

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成19年8月9日(2007.8.9)

【公表番号】特表2007-505163(P2007-505163A)
 【公表日】平成19年3月8日(2007.3.8)
 【年通号数】公開・登録公報2007-009
 【出願番号】特願2006-533504(P2006-533504)
 【国際特許分類】

C 0 7 K 14/165 (2006.01)
A 0 1 K 67/027 (2006.01)
G 0 1 N 33/50 (2006.01)
G 0 1 N 33/15 (2006.01)
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 14/165 Z N A
 A 0 1 K 67/027
 G 0 1 N 33/50 Z
 G 0 1 N 33/15 Z
 C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成19年5月25日(2007.5.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

蛍光タンパク質と結合した標識コロナウイルスタンパク質もしくはその断片。

【請求項2】

タンパク質が構造タンパク質もしくは非構造タンパク質である、請求項1に記載の標識コロナウイルスタンパク質。

【請求項3】

構造タンパク質が、ヌクレオカプシドリン酸化タンパク質、スパイク糖タンパク質、膜糖タンパク質、スモールエンベロープタンパク質もしくは血球凝集素-エステラーゼ糖タンパク質からなる一群から選択される、請求項2に記載の標識コロナウイルスタンパク質。

【請求項4】

構造タンパク質が、SARSスパイク糖タンパク質である、請求項2に記載の標識コロナウイルスタンパク質。

【請求項5】

構造タンパク質が、SARSスモールエンベロープタンパク質である、請求項2に記載の標識コロナウイルスタンパク質。

【請求項6】

構造タンパク質が、SARSマトリックスタンパク質である、請求項2に記載の標識コロナウイルスタンパク質。

【請求項7】

蛍光タンパク質が緑色もしくは赤色タンパク質である、請求項1に記載の標識コロナウ

イルスタンパク質。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 つに記載の標識コロナウイルスタンパク質をコードしているコロナウイルスを含んでなる感染の、画像解析可能な動物モデル。

【請求項 9】

蛍光タンパク質を発現する宿主である、請求項 8 に記載の画像解析可能な動物モデル。

【請求項 10】

動物モデルがトランスジェニック緑色蛍光タンパク質発現マウスを含んでなる、請求項 9 に記載の画像解析可能な動物モデル。

【請求項 11】

抗ウイルス薬をスクリーニングする方法であって、
 テスト群の動物および対照群の動物を提供すること（ここで、各群の動物は請求項 8 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の動物モデルを含んでなる）；
 テスト群に抗ウイルス薬候補を投与すること；
 テスト群および対照群によって生じる蛍光発光をモニターすること；
 テスト群によって生じる蛍光発光を対照群と比較すること；および
 対照群と比較してテスト群で蛍光を減少させる抗ウイルス薬候補を選択すること、
 を含んでなる前記方法。

【請求項 12】

有効な抗ウイルス性ワクチンをスクリーニングする方法であって、
 テスト群の動物および対照群の動物を提供すること（ここで、各群の動物は請求項 8 ~ 10 のいずれか 1 つに記載の動物モデルを含んでなる）；
 テスト群に抗ウイルス性ワクチン候補を投与すること；
 テスト群および対照群によって生じる蛍光発光をモニターすること；
 テスト群によって生じる蛍光発光を対照群と比較すること；および
 対照群と比較してテスト群で蛍光を減少させる抗ウイルス性ワクチン候補を選択すること、
 を含んでなる前記方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

Cornelis および共同研究者らは、研究用にマウスコロナウイルスモデルを利用した。このウイルスの配列は当業者によく知られている。ヒトSARSウイルスの少なくとも 1 つの変異体が配列決定された (Marra, M.A., et al., "The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus" Science 300 (5624), 1399-1404 (2003))。この配列は公開され、アクセッション：NC 004718として入手可能である。このSARS変異体のゲノム配列は本明細書において、表 1 の配列番号 1として与えられる。

【表 1】

(配列番号 1)

```

1  atattagggtt  tttacctacc  caggaaaagc  caaccaacct  cgatctcttg  tagatctggt
61  ctctaaacga  actttaaaat  ctgtgtagct  gtcgctcggc  tgcatgccta  gtgcacctac
121  gcagtataaa  caataataaa  ttttactgtc  gttgacaaga  aacgagtaac  togtccctct
181  tctgcagact  gcttacgggt  togtccgtgt  tgcagtcgat  catcagcata  cctagggtttc
241  gtccgggtgt  gaccgaaagg  taagatggag  agccttggtc  ttggtgtcaa  cgagaaaaca
301  cacgtccaac  tcagtttgcc  tgtccttcag  gttagagacg  tgctagtgcg  tggcttcggg

```

361 gactctgtgg aagaggccct atcggaggca cgtgaacacc tcaaaaatgg cacttgtggg
421 ctagtagagc tggaaaaagg cgtactgccc cagcctgaac agccctatgt gttcattaaa
481 cgttctgatg ccttaagcac caatcacggc cacaaggctg ttgagctggg tcgagaaatg
541 gacggcattc agtacggctg tagcggata acactgggag tactcgtgcc acatgtgggc
601 gaaaccccaa ttgcataccg caatgttctt ctctgtaaga acggtaataa gggagccggg
661 ggtcatagct atggcatcga tctaaagtct tatgacttag gtgacgagct tggcactgat
721 cccattgaag attatgaaca aaactggaac actaagcatg gcagtgggtg actccgtgaa
781 ctcaactcgtg agctcaatgg aggtgcagtc actcgtctatg tcgacaacaa ttctctgtggc
841 ccagatgggt accctcttga ttgcatcaa gattttctcg cacgcgcggg caagtcaatg
901 tgcactcttt ccgaacaact tgattacatc gagtccaaga gagggtgtcta ctgctgccgt
961 gaccatgagc atgaaattgc ctggttcact gagcgcctcg ataagagcta cgagaccag
1021 acacccttcg aaattaagag tgccaagaaa ttgacactt tcaaagggga atgcccaaag
1081 tttgtgtttc ctcttaactc aaaagtcaaa gtcattcaac cacgtgttga aaagaaaaag
1141 actgagggtt tcatggggcg tatacgctct gtgtaccctg ttgcatctcc acaggagtgt
1201 aacaatatgc acttgtctac cttgatgaaa tgtaatcatt gcgatgaagt tcatggcag
1261 acgtgcgact ttctgaaagc cacttgtgaa cattgtggca ctgaaaatth agttattgaa
1321 ggacctacta cagtgggta cctacctact aatgctgtag tgaaaatgcc atgtcctgcc
1381 tgtcaagacc cagagattgg acctgagcat agtgttgcag attatcacia ccactcaaac
1441 attgaaactc gactccgcaa gggaggtagg actagatggt ttggaggctg tgtgtttgcc
1501 tatgttggct gctataataa gcgtgcctac tgggttcttc gtgctagtgc tgatattggc
1561 tcaggccata ctggcattac tggtgacaat gtggagacct tgaatgagga tctccttgag
1621 ataactgagtc gtgaacgtgt taacattaac attgttggcg attttctatt gaatgaagag
1681 gttgccatca ttttggcatc tttctctgct tctacaagtg cctttattga cactataaag
1741 agtcttgatt acaagtcttt caaaaccatt gtgagtoct gcggtaacta taaagttacc
1801 aagggaaagc ccgtaaaagg tgcttggaaac attggacaac agagatcagt ttaacaccca
1861 ctgtgtgggt ttccctcaca ggctgctggg gttatcagat caatthttgc gcgcacact
1921 gatgcagcaa accactcaat tcttgaattg caaagagcag ctgtcaccat acttgatggt
1981 atttctgaac agtcattacg tcttgcgac gccatgggtt atacctcaga cctgctcacc
2041 aacagtgtca ttattatggc atatgtaact ggtggctctt tacaacagac ttctcagtg
2101 ttgtctaate ttttggcac tactgttgaa aaactcaggc ctatctttga atggattgag
2161 gcgaaactta gtgcaggagt tgaatttctc aaggatgctt gggagattct caaatttctc
2221 attacaggtg tttttgacat cgtcaagggt caaatacagg ttgcttcaga taactcaag
2281 gattgtgtaa aatgcttcat tgatgttgtt aacaaggoac tcgaaatgtg cattgatcaa
2341 gtoactatcg ctggcgcaaa gttgcgatca ctcaacttag gtgaagtctt catcgctcaa
2401 agcaagggac tttaccgtca gtgtatacgt ggcaaggagc agctgcaact actcatgct
2461 ctaagggcac caaaagaagt aacctttctt gaagggtgatt cacatgacac agtacttacc
2521 tctgaggagg ttgttctcaa gaacggtgaa ctogaagcac atggcctcat gctcttagag
2581 ttcacaaatg gagctatcgt tggcacacca tctcctgggt tactggctac aaacaatgtc
2641 attaaggaca aagaacaata ctgcgcattg tctcctgggt ttggagaaga tactgtttgg
2701 tttcgcttaa aaggggtgac accaattaaa ggtgtaacct ttgatgaacg tgttgacaaa
2761 gaagttcaag gttacaagaa tgtgagaatc acatttgagc ttgatgaacg tactgagttt
2821 gtgcttaatg aaaagtgctc tgtctacact gttgaaatccg gtaccgaagt tactgagttt
2881 gcatgtgttg tagcagaggc tgttgtgaag actttacaac cagtttctga tctccttacc
2941 aacatgggta ttgatcttga tgagtggagt gtactacat tctacttatt tgatgatgct
3001 ggtgaagaaa acttttcatc acgtatgtat tgttcctttt acctccaga tgaggaagaa
3061 gaggacgatg cagagtgtga ggaagaagaa attgatgaaa cctgtgaaca tgagtcggt
3121 acagaggatg attatcaagg tctcctctg gaatttgggt cctcagctga aacagttcga
3181 gttgaggaag aagaagagga agactggctg gatgatacta ctgagcaatc agagattgag
3241 ccagaaccag aacctacacc tgaagaacca gttaatcagt ttactgggta tttaaaactt
3301 actgacaatg ttgccattaa atgtgttgac atcgttaagg aggcacaaaag tgctaactct
3361 atgggtgatt taaatgctgc taacatacac ctgaaacatg gtgggtggtg agcaggtgca
3421 ctcaacaagg caaccaatgg tgccatgcaa aaggagagtg atgattacat taagctaaat
3481 ggccctctta cagtaggagg gtcttgtttg ctttctggac ataactctgc taagaagtgt
3541 ctgcatgttg ttggacctaa cctaaatgca ggtgaggaca tccagcttct taaggcagca
3601 tatgaaaatt tcaattcaca ggacatctta cttgcacat tgttgtcagc aggcataatt
3661 ggtgctaaac cacttcagtc tttacaagtg tgcgtgcaga cggttcgtac acaggtttat
3721 attgacgtca atgacaaagc tctttatgag caggttgtca tggattatct tgataacctg
3781 aagcctagag ttgaagcacc taacaagag gagccaccaa acacagaaga ttccaaaact

3841 gaggagaaat ctgtcgtaca gaagcctgtc gatgtgaagc caaaaattaa ggccctgcatt
3901 gatgaggtta ccacaacact ggaagaaact aagtttctta ccaataagtt actcttgttt
3961 gctgatataca atggtaagct ttaccatgat tctcagaaca tgcttagagg tgaagatatg
4021 tctttccttg agaaggatgc accttacatg gtaggtgatg ttatcactag ttgtgatatc
4081 acttgtgttg taataccttc caaaaaggct ggtggcaacta ctgagatgct ctcaagagct
4141 ttgaagaaag tgccagttga tgagtatata accacgtacc ctggacaagg atgtgtgtgt
4201 tatacacttg aggaagctaa gactgctctt aagaaatgca aatctgcatt ttatgtacta
4261 ccttcagaag cacctaagtc taaggaagag attctaggaa ctgtatcctg gaatttgaga
4321 gaaatgcttg ctcatgctga agagacaaga aaattaatgc ctatatgcat ggatgttaga
4381 gccataatgg caaccatcca acgtaagtat aaaggaatta aaattcaaga gggcatcgtt
4441 gactatggtg tccgattctt cttttatact agtaaagagc ctgtagcttc tattattacg
4501 aagctgaact ctctaaatga gccgcttgtc acaatgccaa ttggttatgt gacacatggt
4561 tttaatcttg aagaggctgc gcgctgatg cgttctctta aagctcctgc cgtagtgtca
4621 gtatcatcac cagatgctgt tactacatat aatggatacc tcaactcgtc atcaaagaca
4681 tctgaggagc actttgtaga aacagtttct ttggctggct cttacagaga ttggctctat
4741 tcaggacagc gtacagagtt aggtgtttaa tttcttaagc gtggtgacaa aattgtgtac
4801 cacactctgg agagccccgt cgagtttcat cttgacgggt aggttcttct acttgacaaa
4861 ctaaagagtc tcttatccct gcgggaggtt aagactataa aagtgttcac aactgtggac
4921 aacactaatc tccacacaca gcttgtggat atgtctatga catatggaca gcagtttggg
4981 ccaacatact tggatggtgc tgatgttaca aaaattaaac ctcatgtaaa tcactgaggt
5041 aagactttct ttgtactacc tagtgatgac acactacgta gtgaagcttt cgagtactac
5101 catactcttg atgagagttt tcttggtagg tacatgtctg ctttaaacca cacaaagaaa
5161 tggaaatttc ctcaagttgg tggtttaact tcaattaaat gggctgataa caattgttat
5221 ttgtctagtg ttttattagc acttcaacag cttgaagtca aattcaatgc accagcactt
5281 caagaggctt attatagagc cgtgctggt gatgctgcta acttttgtgc actcactctc
5341 gcttacagta ataaaactgt tggcgagctt ggtgatgtca gagaaactat gacctatgt
5401 ctacagcatg ctaatttggga atctgcaaag cgagttctta atgtggtgtg taaacattgt
5461 ggtcagaaaa ctactacctt aacgggtgta gaagctgtga tgtatatggg tactctatct
5521 tatgataatc ttaagacagg tgttccatt ccatgtgtgt gtggctgtga tgctacacaa
5581 tatctagtac aacaagagtc ttcttttgtt atgatgtctg caccacctgc tgagtataaa
5641 ttacagcaag gtacattctt atgtgccaat gagtacactg gtaactatca gtgtgtcat
5701 tacactcata taactgctaa ggagaccctc tatcgtattg acggagctca ccttacaag
5761 atgtcagagt acaaaggacc agtgactgat gtttcttaca aggaaacatc ttacactaca
5821 accatcaagc ctgtgtcgta taaactcgat ggagttactt acacagagat tgaacaaaa
5881 ttggatgggt attataaaaa ggataatgct tactatacag agcagcctat agacctgtga
5941 ccaactcaac cattacaaa tgccagtttt gataatttca aactcacatg ttctaacaca
6001 aaatttgctg atgattttaa tcaaatgaca ggcttcacaa agccagcttc acgagageta
6061 tctgtcacat tcttcccaga cttgaaatgg gatgtagtgg ctattgacta tagacactat
6121 tcagcgagtt tcaagaaagg tgctaaatta ctgcataagc caattgtttg gcacattaac
6181 caggctacaa ccaagacaac gttcaaacca aacacttggg gtttacgttg tctttggag
6241 acaaagccag tagatacttc aaattcattt gaagttctgg cagtagaaga cacacaagga
6301 atggacaatc ttgcttgtga aagtcaacaa cccacctctg aagaagtagt ggaaaatcct
6361 accatacaga aggaagtcat agagtgtgac gtgaaaacta ccgaagttgt aggcaatgtc
6421 atacttaaac catcagatga aggtgtttaa gtaacacaag agtttagtca tgaggatctt
6481 atggctgctt atgtggaaaa cacaagcatt accattaaga aacctaatga gctttcacta
6541 gccttagggt taaaaacaat tgccactcat ggtattgctg caattaatag tgttcttgg
6601 agtaaaattt tggcttatgt caaacattc ttaggacaag cagcaattac aacatcattg
6661 tgcgctaaga gattagaca acgtgtgttt aacaattata tgccttatgt gtttacatta
6721 ttgttccaat tgtgtacttt tactaaaagt accaattcta gaattagagc ttactacct
6781 acaactattg ctaaaaatag tgtaagagt gttgctaaat tatgtttgga tgccggcatt
6841 aattatgtga agtcaccaa attttctaaa ttgttcacaa tcgctatgtg gctattgttg
6901 ttaagtattt gcttaggttc tctaactctg gtaactgctg cttttgggtg actcttatct
6961 aattttgggt ctccttctta ttgtaatggc gttagagaat tgtatcttaa ttcgtctaac
7021 gttactacta tggatttctg tgaaggttct tttccttgca gcatttgttt aagtgatta
7081 gactcccttg attcttatcc agctcttgaa accattcagg tgaagatttc atcgtacaag
7141 ctgacttga caattttagg tctggccgct gagtgggttt tggcatata gttgttcaca
7201 aaattctttt atttattagg tctttcagct ataatgcagg tgttctttgg ctattttgct
7261 agtcatttca tcagcaattc ttggctcatg ttggttatca ttagtattgt acaaatggca

7321 cccgtttctg caatgggttag gatgtacatc ttctttgctt ctttctacta catatggaag
7381 agctatgttc atatcatgga tggttgcacc tcttcgactt gcatgatgtg ctataagcgc
7441 aatcgtgccca cacgcgttga gtgtacaact attgttaetg gcatgaagag atctttctat
7501 gtctatgcaa atggaggccg tggcttctgc aagactcaca attggaattg tctcaattgt
7561 gacacatttt gcactggtag tacattcatt agtgatgaag ttgctcgtga tttgtcactc
7621 cagtttaaaa gaccaatcaa cctactgac cagtcacatc atattgttga tagtgttgc't
7681 gtgaaaaatg gcgcgcttca cctctacttt gacaaggctg gtcaaaagac ctatgagaga
7741 catccgctct cccattttgt caatttagac aatttgagag ctaacaacac taaagggtca
7801 ctgcetaatta atgtcatagt ttttgatggc aagtccaaat gcgcagagtc tgcttctaag
7861 tctgettctg tgtactacag tcagctgatg tgccaaccta ttctgttgc't tgaccaagct
7921 cttgtatcag acgttggaga tagtactgaa gtttccgtta agatgtttga tgc'ttatgtc
7981 gacacctttt cagcaacttt tagtgttctc atggaaaaac ttaaggcact t'gttgctaca
8041 gctcacagcg agtttagcaaa ggggtgtagc ttagatggtg tcctttctac attcgtgtca
8101 gctgcccagc aagggtgtt'gt tgataccgat gttgacacaa aggatgttat tgaatgtctc
8161 aaactttcac atcactctga cttagaagtg acaggtgaca gttgtaacaa tttcatgtct
8221 acctataata aggttgaaaa catgacgccc agagatcttg gcgcagat'gat tgactgtaat
8281 gcaaggcata tcaatgccca agtagcaaaa agtcacaatg tttcaotcat ctggaatgta
8341 aaagactaca tgtctttatc tgaacagctg cgtaaacaaa ttcgtagtgc tgccaagaag
8401 aacaacatac cttttagact aactt'gtgct acaactagac aggtt'gtcaa tgcataact
8461 actaaaatct cactcaaggg tggt'aagatt gttagtactt gttttaaact tatgcttaag
8521 gccacattat t'gtgcttct tgctgcattg gttt'gttata t'cgttatgcc agtacataca
8581 ttgtcaatcc atgatgg'tta cacaaatgaa atcattgg'tt acaaagccat tcaggatgg't
8641 gtcactcgtg acatcatttc tactgatgat t'gttttgcaa ataaacatgc tgg'tttgac
8701 gcatgg'tt'aa gccagcgtgg tgg'ttcata aaaaatgaca aaagctgccc t'gtagtagct
8761 gctatcatta caagagagat tgg'tt'cata gtg'cctggct taccgggtac t'gtcgtgaga
8821 gcaatcaatg gtgacttctt gcatttt'cota cctcgtg'tt ttagt'gctgt tggcaacatt
8881 tgctacacac cttccaaact cattgagtat agtgattttg ctacotctgc ttg'cgttctt
8941 gctgctgagt gtacaatttt taaggatgct atgggcaaac ctg'tgccata ttgttatgac
9001 actaatttgc tagagggttc t'at'ttcttat agtgagcttc gtccagacac tcg'ttatgtg
9061 cttatggatg gttccatcat acag'ttctct aacacttacc tggagggttc t'gttagagta
9121 gtaacaactt ttgatgctga gtactgtaga catggtacat gcgaaaggtc agaagtaggt
9181 atttgcctat ctaccagtgg tagatgg'tt tagatggaat ctt'aaatag agcattacag agctctatca
9241 ggag'tttct'c' gtgg'tgttga tgcgatgaa'c' ctcatagcta acatctttac t'cctctgtg
9301 caacctg'tgg gtgctt'taga t'gtgctgct'c' tcagtagtgg ctggtggtat t'attgccata
9361 ttggtgactt gtgctgccta ctactt'fatg aaattcagac g'tg'ttttgg tgagtacaac
9421 catg'tt'gtt'g' ctgcta'atgc actttt'g'tt' ttgatgctt t'cactatact ctgctcggta
9481 ccagcttaca gcttctgccc gggag'tctac t'cag'tcttt' actt'gtactt gacattctat
9541 t'c'accaatg atg'tt'catt cttggctcac cttcaatggt ttg'ccatg'tt ttctcctatt
9601 gtgccttttt ggataacagc aatctatgta ttctg'tatt cctcgaagca ctgctattgg
9661 ttctt'aaaca actatc'ttag gaaaagagtc atg'tt'aa'tg gagttacatt tagtaccttc
9721 gaggaggctg cttt'gt'gtac cttttt'gctc aacaaggaaa t'gtaccta'aa attg'cgtagc
9781 gagacactgt t'gccacttac acagtataac aggtatcttg ctctatataa caagtacaag
9841 t'at'tt'cag'tg g'agccttaga tactaccagc tatcgtgaag cagctt'gctg ccacttagca
9901 aaggctctaa atgactttag caactcaggt gctgatg'ttc totaccaacc accacagaca
9961 tcaatcactt ctgctg'ttct gcagagtgg'tt t'tagga'aaa tggcattccc gtcaggcaaa
10021 gttgaagggt gcatggtaca agtaacctgt ggaact'aaa ctct'aa'tg attgtggtt'g
10081 gatgacacag tatactgtcc aagacatg'tc atttgcaag cagaagacat gcttaatcct
10141 aactatgaag atctgctcat t'cgcaaatcc aaccatagct ttctt'gttca ggctggcaat
10201 gtt'caacttc gtg'ttatt'gg ccattctatg caaaat'gtc tgcttaggct taaag'tt'gat
10261 actt'ctaacc ctaagacacc caagtataaa ttt'gtc'cgta tccaacctgg t'caaacattt
10321 tcag'tt'ctag catgct'caaa tgg'tt'c'acca t'ctgg'tg'tt atcag'tg'tc catgagacct
10381 aatcatacaca t'aaagg'ttc tttcct'aa't g'gatc'atg'tg gtagt'gtt'gg ttt'aa'catt
10441 gattatgatt gcgtg'tctt'c' ctgctat'atg catcatatgg agctt'ccaac aggagtacac
10501 gctgg'tactg acttagaag'g' taaattctat ggtccattt'g t'gacagaca aactgcacag
10561 gctgcagg'ta cagacacaac cataacatta aatg'ttt'gg catggctg'ta t'gctgctgtt
10621 atcaatgg'tg atagg'tggt'c' tct'aa'taga t'caccacta ctt'g'aa'tga ctt'aa'cctt
10681 gtggcaatga agtacaacta tgaac'ttt'g acacaagatc atg'tt'gacat attgggacct
10741 ctttctgctc aaacaggaat t'gccgtctta gatatg'tgtg ctgctt'g'aa agagctgctg

10801 cagaatggta tgaatggctg tactatcctt ggtagcacta ttttagaaga tgagtttaca
10861 ccattttagt ttgtagaca atgctctggg gttacettcc aaggtaagtt caagaaaatt
10921 gtttaaggca ctcatcattg gatgctttta actttcttga catcactatt gattcttgg
10981 caaagtacac agtggctcact gtttttcttt gtttacgaga atgctttctt gccatttact
11041 cttgggtatta tggcaattgc tgcattgtgc atgctgcttg ttaagcataa gcacgcattc
11101 ttgtgcttgt ttctgttacc ttctcttgc acagttgctt actttaatat ggtctacatg
11161 cctgctagct gggatgatgc tatcatgaca tggcttgaat tggctgacac tagcttgtct
11221 ggttataggc ttaaggattg tgttatgtat gcttcagctt tagttttgct tattctcatg
11281 acagctcgca ctgtttatga tgatgctgct agacgtgitt ggacactgat gaatgtcatt
11341 acacttgttt acaaagtcta ctatggtaat gctttagatc aagctatttc catgtgggcc
11401 ttagttatth ctgtaacctc taactattct ggtgctgta cgactatcat gtttttagct
11461 agagctatag tgtttgtgtg tgttgagtat taccattgt tatttattac tggcaacacc
11521 ttacagtgtg tcatgcttgt ttattgtttc ttaggctatt gttgctgctg ctactttggc
11581 cttttctgtt tactcaaccg ttacttcagg cttactcttg gtgtttatga ctacttggct
11641 tctacacaag aatttaggta tatgaactcc caggggcttt tgcctcctaa gagtagtatt
11701 gatgctttca agcttaacat taagttgttg ggtattggag gtaaaccatg tatcaagggt
11761 gctactgtac agtctaaaat gtctgacgta aagtgcacat ctgtggtact gctctcggtt
11821 cttcaacaac ttagagtaga gtcatcttct aaattgtggg cacaatgtgt acaactccac
11881 aatgatattc ttcttgcaaa agacacaaat gaagctttcg agaagatggt ttctcttttg
11941 tctgttttgc tatccatgca ggtgctgta gacattaata ggttgtgca ggaatgctc
12001 gataaccgtg ctactcttca ggctattgct tcagaattta gttctttacc atcatatgcc
12061 gcttatgcca ctgcccagga ggctatgag caggtgtag ctgaatggtg ttctgaagtc
12121 gttctcaaaa agttaaagaa aaagatggca gatcaggcta tgacccaaat gtacaaacag
12181 gccatgcaac gcaagttgga aaagatggca actagtgcta tgcaacaat gctcttacc
12241 gcaagatctg aggacaagag ggcaaaagta actagtgcta tgcaacaat gctcttacc
12301 atgcttagga agcttgataa tgatgcactt aacaacatta tcaacaatgc gctgtaggt
12361 tgtgttccac tcaacatcat accattgact acagcagcca aactcatggt tgttgcctc
12421 gattatggta cctacaagaa cacttgtgat ggtaacacct ttacatagc atctgcactc
12481 tgggaaatcc agcaagttgt tgatgctggt agcaagattg ttcaacttag tgaatlaac
12541 atggcaatt caccaaattt ggcttggcct ctattgtta cagctctaa agccaactca
12601 gctgttaaac tacagaataa tgaactgagt ccagtagcac tacgacagat gctctgtg
12661 gctggtacca cacaaacagc ttgtactgat gacaatgca ttgctacta taacaattcg
12721 aaggagggta ggtttgtgct ggcattacta tcagaccacc aagatctcaa atgggctaga
12781 ttccctaaga gtgatggtac aggtacaatt tacacagaac tggaccacc ttgtaggtt
12841 gttacagaca caccaaaagg gcctaaagtg aataacttgt acttcatcaa aggcttaaac
12901 aacctaasta aggtatggt gctgggcagt tttagctgta cagtactct tccagctgga
12961 aatgctacag aagctacctc caattcaact gtgcttctct tctgtgctt tgcagttagc
13021 cctgctaaag catataagga ttacctagca agtggaggac aaccaatcac caactgtg
13081 aagatggtt gtacacacac tggtagagga caggcaatta ctgtaacacc agaagctaac
13141 atggaccaag agtcttgg tgggtgctta tgttgtctgt attgtagatg ccacattgac
13201 catccaaatc ctaaaggatt ctgtgacttg aaaggtaagt acgtccaaat acctaccact
13261 tggctaatg acccagttgg ttttacctt agaaaacag tctgtaccgt ctgcggaatg
13321 tggaaagggt atggctgtag ttgtgaccaa ctccgcaac ccttgatgca gctctgga
13381 gcatcaacgt ttttaacgg gtttgcggtg taagtgcagc ccgtcttaca ccgtgcgga
13441 caggcactag tactgatgtc gtctacaggg cttttgatat ttacaacgaa aaagtgtctg
13501 gttttgcaaa gttcctaaaa actaattgct gtcgcttcca ggagaaggat gaggaaggca
13561 atttattaga ctcttacttt gtagttaaga ggcatactat gtctaactac caacatgaag
13621 agactattta taacttgggt aaagattgtc cagcgggtgc tgtccatgac ttttcaagt
13681 ttagagtaga tggtagatg gtaccacata tatcactgca ttgatgaggg taattgtgat
13741 tggctgattt agtctatgct ctactgactt atgattattt caataagaag gattggtatg
13801 aaatactcgt cacatacaat tgcgtgatg atcttacgcy tatatgctaa cttagggtgag
13861 acttctgtag gaactctgac atcttacgcy atgctatgcy tgatgcagc attgtagggc
13921 aatcattatt aaagactgta caattctgcy atgctatgcy tgatgcagc attgtagggc
13981 tactgacatt agataatcag gatcttaatg ggaactggta cgatttcggt gatttctgac
14041 aagtagcacc aggtctgcca gttcctattg tggattcata ttactcattg ctgatgcca
14101 tcttcaactt gactagggca ttggctgctg agtcccatat gtagctgat ctgcaaac
14161 cacttattaa gtgggatttg ctgaaatag attttacgga agagagactt tgtctctog
14221 accgttattt taaatattgg gaccagacat accatcccaa ttgtattaac tgtttggatg

14281 atagggtgtat ccttcattgt gcaaaccttta atgtgttatt ttctactgtg tttccaccta
14341 caagttttgg accactagta agaaaaatat ttgtagatgg tgttcctttt gttgtttcaa
14401 ctggatacca ttttcgtgag ttaggagtcg tacataatca ggatgtaaac ttacatagct
14461 cgcgtctcag tttcaaggaa ctttttagtgt atgctgctga tccagctatg catgcagctt
14521 ctggcaattht atgtctagat aaacgcacta catgcttttc agtagctgca ctaacaaaca
14581 atgttgcttt tcaactgtc aaaccggta attttaataa agacttttat gactttgtctg
14641 tgtctaaagg tttctttaag gaaggaagtt ctgttgaact aaaacacttc tctttgtctc
14701 aggatggcaa cgctgctatc agtgattatg actattatcg ttataatctg ccaacaatgt
14761 gtgatatacag acaactccta ttcgtagttg aagttgttga taataacttt gattgttacg
14821 atgggtggctg tattaatgcc aaccaagtaa tctgttaaca tctggataaa tcagctgggt
14881 tcccatttaa taaatggggg aaggctagac ttattatga ctcaatgagt tatgaggatc
14941 aagatgcact tttcgcgtat actaagcgtg atgtcatccc tactataact caaatgaatc
15001 ttaagtatgc cattagtgca aagaatagag ctgcgaccgt agctgggtgc tctatctgta
15061 gtactatgac aaatagacag tttcatcaga aattattgaa gtcaatagcc gccactagag
15121 gagctactgt ggtaattgga acaagcaagt tttacgggtg ctggcataat atgttaaaaa
15181 ctgtttacag tgatgtagaa actccacacc ttatgggttg ggattatcca aaatgtgaca
15241 gagccatgcc taacatgctt aggataatgg cctctctgt tcttgtctgc aaacataaca
15301 cttgctgtaa cttatcacac cgtttctaca ggctcactat ggtagctaa cgagtgtgcg caagtattaa
15361 gtgagatggg catgtgtggc ggctcactat atgttaaac aggtggaaca tcatccgggtg
15421 atgctacaac tgcttatgct aatagtgctt ttaacatttg tcaagctgtt acagccaatg
15481 taaatgcact tctttcaact gatggtaata agatagctga caagtatgtc cgcaatctac
15541 aacacagget ctatgagttt ttacctgctt aaacatttct ccatgatgat tctttctgat gatgccgttg
15601 agttttacgc tagtaactat gcgctcaag gtttagtagc tagcattaag aactttaagg
15661 tgtgctataa ttatcaaaa aatgtgttca tgtctgaggc aaaatgttgg actgagactg
15721 cagttcttta ttatcaaaa gaattttgct cacagcatac aatgctagtt aaacaaggag
15781 acctactaa aggacctcac taccagatc catcaagaat attaggcgca ggctgttttg
15841 atgattacgt gtacctgctt gatggtacac ttatgattga aaggttctgt tcaactgtgta
15901 tccatgatat cccacttaca aacatccta atcaggagta tgctgatgtc tttcacttgt
15961 ttgatgctta cattagaag ttacatgatg agcttactgg ccacatgttg gacatgtatt
16021 attacaata aactaatgat aacactcac ggtactggga acctgagttt tatgaggcta
16081 ccgtaatgct acatacagtc ttgcaggctg taggtgcttg tgtattgtgc aattcacaga
16141 tgtacacacc ttgcgggtgc tgtattagga gaccattoct atgttgcaag tgctgtatg
16201 cttcacttcc ttcaacatca cacaaattag tgttgtctgt taatccctat gtttgcaatg
16261 accatgtcat tgatgtcact gatgtgacac aactgtatct aggaggtatg agctattatt
16321 ccccaggttg gcaagtcaca taagcctccc attagttttc cattatgtgc taatggtcag gtttttggtt
16381 gcaagtcaca tatacaaaaa cacatgtgta ggcagtgaca atgtcactga cttcaatgcy atagcaacat
16441 gtgattggac taatgctggc agaaacgctc aaagccactg aggaacatb taagctgtca tatggattg
16501 ccaactgtacg cgaagtactc tctgacagag aattgcatct tccatgggag gttggaaaac
16561 ttttcgcagc attgaacaga aactatgtct ttactggtta ccgtgtaact aaaaatagta
16621 ctgaccacc tggagagtag acctttgaaa aaggtgacta tgggtgatgct gttgtgtaca
16681 aagtacagat gagtactac gacatacaag ttgaaatgtg gtgattactt tgtgttgaca tctcacactg
16741 taatgccact tagtgacct actctagtgc cacaagagca ctatgtgaga attactggct
16801 tgtacccaac actcaacatc tcagatgagt tttctagcaa tgttgcaaat tatcaaaagg
16861 tgcggcatgca aaagtactct acactccaag gaccacctgg tactggtaag agtcattttg
16921 ccatcggact tgctctctat taccatctg ctgcgatagt gtatacggca tgctctcatg
16981 cagctgttga tgccctatgt gaaaaggcat taaaatattt gccatagat aatgtagta
17041 gaatcatacc tgcgctgctg cgcgtagagt gttttgataa attcaaagtg aattcaaac
17101 tagaacagta tgttttctgc actgtaaatg cattgccaga aacaactgct gacattgtag
17161 tctttgatga aatctctatg gotactaatt atgacttgag tgttgtcaat gctagacttc
17221 gtgcaaaaca ctacgtctat attggcgatc ccagaatatt ttaattcagt accagcccc
17281 tgactaaagg cacactagaa ccagaatatt ttaattcagt accagcccc
17341 taggtccaga catgttcctt ggaacttgte gccgttgtcc tgcagactt atgaaaacaa
17401 tgagtgtttt agtttatgac aataagctaa aagcacaca ggataagtca gttgacactg
17461 tcaaaatggt ctacaaagg gttattacac atgatgtttc atctgcaatc aacagacctc
17521 aatatggcgt tgtaagagaa tttcttacac gcaatcctgc ttggagaaaa gctgttttta
17581 tctcacctta taattcacag aacgctgtag cttcaaaaat cttaggattg cctacgcaga

17761 ctgttgatc atcacagggt tctgaatag actatgtcat attcacacaa actactgaaa
17821 cagcacactc ttgtaatgtc aaccgcttca atgtggctat cacaagggca aaaattggca
17881 ttttgtgcat aatgtctgat agagatcttt atgacaaaact gcaatttaca agtctagaaa
17941 taccacgtcg caatgtggct acattacaag cagaaaatgt aactggactt ttaaggact
18001 gtagtaagat cattaactggt cttcatccta cacaggcacc tacacacctc agcgttgata
18061 taaagttcaa gactgaagga ttatgtgttg acataccagg cataccaaag gacatgacct
18121 accgtagact catctctatg atgggttcca aaatgaatta ccaagtcaat ggttacccta
18181 atatgtttat caccgcgaa gaagctattc gtcacgttcg tgcgtggatt ggctttgatg
18241 tagagggctg tcatgcaact agagatgctg tgggtactaa cctacctc cagctaggat
18301 tttctacagg tgtaaactta gtagctgtac cgactgggta tgttgacact gaaaataaca
18361 cagaattcac cagagttaat gcaaaacctc caccagggtga ccagtttaa catcttatac
18421 cactcatgta taaaggcttg ccctggaatg tagtgcgtat taagatagta caaatgtc
18481 gtgatacact gaaaggattg tcagacagag tcgtgttcgt cctttgggcg catggcttg
18541 agcttacatc aatgaagtac ttgtcaaga ttggacctga aagaacgtgt tgtctgtgtg
18601 acaaacgtgc aacttgcttt tctacttcat cagatactta tgcctgctgg aatcattctg
18661 tgggttttga ctatgtctat aaccoattta tgattgatgt tcagcagtg ggctttaagg
18721 gtaaccttca gagtaacct gaccaacatt gccagggtaca tggaaatgca catgtggcta
18781 gttgtgatgc tatcatgact agatgtttag cagtccatga gtgctttgtt aagecgttg
18841 attggtctgt tgaataccct attataggag atgaactgag ggtaattct gcttgagaa
18901 aagtacaaca catggttgtg aagtctgcat tgcttgcgta taagtttoca gttcttcag
18961 acattggaata tccaaggct atcaagtgtg tgacctcaggc tgaagtagaa tggagttct
19021 acgatgctca gccatgtagt gacaaggctt acaaaataga ggaactcttc tattcttatg
19081 ctacacatca cgataaattc actgatggtg tttgtttgtt ttggaattgt aacgttgatc
19141 gttaccagc caatgcaatt gtgtgtaggt ttgacacaag agtcttgtca aacttgaact
19201 taccaggctg tgatgggtgg agtttgtatg tgaataagca tgcattccac actccagctt
19261 tcgataaaaag tgcatttact aatttaaagc aattgccttt ctittactat tctgatgct
19321 cttgtgagtc tcatggcaaa caagtagtgt cggatattga ttatgttcca ctcaaatctg
19381 ctacgtgtat tacacgatgc aatttaggtg gtgctgtttg cagacaccat gcaaatgagt
19441 accgacagta cttggatgca tataatatga tgaattctgc tggatttagc ctatggattt
19501 acaacaatt tgatacttat aacctgtgga atacatttac caggttacag agtttagaaa
19561 atgtggctta aatggttgtt aataaaggac actttgatgg acacgcgggc gaagcacctg
19621 tttccatcat taataatgct gtttacacaa aggtagatgg tattgatgtg gagactttg
19681 aaaataagac aacacttccct gttaatgttg catttgagct ttgggctaag cgtaacatta
19741 aaccagtgcc agagattaag atactcaata atttgggtgt tgatatcgct gctaatactg
19801 taatctggga ctacaaaaga gaagccccag cacatgtatc tacaataggt gtctgcacaa
19861 tgactgacat tgccaagaaa cctactgaga gtgctgttcc ttcacttact gtctgtttg
19921 atggtagagt ggaaggacag gtgaccttt ttgaaacgc ccgtaatggt gttttaataa
19981 cagaaggctc agtcaaaggt ctaaaccttt caaagggacc agcacaagct agcgtcaatg
20041 gagtcacatt aattggagaa tcagtaaaaa cacagttaa ctactttaag aaagttagc
20101 gcattattca acagttgcct gaaacctact ttactcagag cagagactta gaggattta
20161 agcccagatc acaaatggaa actgactttc tcgagctcgc tatggatgaa ttcatacagc
20221 gatataagct cgagggctat gccttogaac acatcgttta tggagatttc agtcatggac
20281 aacttggcgg tottcattta atgataggct tagccaagcg ctcaacagat tcaccactta
20341 aattagagga ttttatccct atggacagca cagtgaataa ttacttata acagatgccc
20401 aacaggttc atcaaaatgt gtgtgttctg tgattgatct tttacttgat gactttgtcg
20461 agataataaa gtcacaagat ttgtcagtga tttcaaaagt ggtcaagggt acaattgact
20521 atgctgaaat ttcattcatg ctttgggtgta aggatggaca tgttgaaacc ttctaccaa
20581 aactacaagc aagtcaagcg tggcaaccag gtgttgcgat gcctaacttg tacaagatgc
20641 aaagaatgct tottgaaaag tgtgaccttc agaattatgg tgaaaatgct gttataccaa
20701 aaggaataat gatgaatgct gcaaagtata ctcaactgtg tcaacttata aatacactta
20761 ctttagctgt accctacaac atgagagtta ttcactttgg tgctggctct gataaaggag
20821 ttgcaccagg tacagctgtg ctcaagacaat ggttgccaac tggcacacta cttgtcgatt
20881 cagatcttaa tgacttcgtc tccgacgcag attctacttt aattggagac tgtgcaacag
20941 tacatacggc taataaatgg gacctatta tttagcgatat gtatgacctc aggaccaaac
21001 atgtgacaaa agagaatgac tctaaagaag ggtttttcac ttatctgtgt ggatttataa
21061 agcaaaaact agccctgggt ggttctatag ctgtaaagat aacagagcat tcttggatg
21121 ctgaccttta caagcttatg ggccatttct catgggtggac agcttttgtt acaaatgtaa
21181 atgcatcatc atcggaaagca tttttaattg gggctaacta tcttggcaag ccgaaggaa

21241 aaattgatgg ctataccatg catgctaact acattttctg gaggaacaca aatcctatcc
 21301 agttgtcttc ctattcactc tttgacatga gcaaatttcc tcttaaatta agaggaaactg
 21361 ctgtaatgtc tcttaaggag aatcaaatca atgatatgat ttattctctt ctggaaaaag
 21421 gtaggcttat cattagagaa aacaacagag ttgtggtttc aagtgatatt ctgttaaca
 21481 actaaacgaa catgtttatt ttcttattat ttcttactct cactagtggt agtgacctg
 21541 accggtgcac cacttttgat gatgttcaag ctcttaatta cactcaacat acttcatcta
 21601 tgagggggggt ttactatcct gatgaaattt ttagatcaga cactctttat ttaactcagg
 21661 atttatttct tccattttat tctaattgta cagggtttca tactattaat catacgttg
 21721 gcaaccctgt catacctttt aaggatggta tttattttgc tgccaagag aatcaaatg
 21781 ttgtccgtgg ttgggttttt ggttctacca tgaacaacaa gtcacagtcg gtgattatta
 21841 ttaacaattc tactaatggt gttatcacac catgtaactt tgaattgtgt gacaaccctt
 21901 tctttgctgt ttctaaccct atgggtacac agacacatac tatgatattc gataatgcat
 21961 ttaattgcac tttcgagtac atatctgatg ccttttcgct tgatgtttca gaaaagtccg
 22021 gtaattttaa acacttacga gagtttgtgt ttaaaaaata agatgggttt ctctatgtt
 22081 ataagggcta tcaacctata gatgtagtct gtgatctacc ttctggtttt aacactttga
 22141 aacctatttt taagttgcct cttgggtatta acattacaaa ttttagagcc attcttacag
 22201 ccttttcacc tgctcaagac atttggggca cgtcagctgc agectatttt gttggctatt
 22261 taaagccaac tacatttatg ctcaagtatg atgaaaatgg tacaatcaca gatgctgttg
 22321 attgtttcca aatccactt gctgaactca aatgctctgt taagagcttt gagattgaca
 22381 aaggaattta ccagacctct aatttcaggg ttgttccttc aggagatggt gtgagattcc
 22441 ctaaatattc aaacttgtgt ccttttgagg aggtttttaa tgetactaaa ttccctctg
 22501 tctatgcatg ggagagaaaa aaaatttcta attgtgttgc tgattactct gtgctctaca
 22561 actcaacatt ttttcaacc ttttaagtgc atggcgtttc tgccactaag ttgaatgato
 22621 tttgcttctc caatgctat gcagattctt ttgtagtcaa gggagatgat gtaagacaaa
 22681 tagcgcagg acaaaactgt gttattgctg attataatta taaattgcca gatgatttca
 22741 tgggttgtgt ccttgcctgg aatactagga acattgatgc tacttcaact ggtaattata
 22801 attataaata taggtatctt agacatggca agccttaggcc ctttgagaga gacatatcta
 22861 atgtgccttt cteccctgat ggcaaacctt gcacccacc tgetcttaat tgtcttggc
 22921 cattaaatga ttatggtttt tacaccacta ctggcattgg ctaccaacct tacagagttg
 22981 tagtactttc ttttgaactt ttaaattgcac cggccaaggt ttgtggacca aaattatcca
 23041 ctgaccttat taagaaccag tgtgtcaatt ttaattttaa tggactcact ggtactggtg
 23101 tgittaactc tcttcaag agatttcaac catttcaaca atttggccgt gatgtttctg
 23161 atttcaactg ttcogttcga gatcctaaaa catctgaaat atttagacat tcaccttgcg
 23221 cttttggggg tgtaagtgtta attacacctg gaacaaatgc ttcactgaa gttgctgttc
 23281 tatatcaaga tgtaactgc actgatgttt ctacagcaat tcatgcagat caactcacac
 23341 cagcttggcg catatattct actggaacaa atgtattcoa gactcaagca ggetgtctta
 23401 taggagctga gcatgtcgac acttcttatg agtgcgacat tcttattgja gctggcattt
 23461 gtgctagtta ccatacagtt tctttattac gtagtactag ccaaaaatct atttggcctt
 23521 atactatgtc tttaggtgct gatagttcaa ttgcttactc taataacacc atttgcatac
 23581 ctactaactt ttcaattagc attactcag aagtaatgcc tgtttctatg gctaaaacct
 23641 ccgtagattg taatatgtac atctgaggag attctactga atgtgctaatt ttgcttctcc
 23701 aatattggtg cttttgcaca caactaaatc gtgcactctc aggtattgct gctgaacagg
 23761 atcgcaacac acgtgaagtg ttcgctcaag tcaaacaaat gtacaaaacc ccaactttga
 23821 aatatttttg tggttttaa ttttcacaaa tattacctga cctctaaag ccaactaaga
 23881 ggtcttttat tgaggacttg ctctttaaata aggtgacact cgetgatgct ggcttcatga
 23941 agcaatatgg cgaatgccta ggtgatatta atgctagaga tctcatttgt gcgcagaagt
 24001 tcaatggact tacagtgttg ccacctctgc tcaactgatga tatgattgct gcctacactg
 24061 ctgctctagt tagtggtaact gccactgctg gatggacatt tgggtctggc gctgctcttc
 24121 aaataccttt tgctatgcaa atggcatata ggttcaatgg cattggagtt acccaaatg
 24181 ttctctatga gaaccaaaaa caaatcgcca accaatttaa caaggcgatt agtcaaatc
 24241 aagaatcact tacaacaaca tcaactgcat tgggcaagct gcaagacgtt gttaccaga
 24301 atgctcaagc attaaacaca cttgttaaac aacttagctc taattttggg gcaatttcaa
 24361 gtgtgctaaa tgatatcctt tcgcgaottg ataaagtcca ggaggaggta caaattgaca
 24421 ggtaatttac aggcagactt caaagccttc aaacctatgt aacacaacaa ctaatcaggg
 24481 ctgctgaaat cagggcttct gctaactctg ctgctactaa aatgtctgag tgtgttctg
 24541 gacaatcaaa aagagttgac ttttgtggaa agggctacca ccttatgtcc ttcccacaag
 24601 cagccccgca tgggtgtgtc ttctacatg tcacgtatgt gccatcccag gagaggaaact
 24661 tcaccacagc gccagcaatt tgtcatgaag gcaagcata ctccctcgt gaagggtttt

24721 ttgtgtttaa tggcacttct tggtttatta cacagaggaa cttcttttct ccacaaataa
 24781 ttactacaga caatacattt gtctcaggaa attgtgatgt cgttattggc atcattaaca
 24841 acacagttta tgatcctctg caacctgagc ttgactcatt caaagaagag ctggacaagt
 24901 acttcaaaaa tcatacatca ccagatgttg atccttggcg caattcaggc attaacgctt
 24961 ctgtcgtcaa cattcaaaaa gaaattgacc gcctcaatga ggtcgctaaa aatttaaatg
 25021 aatcactcat tgaccttcaa gaattgggaa aatatgagca atatatataa tggccttggg
 25081 atgtttggct cggcttcatt gctggactaa ttgccatcgt catggttaca atcttggctt
 25141 gttgcatgac tagttgttgc agttgcctca aggggtgcag ctcttggggt tcttgtctga
 25201 agtttgatga ggatgactct gagccagttc tcaagggtgt caaattacat tacacataaa
 25261 cgaacttatg gatttgttta tgagattttt tactcttaga tcaattactg cacagccagt
 25321 aaaaattgac aatgcttctc ctgcaagtac tgttcatgct acagcaacga taccgctaca
 25381 agcctcactc cctttcggat ggcttgttat tggcgttga tttcttctg tttttcagag
 25441 cgctaccaaa ataattgctc tcaataaaag atggcagcta gccctttata agggctttca
 25501 gttcatttgc aatttactgc tgctatttgt taccatctat tcacatctt tgcttgcgc
 25561 tgcaggatg gagcgcaat ttttctacct ctatgcctg atatatattc tacaatgat
 25621 caacgcatgt agaattatta tgagatgttg gcttggttgg aagtgcaaat ccaagaacct
 25681 attactttat gatgccaaact actttgtttg ctggcacaca cataactatg actactgtat
 25741 accatataac agtgcacag atacaattgt ttactctgaa ggtgacggca tttcaacacc
 25801 aaaactcaaa gaagactacc aaattgggtg ttattctgag gataggcact cagggtgtaa
 25861 agactatgtc gttgtacatg gctatttctac cgaagtctac taccagctg agtctacaca
 25921 aattactaca gacactggta ttgaaaatgc tacattcttc atctttaaca agcttgttaa
 25981 agaccacog' aatgtgcaaa tacacacaat cgacggctct tcaggagtgt ctaatccagc
 26041 aatggatcca atttatgatg agcogacgac gactactagc gtgcctttgt aagcacaaga
 26101 aagtgagtac gaacttatgt actcattcgt ttccgaagaa acaggtactg taatagttaa
 26161 tagcgtactt cttttctctg ctctcgtggt attcttctg gtcacactag ccatacctac
 26221 tgcgcttoga ttgtgtgct actgctgcaa tattgttaac gtgagtttag taaaaccaac
 26281 ggtttacgtc tactcgcgtg ttaaaaatct gaactctct gaaggagtcc ctgatctct
 26341 ggtctaaacg aactaactat tattattatt ctgtttggaa ctttaacatt gottatcatg
 26401 gcagacaacg gtactattac cgttgaggag cttaaaacac tcctggaaca atggaaccta
 26461 gtaataggtt tctattcct agcctggatt atgttactac aatttgcta ttctaactcg
 26521 aacaggtttt tgtacataat aaagcttgtt ttcctctggc tcttgtggcc agtaacactt
 26581 gcttgttttg tgcttgcctg tgtctacaga attaattggg tgactggcgg gattgcgatt
 26641 gcaatggctt gtattgtagg cttagatgtg cttagctact tcgttgcttc cttcagctg
 26701 tttgtctgta cccgctcaat gtggctcatt aaccagaaa caaacattct tctcaatgtg
 26761 cctctccggg ggacaattgt gaccagaccg ctcatggaaa gtgaacttgt cattgggtgt
 26821 gtgatcattc gtggctcatt gcgaatggcc ggacactccc tagggcgctg tgacattaag
 26881 gacctgcaa aagagatcac tgtggctaca tcaogaacgc tttcttatta caaattagga
 26941 gcgtgcgagc gtgtaggcac tgattcaggt ttgctgcat acaaccgcta ccgtattgga
 27001 aactataaat taaatacaga ccacgccggt agcaacgaca atatgtctt gctagtacag
 27061 taagtgacaa cagatgtttc atcttgttga cttccaggtt acaatagcag agatattgat
 27121 tatcattatg aggactttca ggattgctat ttggaatctt gacgttataa taagttcaat
 27181 agtgagacaa ttatttaagc ctctaactaa gaagaattat tcggagttag atgatgaaga
 27241 acctatggag ttagattatc cataaaacga acatgaaaat tattctcttc ctgacattga
 27301 ttgtatttcc atcttgcgag ctatatcact atcaggagtg tgttagaggt acgactgtac
 27361 tactaaaaga accttgccca tcaggaacat acgagggcaa ttcaccattt caccctcttg
 27421 ctgacaataa atttgcacta acttgcacta gcacacactt tgcttttctg tgtgctgagc
 27481 gtactcgaca tacctatcag ctgctgcaa gatcagtttc accaaaactt tctatcagac
 27541 aagaggaggt tcaacaagag ctctactcgc cactttttct cattgttctg gctctagtat
 27601 ttttaatact ttgcttcacc attaagagaa agacagaatg aatgagctca ctttaattga
 27661 cttctatttg tgctttttag cctttctgct attccttgtt taataatgc ttattatatt
 27721 ttggttttca ctgaaatcc aggatctaga agaacctgt accaaagtct aaacgaacat
 27781 gaaacttctc attgtttga cttgtatttc tctatgcagt tgcataatga ctgtagtaca
 27841 gcgctgtgca tetaataaac ctcatgtgct tgaagatcct tgaaggtac aacactaggg
 27901 gtaatactta tagcactgct tggctttgt ctctaggaaa ggttttacct tttcatagat
 27961 ggcacactat ggttcaaca tgcacaccta atgttactat caactgtcaa gatccagctg
 28021 gtggtgcgct tatagctagg tgttggtaac ttcatgaagg tcaccaaact gctgcattta
 28081 gagacgtact tgttgtttta aataaacgaa caaattaaaa tgtctgataa tggacccaa
 28141 tcaaaccaac gtagtgccc ccgcattaca tttgggtggac ccacagatcc aactgacaat

```

28201 aaccagaatg gaggacgcaa tggggcaagg ccaaaacagc gccgacccca aggtttaccc
28261 aataatactg cgtcttgggt cacagctctc actcagcatg gcaaggagga acttagattc
28321 cctcgaggcc agggcgttcc aatcaacacc aatagtggtc cagatgacca aattggctac
28381 taccgaagag ctaccgcagc agttcgtggt ggtgacggca aaatgaaaga gctcagcccc
28441 agatgggtact tctattacct aggaactggc ccagaagctt cacttcctta cggcgctaac
28501 aaagaaggca tcgtatgggt tgcaactgag ggagccttga ataccacca agaccacatt
28561 ggcacccgca atcctaataa caatgtgcc accgtgctac aacttcctca aggaacaaca
28621 ttgccaaaag gcttctacgc agaggggagc agagggcgca gtcaagcctc ttctcgtctc
28681 tcatcacgta gtcgcggtaa ttcaagaaat tcaactcctg gcagcagtag gggaaattct
28741 cctgctcgaa ttgctagcgg aggtggtgaa actgcctcgt cgctattgct gctagacaga
28801 ttgaaccagc ttgagagcaa agtttctggt aaaggccaac aacaacaagg ccaaactgtc
28861 actaagaaat ctgctgctga ggcatctaaa aagcctcgcc aaaaacgtac tgccacaaaa
28921 cagtacaacg tcaactcaagc atttgggaga cgtgggtccag aacaacacca aggaaatttc
28981 ggggaccaag acctaatacag acaaggaact gattacaac attggccgca aattgcacaa
29041 tttgctccaa gtgcctctgc attctttgga atgtcacgca ttggcatgga agtcacacct
29101 tcgggaacat ggctgactta tcatggagcc attaaattgg atgacaaaaga tccacaattc
29161 aaagacaacg tcatactgct gaacaagcac attgacgcat acaaacatt cccaccaaca
29221 gagcctaaaa aggacaaaaa gaaaagact gatgaagctc agcctttgcc gcagagacaa
29281 aagaagcagc ccactgtgac tcttctctc ggggtgaca tggatgattt ctccagacaa
29341 cttcaaaatt ccatgagtgg agcttctgct gattcaactc aggcataaac actcatgatg
29401 accacacaag gcagatgggc tatgtaaacg ttttcgcaat tccgtttacg atacatagtc
29461 tactcttgtg cagaatgaat tctcgttaact aaacagcaca agtaggttta gtttaacttta
29521 atctcacata gcaatcttta atcaatgtgt aacattaggg aggacttgaa agagccacca
29581 cttttctatc gaggccacgc ggagtacgat cgaggggtaca gtgaataatg ctaggagagag
29641 ctgcctatat ggaagagccc taatgtgtaa aattaatttt agtagtgcta tccccatgtg
29701 attttaatat cttcttagga gaatgacaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

【 手続補正 3 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 0 3 3

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 0 3 3 】

DIssA-特異的配列を含有するクローンの単離：DIssA関連サブゲノムRNAを増幅するために、まずプライマーとしてオリゴヌクレオチド1116(5'-CTGAAACTCTTTCCCT-3') (配列番号2)を用いてcDNAを細胞内RNAから合成するが、このオリゴヌクレオチドはプラス鎖MHV mRNAと、mRNA7の5'末端から250-267ヌクレオチドの位置で結合する。その後MHV-特異的cDNAをオリゴヌクレオチド78(5'-AGCTTTACGTACCCTCTCTACTATAAACTCTTGTAGTTT-3') (配列番号3)とともにインキュベートするが、このオリゴヌクレオチドは、RCPバッファー(0.05 M KCl、0.01 M Tris-HCl [pH 8.3]、0.0025 M MgCl₂、0.01% ゼラチン、0.17 m M の各デオキシヌクレオシド三リン酸、5 U Taq ポリメラーゼ [Promega])中で93.8 にて30秒、37.8 にて45秒、および72.8 にて100秒を25サイクル繰り返して、MHV RNAのアンチリーダー配列に結合する。DIssAサブゲノムRNAはアガロースゲル電気泳動によって分離され、MHVゲノムRNAの3'末端から1.5-1.7kbに相当するプローブとハイブリダイズした。このプローブはすべてのMHV mRNAとハイブリダイズする。DIssAサブゲノムRNA-特異的RT-PCR産物をゲルから溶出して、TAクローニングベクター(Invitrogen)中にクローニングする。DIssA-特異的配列を含有するクローンを、サザンブロット分析用に使用されたプローブを用いてコロニーハイブリダイゼーションによって単離する。DIssA RNAを増幅するために、まずcDNAを、プライマーとしてオリゴヌクレオチド1116を使用することによって、ゲルで精製されたDIssA RNAから合成する。DIssA-特異的cDNAを次に、オリゴヌクレオチド10121(5'-GAAGGGTTGTATGTGTTG-3') (配列番号4)とともにインキュベートするが、このオリゴヌクレオチドは、PCRバッファー中、上記PCR条件下で、マイナス鎖MHV RNAと、遺伝子2の5'末端からヌクレオチド798-815の位置で結合する。DIssA-特異的RT-PCR産物は調製用ゲルから溶出され、TAクローニングベクター中にクローニングする。DIssA-特異的配列を含有するクローンを、MHV遺伝子2-1でハイブリダイズするプローブを用いてコロニーハイブリダイゼーションによって単離する。