPL

도면8A

B6 NS1 단일가닥 DNA서열:

atactcttccgaacaaaacaaatggagctatttagaggggtgcttcaagtttcttaagtgtctggactgtgtaacgataactgggtgctctt
tactggatttagacacttctgactgggaaccataactcatactaacagactaatggcaataataagcagtggtgcttcaagctgacttta
ctggggggccactagcaggggtgctgtactttttcaagtagaatgtaacaaattgaagaaggctatcatattcatgtggttattggggggcca
gggttaaaccccgaaacctacagtggtgtagaggggttattataatgtactttatcacttgaactgaaatctgaagctaaattttgc
caggaatgactacaaaaggcaaaacttttagagatggagagcagttatagaaaactaatttaagaaaaataccttlaaatgtgtatgggtg
gttactaataattgatggacataatagataacctgtattctgctacttttagaaaggagcttgccatgccagaaccccgcatcaccacagccat
aaatgatactagtagctgctggggagcttagcggcacaggggcagaggttggccatttaagggaagggaactaaggctagcataaag
ttcaaaactatggtaaactggtgtgtgaaacacagtggttacagaggataagtggaactagtgtactttaaccagtaacttttaagcag
agtcacagtggaagtgttcaaatcaaatgcaactaaactagcaatttataaagcaactaatttagtgcctactagcacatttttgcatacag
actttgagcaagttatgtgtatgaagacaataaaattgttaattgttactttgcaaaactatgaccccttattagtggggcagcatgtgttaag
tggattgataaaaaatgtggcaaaaaacacactgtgttttatggaccgccaaagtaggggaaaaacaaacttggcaatggcattgtctaa
aagtgttccagtagtatgcatgggttaactggaataatgaaaactttccatttaatgatgtagcaggaataaagcttgggtgctgggtagaaggta
ttattaagtctacaattgtagaagctgcaaaaagcatttttagcgggcaacccaccagggtagatcaaaaaatgcgtggaggtgtagctgtgtc
ctggagtagccctggtgtatagcagaatggtgacactttttgtgtagcgggaacactacaacactgtacatgctaaagccttaaaaga
gcgcatggttaagtagtaactttactgtaagatgcagccctgacatgggttactaacagagggctgatgtacaacagtgccctacatgggtta
gcacaagctgggaccactatgaaaactgggcaataaactacactttgatttccctggaataatgcagatgccctccaccagacacctccaa
accaccccaattgtcacagacacccagtagtagcagcagctgtgtgtgaaagctctgaagaactcagtgaaagcagctttttaacctcatcacc
ccaggcgcctggaacactgaaaccccgccctctgtacgcccacccgggaccagttcaggagaatcatctgtcgaagcccgatttcc
tccgaagtgttagctgcatcgtgggaagaagcccttctacacacttggcagaccagtttctgtaactgttagttggggttgattatgtggga
cgggtgtaaggggttacctgtctgtgtgtgcaacataataacatagtgggggagggcttgggacttgcctccatgcaattatgtagggcgt
ggtataatggatggaatttgcagaatttaccacagatttggcgtatgtagctgcccagtgaggagcttataccctttctgtctaaccctgca
aaaaatgtgctacctgtctgattgcaaaagctttagattatgagtaagtcgacatactc

도면8B

B6 NS1 아미노산 서열:

MELFRGVLQVSSNVLDCAANDNWCSLLDLDTSDWEPLTHTNRLMAIYLSVAS
KLDFTGGFLAGCLYFFQVECNKFEBGYHIHVIGGGLNPRNLTVCEGLFNNVLYHLVT
ENLKLKFLPGMTTKGKYFRDGEQFIENYLMKIPLNWVVCVTNIDGHIDTCISATFRKGA
CHAKKPRITTAINDSTDA GESSGTGAEVVPFNGKTKASIKFQTMVNWLCENRVFTEDK
WKLVDNFQYNTLLSSSHSGSFQISALKLAIYKATNLVPTSTFLLHTDFBQVMCIKDNKIV
KLLLCQNYDPLLVGQHVLRWIDKKCGKNLWFWYPPSTGKTNLAMAIAKSVPVYGMVNW
NNENFPENDVAGKSLVWDEGIUKSTIVEAAKAILGGQPTRVDQKMRGSVAVPGVPVVT
SNGDITFVVSNTTTTVHAKALKERMVKLNFTVRCSPDMGLLTDADVQQLWTCWNAQSWD
HYENWAINYITDFPGINADALHPDLQTTPIVITPISISSGGESSEELSSFFNLITPGA
WNTETPRSSPTIPGTSSGESSVGSVSSEVVAAASWBEAFYTPLADQFRELLVGVVDYVWDG
VRGLPVCCVQHINSGGGLGLCPHCINVAWYNGWKPREFTDPLVRCSCHVGASNPFSL
TCKKCAVLSGLQSFVDYE

도면9A

B6 VP1 단일가닥 DNA 서열:

atactcaagcttacaacaaaatagtaaaagaaggcgaatgggggaagtgtatgataaattgtctaaagctgtgtatcagcaattgtg
gaattttatgaaaaggcttagcagacagacttagagcttattcaaatattaaagatcattataatattcttagataatccctagaaaaccatc
ctctttgttgacttagttgctgtatataaaataaaccttaaaaactctccagacttatatagtcatttcaagtcagtcagcagttatctgaccac
ccccatgccttatcatccagtagcagtcagcagaacctagaggagaagatgcagtattatctagtgaagacttacacaagcctgggcaagtt
agcgtacaactaccgggtactaactatgttggccctggcaatgagctacaagctgggccccgcgaagtgctgtgacagtgctgcgaaggat
tcctgacttttaggtatagccaactggcgaagtgggaataatccatatactatggaactgtgacagatgaagagctttaaaaataataaaaa
tgaactgggtttcaagcacagtagtaaaagacttctttaaaggctgcagctgcccctgtggccatttcaagggaagtttgcgggaa
gttcccgttacaacgccctcagaaaaataccaagcagacttcagtttaattctgcagaagccagcactgggtcaggagggggggcagta
atcctgtgaaaagcagtgaggtagggggccacttttagtccaactctgttaactgtacatttccagacaatttttaattccatagaccag
agccactataaggtgttttctccgcagcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggaaggtttgcaccattagtcocataatgg
gatactcaaccccatgagatatttagatttaattgctttaaatttttttccacttttagagttcagcacttaattgaaaattatggaagtatgct
cctgagctttaactgttaacatatacaaaattgtgttaaggatgttacaacaaaactggaggggggtgcagggttactgacagcactaca
gggcgcctatcatgttagtagacatgaataatagtaaccatattgttttagggcaagggtcaagatactttagcccagaacttctatttgggt
atacttccccctcaatagcttacttaacagtaggagatgttaacacagaaggaatttctggagacagcaaaaaattggcaagtgaagaatca
gcatttatgttttgaacacagttctttcagcttttaggtacaggaggtacagcaactatgtttataagtttccactgccccagaaaaatt
agaggctgcagtaacactttatgaaagtacaaccccttaccggaatcccgcttaggggttctgacacattagggagtgaccocaaaaatt
agacttttaacacatgaagaccatgcaattcagccccaaacttcatgocaggccactagtaaacctcagtgctacaaaaggaggagacag
ctctagtagtggagctggaagacccotaaacagccttagcacaggtacctctcaaaactagaatacttaccgcccgtggcaggtgtctca
gcctccacacactgggacacagataaatagtacaggaataaatgccatttctatggtcagaccacttattgtaacgctgaagacaaaag
agtagcagcaaggagtggttagatttccaaatgaaaaagaacagctaaaacagttacagggtttaaacaatgcacacctactttccataaag
gaaccacgaatatacagataaattgagcgcgccctaatgggtgtctgtatggaacagaagagcccttactatgaagaccagctgtgg
agtaaaattcaaatattagatgacagttttaaactcagtttgcagccttagaggatgggtttgcatcagccactcctcaaatattCtaaaa
atatattaccacaaagtggccaa ttggaggtattaaatcaatgggaattactaccttagttcagtagccgtgggaattatgacagtaacatga
catttaaa itggggccccgtaaaagctacgggacgggtgaaactcaccctggaggtgtatccccgcacgcagcaggttcatttaccata tga
ctatagaccacagctacagatgcaaaacaacaccacagacatgatatgaaagctgaagaattgtggacagccaaaaagccgtgtg
caccattgttagtcgacatactc

도면9B

B6 VP1 아미노산 서열:

MSKESGKWWESDDKFAKAVYQQFVEFEYKVTGTDLELIQLKDHYNISLDNPL
ENPSSLFDLVARIKNNLKNSPDLYSHHFQSHGQLSDHPHALSSSSSHAEPREGDAVLSSB
DLHKPGQVSVQLPGTINYVGPENLQAGPPQSAVDSAAIRHDFRYSQLAKLGINPYTHWTV
ADELLKNIKNETGFQAQVVKDYFTLKGAAPVAHFQGLPEVPAYNASEKYPMSMTSVNS
AEASTGAGGGGSPVKSMWSEGATFSANSVCTFSRQFLIPYDPEHHYKVFSPAASSCHN
ASGKEAKVCTISPIMGYSTPWKYLDFNALNLFSPLEBFQHLIENYGSIAFDALTVTISEI
AVKDVINKTGGGVQVTDSTTGRLCMLVDHEYKYPPYVLGQQQDTLAPELPWVYFPPQYAY
LTVGDEVNTQGISGDSKLLASESAFYVLEHSSFQLLGTGGTATMSYKFPVPPENLEGCS
QHIFYEMYNPLYGSRLLGVPDITLGGDPKFRSLTHEDHAIQPNFMPGPLVNSVSTKEGDS
TGAGKALTGLSTGTSQNTIRSLRPGFVSQPYHHWDIDKYVTGINAISHGQTTYGNAEDKE
YQQGVGRFPNEKEQLKQLQGLNMHTYFPNKGTTQYTDQIERPLMVGSVWNRRLHYESQL
WSKIPNLDDSFKTQFAALGGWGLHQPPPIFLKILPQSGPIGGIKSMGITTLVQYAVGIM
TVTMTFKLGRKATGRWNPPQGVYPPHAAAGHLPYVLYDPTATDAKQHRHRYGVEKPEBLWT
AKSRVHPL

도면10A

B6 VP2 단일가닥 DNA 서열:

atactacaagcttacaacaaatgacttcagttatcttcagaagccagcacctggtagggggggggcagtaactctgtgaaagcatgtggagtagggggc
caccttttagtgccaaactctgtaactgtacatttcagacaatttttaattccatgtaccagagcaccatt
ataaggtgtttttccocgcagcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggcaaaaggtttgcaccaattagtcocata
atgggatactcaaccccatggagatatttagatttaattgctttaaatttttttcaacttttagatttcagcacct
aatgaaattatgaagtagctcctgatgcttaactgttaaccatatacagaatgtctgttaaggatttaacaaca
aaactggagggggggtagctttagacagcactacagggcgccatgcatgttagtagacatgaataagtaacca
tatgtgttagggcgaagtagaatacttttagccccaacttctatttgggtatacttcccccataacgcttact
aacagtaggagatgttaacacaaaggaattcttgagacagcaaaaattggcaagtgaaatcagcatatttatgtt
tggaacacagcttctttcagcttttaggtacaggaggtacagcaactatgtctataaatttccctcagtgcccccaga
aatttagagggtcagctcaacacttttagaattgtacaaccccttatcggtacccgttaggggttctgcacatt
aggaggtgacccaaatttagatctttaacatgaagacatgaactgaaccccaacttcagccaggccactag
taaacatgcttctacaaggaggagacagctctgtagctgagctggaagcccttaacagccgttgcacaggttac
tcicaaaactagaatactctacgcccgtggccaggtgtctcagccgtacacacactgggacagataaatgtcac
aggataaattgccatttctatgttcagaccacttatgttaacgctgaagacaagatgatacgaaggagtggtatg
ttccaaatgaanaagacagcttaaacaggttacaggtttaacatgcacaccttcttcccaataaggaaacccagca
tatcacagatcaaatggagcccccataatgtgggtctgtatgaacagaagagcccttcactatgaagccagctgtg
gagtaaaattccaatttagatgacagcttttaaaactcagtttgagcccttaggaggtgggtttgcatcagccacct
ctcaaatttttaaaatattaccacaagtgggccaaattgggtatttaaatgaatgggaattactacttagtttag
tatccgtgggaattatgacagtaacctgacatttaattggcccccgttaagctacggggaggtggaatctcaacc
tgaggtgtatcccccgcacgcagcaggttcattacatgtactatatagccacagctacagatgcaaaacacacc
acagacatgatatgaagcctgaagaattgtggacagccaaagccgtgtgcaccattgtaagtgcacatctc

도면10B

B6 VP2 아미노산 서열:

MTSVNSAEASTGAGGGGSPVKSMWSEGATFSANSVCTFSRQFLIPYDPEHH
YKVFSPAASSCHNASGKEAKVCTISPIMGYSTPWRYLDNALNLFSPLEBFQHLIENYGS
IAPDALTVTISEIAVKDVINKTGGGVQVTDSTTGRLCMLVDHEYKYPPYVLGQQQDTLAPE
LPWVYFPPQYAYLTVGDEVNTQGISGDSKLLASESAFYVLEHSSFQLLGTGGTATMSYK
FPVPPENLEGCSQHIFYEMYNPLYGSRLLGVPDITLGGDPKFRSLTHEDHAIQPNFMPGPL
VNSVSTKEGDSSTGAAGKALTGLSTGTSQNTIRSLRPGFVSQPYHHWDIDKYVTGINAIS
HGQTTYGNAEDKEYQQGVGRFPNEKEQLKQLQGLNMHTYFPNKGTTQYTDQIERPLMVGS
VWNRRLHYESQLWSKIPNLDDSFKTQFAALGGWGLHQPPPIFLKILPQSGPIGGIKSM
GITTLVQYAVGIMTVTMTFKLGRKATGRWNPPQGVYPPHAAAGHLPYVLYDPTATDAKQH
HRHGYEKPBLWTAKSRVHPL

도면11A

CH80-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaaggtgcagctccccgtgtgccattttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgcttacacccctcagaaaaataccacagcatgacttcagttattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaactctgttaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaact
ctgtaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgcga
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggtttgcaccattagtcccataatgggatactc
aaccocatggagataatttagattttaatgctttaattgtttttcaccttagatttcagcatttaattgaaaact
atggagtagatgctcctgatgctttaactgtacccatatacagaattgctgttaaggatgttacagacaaaactg
gagggggagtacaagttactgacagcactaccggcgccctatgcatgttagtagacatgaatacaagtac
ccatatgtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면11B

CH81-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccatttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaact
ctgtaactgtacattttccagacagttttaattccatgacccagagcaccattataaggtgttttccccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcacataatgggatactc
aaccatgagagatacttagatttaattgctttaaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagacatgaatacaagtac
ccatattgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11C

B19SCL1-4

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccatttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacaattttaattccatgacccagagcaccattataaggtgttttccccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcacataatgggatactc
aaccatgagagatacttagatttaattgctttaaattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagacatgaataaagtac
ccatattgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11D

B19SCL2-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccatttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacaattttaattccatgacccagagcaccattataaggtgttttccccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcacataatgggatactc
aacccatgagagatacttagatttaattgctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagacatgaataaagtac
ccatattgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11E

B19SCL3-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccatttcaaggaaagtttgc
ggaagtccccgttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tgggtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtccaac
tctgtaactgtacattttccagacaattttaattccatgacccagagcaccattataaggtgttttccccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaggtttgcaccattagtcacataatgggatactc
aaccatggagatacttagatttaattgctttaaattttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtctcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagacatgaataaagtac
ccatattgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11F

B19SCL4-3

ataaatccataatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaagtttgcc
ggaagtcccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaac
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatactc
aaccctatggagataatttagattttaatgctttaaatttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccataatcagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcagggttactgacagcactacaggggcgccatgcatgttagtagaccatgaatataagtac
ccatagtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면11G

B19SCL5-2

ataaatccataatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttcaa
gcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaagtttgcc
ggaagtcccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
tggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaac
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgca
gcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatactc
aaccctatggagataatttagattttaatgctttaaatttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaatt
atggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccataatcagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaactg
gaggggggggtgcagggttactgacagcactacaggggcgccatgcatgttagtagaccatgaatataagtac
ccatagtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면11H

B19SCL6-2

ataaatccataatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaagtttgcc
cggaaagtcccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaac
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgca
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatactc
caaccctatggagataatttagattttaatgctttaaatttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccataatcagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacaggggcgccatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatagtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면11I

B19SCL7-3

ataaatccataatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaagtttgcc
cggaaagtcccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagcac
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaac
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgca
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatactc
caaccctatggagataatttagattttaatgctttaaatttttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccataatcagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacaggggcgccatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatagtgttagggcaaggtcaggatacttttag

도면11J

B19SCL8-2

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgtttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggataact
caacccatggagataatttaggttttaattgctttaaattattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcgccctatgcatgttagtagacatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11K

B19SCL9-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgtttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
cagccagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatact
tcaacccatggagataatttagatttaattgctttaaattattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaa
ttatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaac
tggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcgccctatgcatgttagtagacatgaatataagta
acccatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11L

B19SCL9-9

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgtttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatact
caacccatggagataatttagattttaattgctttaaattattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcgccctatgcatgttagtagacatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11M

B19SCL10-2

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgccctgtggccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgtttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcataatgggatact
caacccatggagataatttagattttaattgctttaaattattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcgccctatgcatgttagtagacatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11N

B19SCL11-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgcttacaacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaagggttgaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagatttaatgctttaaatattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttat

도면11O

B19SCL12-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgcttacaacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtcaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgtgactgtacattttccagacagtttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgc
cagcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaagggttgaccattagtcgataatgggatac
tcaaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaa
ttatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgttaaggatgttacagacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcagtagcaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatacaagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11P

B19SCL13-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgcttacaacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgc
cagcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaagggttgaccattagtcataatgggatac
tcaaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaa
ttatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
tgaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
acccatattgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11Q

B19SCL14-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggcccattttcaagggaagtttgc
cggaagttcccgcttacaacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctgtgtcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggtttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaagggttgaccattagtcataatgggatac
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatacagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacaggcgccctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11R

B19SCL15-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagtcccgccttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggtttgcaccattagtcacataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatgggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatafcagaaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11S

B19SCL16-2

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagtcccgccttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggtttgcaccattagtcacataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatgggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatafcagaaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttat

도면11T

B19SCL17-1

ataaatccatatacttattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagtcccgccttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggtttgcaccattagtcacataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatgggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatafcagaaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11U

B19SCL18-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagtcccgccttacaacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataaggtgttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggtttgcaccattagtcacataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaaatattttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatgggaagtatagctcctgatgctttaactgtaaccatafcagaaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcaggttactgacagcactacagggcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11V

B19SCL19-1

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagttcccgcttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaatttttttccacttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacagggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11W

B19SCL20-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagttcccgcttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaatttttttccacttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacagggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11X

B19SCL21-3

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagttcccgcttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaatttttttccacttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacagggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면11Y

B19SCL22-11

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggtttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggaaagtttgc
cggaagttcccgcttacacgcctcagaaaaatacccaagcatgacttcagtttaattctgcagaagccagca
ctggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtggagtggggggccacttttagtgccaa
ctctgttaactgtacattttccagacaatttttaattccatagaccagagcaccattataagggttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaaaaggttgcaccattagtcataatgggatact
caaccccatggagatatttagattttaatgctttaatttttttccacttttagagtttcagcacttaattgaaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgttaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggggtgcagggttactgacagcactacagggcgcctatgcatgttagtagaccatgaatataagta
cccatatgtgttagggcaaggtcaggatactttag

도면112

B19SCL2-14

ataaatccatatactcattggactgtagcagatgaagagcttttaaaaaataaaaaatgaaactgggttca
agcacaagtagtaaaagactactttactttaaaagggtgcagctgcccctgtggccattttcaaggagtttgc
cggaagttcccgttacacgcctcagaaaaataccaagcatgacttcagttatctgcagaagccagca
ctgggtgcaggagggggggcagtaatcctgtgaaaagcatgtgagtgagggggcccacttttagtgccaa
ctctgtaactgtacattttccagacaatttttaattccatatgaccagagcaccattataagggttttctccgc
agcaagtagctgccacaatgccagtggaaaggaggcaagggttgaccattagtcacataatgggatact
caaccccatggagatatctagattttaatgctttaaatftatttttcaccttagagtttcagcacttaattgaaat
tatggaagtatagtcctgatgctttaactgtaaccatatcagaaattgctgtaaggatgttacggacaaaact
ggaggggggtgcaggttactgacagcactacagggcgccctatgcatgttagtagacatgaatataagta
cccatatgtttagggcaaggtcaggatacttag

도면12

GAATTCACCTTGTACATTTTCCAGACAATTTTAATTCATATGACCCAGAGCACCATTAT
ACAGTGACATGCAGGTCTAGCTCTGCCACAATGCCAGTGGAAGGAGGCAAGGTTTGCA
CCATTAGTCCCATATATGGGATACTCAACCCCATGGAGATATTAGATTTTAAATGCTTTAA
ATTTATTTTTTTCACCTTTAGAGTTTCAGCACTTAATTGAAAATTATGGAAGTATAGCTC
CTGATGCTTTAACTGTAAACCATATCAGAAATTGCTGTTAAGGATGTTACGGACAAAACCTG
GAGGGGGGTGCAGGTTACTGACAGCACTACAGGCGCCTATGCATGTTAGTAGACCATG
AATATAAGTACCCATATGTGTTAGGGCAAGGTCAAGATACTTTAGCCCCAGAACTTCCTA
TTTGGGTATACTTTCCCTCAATACGCTTACTTAACAGTAGGAGATGTTAACACACAAG
GAATTTCTGGAGACAGCAAAAAATTGGCAAGTGAAGAATCAGCATTTTATGTTTGGAAC
ACAGTTCTTTTCAGCTTTTAGGTACAGGAGGTACAGCAACTATGTCCTTAAAGTTTCCTC
CAGTGCCCCCAGAAAATTAGAGGGCTGCAGTCAACACTTTTATGAAATGTACAACCCCT
TATACGGATCCCGTGTCTGAC (SEQ ID NO.:92)

서열목록

- <110> PICHUANES, Sergio
SHYAMALA, Venkatakrishna
- <120> DIAGNOSTIC ASSAYS FOR PARVOVIRUS B19

- <130> 2301-17194 / PP17194.004

- <140> 10/187,253
- <141> 2002-06-28

- <150> 60/302,077
- <151> 2001-06-28

- <150> 60/365,956
- <151> 2002-03-19

- <150> 60/369,224

<151> 2002-03-29

<160> 93

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH47-26

<400> 1

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacagtt tttaatcca tatgaccag agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaatttg	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcattta attgaaaact atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagaaa aactggaggg	600
ggagtacaag ttactgacag cactaccggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatac	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 2
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH48-29

<400> 2
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60
 gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120
 cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaacaa 180
 tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggtggc 240
 agtaatcctg ccaaagcat gtggagttag ggggccactt ttactgcaa cttgttaact 300
 tgtacatfff ccagacagtt tttaatcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360
 tctccgcag ctagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420
 agtcccataa tgggatactc aactccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480
 tttttttcac ctttagagtt tcagcaccta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540
 gatttaactg taaccatatt agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600
 ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgcc tgtagtaga ccatgaatac 660
 aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 3
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH33-2

<400> 3
ataaatccat atactcattg gactgttagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaacaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggtggc 240

agtaatcctg ccaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttactgcaa ctcgtgaact 300

tgtacatfff ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcagc ctagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aactccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcaccta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gatttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgct tgtttagtag ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 4
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH33-3

<400> 4
ataaatccat atactcattg gactgttagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaca 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctgggtcagg agggggtggc 240

agtaatcctg ccaaagcat gtggagttag ggggccactt ttactgcaa cttctgtaact 300

tgtacatttt ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag ctagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aactccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcaccta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gatttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgcc tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtagc gatactttag 700

<210> 5
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH33-4

<400> 5
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctgggtcagg agggggtggc 240

agtaatcctg ccaaagcat gtggagttag ggggccactt ttactgcaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag ctagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aactccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcaccta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gatttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgcc tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 6
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH42-7

<400> 6
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccaggcagtt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttiagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 7
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH42-18

<400> 7
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgttaact 300

tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt 360

tctcccgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtag gatactttag 700

<210> 8
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH42-19

<400> 8
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa cttctgtaact 300

tgtacatttt ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagtgtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtag gatactttag 700

<210> 9
<211> 700

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH46-23

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)
<223> where 'n' is A, T, C or G

<400> 9
attaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaancaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgttaact 300

tgtacatfff ccaggcagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 10
<211> 700
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH1-1

<400> 10

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgttaact 300

tgtacatfff ccagacagtt tttaatcca tatgaccag agcaccatta taagtgfff 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaagg aggcaaagg ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatt agaaattgct gtttaaggatg ttacagaaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 11

<211> 700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH1-6

<400> 11

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa cttgttaact	300
tgtacatfff ccagacagtt tttaatcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatatt agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg	600
ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatac	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 12
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH2-8

<400> 12	
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaatcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaagg ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 13
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH2-10

<400> 13 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaatcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360

tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatatc agaaattgct gttaaggatg ttacagacag aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 14
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH2-11C

<400> 14 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540

gctttaactg taaccataatc agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 15
 <211> 699
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH5-13

<400> 15
 ctaaattccat atactcattg gactgttagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact 300

tgtacatttt ccagacagtt ttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaaag aggcaaaggt ttgcactatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggcagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccataatc agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccaa tgtgttaggg caaggtcagg atactttag 699

<210> 16
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH7-22

<400> 16
 ataaatccat gtactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60
 gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120
 cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180
 tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggggggc 240
 agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300
 tgtacatfff ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360
 tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420
 agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaatttg 480
 tttttttcac ctttagagtt tcagcattta attgaaaact atggaagtat agctcctgat 540
 gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600
 ggagtacaag ttactgacag cactaccggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660
 aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 17
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH13-27

<400> 17

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
ctgttgccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaattctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgctaa cttgttaact	300
tgtacatfff ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcgag cgagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatc	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacagacaa aactggaggg	600
ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatac	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 18

<211> 699

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH14-33

<400> 18

ataaatccat atactcattg gactgtggca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
---	----

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggggga 240

gtaatcctgt taaaagcatg tggagtgagg gggccacttt tagtgccaac tctgtaactt 300

gtacattttc cagacagttt ttaattccat atgaccaga gcaccattat aaggtgtttt 360

ctccgcagc aagtagctgc cacaatgcca gtggaaaaga ggcaaagggt tgcaccatta 420

gtcccataat gggatactca accccatgga gatatttaga ttttaatgct ttaaatttat 480

tttttcacc tttagagttt cagcacttaa ttgaaaatta tggtagtata gtcctgatg 540

ctttaactgt aaccatatca gaaattgctg ttaaagatgt tacagacaaa actggagggg 600

gggtacaggt tactgacagc actacagggc gcctatgcat gttagtggac catgaataca 660

agtaccata tgtgttaggg caaggtcagg atactttag 699

<210> 19
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH62-2

<400> 19
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcaat taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacakttt ccagacagtt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag ccagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg 600

gggttacagg ttactgacag cactacaggc cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 20
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH64-2

<400> 20
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tcgcccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatacttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 21
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH67-2

<400> 21
 ataaatccat atactcattg gactgtggca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggg 240

agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgttaact 300

tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt 360

tctcccgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaaag aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaagatg ttacagacaa aactggaggg 600

ggggtacagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtgga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtag gatactttag 700

<210> 22
 <211> 4678
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: 4.7 kbp PCR fragment from
 parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 22
 cccgccttat gcaaatgggc agccatctta agtgttttac tataatttta ttggtagctt 60
 ttgtaacggt taaaatgggc ggagcgtagg caaggactac agtatatata gcacagcact 120
 gccgcagctc tttctttctg ggctgctttt ttcttgact tacttgctgt tttttgtgag 180
 ctaactaaca ggtatttata ctacttgta acatactaac atggagctat ttagagggtt 240
 gcttcaagtt tcttctaag ttctggactg tgctaacgat aactggtggt gctctttact 300
 ggatttagac acttctgact gggaaccact aactcact aacagactaa tggcaatata 360
 cttaacgagt gtggcttcta agcttgactt tactgggggg ccactagcag ggtgcttgta 420
 ctttttcaa gtagaatgta acaaatgtga agaagctat catattcatg tggttattgg 480
 ggggccaggg ttaaacccea gaaacctcac agtgtgtgta gaggggttat ttaataatgt 540
 actttatcac ctgttaactg aaaatctgaa gctaaaattt ttgccaggaa tgactacaaa 600
 aggcaaatac ttagagatg gagagcagtt tatagaaaac tatttaatga aaaaaatacc 660
 tttaaatgtt gtatggtgtg ttactaatat tgatggacat atagatacct gtatttctgc 720
 tacttttaga aaggtagctt gccatgcaa gaaacccgc atcaccacag ccataaatga 780

tactagtact gatgctgggg agtctagcgg cacaggggca gaggttgtgc catttaatgg	840
gaagggaact aaggctagca taaagtttca aactatggta aactggttgt gtgaaaacag	900
agtgtttaca gaggataagt ggaaactagt tgactttaac cagtiacactt tactaagcag	960
tagtcacagt ggaagttttc aaattcaaag tgcactaaaa ctagcaattt ataaagcaac	1020
taatttagtg cctactagca catttttatt gcatacagac tttagcaag ttatgtgtat	1080
taaaaacaat aaaattgtta aattgttact ttgtcaaac tatgaccccc tattagtggg	1140
gcagcatgtg ttaaagtgga ttgataaaaa atgtggcaag aaaaacacac tgtggtttta	1200
tgggccgcca agtacagga aaacaaactt ggcaatggcc attgctaaaa gtgttcagtc	1260
atatggcatg gttaactgga ataattgaaa ctttccattt aatgatgtag caggaaaaag	1320
cttgggtgtc tgggatgaag gtattattaa gtctacaatt gtagaagctg caaaagccat	1380
tttaggcggg caaccacca gggtagatca aaaaatgcgt ggaagtgtag ctgtgcctgg	1440
agtacctgtg gtiataacca gcaatgggtg cattactttt gttgtaagcg ggaacactac	1500
aacaactgta catgctaaag ccttaaaaga gcgcatggta aagttaaact ttactgtaag	1560
atgcagccct gacatggggt tactaacaga ggctgatgta caacagtggc ttacatgggtg	1620
taatgcacaa agctgggacc actatgaaaa ctgggcaata aactacactt ttgatttccc	1680
tggaattaat gcagatgccc tccaccaga cctccaaacc accccaattg tcacagacac	1740
cagtatcagc agcagtgggt gtgaaagctc tgaagaactc agtgaaagca gcttttttaa	1800
cctcatcacc ccaggcgctt ggaacactga aaccccgctc tctagtacgc ccatccccgg	1860
gaccagtcca ggagaatcat ctgtcggaag cccagtttcc tccgaagttg tagctgcac	1920

gtgggaagaa gccttctaca cacctttggc agaccagttt cgtgaactgt tagttggggt	1980
tgattatgtg tgggacggtg taaggggttt acctgtctgt tgtgtgcaac atattaacaa	2040
tagtggggga ggcttgggac ttgtcccca ttgcattaat gtaggggctt ggtataatgg	2100
atggaaattt cgagaattta cccagattt ggtgcgatgt agctgccatg tgggagcttc	2160
taatcccttt tctgtgctaa cctgcaaaaa atgtgcttac ctgtctggat tgcaaagctt	2220
tgtagattat gagtaaagaa agtggcaaat ggtgggaaag tgatgataaa ttgctaaag	2280
ctgtgtatca gcaatttgtg gaattttatg aaaaggttac tggaacagac ttagagctta	2340
ttcaaatatt aaaagatcat tataatattt ctttagataa tcccctagaa aacccatcct	2400
ctttgtttga cttagttgct cgtattaaaa ataaccttaa aaactctcca gacttatata	2460
gtcatcattt tcaaagtcac ggacagttaa ctgaccaccc ccatgcctta tcatccagta	2520
gcagtcacgc agaacctaga ggagaagatg cagtattatc tagtgaagac ttacacaagc	2580
ctgggcaagt tagcgtacaa ctaccggta ctaactatgt tgggcctggc aatgagctac	2640
aagctgggcc cccgcaaagt gctgttgaca gtgctgcaag gattcatgac tttaggtata	2700
gccaaactggc taagttagga ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc	2760
ttttaaaaa tataaaaaat gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta	2820
ctttaaaagg tgcagctgcc cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg	2880
cttacaacgc ctcaaaaaa tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca	2940
ctggtgcagg aggggggggc agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt	3000
ttagtgccaa ctctgtaact tgtacatttt ccagacaatt ttttaattcca tatgaccag	3060
agcaccatta taagtgttt tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg	3120

aggcaaaggt ttgcaccatt agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag	3180
attttaatgc tttaaattta tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt	3240
atggaagtat agtcctgat gctttaactg taaccataac agaaattgct gttaaggatg	3300
ttacggacaa aactggaggg ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca	3360
tgtagtaga ccatgaatat aagtacccat atgtgttagg gcaaggtaa gatactttag	3420
ccccagaact tcctatttgg gtatactttc cccctcaata cgcttactta acagtaggag	3480
atgttaacac acaaggaatt tctggagaca gcaaaaaatt ggcaagtga gaatcagcat	3540
tttatgtttt ggaacacagt tcttttcagc ttttaggtac aggaggtaca gcaactatgt	3600
cttataagtt tctccagtg cccccagaaa atttagaggg ctgcagtcaa cacttttatg	3660
aatgtacaa ccccttatac ggatcccgt taggggttcc tgacacatta ggaggtgacc	3720
caaaatttag atctttaaca catgaagacc atgcaattca gccccaaaac ttcattgccag	3780
ggccactagt aaactcagt tctacaaagg agggagacag ctctagtact ggagctggaa	3840
aagcctaac aggccttagc acaggtacct ctcaaacac tagaatatcc ttacgcctg	3900
ggccagtgtc tcagccgtac caccactggg acacagataa atatgtcaca ggaataaatg	3960
ccattttctca tggtcagacc acttatggta acgctgaaga caaagagtat cagcaaggag	4020
tgggtagatt tccaaatgaa aaagaacagc taaaacagtt acagggttta aacatgcaca	4080
cctactttcc caataaagga acccagcaat atacagatca aattgagcgc cccctaatgg	4140
tgggttctgt atggaacaga agagcccttc actatgaaag ccagctgtgg agtaaaattc	4200
caaatttaga tgacagtttt aaaactcagt ttgcagcctt aggaggatgg ggtttgcac	4260

agccacctcc tcaaatatit ttaaaaatat taccacaaag tgggccaatt ggaggtatta 4320

aatcaatggg aattactacc ttagttcagt atgccgtggg aattatgaca gtaacctga 4380

catttaaatt ggggccccgt aaagctacgg gacggtggaa tcttcaacct ggagtgtatc 4440

ccccgcacgc agcagggtcat ttaccataig tactatatga cccacagct acagatgcaa 4500

aacaacacca cagacatgga tatgaaaagc ctgaagaatt gtggacagcc aaaagccgtg 4560

tgcaccatt gtaaacactc cccaccgtgc cctcagccag gatgtgtaac taaacgcca 4620

ccagtaccac ccagactgta cctgccccct cctataccta taagacagcc taacacaa 4678

<210> 23
 <211> 4678
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: 4.7 kbp PCR fragment from parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 23
 cccgccttat gcaaatgggc agccatctta agtgttttac tataatttta ttggtcagtt 60

ttgtaacggt taaatgggc ggagcgtagg caaggactac agtatatata gcacagcact 120

gccgcagctc tttctttctg ggctgctttt ttcttgact tacttgctgt tttttgtgag 180

ctaactaaca ggtatttata ctacttgta acatactaac atggagctat ttagaggggt 240

gcttcaagtt tcttctaag ttctggactg tgctaacgat aactgggtgt gctctttact 300

ggatttagac acttctgact gggaaccact aactcact aacagactaa tggcaatata 360

cttaagcagt gtggcttcta agcttgactt tactgggggg ccactagcag ggtgcttgta 420

cttttttcaa gtagaatgta acaaatttga agaagctat catattcatg tggttattgg 480

ggggccaggg ttaaacccca gaaacctcac agtgtgtgta gaggggttat ttaataatgt	540
actttatcac ctigtactg aaaatctgaa gctaaaattt ttgccaggaa tgactacaaa	600
aggcaatac ttiagagatg gagagcagtt tatagaaaac tatttaatga aaaaaatacc	660
tttaaatgtt gtatgggtgtg ttactaatat tgatggacat atagatacct gtatttctgc	720
tacttttaga aaggagactt gccatgcca gaaacccgc atcaccacag ccataaatga	780
tactagtact gatgctgggg agtctagcgg cacaggggca gaggttgtgc catttaatgg	840
gaagggaact aaggctagca taaagtttca aactatggta aactggttgt gtgaaaacag	900
agtgtttaca gaggataagt ggaaactagt tgactttaac cagtacactt tactaagcag	960
tagtcacagt ggaagttttc aaattcaaag tgcactaaaa ctagcaattt ataaagcaac	1020
taatttagtg cctactagca catttttatt gcatacagac tttagcaag ttatgtgtat	1080
taaagacaat aaaattgtta aattgttact ttgtcaaac tatgaccccc tattagtggg	1140
gcagcatgtg ttaaagtgga ttgataaaaa atgtggcaag aaaaacacac tgtggtttta	1200
tggaccgcca agtacaggga aaacaaactt ggcaatggcc attgctaaaa gtgttccagt	1260
atatggcatg gttactgga ataataaaaa ctttcattt aatgatgtag caggaaaaag	1320
cttggtggtc tgggatgaag gtattattaa gtctacaatt gtagaagctg caaaagccat	1380
tttagcgagg caaccacca gggtagatca aaaaatgcgt ggaagtgtag ctgtgcctgg	1440
agtaccctg gttataacca gcaatggtga cattactttt gttgtaagcg ggaacactac	1500
aacaactgta catgctaaag ccttaaaaga gcgcatggta aagttaaact ttactgtaag	1560
atgcagccct gacatggggt tactaacaga ggcgatgta caacagtggc ttacatggtg	1620

taatgcacaa agctgggacc actatgaaaa ctgggcaata aactacactt ttgatttccc	1680
tggaattaat gcagatgccc tccaccaga cctccaaacc accccaattg tcacagacac	1740
cagtatcagc agcagtgggtg gtgaaagctc tgaagaactc agtgaaagca gcttttttaa	1800
cctcatcacc ccaggcgctt ggaacactga aaccccgccg tctagtacgc ccatccccgg	1860
gaccagttca ggagaatcat ctgtcgggaag cccagtttcc tccgaagtgt tagctgcatc	1920
gtgggaagaa gccttttaca cacctttggc agaccagttt cgtgaactgt tagttggggt	1980
tgattatgtg tgggacgggtg taaggggttt acctgtctgt tgtgtgcaac atattaacaa	2040
tagtggggga ggcttgggac ttgttcccca ttgcattaat gtaggggctt ggtataatgg	2100
atggaaattt cgagaattta cccagattt ggtgcgatgt agctgccatg tgggagcttc	2160
taatcccttt tctgtgctaa cctgcaaaaa atgtgcttac ctgtctggat tgcaaagctt	2220
tgtagattat gagttaaagaa agtggcaaat ggtgggaag tgatgataaa ttgtctaaag	2280
ctgtgtatca gcaatttgtg gaattttatg aaaaggttac tggaacagac ttagagctta	2340
ttcaaatatt aaaagatcat tataatattt ctttagataa tcccctagaa aacccatcct	2400
ctttgtttga cttagttgct cgtattaaaa ataaccttaa aaactctcca gacttatata	2460
gtcatcattt tcaaagtcac ggacagttat ctgaccaccc ccatgcctta tcatccagta	2520
gcagtcatgc agaacctaga ggagaagatg cagtattatc tagtgaagac ttacacaagc	2580
ctgggcaagt tagcgtacaa ctaccggta ctaactatgt tgggcctggc aatgagctac	2640
aagctgggcc cccgcaaagt gctgttgaca gtgctgcaag gattcatgac tttaggtata	2700
gccaaactggc taagttggga ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc	2760
ttttaaaaaa tataaaaaat gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta	2820

ctttaaagg tgcagctgcc cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg	2880
cttacaacgc ctcagaaaaa tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca	2940
ctggtgcagg aggggggggc agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt	3000
ttagtgccaa ctctgtaact tgtacatttt ccagacaatt ttttaattcca tatgaccag	3060
agcaccatta taagggtgtt tctcccgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg	3120
aggcaaaggt ttgcaccatt agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag	3180
attttaatgc tttaaattta tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt	3240
atggaagtat agctcctgat gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg	3300
ttacaaacaa aactggaggg ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca	3360
tgtagtaga ccatgaatat aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcaa gatactttag	3420
ccccagaact tctattttgg gtatactttc cccctcaata cgcttactta acagtaggag	3480
atgttaacac acaaggaatt tctggagaca gcaaaaaatt ggcaagtga gaatcagcat	3540
tttatgtttt ggaacacagt tcttttcagc ttttaggtac aggaggtaca gcaactatgt	3600
cttataagtt tcttccagtg cccccagaaa atttagaggg ctgcagtcaa cacttttatg	3660
aatgtacaa ccccttatag ggatcccgt taggggttcc tgacacatta ggaggtgacc	3720
caaaatttag atctttaaca catgaagacc atgcaattca gccccaaaac ttcattgccag	3780
ggccactagt aaactcagt tctacaaagg agggagacag ctctagtact ggagctggaa	3840
aagcctaac aggccttagc acaggtacct ctcaaacac tagaatatcc ttacgccctg	3900
ggccagtgtc tcagccgtac caccactggg acacagataa atatgtcaca ggaataaatg	3960

ccattttctca tggtcagacc acttatggta acgctgaaga caaagagtat cagcaaggag	4020
tgggtagatt tccaaatgaa aaagaacagc taaaacagtt acagggttta aacatgcaca	4080
cctactttcc caataaagga acccagcaat atacagatca aattgagcgc cccctaattg	4140
tgggttctgt atggaacaga agagcccttc actatgaaag ccagctgtgg agtaaaattc	4200
caaatttaga tgacagtttt aaaactcagt ttgcagcctt aggaggatgg ggtttgcatc	4260
agccacctcc tcaaatattt ttaaaaatat taccacaaag tgggccaatt ggaggtatta	4320
aatcaatggg aattactacc ttagttcagt atgccgtggg aattatgaca gtaacctga	4380
catttaaatt ggggccccgt aaagctacgg gacggtggaa tcctcaacct ggagtgtatc	4440
ccccgcagc agcaggtcat ttaccatatg tactatatga cccacagct acagatgcaa	4500
aacaacacca cagacatgga tatgaaaagc ctgaagaatt gtggacagcc aaaagccgtg	4560
tgcaccatt gtaaacactc cccaccgtgc cctcagccag gatgtgtaac taaacgcca	4620
ccagtaaccac ccagactgta cctgccccct cctataccta taagacagcc taacacaa	4678

<210> 24
 <211> 2049
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: NS1 from parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 24	
atactcttcg aacaaaacaa aatggagcta tttagagggg tgcttcaagt ttcttcta	60
gttctggact gtgctaacga taactggtgg tgctctttac tggatttaga cacttctgac	120
tgggaaccac taactcatac taacagacta atggcaatat acttaagcag tgttgcttct	180

aagcttgact ttactggggg gccactagca ggggtcttgt actttttca agtagaatgt	240
aacaaatttg aagaaggcta tcataattcat gtggttattg gggggccagg gttaaaccct	300
agaaacctca cagtgttgt agaggggtta ttttaaatg tactttatca ccttgtaact	360
gaaaatctga agctaaaatt ttgccagga atgactacaa aaggcaaata ctttagagat	420
ggagagcagt ttatagaaaa ctatttaatg aaaaaaac ctttaaatgt tgtatggtgt	480
gttactaata ttgatggaca tatagatacc tgtatttctg ctacttttag aaaggagct	540
tgccatgcca agaaaccccg catcaccaca gccataaatg atactagtac tgatgctggg	600
gagtctagcg gcacaggggc agaggttgtg ccatttaatg ggaagggaac taaggctagc	660
ataaagtttc aaactatggt aaactggttg tgtgaaaaca gagtgtttac agaggataag	720
tggaactag ttgactttaa ccagtacact ttactaagca gtagtcacag tggaagtttt	780
caaattcaaa gtgcactaaa actagcaatt tataaagcaa ctaatttagt gcctactagc	840
acatttttat tgcatacaga ctttgagcaa gttatgtgta ttaaaaacaa taaaattgtt	900
aaattgttac ttgtcaaaa ctatgacccc ctattagtgg ggcagcatgt gttaaagtgg	960
attgataaaa aatgtggcaa gaaaaacaca ctgtggtttt atgggccgcc aagtacaggg	1020
aaaacaaact tggcaatggc cattgctaaa agtgttccag tataatggcat ggtaactgg	1080
aataatgaaa actttccatt taatgatgta gcaggaaaaa gcttggtggt ctgggatgaa	1140
ggtattatta agtctacaat tgtagaagct gcaaaagcca ttttaggcgg gcaaccacc	1200
agggtagatc aaaaaatgcg tggaagtgtg gctgtgctg gactacctgt ggttataacc	1260
agcaatggtg acattacttt tgttgtaagc gggaacacta caacaactgt acatgctaaa	1320

gccttaaaag agcgcgatggt aaagttaaac ttactgttaa gatgcagccc tgacatgggg 1380

ttactaacag agcctgatgt acaacagtgg cttacatggt gtaatgcaca aagctgggac 1440

cactatgaaa acitgggcaat aaactacact ttgtatttcc ctggaattaa tgcagatgcc 1500

ctccaccag accccaac caccacaatt gtcacagaca ccagtatcag cagcagtgtt 1560

ggtgaaagct ctgaagaact cagtgaagc agctttttta acctcatcac cccaggcgcc 1620

tggaacactg aaaccccgcg ctctagtacg cccatccccg ggaccagttc aggagaatca 1680

tctgtcgga gcccagtttc ctccgaagt gtagtgcac cgtgggaaga agccttctac 1740

acacctttgg cagaccagtt tcgtgaactg ttagttgggg ttgattatgt gtgggacggt 1800

gtaaggggtt tacctgtctg ttgtgtgcaa catattaaca atagtggggg aggcttgga 1860

ctttgtcccc attgcattaa tgtaggggct tggataatg gatggaaatt tcgagaattt 1920

acccagatt tggcgcgatg tagctgcat gtgggagctt ctaatccctt ttctgtgcta 1980

acctgcaaaa aatgtgctta cctgtctgga ttgcaaagct ttgtagatta tgagtaagtc 2040

gacatactc 2049

<210> 25
 <211> 671
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: NS1 amino acid from
 parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 25
 Met Glu Leu Phe Arg Gly Val Leu Gln Val Ser Ser Asn Val Leu Asp
 1 5 10 15

Cys Ala Asn Asp Asn Trp Trp Cys Ser Leu Leu Asp Leu Asp Thr Ser

20	25	30
Asp Trp Glu Pro Leu Thr His Thr Asn Arg Leu Met Ala Ile Tyr Leu		
35	40	45
Ser Ser Val Ala Ser Lys Leu Asp Phe Thr Gly Gly Pro Leu Ala Gly		
50	55	60
Cys Leu Tyr Phe Phe Gln Val Glu Cys Asn Lys Phe Glu Glu Gly Tyr		
65	70	75 80
His Ile His Val Val Ile Gly Gly Pro Gly Leu Asn Pro Arg Asn Leu		
85	90	95
Thr Val Cys Val Glu Gly Leu Phe Asn Asn Val Leu Tyr His Leu Val		
100	105	110
Thr Glu Asn Leu Lys Leu Lys Phe Leu Pro Gly Met Thr Thr Lys Gly		
115	120	125
Lys Tyr Phe Arg Asp Gly Glu Gln Phe Ile Glu Asn Tyr Leu Met Lys		
130	135	140
Lys Ile Pro Leu Asn Val Val Trp Cys Val Thr Asn Ile Asp Gly His		
145	150	155 160
Ile Asp Thr Cys Ile Ser Ala Thr Phe Arg Lys Gly Ala Cys His Ala		
165	170	175
Lys Lys Pro Arg Ile Thr Thr Ala Ile Asn Asp Thr Ser Thr Asp Ala		
180	185	190
Gly Glu Ser Ser Gly Thr Gly Ala Glu Val Val Pro Phe Asn Gly Lys		
195	200	205
Gly Thr Lys Ala Ser Ile Lys Phe Gln Thr Met Val Asn Trp Leu Cys		
210	215	220
Glu Asn Arg Val Phe Thr Glu Asp Lys Trp Lys Leu Val Asp Phe Asn		
225	230	235 240
Gln Tyr Thr Leu Leu Ser Ser Ser His Ser Gly Ser Phe Gln Ile Gln		
245	250	255

Ser Ala Leu Lys Leu Ala Ile Tyr Lys Ala Thr Asn Leu Val Pro Thr
260 265 270

Ser Thr Phe Leu Leu His Thr Asp Phe Glu Gln Val Met Cys Ile Lys
275 280 285

Asn Asn Lys Ile Val Lys Leu Leu Leu Cys Gln Asn Tyr Asp Pro Leu
290 295 300

Leu Val Gly Gln His Val Leu Lys Trp Ile Asp Lys Lys Cys Gly Lys
305 310 315 320

Lys Asn Thr Leu Trp Phe Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Gly Lys Thr Asn
325 330 335

Leu Ala Met Ala Ile Ala Lys Ser Val Pro Val Tyr Gly Met Val Asn
340 345 350

Trp Asn Asn Glu Asn Phe Pro Phe Asn Asp Val Ala Gly Lys Ser Leu
355 360 365

Val Val Trp Asp Glu Gly Ile Ile Lys Ser Thr Ile Val Glu Ala Ala
370 375 380

Lys Ala Ile Leu Gly Gly Gln Pro Thr Arg Val Asp Gln Lys Met Arg
385 390 395 400

Gly Ser Val Ala Val Pro Gly Val Pro Val Val Ile Thr Ser Asn Gly
405 410 415

Asp Ile Thr Phe Val Val Ser Gly Asn Thr Thr Thr Thr Val His Ala
420 425 430

Lys Ala Leu Lys Glu Arg Met Val Lys Leu Asn Phe Thr Val Arg Cys
435 440 445

Ser Pro Asp Met Gly Leu Leu Thr Glu Ala Asp Val Gln Gln Trp Leu
450 455 460

Thr Trp Cys Asn Ala Gln Ser Trp Asp His Tyr Glu Asn Trp Ala Ile
465 470 475 480

Asn Tyr Thr Phe Asp Phe Pro Gly Ile Asn Ala Asp Ala Leu His Pro
485 490 495

Asp Leu Gln Thr Thr Pro Ile Val Thr Asp Thr Ser Ile Ser Ser Ser
500 505 510

Gly Gly Glu Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Ser Ser Phe Phe Asn Leu
515 520 525

Ile Thr Pro Gly Ala Trp Asn Thr Glu Thr Pro Arg Ser Ser Thr Pro
530 535 540

Ile Pro Gly Thr Ser Ser Gly Glu Ser Ser Val Gly Ser Pro Val Ser
545 550 555 560

Ser Glu Val Val Ala Ala Ser Trp Glu Glu Ala Phe Tyr Thr Pro Leu
565 570 575

Ala Asp Gln Phe Arg Glu Leu Leu Val Gly Val Asp Tyr Val Trp Asp
580 585 590

Gly Val Arg Gly Leu Pro Val Cys Cys Val Gln His Ile Asn Asn Ser
595 600 605

Gly Gly Gly Leu Gly Leu Cys Pro His Cys Ile Asn Val Gly Ala Trp
610 615 620

Tyr Asn Gly Trp Lys Phe Arg Glu Phe Thr Pro Asp Leu Val Arg Cys
625 630 635 640

Ser Cys His Val Gly Ala Ser Asn Pro Phe Ser Val Leu Thr Cys Lys
645 650 655

Lys Cys Ala Tyr Leu Ser Gly Leu Gln Ser Phe Val Asp Tyr Glu
660 665 670

<210> 26
<211> 2380
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VP1 from parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 26
atactcaagc ttacaaaaca aaatgagtaa agaaagtggc aaatggtggg aaagtgatga 60

taaatttgct aaagctgtgt atcagcaatt tgtggaattt tatgaaaagg ttactggaac 120

agacttagag cttattcaaa tattaaaaga tcattataat atttctttag ataatccct 180

agaaaacca tcctctttgt ttgacttagt tgctcgtatt aaaaataacc ttaaaaactc 240

tccagactta tatagtcac attttcaaag tcattggacag ttatctgacc acccccatgc 300

cttatcatcc agtagcagtc atgcagaacc tagaggagaa gatgcagtat tatctagtga 360

agacttacac aagcctgggc aagttagcgt acaactaccc ggtactaact atgttgggcc 420

tggcaatgag ctacaagctg ggccccgcga aagtgcgtgt gacagtgtg caaggattca 480

tgactttagg tatagccaac tggctaagtt gggaataaat ccatatactc attggactgt 540

agcagatgaa gagcttttaa aaaatataaa aaatgaaact gggtttcaag cacaagtagt 600

aaaagactac ttiactttaa aagggtgcagc tgcccctgtg gccattttc aaggaagttt 660

gccggaagtt cccgcttaca acgcctcaga aaaataccca agcatgactt cagttaattc 720

tgcagaagcc agcactggtg caggaggggg gggcagtaat cctgtgaaaa gcatgtggag 780

tgagggggcc acttttagtg ccaactctgt aacttgtaca tttccagac aatttttaat 840

tccatatgac ccagagcacc attataaggt gttttctccc gcagcaagta gctgccacaa 900

tgccagtgga aaggaggcaa aggtttgcac cattagtccc ataatgggat actcaacccc 960

atggagatat ttagatttta atgctttaaa tttatttttt tcacctttag agtttcagca 1020

cttaattgaa aattatggaa gtatagctcc tgatgcttta actgtaacca tatcagaaat 1080

tgctgttaag gatgttacgg acaaaactgg agggggggtg caggttactg acagcactac	1140
agggcgccta tgcatgttag tagaccatga atataagtac ccatatgtgt tagggcaagg	1200
tcaagatact ttagccccag aacttcctat ttgggtatac tttccccctc aatacgtta	1260
cttaacagta ggagatgtta acacacaagg aatttctgga gacagcaaaa aattggcaag	1320
tgaagaatca gcattttatg ttttgaaca cagttctttt cagcttttag gtacaggagg	1380
tacagcaact atgtcttata agtttctcc agtgcacca gaaaatttag agggctgcag	1440
tcaacacttt tatgaaatgt acaaccctt atacggatcc cgcttagggg ttcctgacac	1500
attaggaggt gacccaaaat ttagatcttt aacacatgaa gaccatgcaa ttcagcccca	1560
aaacttcatg ccagggccac tagtaaacctc agtgtctaca aaggaggag acagctctag	1620
tactggagct ggaaaagcct taacaggcct tagcacaggt acctctcaa acactagaat	1680
atccttacgc cctgggccag tgtctcagcc gtaccaccac tgggacacag ataaatatgt	1740
cacaggaata aatgccatit ctcatggtca gaccacttat ggtaacgctg aagacaaaga	1800
glatcagcaa ggagtgggta gatttccaaa tgaaaaagaa cagctaaaac agttacaggg	1860
tttaaacatg cacacctact ttcccaataa aggaaccag caatatacag atcaaattga	1920
gcgcccccta atggtgggtt ctgtatggaa cagaagagcc cttcactatg aaagccagct	1980
gtggagtaaa attccaaatt tagatgacag ttttaaaact cagtttgag ccttaggagg	2040
atggggtttg catcagccac ctctcaaatt attttataaa atattaccac aaagtgggcc	2100
aattggaggt attaaatcaa tgggaattac taccttagtt cagtatgccg tgggaattat	2160
gacagtaacc atgacattta aattggggcc ccgtaaagct acgggacggt ggaatcctca	2220
acctggagtg tatccccgc acgcagcagg tcatttacca tatgtactat atgacccac	2280

agctacagat gcaaaacaac accacagaca tggatatgaa aagcctgaag aattgtggac 2340

agccaaaagc cgtgtgcacc cattgtaagt cgacatactc 2380

<210> 27
<211> 781
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VP1 amino acid from parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 27
Met Ser Lys Glu Ser Gly Lys Trp Trp Glu Ser Asp Asp Lys Phe Ala
1 5 10 15

Lys Ala Val Tyr Gln Gln Phe Val Glu Phe Tyr Glu Lys Val Thr Gly
20 25 30

Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser
35 40 45

Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala
50 55 60

Arg Ile Lys Asn Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His
65 70 75 80

Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser
85 90 95

Ser Ser Ser His Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asp Ala Val Leu Ser Ser
100 105 110

Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Val Gln Leu Pro Gly Thr
115 120 125

Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Ser
130 135 140

Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu
145 150 155 160

Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu
165 170 175

Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Val
180 185 190

Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His
195 200 205

Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys
210 215 220

Tyr Pro Ser Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala
225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Val Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala
245 250 255

Thr Phe Ser Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu
260 265 270

Ile Pro Tyr Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala
275 280 285

Ser Ser Cys His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile
290 295 300

Ser Pro Ile Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn
305 310 315 320

Ala Leu Asn Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu
325 330 335

Asn Tyr Gly Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu
340 345 350

Ile Ala Val Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val
355 360 365

Thr Asp Ser Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr
370 375 380

Lys Tyr Pro Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu
385 390 395 400

Leu Pro Ile Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val
405 410 415

Gly Asp Val Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala
420 425 430

Ser Glu Glu Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Gln Leu
435 440 445

Leu Gly Thr Gly Gly Thr Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Pro Val
450 455 460

Pro Pro Glu Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr
465 470 475 480

Asn Pro Leu Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly
485 490 495

Asp Pro Lys Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro
500 505 510

Gln Asn Phe Met Pro Gly Pro Leu Val Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu
515 520 525

Gly Asp Ser Ser Ser Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser
530 535 540

Thr Gly Thr Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val
545 550 555 560

Ser Gln Pro Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile
565 570 575

Asn Ala Ile Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys
580 585 590

Glu Tyr Gln Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu
595 600 605

Lys Gln Leu Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly

610	615	620
Thr Gln Gln Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser		
625	630	635 640
Val Trp Asn Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys		
	645	650 655
Ile Pro Asn Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly		
	660	665 670
Gly Trp Gly Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu		
	675	680 685
Pro Gln Ser Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr		
	690	695 700
Leu Val Gln Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys		
	705	710 715 720
Leu Gly Pro Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val		
	725	730 735
Tyr Pro Pro His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro		
	740	745 750
Thr Ala Thr Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro		
	755	760 765
Glu Glu Leu Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu		
	770	775 780

<210> 28
 <211> 1699
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VP2 from parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 28
atactcaagc ttacaaaaca aaatgacttc agttaattct gcagaagcca gcaactggtgc 60
aggagggggg ggcagtaatc ctgtgaaaag catgtggagt gagggggcca ctttttagtgc 120
caactctgta acttgtacat tttccagaca atttttaatt ccatatgacc cagagcacca 180
ttataaggtg ttttctcccg cagcaagtag ctgccacaat gccagtggaa aggaggcaaa 240
ggtttgcacc attagtccca taatgggata ctcaacccca tggagatatt tagattttaa 300
tgctttaaat ttatTTTTT cacttttaga gtttcagcac ttaattgaaa attatggaag 360
tatagctcct gatgctttaa ctgtaacat atcagaaatt gctgttaagg atgttacgga 420
caaaactgga ggggggggtgc aggttactga cagcactaca gggcgccat gcatgttagt 480
agaccatgaa tataagtacc catatgtgtt agggcaaggt caagatactt tagccccaga 540
acttctatt tgggtatact ttccccctca atacgcttac ttaacagtag gagatgttaa 600
cacacaagga atttctggag acagcaaaaa attggcaagt gaagaatcag cattttatgt 660
tttggaaacac agttcttttc agcttttagg tacaggaggt acagcaacta tgtcttataa 720
gtttcctcca gtgccccag aaaattttaga gggtgcagt caacactttt atgaaatgta 780
caacccctta tacggatccc gcttaggggt tctgacaca ttaggagtg acccaaaatt 840
tagatcttta acacatgaag accatgcaat tcagcccaa aacttcatgc cagggccact 900
agtaaactca gtgtctacaa aggagggaga cagctctagt actggagctg gaaaagcctt 960
aacaggcctt agcacaggta cctctcaaaa cactagaata tccttacgcc ctgggccagt 1020
gtctcagccg taccaccact gggacacaga taaatatgtc acaggaataa atgccatttc 1080
tcatggtcag accacttatg gtaacgtga agacaaagag tatcagcaag gagtgggtag 1140

atttccaaat gaaaaagaac agctaaaaca gttacagggt ttaaacaatgc acacctactt 1200

tccaataaa ggaaccagc aatatacaga tcaaattgag cgccccctaa tgggtgggttc 1260

tgtatggaac agaagagccc ttactatga aagccagctg tggagtaaaa ttccaaattt 1320

agatgacagt tttaaaactc agtttgcagc cttaggagga tggggtttgc atcagccacc 1380

tcctcaaata tttttaaaaa tattaccaca aagtgggcca attggaggtta ttaaatcaat 1440

gggaattact accttagttc agtatgccgt gggaattatg acagtaacca tgacatttaa 1500

attggggccc cgtaaagcta cgggacggtg gaatcctcaa cctggagtgt atcccccgca 1560

cgcagcaggt catttaccat atgtactata tgacccca gctacagatg caaacaaca 1620

ccacagacat ggatatgaaa agcctgaaga attgtggaca gccaaaagcc gtgtgcaccc 1680

attgtaagtc gacatactc 1699

<210> 29
 <211> 554
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VP2 amino acid from parvovirus B19 clone 2-B1

<400> 29
 Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Ser Asn Pro Val Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala Thr Phe Ser
 20 25 30

Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu Ile Pro Tyr
 35 40 45

Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala Ser Ser Cys

50	55	60
His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile Ser Pro Ile		
65	70	75 80
Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn Ala Leu Asn		
	85	90 95
Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu Asn Tyr Gly		
	100	105 110
Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu Ile Ala Val		
	115	120 125
Lys Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val Thr Asp Ser		
	130	135 140
Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr Lys Tyr Pro		
	145	150 155 160
Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu Leu Pro Ile		
	165	170 175
Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val Gly Asp Val		
	180	185 190
Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala Ser Glu Glu		
	195	200 205
Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Gln Leu Leu Gly Thr		
	210	215 220
Gly Gly Thr Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Pro Val Pro Pro Glu		
	225	230 235 240
Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr Asn Pro Leu		
	245	250 255
Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly Asp Pro Lys		
	260	265 270
Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro Gln Asn Phe		
	275	280 285

Met Pro Gly Pro Leu Val Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu Gly Asp Ser
290 295 300

Ser Ser Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser Thr Gly Thr
305 310 315 320

Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val Ser Gln Pro
325 330 335

Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile Asn Ala Ile
340 345 350

Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys Glu Tyr Gln
355 360 365

Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu Lys Gln Leu
370 375 380

Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly Thr Gln Gln
385 390 395 400

Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser Val Trp Asn
405 410 415

Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys Ile Pro Asn
420 425 430

Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly Gly Trp Gly
435 440 445

Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu Pro Gln Ser
450 455 460

Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr Leu Val Gln
465 470 475 480

Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys Leu Gly Pro
485 490 495

Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val Tyr Pro Pro
500 505 510

His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro Thr Ala Thr
515 520 525

Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro Glu Glu Leu
530 535 540

Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu
545 550

<210> 30
<211> 2049
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: NS1 from parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 30
atactcttcg aacaaaacaa aatggagcta tttagagggg tgcttcaagt ttcttctaatt 60

gttctggact gtgctaacga taactgggtgg tgctctttac tggatttaga cacttctgac 120

tggaaccac taactcatal taacagacta atggcaatat acttaagcag tgtggcttct 180

aagcttgact ttactggggg gccactagca gggtgcttgt actttttca agtagaatgt 240

aacaaatttg aagaaggcta tcatattcat gtggttattg gggggccagg gttaaaccac 300

agaaacctca cagtgtgtgt agaggggtta ttaataatg tactttatca ctttgtaact 360

gaaaatctga agctaaaatt ttgcccagga atgactacaa aaggcaaata ctttagagat 420

ggagagcagt ttatagaaaa ctatttaattg aaaaaatac ctttaaatgt tgtatggtgt 480

gttactaata ttgatggaca tatagatacc tgtatttctg ctacttttag aaaggagct 540

tgccatgcca agaaaccccg catcaccaca gccataaatg atactagtag tgatgctggg 600

gagtctagcg gcacaggggc agaggttgtg ccatttaattg ggaagggaac taaggctagc 660

ataaagtttc aaactatggt aaactggttg tgtgaaaaca gagtgtttac agaggataag	720
tggaactag ttgactttaa ccagtacact ttactaagca gtagtcacag tggaagtttt	780
caaattcaaa gtgcactaaa actagcaatt tataaagcaa ctaatttagt gcctactagc	840
acatttttat tgcatacaga ctttgagcaa gttatgtgta ttaagacaa taaaattgtt	900
aaattgttac ttigtcaaaa ctatgacccc ctattagtgg ggcagcatgt gttaaagtg	960
attgataaaa aatgtggcaa gaaaaacaca ctgtggtttt atggaccgcc aagtacagg	1020
aaaacaaact tggcaatggc cattgctaaa agtgttccag tataatggcat ggtaactgg	1080
aataatgaaa actttccatt taatgatgta gcaggaaaaa gcttggtggt ctgggatgaa	1140
ggtattatta agtctacaat tgtagaagct gcaaaagcca ttttaggcgg gcaaccacc	1200
agggtagatc aaaaaatgcg tggaagtgtg gctgtgcctg gtagtaccgt ggttataacc	1260
agcaatggtg acattacttt tgttgaagc gggaacacta caacaactgt acatgctaaa	1320
gccttaaaag agcgcatggt aaagttaaac ttactgtaa gatgcagccc tgacatgggg	1380
ttactaacag aggtgatgt acaacagtgg ctacatggt gtaatgcaca aagctgggac	1440
cactatgaaa actgggcaat aaactacact ttgatttcc ctggaattaa tgcagatgcc	1500
ctccaccag acctccaaac caccctaatt gtcacagaca ccagatcag cagcagtgt	1560
ggtgaaagct ctgaagaact cagtgaagc agctttttta acctcatcac ccagcgcc	1620
tggaacactg aaaccccgcg ctctagtacg cccatccccg ggaccagttc aggagaatca	1680
tctgtcgga gcccagttc ctccgaagt gtagctgcat cgtgggaaga agccttctac	1740
acaccttgg cagaccagtt tctgaactg ttagttgggg ttgattatgt gtgggacggt	1800
gtaaggggtt tacctgtctg ttgtgtgcaa catattaaca atagtggggg aggccttgga	1860

ctttgtcccc attgcattaa tgtaggggct tggataatg gatggaaatt tcgagaattt 1920
 accccagatt tggtagcatg tagctgccat gtgggagctt ctaatccctt ttctgtgcta 1980
 acctgcaaaa aatgtgctta cctgtctgga ttgcaaagct ttgtagatta tgagtaagtc 2040
 gacatactc 2049

<210> 31
 <211> 671
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: NS1 amino acid from
 parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 31
 Met Glu Leu Phe Arg Gly Val Leu Gln Val Ser Ser Asn Val Leu Asp
 1 5 10 15

Cys Ala Asn Asp Asn Trp Trp Cys Ser Leu Leu Asp Leu Asp Thr Ser
 20 25 30

Asp Trp Glu Pro Leu Thr His Thr Asn Arg Leu Met Ala Ile Tyr Leu
 35 40 45

Ser Ser Val Ala Ser Lys Leu Asp Phe Thr Gly Gly Pro Leu Ala Gly
 50 55 60

Cys Leu Tyr Phe Phe Gln Val Glu Cys Asn Lys Phe Glu Glu Gly Tyr
 65 70 75 80

His Ile His Val Val Ile Gly Gly Pro Gly Leu Asn Pro Arg Asn Leu
 85 90 95

Thr Val Cys Val Glu Gly Leu Phe Asn Asn Val Leu Tyr His Leu Val
 100 105 110

Thr Glu Asn Leu Lys Leu Lys Phe Leu Pro Gly Met Thr Thr Lys Gly

115	120	125
Lys Tyr Phe Arg Asp Gly Glu Gln Phe Ile Glu Asn Tyr Leu Met Lys		
130	135	140
Lys Ile Pro Leu Asn Val Val Trp Cys Val Thr Asn Ile Asp Gly His		
145	150	155
		160
Ile Asp Thr Cys Ile Ser Ala Thr Phe Arg Lys Gly Ala Cys His Ala		
165	170	175
Lys Lys Pro Arg Ile Thr Thr Ala Ile Asn Asp Thr Ser Thr Asp Ala		
180	185	190
Gly Glu Ser Ser Gly Thr Gly Ala Glu Val Val Pro Phe Asn Gly Lys		
195	200	205
Gly Thr Lys Ala Ser Ile Lys Phe Gln Thr Met Val Asn Trp Leu Cys		
210	215	220
Glu Asn Arg Val Phe Thr Glu Asp Lys Trp Lys Leu Val Asp Phe Asn		
225	230	235
		240
Gln Tyr Thr Leu Leu Ser Ser Ser His Ser Gly Ser Phe Gln Ile Gln		
245	250	255
Ser Ala Leu Lys Leu Ala Ile Tyr Lys Ala Thr Asn Leu Val Pro Thr		
260	265	270
Ser Thr Phe Leu Leu His Thr Asp Phe Glu Gln Val Met Cys Ile Lys		
275	280	285
Asp Asn Lys Ile Val Lys Leu Leu Leu Cys Gln Asn Tyr Asp Pro Leu		
290	295	300
Leu Val Gly Gln His Val Leu Lys Trp Ile Asp Lys Lys Cys Gly Lys		
305	310	315
		320
Lys Asn Thr Leu Trp Phe Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Gly Lys Thr Asn		
325	330	335
Leu Ala Met Ala Ile Ala Lys Ser Val Pro Val Tyr Gly Met Val Asn		
340	345	350

Trp Asn Asn Glu Asn Phe Pro Phe Asn Asp Val Ala Gly Lys Ser Leu
355 360 365

Val Val Trp Asp Glu Gly Ile Ile Lys Ser Thr Ile Val Glu Ala Ala
370 375 380

Lys Ala Ile Leu Gly Gly Gln Pro Thr Arg Val Asp Gln Lys Met Arg
385 390 395 400

Gly Ser Val Ala Val Pro Gly Val Pro Val Val Ile Thr Ser Asn Gly
405 410 415

Asp Ile Thr Phe Val Val Ser Gly Asn Thr Thr Thr Thr Val His Ala
420 425 430

Lys Ala Leu Lys Glu Arg Met Val Lys Leu Asn Phe Thr Val Arg Cys
435 440 445

Ser Pro Asp Met Gly Leu Leu Thr Glu Ala Asp Val Gln Gln Trp Leu
450 455 460

Thr Trp Cys Asn Ala Gln Ser Trp Asp His Tyr Glu Asn Trp Ala Ile
465 470 475 480

Asn Tyr Thr Phe Asp Phe Pro Gly Ile Asn Ala Asp Ala Leu His Pro
485 490 495

Asp Leu Gln Thr Thr Pro Ile Val Thr Asp Thr Ser Ile Ser Ser Ser
500 505 510

Gly Gly Glu Ser Ser Glu Glu Leu Ser Glu Ser Ser Phe Phe Asn Leu
515 520 525

Ile Thr Pro Gly Ala Trp Asn Thr Glu Thr Pro Arg Ser Ser Thr Pro
530 535 540

Ile Pro Gly Thr Ser Ser Gly Glu Ser Ser Val Gly Ser Pro Val Ser
545 550 555 560

Ser Glu Val Val Ala Ala Ser Trp Glu Glu Ala Phe Tyr Thr Pro Leu
565 570 575

Ala Asp Gln Phe Arg Glu Leu Leu Val Gly Val Asp Tyr Val Trp Asp
580 585 590

Gly Val Arg Gly Leu Pro Val Cys Cys Val Gln His Ile Asn Asn Ser
595 600 605

Gly Gly Gly Leu Gly Leu Cys Pro His Cys Ile Asn Val Gly Ala Trp
610 615 620

Tyr Asn Gly Trp Lys Phe Arg Glu Phe Thr Pro Asp Leu Val Arg Cys
625 630 635 640

Ser Cys His Val Gly Ala Ser Asn Pro Phe Ser Val Leu Thr Cys Lys
645 650 655

Lys Cys Ala Tyr Leu Ser Gly Leu Gln Ser Phe Val Asp Tyr Glu
660 665 670

<210> 32
<211> 2380
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VP1 from parvovirus B19 clone
2-B6

<400> 32
atactcaagc ttacaaaaca aaatgagtaa agaaagtggc aaatggtggg aaagtgatga 60

taaatttgct aaagctgtgt atcagcaatt tgtggaattt tatgaaaagg ttactggaac 120

agacttagag cttattcaaa tattaaaaga tcattataat atttctttag ataatcccct 180

agaaaaccca tcctctttgt ttgacttagt tgctcgtatt aaaaataacc ttaaaaactc 240

tccagactta tatagtcatc attttcaaag tcatggacag ttatctgacc acccccatgc 300

cttatcatcc agtagcagtc atgcagaacc tagaggagaa gatgcagtat tatctagtga 360

agacttacac aagcctgggc aagttagcgt acaactaccc ggtactaact atgttgggcc 420

tggcaatgag ctacaagctg ggcccccgca aagtgcctgtt gacagtgcctg caaggattca	480
tgacttttagg tatagccaac tggctaagtt gggaataaat ccatatactc attggactgt	540
agcagatgaa gagcttttaa aaaatataaa aaatgaaact gggtttcaag cacaagtagt	600
aaaagactac ttactttta aagggtgcagc tgcccctgtg gcccattttc aaggaagttt	660
gccggaagtt cccgcttaca acgcctcaga aaaataccca agcatgactt cagttaattc	720
tgcagaagcc agcactgggtg caggagggggg gggcagtaat cctgtgaaaa gcatgtggag	780
tgagggggcc acttttagtg ccaactctgt aacttgtaca tttccagac aatttttaat	840
tccatatgac ccagagcacc attataaggt gttttctccc gcagcaagta gctgccacaa	900
tgccagtgga aaggaggcaa aggtttgcac cattagtccc ataatgggat actcaacccc	960
atggagatat ttagatttta atgctttaaa tttatttttt tcaccttttag agtttcagca	1020
cttaattgaa aattatggaa gtatagctcc tgatgcttta actgtaacca tatcagaaat	1080
tgctgttaag gatgttataa acaaaactgg aggggggggtg caggttactg acagcactac	1140
agggcgccta tgcatgttag tagaccatga atataagtac ccatatgtgt tagggcaagg	1200
tcaagatact ttagccccag aacttcctat ttgggtatac tttccccctc aatacgtta	1260
cttaacagta ggagatgtta acacacaagg aatttctgga gacagcaaaa aattggcaag	1320
tgaagaatca gcattttatg ttttgaaca cagttctttt cagcttttag gtacaggagg	1380
tacagcaact atgtcttata agtttctctc agtgccccca gaaaatttag agggtgcag	1440
tcaacacttt tatgaaatgt acaacccctt atacggatcc cgcttagggg ttcttgacac	1500
attaggaggt gacccaaaat ttagatcttt aacacatgaa gaccatgcaa ttcagcccca	1560

aaacttcatg ccagggccac tagtaaactc agtgtctaca aaggaggag acagctctag 1620

tactggagct ggaaaagcct taacaggcct tagcacaggt acctctcaaa aactagaat 1680

atccttacgc ccigggccag tgtctcagcc gtaccaccac tgggacacag ataaatatgt 1740

cacaggaata aatgccattt ctcatgggtca gaccattat ggtaacgctg aagacaaaga 1800

glatcagcaa ggagtgggta gatttccaaa tgaaaaagaa cagctaaaac agttacaggg 1860

tttaaacatg cacacctact ttccaataa aggaaccag caatatacag atcaaattga 1920

gcgcccccta atggtgggtt ctgtatggaa cagaagagcc cttcactatg aaagccagct 1980

gtggagtaaa attccaaatt tagatgacag ttttaaaact cagtttgag ccttaggagg 2040

atggggtttg catcagccac ctctcaaat attcttaaaa atattaccac aaagtgggcc 2100

aattggaggt attaaatcaa tgggaattac taccttagtt cagtatgccg tgggaattat 2160

gacagtaacc atgacattta aattggggcc ccgtaaagct acgggacggt ggaatcctca 2220

acctggagtg tatccccgc acgcagcagg tcatttacca tatgtactat atgacccac 2280

agctacagat gcaaaacaac accacagaca tggatatgaa aagcctgaag aattgtggac 2340

agccaaaagc cgtgtgcacc cattgtaagt cgacatactc 2380

<210> 33
 <211> 781
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VP1 amino acid from
 parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 33
 Met Ser Lys Glu Ser Gly Lys Trp Trp Glu Ser Asp Asp Lys Phe Ala

1	5	10	15
Lys Ala Val Tyr Gln Gln Phe Val Glu Phe Tyr Glu Lys Val Thr Gly	20	25	30
Thr Asp Leu Glu Leu Ile Gln Ile Leu Lys Asp His Tyr Asn Ile Ser	35	40	45
Leu Asp Asn Pro Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Phe Asp Leu Val Ala	50	55	60
Arg Ile Lys Asn Asn Leu Lys Asn Ser Pro Asp Leu Tyr Ser His His	65	70	75
Phe Gln Ser His Gly Gln Leu Ser Asp His Pro His Ala Leu Ser Ser	85	90	95
Ser Ser Ser His Ala Glu Pro Arg Gly Glu Asp Ala Val Leu Ser Ser	100	105	110
Glu Asp Leu His Lys Pro Gly Gln Val Ser Val Gln Leu Pro Gly Thr	115	120	125
Asn Tyr Val Gly Pro Gly Asn Glu Leu Gln Ala Gly Pro Pro Gln Ser	130	135	140
Ala Val Asp Ser Ala Ala Arg Ile His Asp Phe Arg Tyr Ser Gln Leu	145	150	155
Ala Lys Leu Gly Ile Asn Pro Tyr Thr His Trp Thr Val Ala Asp Glu	165	170	175
Glu Leu Leu Lys Asn Ile Lys Asn Glu Thr Gly Phe Gln Ala Gln Val	180	185	190
Val Lys Asp Tyr Phe Thr Leu Lys Gly Ala Ala Ala Pro Val Ala His	195	200	205
Phe Gln Gly Ser Leu Pro Glu Val Pro Ala Tyr Asn Ala Ser Glu Lys	210	215	220
Tyr Pro Ser Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala	225	230	235
			240

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Val Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala
245 250 255

Thr Phe Ser Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu
260 265 270

Ile Pro Tyr Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala
275 280 285

Ser Ser Cys His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile
290 295 300

Ser Pro Ile Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn
305 310 315 320

Ala Leu Asn Leu Phe Glu Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu
325 330 335

Asn Tyr Gly Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu
340 345 350

Ile Ala Val Lys Asp Val Thr Asn Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val
355 360 365

Thr Asp Ser Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr
370 375 380

Lys Tyr Pro Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu
385 390 395 400

Leu Pro Ile Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val
405 410 415

Gly Asp Val Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala
420 425 430

Ser Glu Glu Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Gln Leu
435 440 445

Leu Gly Thr Gly Gly Thr Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Pro Val
450 455 460

Pro Pro Glu Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr
465 470 475 480

Asn Pro Leu Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly
485 490 495

Asp Pro Lys Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro
500 505 510

Gln Asn Phe Met Pro Gly Pro Leu Val Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu
515 520 525

Gly Asp Ser Ser Ser Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser
530 535 540

Thr Gly Thr Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val
545 550 555 560

Ser Gln Pro Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile
565 570 575

Asn Ala Ile Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys
580 585 590

Glu Tyr Gln Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu
595 600 605

Lys Gln Leu Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly
610 615 620

Thr Gln Gln Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser
625 630 635 640

Val Trp Asn Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys
645 650 655

Ile Pro Asn Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly
660 665 670

Gly Trp Gly Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu
675 680 685

Pro Gln Ser Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr
690 695 700

Leu Val Gln Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys

705	710	715	720
Leu Gly Pro Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val			
	725	730	735
Tyr Pro Pro His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro			
	740	745	750
Thr Ala Thr Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro			
	755	760	765
Glu Glu Leu Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu			
	770	775	780

<210> 34
 <211> 1699
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VP2 from parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 34	
atactcaagc ttacaaaaca aaatgacttc agttaattct gcagaagcca gcactggtgc	60
aggagggggg ggcagtaatc ctgtgaaaag catgtggagt gagggggcca cttttagtgc	120
caactctgta acttgtacat tttccagaca atttttaatt ccatatgacc cagagcacca	180
ttataaggtg ttttctcccg cagcaagtag ctgccacaat gccagtggaa aggaggcaaa	240
ggtttgcacc attagtccca taatgggata ctcaacccca tggagatatt tagattttaa	300
tgctttaaat ttatTTTTTT caccTTtaga gtttcagcac ttaattgaaa attatggaag	360
tatagctcct gatgctttaa ctgtaacat atcagaaatt gctgttaagg atgttataaa	420
caaaactgga gggggggtgc aggttactga cagcactaca gggcgctat gcatgttagt	480

agaccatgaa tataagtacc catatgtgtt agggcaaggt caagatactt tagccccaga	540
acttcctatt tgggtatact tccccctca atacgcttac ttaacagtag gagatgttaa	600
cacacaagga atttctggag acagcaaaaa attggcaagt gaagaatcag cattttatgt	660
tttggaaacac agttcttttc agcttttagg tacaggaggt acagcaacta tgtcttataa	720
gtttcctcca gtgccccag aaaatttaga gggctgcagt caacactttt atgaaatgta	780
caaccctta tacggatccc gcttaggggt tcctgacaca ttaggaggtg acccaaaatt	840
tagatcttta acacatgaag accatgcaat tcagcccaa aacttcatgc cagggccact	900
agtaaactca gtgtctacaa aggagggaga cagctctagt actggagctg gaaaagcctt	960
aacaggcctt agcacaggt aacttcaaaa cactagaata tccttacgcc ctgggccagt	1020
gtctcagccg taccaccact gggacacaga taaatatgtc acaggaataa atgccatttc	1080
tcattgtcag accacttatg gtaacgtga agacaaagag tatcagcaag gagtgggtag	1140
atttccaaat gaaaaagaac agctaaaaca gttacagggt ttaaacatgc acacctactt	1200
tccaataaa ggaaccagc aataacaga tcaaattgag cgccccctaa tgggtgggttc	1260
tgtatggaac agaagagccc ttcactatga aagccagctg tggagtataa ttccaaattt	1320
agatgacagt tttaaaactc agtttgcagc cttaggagga tggggtttgc atcagccacc	1380
tcctcaataa tttttaaaaa tattaccaca aagtgggcca attggaggt aataatcaat	1440
gggaattact accttagttc agtatgccgt gggaattatg acagtaacca tgacatttaa	1500
attggggccc cgtaaagcta cgggacggtg gaatcctcaa cctggagtgt atccccgca	1560
cgcagcaggt catttaccat atgtactata tgacccaca gctacagatg caaaacaaca	1620

ccacagacat ggatatgaaa agcctgaaga attgtggaca gccaaaagcc gtgtgcaccc 1680

attgtaagtc gacatactc 1699

<210> 35
<211> 554
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VP2 amino acid from parvovirus B19 clone 2-B6

<400> 35
Met Thr Ser Val Asn Ser Ala Glu Ala Ser Thr Gly Ala Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser Asn Pro Val Lys Ser Met Trp Ser Glu Gly Ala Thr Phe Ser
20 25 30

Ala Asn Ser Val Thr Cys Thr Phe Ser Arg Gln Phe Leu Ile Pro Tyr
35 40 45

Asp Pro Glu His His Tyr Lys Val Phe Ser Pro Ala Ala Ser Ser Cys
50 55 60

His Asn Ala Ser Gly Lys Glu Ala Lys Val Cys Thr Ile Ser Pro Ile
65 70 75 80

Met Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Arg Tyr Leu Asp Phe Asn Ala Leu Asn
85 90 95

Leu Phe Phe Ser Pro Leu Glu Phe Gln His Leu Ile Glu Asn Tyr Gly
100 105 110

Ser Ile Ala Pro Asp Ala Leu Thr Val Thr Ile Ser Glu Ile Ala Val
115 120 125

Lys Asp Val Thr Asn Lys Thr Gly Gly Gly Val Gln Val Thr Asp Ser
130 135 140

Thr Thr Gly Arg Leu Cys Met Leu Val Asp His Glu Tyr Lys Tyr Pro

145	150	155	160
Tyr Val Leu Gly Gln Gly Gln Asp Thr Leu Ala Pro Glu Leu Pro Ile	165	170	175
Trp Val Tyr Phe Pro Pro Gln Tyr Ala Tyr Leu Thr Val Gly Asp Val	180	185	190
Asn Thr Gln Gly Ile Ser Gly Asp Ser Lys Lys Leu Ala Ser Glu Glu	195	200	205
Ser Ala Phe Tyr Val Leu Glu His Ser Ser Phe Gln Leu Leu Gly Thr	210	215	220
Gly Gly Thr Ala Thr Met Ser Tyr Lys Phe Pro Pro Val Pro Pro Glu	225	230	235
Asn Leu Glu Gly Cys Ser Gln His Phe Tyr Glu Met Tyr Asn Pro Leu	245	250	255
Tyr Gly Ser Arg Leu Gly Val Pro Asp Thr Leu Gly Gly Asp Pro Lys	260	265	270
Phe Arg Ser Leu Thr His Glu Asp His Ala Ile Gln Pro Gln Asn Phe	275	280	285
Met Pro Gly Pro Leu Val Asn Ser Val Ser Thr Lys Glu Gly Asp Ser	290	295	300
Ser Ser Thr Gly Ala Gly Lys Ala Leu Thr Gly Leu Ser Thr Gly Thr	305	310	315
Ser Gln Asn Thr Arg Ile Ser Leu Arg Pro Gly Pro Val Ser Gln Pro	325	330	335
Tyr His His Trp Asp Thr Asp Lys Tyr Val Thr Gly Ile Asn Ala Ile	340	345	350
Ser His Gly Gln Thr Thr Tyr Gly Asn Ala Glu Asp Lys Glu Tyr Gln	355	360	365
Gln Gly Val Gly Arg Phe Pro Asn Glu Lys Glu Gln Leu Lys Gln Leu	370	375	380

Gln Gly Leu Asn Met His Thr Tyr Phe Pro Asn Lys Gly Thr Gln Gln
385 390 395 400

Tyr Thr Asp Gln Ile Glu Arg Pro Leu Met Val Gly Ser Val Trp Asn
405 410 415

Arg Arg Ala Leu His Tyr Glu Ser Gln Leu Trp Ser Lys Ile Pro Asn
420 425 430

Leu Asp Asp Ser Phe Lys Thr Gln Phe Ala Ala Leu Gly Gly Trp Gly
435 440 445

Leu His Gln Pro Pro Pro Gln Ile Phe Leu Lys Ile Leu Pro Gln Ser
450 455 460

Gly Pro Ile Gly Gly Ile Lys Ser Met Gly Ile Thr Thr Leu Val Gln
465 470 475 480

Tyr Ala Val Gly Ile Met Thr Val Thr Met Thr Phe Lys Leu Gly Pro
485 490 495

Arg Lys Ala Thr Gly Arg Trp Asn Pro Gln Pro Gly Val Tyr Pro Pro
500 505 510

His Ala Ala Gly His Leu Pro Tyr Val Leu Tyr Asp Pro Thr Ala Thr
515 520 525

Asp Ala Lys Gln His His Arg His Gly Tyr Glu Lys Pro Glu Glu Leu
530 535 540

Trp Thr Ala Lys Ser Arg Val His Pro Leu
545 550

<210> 36
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer VP-5

<400> 36

aggaagtttg ccggaagttc 20

<210> 37
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VP-3

<400> 37
 gtgctgaaac tctaaagtg 20

<210> 38
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VP2-5

<400> 38
 gacatggata tgaaaagcct gaag 24

<210> 39
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VP2-3

<400> 39
 gttgttcata tctggttaag tact 24

<210> 40
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer K-1sp

<400> 40

ataaatccat atactcatt

19

<210> 41

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer K-2sp

<400> 41

ctaaagtatc ctgaccttg

19

<210> 42

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer Hicks-5

<400> 42

cccgcttat gcaaattgggc ag

22

<210> 43

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer Hicks-3

<400> 43

ttgtgttagg ctgtcttata gg 22

<210> 44
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer NS1-5

<400> 44
atactctcta gacaaaacaa aatggagcta tttagagggg tgcttcaagt ttct 54

<210> 45
<211> 48
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer NS1-3

<400> 45
gagtatgtcg acttactcat aatctacaaa gctttgcaat ccagacag 48

<210> 46
<211> 55
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer VP1-5SN

<400> 46
atactcaagc ttacaaaaca aaatgagtaa agaaagtggc aaatgggtggg aaagt 55

<210> 47
<211> 51
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VPALL-3

<400> 47
 gagtatgtcg acttacaatg ggtgcacacg gcttttggct gtccacaatt c 51

<210> 48
 <211> 55
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VP2-5SN

<400> 48
 atactcaagc ttacaaaaca aaatgacttc agttaattct gcagaagcca gcact 55

<210> 49
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VSPC1

<400> 49
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa atccttaaca gcaatttctg ata 43

<210> 50
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: VSPC2

<400> 50

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa cgccctgtag tgtgtcag 39

<210> 51
<211> 42
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VSPC3

<400> 51
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa tatacccaaa taggaagttc tg 42

<210> 52
<211> 43
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VSPC4

<400> 52
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa taaatgctg attcttact tgc 43

<210> 53
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: VSPC5

<400> 53
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa tgctgtacct cctgtaccta 40

<210> 54
<211> 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: VSPC6

<400> 54

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa agccctctaa attttctggg

40

<210> 55

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: VSPC7

<400> 55

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctctaatgt gtcaggaacc

40

<210> 56

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer VSA1

<400> 56

aattctaata cgactcacta tagggagaag gccatatact cattggactg t

51

<210> 57

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer VSA2

<400> 57

aattctaata cgactcacta tagggagaag gccagagcac cattataa 48

<210> 58
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VSA3

<400> 58
 aattctaata cgactcacta tagggagaag gcacaatgcc agtggaaa 48

<210> 59
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VSP2

<400> 59
 gtgctgaaac tctaaaggt 19

<210> 60
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer VSP1

<400> 60
 ggaggcaaag gtttgca 17

<210> 61
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer VSPPR1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)
<223> where 'c' is modified 5' with fluorescein phosphoramidite

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)
<223> where 't' is modified 3' with DABCYL

<400> 61
cccatggaga tathtagatt 20

<210> 62
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate CH80-1

<400> 62
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggggggc 240

agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa cttctgtaact 300

tgtacatfff ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaatttg	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcattta attgaaaact atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatatc agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg	600
ggagtacaag ttactgacag cactaccggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatac	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 63
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate CH81-3

<400> 63 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg ttaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt	360
tcgcccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatacttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcattta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 64
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL1-4

<400> 64
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact 300

tgtacatttt ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag atttaaatgc tttaaattha 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 65
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL2-1

<400> 65
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60
 gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120
 cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180
 tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggggggc 240
 agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300
 tgtacatfff ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360
 tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420
 agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480
 tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540
 gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600
 ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660
 aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 66
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL3-1

<400> 66

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
ctgttgccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa cttgtgaact	300
tgtacatfff ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 67

<211> 700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL4-3

<400> 67

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
---	----

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgtgaact 300

tgtacat ttt ccagacaatt ttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaagg ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggc cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtag gatactttag 700

<210> 68
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL5-2

<400> 68
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 69
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL6-2

<400> 69
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 70
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL7-3

<400> 70
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact 300

tgtacatttt ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt 360

tctcccgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 71
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL8-2

<400> 71
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgtgaact 300

tgtacatttt ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag gttttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatatac agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 72
<211> 700

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL9-1

<400> 72
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcaat taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacatfff ccagacagtt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagtgtttt 360

tctccgcag ccagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgttagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 73
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL9-9

<400> 73
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact 300

tgtacathtt ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtgtt 360

tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 74
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL10-2

<400> 74
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaagg ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 75
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL11-1

<400> 75	
ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact	300

tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttat	700

<210> 76
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL12-1

<400> 76 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tcaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgtgact	300
tgtacatfff ccagacagtt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtccgataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacagacaa aactggaggg	600
ggggtgcaag ttactgacag cagtacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatac	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 77
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL13-3

<400> 77 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtgcatttt ccagacaatt tttaattcca tatgaccag agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcaccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 78
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL14-1

<400> 78
ataaatccat atactcattg gactgttagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa cttctgtaact 300

tgtacatfff ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 79
<211> 700
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL15-3

<400> 79

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgttaact 300

tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 80

<211> 700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL16-2

<400> 80

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaatcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatatt agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttat	700

<210> 81
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL17-1

<400> 81	
ataaatccat atacttattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaatcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaagg ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aacccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 82
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL18-1

<400> 82 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaatcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt	360

tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatatc agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgctatgca tgtagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 83
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL19-1

<400> 83 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcaaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact	300
tgtacatfff ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taaggtgttt	360
tctccgcgag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt	420
agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540

gctttaactg taaccataatc agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 84
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL20-3

<400> 84
 ataatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctctgtaact 300

tgtacatttt ccagacaatt tttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccataatc agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 85
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL21-3

<400> 85
 ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat 60
 gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120
 cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180
 tacccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg agggggggggc 240
 agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa cttctgtaact 300
 tgtacatfff ccagacaatt ttttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtttt 360
 tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420
 agtcccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag attttaatgc tttaaattta 480
 tttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540
 gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600
 ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatat 660
 aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag 700

<210> 86
 <211> 700
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL22-11

<400> 86

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc	120
ctgttgccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa	180
taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcggg aggggggggc	240
agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgccaa ctcgtgaact	300
tgtacatfff ccagacaatt ttaattcca tatgaccagc agcaccatta taagggtfff	360
tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaagg ttgcaccatt	420
agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatttag atttaatgc tttaaattta	480
ttttttcac ctttagagtt tcagcactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat	540
gctttaactg taaccatata agaaattgct gtttaaggatg ttacggacaa aactggaggg	600
ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgttagtaga ccatgaatat	660
aagtacccat atgtgttagg gcaaggtcag gatactttag	700

<210> 87

<211> 700

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: isolate B19SCL2-14

<400> 87

ataaatccat atactcattg gactgtagca gatgaagagc ttttaaaaaa tataaaaaat	60
---	----

gaaactgggt ttcaagcaca agtagtaaaa gactacttta ctttaaaagg tgcagctgcc 120

cctgtggccc attttcaagg aagtttgccg gaagttcccg cttacaacgc ctcagaaaaa 180

taccaagca tgacttcagt taattctgca gaagccagca ctggtgcagg aggggggggc 240

agtaatcctg tgaaaagcat gtggagttag ggggccactt ttagtgcaa ctcgtgaact 300

tgtacatttt ccagacaatt ttaattcca tatgaccag agcaccatta taagggtttt 360

tctccgcag caagtagctg ccacaatgcc agtggaaagg aggcaaaggt ttgcaccatt 420

agtccataa tgggatactc aaccccatgg agatatctag attttaatgc tttaaattta 480

ttttttcac ctttagagtt tcagactta attgaaaatt atggaagtat agctcctgat 540

gctttaactg taaccatata agaaattgct gttaaggatg ttacggacaa aactggaggg 600

ggggtgcagg ttactgacag cactacaggg cgcctatgca tgtagtaga ccatgaatat 660

aagtacccat atgtgttagg gcaaggtag gatactttag 700

<210> 88
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: primer Vpara 8

<400> 88
 tccatatgac ccagagcacc a 21

<210> 89
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223>	Description of Artificial Sequence: primer Vpara 9	
<400>	89	
	tttcactgg cattgtggc	19
<210>	90	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Description of Artificial Sequence: substitute sequence in the internal control	
<400>	90	
	agctagacct gcatgtcact g	21
<210>	91	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Description of Artificial Sequence: target sequence	
<400>	91	
	ctacttgctg cgggagaaaa acacct	26
<210>	92	
<211>	681	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Description of Artificial Sequence: internal control	
<400>	92	
	gaattcatt gtacatttc cagacaattt ttaattccat atgaccaga gcaccattat	60

acagtacat gcaggtctag ctctgccaca atgccagtgg aaaggaggca aaggtttgca 120

ccattagtcc cataatggga tactcaaccc catggagata tttagatttt aatgctttaa 180

atttatTTTT ttcaccttta gagtttcagc acttaattga aaattatgga agtatagctc 240

ctgatgcttt aactgtaacc atatcagaaa ttgctgttaa ggatgtttacg gacaaaactg 300

gaggggggggt gcaggttact gacagcacta cagggcgctt atgcatgtta gtagaccatg 360

aatataagta cccatatgtg ttagggcaag gtcaagatac tttagcccca gaacttccta 420

tttgggtata ctttccccct caatacgctt acttaacagt aggagatgtt aacacacaag 480

gaatttctgg agacagcaaa aaattggcaa gtgaagaatc agcattttat gttttggaac 540

acagttcttt tcagctttta ggtacaggag gtacagcaac tatgtcttat aagtttcctc 600

cagtgtcccc agaaaattta gagggctgca gtcaacactt ttatgaaatg tacaaccctt 660

tatacggatc ccgtgtcga c 681

<210> 93
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: probe Vpara10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)
 <223> where 'n' is Fam and 'z' is Tamra

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27)
 <223> where 'n' is Tamra

<400> 93
ntaagggtgtt ttctcccgca gcgagtn

27