

【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1部門第1区分

【発行日】平成20年1月10日(2008.1.10)

【公表番号】特表2003-514576(P2003-514576A)

【公表日】平成15年4月22日(2003.4.22)

【出願番号】特願2001-540121(P2001-540121)

【国際特許分類】

C 12 N	15/09	(2006.01)
C 07 K	14/02	(2006.01)
C 07 K	14/18	(2006.01)
C 07 K	19/00	(2006.01)
C 12 N	1/15	(2006.01)
C 12 N	1/19	(2006.01)
C 12 N	1/21	(2006.01)
C 12 N	7/00	(2006.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)
A 61 K	39/29	(2006.01)
A 61 P	31/20	(2006.01)
C 12 R	1/91	(2006.01)

【F I】

C 12 N	15/00	Z N A A
C 07 K	14/02	
C 07 K	14/18	
C 07 K	19/00	
C 12 N	1/15	
C 12 N	1/19	
C 12 N	1/21	
C 12 N	7/00	
C 12 N	5/00	A
A 61 K	39/29	
A 61 P	31/20	
C 12 N	7/00	
C 12 R	1/91	

【手続補正書】

【提出日】平成19年11月9日(2007.11.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 免疫原としての使用のためのウイルス様粒子であって、該粒子は、第1のB型肝炎ウイルス表面抗原(HBsAg)およびキメラ抗原を含み、該キメラ抗原は、HCV免疫原性ポリペプチドに共有結合された第2のHBsAgを含み、そして該第1および該第2のHBsAgの各々が、実質的に完全なSドメインを含む、ウイルス様粒子。

【請求項2】 前記第1のHBsAgがプレS2ドメインおよびSドメインから基本的になる、請求項1に記載のウイルス様粒子。

【請求項 3】 前記第1のH B s A g がプレS 1 ドメイン、プレS 2 ドメイン、およびS ドメインから基本的になる、請求項2に記載のウイルス様粒子。

【請求項 4】 前記H C V 免疫原性ポリペプチドのカルボキシ末端が、前記第2のH B s A g のアミノ末端に連結されている、請求項1に記載のウイルス様粒子。

【請求項 5】 前記第1のH B s A g が、前記キメラ抗原と比較して過度に発現される、請求項1に記載のウイルス様粒子。

【請求項 6】 請求項5に記載のウイルス様粒子であって、前記第1のH B s A g が、前記キメラ抗原を発現するために使用されるD N A の量の1倍～100倍の量のD N A を使用して発現される、ウイルス様粒子。

【請求項 7】 請求項1に記載のウイルス様粒子であって、前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、H C V E 1 糖タンパク質、H C V E 1 糖タンパク質のフラグメント、H C V E 2 糖タンパク質、またはH C V E 2 糖タンパク質のフラグメントを含む、ウイルス様粒子。

【請求項 8】 請求項1に記載のウイルス様粒子であって、前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、H C V E 1 糖タンパク質、H C V E 1 糖タンパク質のフラグメント、H C V E 2 糖タンパク質、またはH C V E 2 糖タンパク質のフラグメントから基本的になる、ウイルス様粒子。

【請求項 9】 請求項7に記載のウイルス様粒子であって、前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、(a) H C V - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基192～330；または(b)他のH C V 分離物の対応する残基；または(c) (a)もしくは(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ウイルス様粒子。

【請求項 10】 請求項7に記載のウイルス様粒子であって、前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、(a) H C V - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基384～661；または(b)他のH C V 分離物の対応する残基；または(c) (a)もしくは(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ウイルス様粒子。

【請求項 11】 前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、H C V ポリタンパク質のアミノ酸残基384～661から基本的になる、請求項10に記載のウイルス様粒子。

【請求項 12】 前記H C V 免疫原性ポリペプチドが、(1) H C V E 1 糖タンパク質またはそのフラグメントおよび(2) H C V E 2 糖タンパク質またはそのフラグメントを含む、請求項1に記載のウイルス様粒子。

【請求項 13】 免疫原としての使用のためのウイルス様粒子であって、該ウイルス粒子は、第1のH B s A g ならびに第1および第2のキメラ抗原を含み、該第1のキメラ抗原は、第1の免疫原性ポリペプチドに共有結合された第2のH B s A g を含み、該第1の免疫原性ポリペプチドは、H C V E 1 糖タンパク質またはそのフラグメントを含み、該第2のキメラ抗原は、第2の免疫原性ポリペプチドに共有結合された第3のH B s A g を含み、該第2の免疫原性ポリペプチドは、H C V E 2 糖タンパク質またはそのフラグメントを含み、該第1、第2、および第3のH B s A g の各々が、実質的に完全なS ドメインを含む、ウイルス様粒子。

【請求項 14】 前記第1のH B s A g がプレS 2 ドメインおよびS ドメインから基本的になる、請求項13に記載のウイルス様粒子。

【請求項 15】 前記第1のH B s A g がプレS 1 ドメイン、プレS 2 ドメインおよびS ドメインから基本的になる、請求項13に記載のウイルス様粒子。

【請求項 16】 請求項13に記載のウイルス様粒子であって、前記第1の免疫原性ポリペプチドのカルボキシ末端が、前記第2のH B s A g のアミノ末端に連結されており、そして前記第2の免疫原性ポリペプチドのカルボキシ末端が前記第3のH B s A g のアミノ末端に連結されている、ウイルス様粒子。

【請求項 17】 前記第1のH B s A g が、前記第1および第2のキメラ抗原の総量と比較して過度に発現される、請求項13に記載のウイルス様粒子。

【請求項 18】 前記第1のH B s A g が、前記第1および第2のキメラ抗原を発現するために使用されるD N A の総量の1～100倍である量のD N A を使用して発現され

る、請求項 17 に記載のウイルス様粒子。

【請求項 19】 請求項 13 に記載のウイルス様粒子であって、前記第 1 の免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ウイルス様粒子。

【請求項 20】 請求項 13 に記載のウイルス様粒子であって、前記第 2 の免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ウイルス様粒子。

【請求項 21】 請求項 13 に記載のウイルス様粒子であって、前記第 1 の免疫原性ポリペプチドが、HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330 から基本的になり、そして第 2 の免疫原性ポリペプチドが、HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661 から基本的になる、ウイルス様粒子。

【請求項 22】 融合タンパク質であって、以下：

HBSAg の実質的に完全な S ドメイン；および

(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ポリペプチド、を含む、融合タンパク質。

【請求項 23】 前記実質的に完全な S ドメインが、前記ポリペプチドに対して、該ドメインのアミノ末端で共有結合されている、請求項 22 に記載の融合タンパク質。

【請求項 24】 前記ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基を含む、請求項 22 に記載の融合タンパク質。

【請求項 25】 請求項 22 に記載の融合タンパク質であって、配列番号 5 に示されたアミノ酸配列を含むか、または該アミノ酸配列に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、融合タンパク質。

【請求項 26】 融合タンパク質であって、以下：

HBSAg の実質的に完全な S ドメイン；および

(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ポリペプチド、を含む、融合タンパク質。

【請求項 27】 前記実質的に完全な S ドメインが、前記ポリペプチドに対して、該ドメインのアミノ末端で共有結合されている、請求項 26 に記載の融合タンパク質。

【請求項 28】 前記ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基を含む、請求項 26 に記載の融合タンパク質。

【請求項 29】 請求項 26 に記載の融合タンパク質であって、配列番号 7 に示されたアミノ酸配列を含むか、または該アミノ酸配列に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、融合タンパク質。

【請求項 30】 融合タンパク質をコードする核酸分子であって、該融合タンパク質は、

HBSAg の実質的に完全な S ドメイン；および

(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330；または(b)他のHCV 分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ポリペプチド、を含む、核酸分子。

【請求項 31】 前記実質的に完全な S ドメインが、前記ポリペプチドに対して、該ドメインのアミノ末端で共有結合されている、請求項 30 に記載の核酸分子。

【請求項 3 2】 前記ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330 ; または (b) 他の HCV 分離物の対応する残基を含む、請求項 3 0 に記載の核酸分子。

【請求項 3 3】 請求項 3 0 に記載の核酸分子であって、配列番号 4 のヌクレオチド 1992 ~ 3584 を含むか、または該ヌクレオチドに対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、核酸分子。

【請求項 3 4】 融合タンパク質をコードする核酸分子を含むベクターであって、該融合タンパク質は、

HBSAg の実質的に完全な S ドメイン；および

(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330 ; または (b) 他の HCV 分離物の対応する残基；または (c) (a) もしくは (b) に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ポリペプチド、

を含む、ベクター。

【請求項 3 5】 前記実質的に完全な S ドメインが、前記ポリペプチドに対して、該ドメインのアミノ末端で共有結合されている、請求項 3 4 に記載のベクター。

【請求項 3 6】 前記ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 192 ~ 330 ; または (b) 他の HCV 分離物の対応する残基を含む、請求項 3 4 に記載のベクター。

【請求項 3 7】 請求項 3 4 に記載のベクターであって、そのヌクレオチド配列が、配列番号 4 に示されるか、または配列番号 4 に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列である、ベクター。

【請求項 3 8】 融合タンパク質をコードする核酸分子を含むベクターであって、該融合タンパク質は、

HBSAg の実質的に完全な S ドメイン；および

(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661 ; または (b) 他の HCV 分離物の対応する残基；または (c) (a) もしくは (b) に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、ポリペプチド、

を含む、ベクター。

【請求項 3 9】 前記実質的に完全な S ドメインが、前記ポリペプチドに対して、該ドメインのアミノ末端で共有結合されている、請求項 3 8 に記載のベクター。

【請求項 4 0】 前記ポリペプチドが、(a) HCV - 1 ポリタンパク質のアミノ酸残基 384 ~ 661 ; または (b) 他の HCV 分離物の対応する残基を含む、請求項 3 8 に記載のベクター。

【請求項 4 1】 請求項 3 8 に記載のベクターであって、そのヌクレオチド配列が、配列番号 6 に示されるか、または配列番号 6 に対して少なくとも約 80 % の配列同一性を有する免疫原性配列である、ベクター。

【請求項 4 2】 免疫原性組成物であって、以下：

第 1 の HBSAg とキメラ抗原とを含むウイルス様粒子であって、該キメラ抗原が、HCV 免疫抗原ポリペプチドに連結された第 2 の HBSAg を含み、そして、該第 1 および第 2 の HBAg の各々が、実質的に完全な S ドメインを含む、ウイルス様粒子；ならびに

薬学的に受容可能なキャリア、
を含む、免疫原性組成物。

【請求項 4 3】 前記第 1 の HBSAg が、前記キメラ抗原と比較して過度に発現される、請求項 4 2 に記載の免疫原性組成物。

【請求項 4 4】 前記第 1 の HBSAg が、前記キメラ抗原を発現するために使用される DNA の量の 1 倍 ~ 100 倍の量の DNA を使用して発現される、請求項 4 3 に記載の免疫原性組成物。

【請求項 4 5】 前記 HCV 免疫原性ポリペプチドが、HCV E 1 糖タンパク質、HCV E 1 糖タンパク質のフラグメント、HCV E 2 糖タンパク質、または HCV

E 2 糖タンパク質のフラグメントを含む、請求項4_2に記載の免疫原性組成物。

【請求項4_6】 請求項4_2に記載の免疫原性組成物であって、前記HCV免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV-1ポリタンパク質のアミノ酸残基192～330；または(b)他のHCV分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、免疫原性組成物。

【請求項4_7】 前記HCV免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV-1ポリタンパク質のアミノ酸残基192～330；または(b)他のHCV分離物の対応する残基から基本的になる、請求項4_2に記載の免疫原性組成物。

【請求項4_8】 請求項4_2に記載の免疫原性組成物であって、HCV免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV-1ポリタンパク質のアミノ酸残基384～661；または(b)他のHCV分離物の対応する残基；または(c)(a)もしくは(b)に対して少なくとも約80%の配列同一性を有する免疫原性配列を含む、免疫原性組成物。

【請求項4_9】 前記HCV免疫原性ポリペプチドが、(a) HCV-1ポリタンパク質のアミノ酸残基384～661；または(b)他のHCV分離物の対応する残基を含む、請求項4_2に記載の免疫原性組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図3B

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図3B】

配列番号 4 1 TCGCGCGTTT CGGTGATGAC GGTGAAAACC TCTGACACAT GCAGCTCCCC
AGCGCCAAA GCCACTACTG CCACCTTTGG AGACTGTGTA CGTCGAGGGC

51 GAGACGGTCA CAGCCTGTCT GTAAGCGGAT GCCGGGAGCA GACRAGCCCG
CTCTGCCAGT GTCGAACAGA CATTCGCCTA CGGCCCTCGT CTGTTGGGC

101 TCAGGGCGCG TCAGCGGGTG TTGGCGGGTG TCGGGGCTGG CTTAACTATG
AGTCCCCCOC AGTCGCCAC AACCGCCCAC AGCCCCGACC GAATTGATAAC

HindIII

151 CGGCATCAGA GCAGATGTA CTGAGAGTCC ACCATATGAA GCTTTTGCA
GCCGTAGTCT CGTCTAACAT GACTCTGACG TGGTATACTT CGAAAAACGT

SmaI

AatI

201 AAGGCCTAGG CCTCCAAAAA AGCCTCCTCA CTACTCTGG AATAGCTCAG
TTTGGATCC GGAGGTTTT TCGGAGGAGT GATGAAGACC TTATCGAGTC

SfiI

251 AGGCCGAGGC GGCCTCGGCC TCTGCATAAA TAAAAAAAAT TAGTCAGCCA
TCCGGCTCCG CCGGAGCCCG AGACGTATT ATTFTTTTTA ATCASTCGGT

301 TGGGGCGGAG AATGGGCAGA ACTGGCGGG GAGGGAATTA TTGGCTATTG
ACCCCGCCTC TTACCCGCCC TGACCCGCCCT CTCCCTTAAT AACCGATAAC

351 GCCATTGCAT ACGTGTATC TATATCATAA TATGTACATT TATATTGGCT
CGGTAACGTA TGCAACATAG ATATACTATT ATACATGTAA ATATAACCGA

401 CATGTCCAAT ATGACCGCCA TGTGACATT GATTATTGAC TAGTTATTAA
CTACAGGTTA TACTGGCGT ACAACTGTAA CTAATAACTG ATCAAATAATT

451 TAGTAATCAA TTACGGGTC ATTAGTTCAT AGCCCATATA TGGAGTTCCG
ATCATTAGTT AATGCCCGAG TAATCAAGTA TCGGGTATAT ACCTCAAGGC

501 CGTTACATAA CTTACGGTAA ATGGCCCGCC TGGCTGACCC CCCAACGACC
GCAATGTATT GAATGCCATT TACGGGGGG ACCGACTGGC GGTTGGCTGG

551 CCCCCCCATT GACGTCAATA ATGACGTATG TTCCCCATAGT AACGCCAATA
GGGGCGGTAA CTGCACTTAT TACTGCATAC AAGGGTATCA TTGGGTTAT

601 GGGACTTTCC ATTGACGTCA ATGGTGGAG TATTTACGGT AAACGTCCCA
CCCTGAAAGG TAATGCAAGT TACCCACCTC ATAAATGCCA TTTGACGGGT

651 CTTGCCAGTA CATCAAGTGT ATCATATGCC AAGTCCGCC CCTATTGACG
GAACCGTCAT CTAGTTCACAC TAGTATAACGG TTCAGGGGGG GGATAACTGC

701 TCAATGACGG TAAATGGCCC GCCTGGCATT ATCCCCAGTA CATGACCTTA
AGTTACTGCC ATTTACCGG CGGACCGTAA TACGGGTCA GTACTGGAAT

SmaII

751 CGGGACTTTTC CTACTGGCA GTACATCTAC GTATTAGTCA TCGCTATTAC
GCCCTGAAAG GATGAACCGT CATGTAGATG CATAATCAAGT AGCCATAATTG

FIG. 3B

【手続補正3】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図3C

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図3C】

801 CATGGTGATG CGGTTTGGC AGTACACCAA TGGCGTGGA TAGCGGTTG
GTACCACTAC GCCAAAACCG TCATGTGGTT ACCCGCACCT ATGCCAAAC

851 ACTCACGGGG ATTCCAAGT CTCCACCCCA TTGACGTCAA TGGGAGTTG
TGACTGCCCC TAAAGGTTCG GAGGTGGGGT AACGTGAGTT ACCCTCAAAC

901 TTTTGGCACC AAAATCAACG CGACTTTCCA AAATGICGTA ATAACCCCGC
AAAACCGTGG TTTTAGTTGC CCTGAAAGGT TTACAGCAT TATTGGGGCG

951 CCCGTTGACG CAAATGGGCG GTAGGGCTGT ACGGTGGGAG GTCTATATAA
GGGCAACTGC GTTACCCGC CATCCGCACA TGCCACCCCTC CAGATATATT

1001 GCAGAGCTCG TTTAGTGAAC CGTCAGATCG CCTGGAGACG CCATCCACGC
CGTCTCGAGC AAATCACTTC GCAGTCTGAC GGACCTCTGC GGTAGGTGCG

XmaIII

SacII

KspI

EclXI

EagI

1051 TGTGTTGACC TCCATAGAAC ACACCGGGAC CGATCCAGCC TCCGGGGCC
ACAAAACCTGG AGGTATCTTC TGTGGCCCTG GCTAGGTCTGG AGGCGCCGGC

1101 GGAACGGTGC ATTGGAACGC GGATTCGGG TGCCAAAGAGT GACGTAAGTA
CCTTGCCACG TAACCTTGCG CCTAAGGGGC ACGGTTCTCA CTGCATTCT

Ppu10I

NsII

1151 CCGCCTATAG ACTCTATAGG CACACCCCTT TGGCTCTTAT GCATGCTATA
GGCGGATATC TGAGATATCC GTGTGGGAA ACCGAGAATA CGTACGGATAT

1201 CTGTTTTGGG CTTGGGGCCT ATACACCCCCC GCTCCCTATG CTATAGGTGA
GACAAAAACC GAACCCCCGA TATGTGGGGG CGAGGAATAC GATATCCACT

EspI

CeliI

Bpu1102I

1251 TGGTATAGCT TAGCCTATAG GTGTGGGTTA TTGACCATTA TTGACCACTC
ACCATATCGA ATCGGATATC CACACCCAT AACTGGTAAT AACGTGTCAG

1301 CCCTATTGGT GACGATACTT TCCATTACTA ATCCATAACA TGGCTCTTGT
GGGATAACCA CTGCTATGAA AGGTATGAT TAGGTATTGT ACCGAGAAAC

1351 CCACAACTAT CTCTATTGCC TATATGCCAA TACTCTGTCC TTCAGAGACT
GGTGTGATA GAGATAACCG ATATACCGTT ATGAGACAGG AAGTCTCTGA

1401 GACACGGACT CTGTATTGGT ACAGGATGGG GTCCATTAT TATTTACAAA
CTGTGCTGAA GACATAAAA TGTCTACCC CAGGTAATAA ATAATGTTT

FIG. 3C

【手続補正4】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図3H

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図3H】

4101 CTCTGCTGAA CGCGTTAACCTTCGGAAAAA CAGTTGGTAG CTCTTGATCC
GAGACGACTT CGGTCATGG AGCCCTTTTCTCAACCACG GAGAAGCTAGG

4151 GGCAAXCAAACCAACCGGTTAGCGGTGGTTTTTTGTTTGCAGGGAGCA
CCGTTTGTGTTGGTGGCACC ATGGCCACCA AAAAACCAA CGTTCGTCGCT

4201 GATTAACGGCG AGAAAAGAG GATCTCAGA AGATCCCTTG ATCTTTCTA
CTTAATCGCGG TCTTTTTTCCTAGAGTTCTCTAGGAAAC TAGAAAARGAT

4251 CGGGGTCTGA CGCTCAGTGG ARCCGAAACT CACGTTAAGG GATTGGTC
GCCCGAGACT CGGAGTCACC TTGCTTTGAGTGGAAATCC CTAAACCGC

4301 AAGAGATTCTTAAACAAAAGGTTTCACTTAG ATCCCTTTAA ATTAAAARIG
TACTCTATAA GTTTTCCCTA GAAGTGGATC TAGGAAAATT TAATTTTAC

4351 AACTTTTAAATCAATCTAAATGATATATGA GTAAACTTGG TCTGACAGTT
TTCATATTTAGT AGTGTAGATT CATATATACCT CATTGAAAC AGACTGTCAA

4401 ACCAAATGCTT ATCAGTGGAG GCACCTATCT CAGGGATCTG TCTATTTCTG
TGGTTACGAA TTAGICACTC CGTGGATAGA GTGGCTAGAC AGATAARGCA

EcoRI 105I

ApaEI

4451 TCATCCATAG TTGCGCTGACT CCCCGTCTGTTAGATAACTA CGATACGGGA
AGTAGGATAC ARCCGACTGA GGGGCAGCAC ATCTATATGAT GCTATGCCCC

4501 GGGCTTACCA TTGCGGCCAT GTGCTGCAAT GATACCGGGA GACCCACGCT
CCCGAATGGT AGACCGGGGT CACGACCTTA CTATGGCTT CTGGGTGGGA

BsaI

4551 CACCGGCTCC AGATTTATCA GCAATAAACCG ACCAGACGGG AAGGGCCGAG
GGGGCGGAGG TCTTAATAGT CGTTATTTGG TCGGTGGCC TTCCCGGCTC

4601 CGCAGRAGTG GTCTGCCAAC TTATCGGCC TCCATCCAGT CTATTAATG
CCGTCTTCAC CAGGACGTG AAATAGGCGG AGGTAGGTC GATRATTAAAC

4651 TTGCGGGAA CCTAGAGTAA GTAGTTGCC ACTTAATATGTTGCGGAGG
AACGGCCCTT CGATCTCATC CTCACACGG TCAATTAAAC AACGGCTTGC

4701 TTGTTGCCAT TGCTACGGC ATCGTGGTGT CACGCTCGTC GTTTGGTATG
ACCAACGGTA AGCATGTCGG TAGCACCAAGGAGCAGCAG AACCCATAC

4751 GCTTCATCA GCTCCGGTTC CCAACGATCA AGGGAGGTTA CATGATCCCC
CGAAGTAAGT CGAGGCCAGG GGTGGCTAGT TCCGGCTCATG GTACTAGGGG

PvuI

4801 CATGTTGTCG AAAAAGGGG TTAGCTCTT CGGTCTCCG ATCGTTGICA
GTACAACACG TTTTTGCCA ATCGAGGAA CGCAGGAGC TAGCAACAGT

4851 CAAGTAAGT GGCGCGAGTG TTATCACTCA TGGTTATGGC AGCAGCTGGAT
CTTCATTCAA CGGCGCTCAC AATAGTGAGT ACCAATACGG TCGTGACGTA

4901 AATTCTCTTA CTGTCATGCC ATCCGTAAGA TGCTTTCTG TGACTGGTGA
TTAGAGAAAT GACAGTAAGG TAGGCATTCT AGGAAAGAC ACTGACCACT

FIG. 3H