

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-500880
(P2021-500880A)

(43) 公表日 令和3年1月14日(2021.1.14)

(51) Int.Cl.

C 12 N 15/861 (2006.01)
A 61 P 37/04 (2006.01)
A 61 P 31/12 (2006.01)
A 61 K 35/761 (2015.01)

F 1

C 12 N 15/861
A 61 P 37/04
A 61 P 31/12
A 61 K 35/761

テーマコード(参考)

4 C 087

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 84 頁)

(21) 出願番号 特願2020-521360 (P2020-521360)
(86) (22) 出願日 平成30年10月16日 (2018.10.16)
(85) 翻訳文提出日 令和2年6月11日 (2020.6.11)
(86) 國際出願番号 PCT/EP2018/078210
(87) 國際公開番号 WO2019/076880
(87) 國際公開日 平成31年4月25日 (2019.4.25)
(31) 優先権主張番号 62/572,944
(32) 優先日 平成29年10月16日 (2017.10.16)
(33) 優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(71) 出願人 305060279
グラクソsmithkline バイオロジカル
ズ ソシエテ アノニム
ベルギー ベーー1330 リクセンサー
ル リュ ドランスティテュ 89
(74) 代理人 110002572
特許業務法人平木國際特許事務所
(72) 発明者 コロカ, ステファノ
イタリア国 ローマ, ヴィア サラリア
73, レイセラ エスアールエル
F ターム(参考) 4C087 AA01 AA02 BC83 NA14 ZB09
ZB33

最終頁に続く

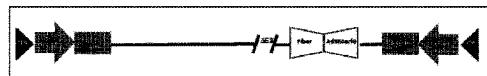
(54) 【発明の名称】 2つの発現カセットを有するサルアデノウイルスベクター

(57) 【要約】

本発明は、2つの発現カセットを含むサルアデノウイルスベクターであって、各発現カセットが導入遺伝子およびプロモーターを含み、第1発現カセットが該サルアデノウイルスベクターのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットがベクター複製に適合する該アデノウイルスベクターの領域に挿入されている、該サルアデノウイルスベクターを提供する。

【選択図】図7

FIG. 7



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

2つの発現カセットを含むサルアデノウイルスベクターであって、各発現カセットが導入遺伝子およびプロモーターを含み、第1発現カセットが該サルアデノウイルスベクターのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットがベクター複製に適合する該アデノウイルスベクターの領域に挿入されている、該サルアデノウイルスベクター。

【請求項 2】

2つの発現カセットを含むサルアデノウイルスベクターであって、各発現カセットが導入遺伝子およびプロモーターを含み、第1発現カセットが該サルアデノウイルスベクターのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットが該サルアデノウイルスベクターのE3領域、L5およびE4の終止コドン間(「HE1」領域)またはITRの末端とE4 mRNAのキャップ部位との間(「HE2」領域)に挿入されている、該サルアデノウイルスベクター。

10

【請求項 3】

前記第2発現カセットが前記サルアデノウイルスベクターのE3領域に挿入されている、請求項2に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 4】

前記第2発現カセットが前記サルアデノウイルスベクターのHE1領域に挿入されている、請求項2に記載のサルアデノウイルスベクター。

20

【請求項 5】

前記第2発現カセットが前記サルアデノウイルスベクターのHE2領域に挿入されている、請求項2に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 6】

前記ベクターがチンパンジーアデノウイルスベクターである、請求項1～5のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 7】

前記ベクターがアデノウイルスである、請求項1～6のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 8】

前記ベクターがChAd155である、請求項7に記載のサルアデノウイルスベクター。

30

【請求項 9】

前記ベクターがChAd83である、請求項7に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 10】

前記第1発現カセットがヒトCMVまたは増強されたヒトCMVプロモーターを含む、請求項1～9のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 11】

前記第2発現カセットがヒトCMVまたは増強されたヒトCMVプロモーターを含む、請求項1～10のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 12】

前記の増強されたhCMVプロモーターが、配列番号6に対して少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%の配列同一性を有する核酸配列を有する、請求項10または11に記載のサルアデノウイルスベクター。

40

【請求項 13】

前記プロモーターが配列番号6の核酸配列を含むかまたは配列番号6の核酸配列からなる、請求項10～12のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 14】

前記の第1および第2発現カセットが異なるプロモーターを含む、請求項1～13のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 15】

前記アデノウイルスベクターが哺乳動物細胞に感染する能力を有する、請求項1～14の

50

いずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 16】

前記の第1および／または第2発現カセットが転写後調節エレメントをさらに含む、請求項1～15のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 17】

前記転写後調節エレメントがウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメントである、請求項16に記載のサルアデノウイルスベクター。

【請求項 18】

請求項1～17のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクターと、製薬上許容される賦形剤とを含む、組成物。

【請求項 19】

薬剤として使用するための、請求項1～18のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクターまたは組成物。

【請求項 20】

ワクチンとして使用するための、請求項1～19のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクターまたは組成物。

【請求項 21】

疾病の治療または予防のための、請求項1～20のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクターまたは組成物。

【請求項 22】

対象に、請求項1～21のいずれか1項に記載のサルアデノウイルスベクターまたは組成物を投与することを含む、該対象において免疫応答を誘導する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、ASCIIフォーマットとして電子データにて提出され、かつその全内容が参照により本明細書中に組み込まれるものとする配列表を含む。2018年10月11日に作成されたこのASCIIコピーは、ファイル名がVU66441A_WO_SL.txtであり、かつそのサイズは178,926バイトである。

【0002】

本発明の属する技術分野

本発明は組換えアデノウイルスベクターの分野に属する。本発明は2つの発現カセットを含むアデノウイルスベクターに関する。特に、本発明は、2つの発現カセットを含むチンパンジー(chimp)アデノウイルスなどのサルアデノウイルスに関する。

【背景技術】

【0003】

組換えアデノウイルスは、遺伝子治療において、またワクチンとして、有用である。

【0004】

ヒトアデノウイルスは、その大きな導入遺伝子容量、および多様な標的組織において高効率の遺伝子導入を達成するその能力のため、遺伝子導入用途に広く用いられている。

【0005】

しかし、大抵のヒトはヒトアデノウイルスに曝露されると該ヒトアデノウイルスに対する免疫を発達させる。従って、標的に分子を有効に送達し、かつヒトアデノウイルス血清型に対する既存の免疫の影響を最小限に抑えるベクターの需要がある。サルアデノウイルスはこの点で有効であり、それらはヒトウイルスと十分に近縁であるため、ヒトが既存の免疫を殆どまたは全く持たない、送達された外来抗原に対する免疫を誘導する上で有効である。従って、サルアデノウイルスに基づくウイルスベクターは、核酸ベースのワクチンの開発のための、ヒト由来アデノウイルスベクターの使用に代わる手段を提供しうる。

【0006】

10

20

30

40

50

複製欠損アデノウイルスはそのゲノムを細胞の内部に送達し、またそれらは複製しないことから、導入遺伝子搭載物を増幅しない。典型的には、E1遺伝子を、選択されたプロモーターおよび目的の遺伝子または遺伝子群に対応する核酸配列を含む導入遺伝子カセットと置換し、結果として複製欠損組換えウイルスを得る。

【0007】

改善された組換えアデノウイルスが当分野で必要とされている。

【発明の概要】

【0008】

本発明は、2つの発現カセットを含むサルアデノウイルスベクターに関する。特に、本発明は、2つの発現カセットを含むチンパンジー(chimp)アデノウイルスなどのサルアデノウイルスに関する。適切なchimpアデノウイルスの具体例としては、ChAd155およびChAd83が挙げられる。

10

【0009】

本発明のアデノウイルスベクターは、対象における免疫応答の誘導のため免疫原性組成物、治療におけるその使用のための方法および製造のための工程の構成要素として有用である。

【0010】

用語「ベクター」は、遺伝物質を含有または運搬し、かつ生物に外来遺伝子を導入するために使用できる作用物質(例えば、プラスミドまたはウイルス)を指す。本発明のアデノウイルスベクターは、「サルアデノウイルス」とも称される、非ヒトサルアデノウイルスに由来する。好ましくは、本発明のサルアデノウイルスベクターは、サルアデノウイルスである。

20

【0011】

本発明のアデノウイルスベクター中の各発現カセットは、導入遺伝子およびプロモーターを含む。「導入遺伝子」は、目的のポリペプチドをコードする、該導入遺伝子に隣接するベクター配列にとって異種の核酸配列である。この核酸コード配列は、宿主細胞における導入遺伝子の転写、翻訳、および/または発現を可能にする形で調節性の構成要素に動作可能に連結されている。「プロモーター」は、RNAポリメラーゼの結合を可能にし、かつ遺伝子の転写を指令するヌクレオチド配列である。典型的には、プロモーターは、転写開始部位に近接する、遺伝子の非コード領域内に位置する。

30

【0012】

本発明のアデノウイルスベクターにおいて、第1発現カセットは該ウイルスのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットは該アデノウイルスベクターの別の領域に挿入されている。

【0013】

本発明の2つの発現カセットを含むサルアデノウイルスベクターにおいて、第1発現カセットは該サルアデノウイルスベクターのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットはベクター複製に適合する該アデノウイルスベクターの領域に挿入されている。このアデノウイルスベクターゲノムの領域は、この領域の破壊が該アデノウイルスベクターの複製する能力に影響を与えない場合、「ベクター複製に適合する(しうる)」とみなされる。

40

【0014】

好ましくは、本発明のアデノウイルスベクターにおいて、第1発現カセットは該ウイルスのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットは該アデノウイルスベクターのE3、HE1またはHE2領域に挿入されている。当分野では周知の通り、E3遺伝子は、ウイルス複製に向けて宿主細胞を調整するために、形質導入の初期段階に発現される。E3は免疫のモジュレーションに関与している。用語「HE1」は、L5およびE4の終止コドン間に位置する部位を説明するために使用される。用語「HE2」は、ITRの末端とE4 mRNAのキャップ部位との間に位置する部位を定義するために使用されている。

【0015】

例えば、ChAd155アデノウイルスベクターの場合：

50

- ・HE1 ChAd155：配列番号1のbp 34611と34612の間の挿入部位。
- ・HE2 ChAd155：配列番号1のbp 37662と37663の間の挿入部位。

【 0 0 1 6 】

別の具体例では、ChAd83アデノウイルスベクターの場合：

- ・HE1 ChAd83：配列番号2のbp 33535と33536の間の挿入部位。
- ・HE2 ChAd83：配列番号2のbp 36387と36388の間の挿入部位。

【 0 0 1 7 】

第1発現カセットをアデノウイルスベクターのE1領域に挿入するので、天然のE1領域は欠失させる。該ベクターのクローニング能を増大させるために、天然のE3領域を該アデノウイルスベクターから除去することができる。天然のE3領域は、第2発現カセットをE3領域に挿入する本発明の実施形態、または第2発現カセットをE3領域に挿入しない実施形態において、該アデノウイルスベクターから欠失させることができる。HE1またはHE2部位への挿入は、該ベクターの骨格のいずれの特定配列の欠失も必要としない。

10

【 0 0 1 8 】

好ましくは、第2発現カセットをアデノウイルスベクターのHE1またはHE2領域に挿入する。最も好ましくは、第2発現カセットをアデノウイルスベクターのHE2領域に挿入する。一実施形態においては、天然のE3領域をアデノウイルスベクターから欠失させることにより該ベクターのクローニング能を増大させると共に、第2発現カセットを該アデノウイルスベクターのHE1またはHE2領域に挿入する。

20

【 0 0 1 9 】

本発明の実施形態においては、アデノウイルスベクターの第1発現カセットがヒトCMVもしくは増強されたヒトCMVプロモーターを含んでいてもよく、かつ／または第2発現カセットがヒトCMVもしくは増強されたヒトCMVプロモーターを含んでいてもよい。

【 0 0 2 0 】

好適な実施形態において、第1および第2発現カセットは異なるプロモーターを含む。例えば、一実施形態においては、第1発現カセットがヒトCMVプロモーターを含んでいてもよく、かつ第2発現カセットが増強されたヒトCMVプロモーターを含んでいてもよい(またはその逆であってもよい)。

【 0 0 2 1 】

本発明の一態様においては、第1発現カセットがアデノウイルスのE1領域に挿入されており、かつ第2発現カセットがベクター複製に適合するアデノウイルスベクターの領域に挿入されており、該第1および第2発現カセットのうちの少なくとも1つが増強されたCMVプロモーターを含む、本発明のアデノウイルスベクターが提供される。幾つかの実施形態においては、増強されたhCMVプロモーターは、配列番号6に対して、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、またはそれ以上の配列同一性を有する核酸配列を含みうる。幾つかの実施形態において、該プロモーターは、配列番号6の核酸配列を含むか、または配列番号6の核酸配列からなる。

30

【 0 0 2 2 】

本発明のアデノウイルスベクターは、サルアデノウイルスベクターに由来するもの、例えば、チンパンジー(Pan troglodytes)、ボノボ(Pan paniscus)、ゴリラ(Gorilla gorilla)ならびにオランウータン(スマトラオランウータン(Pongo abelii)およびボルネオオランウータン(Pongo pygmaeus))に由来するものである。チンパンジーアデノウイルスとしては、AdY25、ChAd3、ChAd19、ChAd25.2、ChAd26、ChAd27、ChAd29、ChAd30、ChAd31、ChAd32、ChAd33、ChAd34、ChAd35、ChAd37、ChAd38、ChAd39、ChAd40、ChAd63、ChAd83、ChAd155、ChAd15、SadV41、sAd4310A、sAd4312、SAdV31、SAdV-A1337、ChAdOx1、ChAdOx2およびChAd157が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、本発明のサルアデノウイルスベクターは、ChAd83またはChAd155アデノウイルスベクター、最も好ましくはChAd155アデノウイルスベクターである。

40

【 0 0 2 3 】

50

好ましくは、本発明のアデノウイルスベクターは、ヒト対象において30%未満、好ましくは10%未満の血清陽性率を示し、また最も好ましくは、ヒト対象において血清陽性率を示さない。

【0024】

好適な実施形態において、本発明のサルアデノウイルスベクターは、哺乳動物細胞に感染する能力を有する。

【0025】

一実施形態において、本発明のアデノウイルスベクターの第1および第2発現カセットは、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)由来の導入遺伝子を含む。例えば、一実施形態においては、該発現カセットのうちの一方がRSV F抗原を含み、かつ他方の発現カセットがRSV MおよびN抗原を含む。かかる実施形態においては、該ベクターは、好ましくはRSV F0 TM抗原(膜貫通領域および細胞質領域を欠失させた融合(F)タンパク質)、ならびにRSV M2-1(抗転写終結(transcription anti-termination))およびN(ヌクレオカプシド)抗原をコードする。

10

【0026】

また本発明は、サルアデノウイルスベクターと製薬上許容される賦形剤を含む組成物も提供する。

【0027】

さらに、本発明は、薬剤、ワクチンとして使用するため、および/または疾病の治療もしくは予防のための、サルアデノウイルスベクターまたはかかるアデノウイルスベクターを含む組成物も提供する。

20

【0028】

また本発明は、対象に前記サルアデノウイルスベクターまたは前記組成物を投与することを含む、該対象において免疫応答を誘導する方法も提供する。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】図1は、単一発現カセットを有するサルアデノウイルス構築物を示す図である。逆方向末端反復配列(ITR)は3'および5'末端に隣接しており、E1は初期遺伝子1であり、CMVはサイトメガロウイルスプロモーターであり、CASIはCASIプロモーターであり、RGはモデル抗原であり、WPREはウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(Woodchuck Hepatitis Postranscriptional Regulatory Element)であり、E3は初期遺伝子3が欠失していることを示しており、ファイバーはファイバータンパク質をコードするアデノウイルス遺伝子を示しており、かつE4は初期遺伝子4である。3つの異なるサルアデノウイルスベクターを図1に示す。図1のベクター(i)はアデノウイルスゲノムのE3領域の代わりに導入遺伝子発現カセットを挿入することにより構築し(「RC1」)(上部パネル)、図1のベクター(ii)はHE1領域内、すなわち、ファイバー遺伝子およびE4領域の終止コドン間に導入遺伝子発現カセットを挿入することにより形成し(「RC3」)(中央パネル)、また図1のベクター(iii)はHE2領域内、すなわち、ITRの末端とE4 mRNAのキャップ部位との間に導入遺伝子発現カセットを挿入することにより作製した(「RC2」)(下部パネル)。

30

【図2A】図2Aは、初代ヒト細胞系における、導入遺伝子カセットがE3およびHE2部位に挿入されているChAd155およびChAd83(図1のRC1およびRC2ベクター)の產生を示す図である。

40

【図2B】図2Bは、感染後2および7日目のヒトMRC5細胞系における、導入遺伝子カセットがE3、HE1およびHE2に挿入されているChAd83(図1のRC1、RC2およびRC3ベクター)の產生を示す図である。細胞には250および1250の感染多重度で感染させた。

【図3A】図3Aは、初代ヒト細胞系における図1のRC1およびRC2ベクター(ChAd155およびChAd83)の全ウイルスゲノムコピー数を示す図である。

【図3B】図3Bは、感染後2および7日目のヒトMRC5細胞系における、図1のChAd83ベクターのRC1、RC2およびRC3バージョンの全ウイルスゲノムコピー数を示す図である。細胞には250および1250の感染多重度で感染させた。

50

【図4】図4は、マウス細胞系(図4(a)、上部パネル)および非ヒト靈長類細胞系(図4(b)、下部パネル)における、図1のChAd155 RC1およびRC2ベクターならびにChAd83 RC1およびRC2ベクターの全ウイルスゲノムコピー数を示す図である。細胞には50および250の感染多重度で感染させた。

【図5-1】図5は、感染後2および5日目にウェスタンプロットにより実証された、マウス細胞系においてモデル狂犬病糖タンパク質(RG)導入遺伝子を発現するChAd155 RC1およびRC2ベクターの発現レベルの比較を示す図である(図5(a)、上部パネル)。図5は、感染後2および5日目にウェスタンプロットにより実証された、マウス細胞系においてモデル狂犬病糖タンパク質(RG)導入遺伝子を発現するChAd155 RC1およびRC2ベクターとChAd83 RC1およびRC2ベクターの発現レベルの比較を示す図である(図5(b)、下部パネル)。細胞には50、250および1250の感染多重度で感染させた。

【図5-2】図5(c)は、感染後2および7日目にウェスタンプロットにより実証された、ヒトMRC5細胞系においてモデル狂犬病糖タンパク質(RG)導入遺伝子を発現するChAd83 RC1、RC2およびRC3ベクターの発現レベルの比較を示す図である。細胞には250および1250の感染多重度で感染させた。

【図6】図6は、単一発現力セッタを有する別のサルアデノウイルス構築物を示す図である。逆方向末端反復配列(ITR)は3'および5'末端に隣接しており、ヒトCMV(hCMV)はサイトメガロウイルスプロモーターであり、F TM(F0DTM)およびN.M2-1はRSV抗原であり、2Aは自己切断型連結配列であり、E4は初期遺伝子4が欠失していることを意味しており、ファイバーはファイバータンパク質をコードするアデノウイルス遺伝子を意味している。図6のベクターでは、導入遺伝子発現力セッタがアデノウイルスゲノムのE1領域の代わりに挿入されている。

【図7】図7は、二重(dual)発現力セッタを有する本発明によるサルアデノウイルス構築物を示す図である。逆方向末端反復配列(ITR)は3'および5'末端に隣接しており、ヒトCMV(hCMV)はサイトメガロウイルスプロモーターであり、増強hCMVは増強されたサイトメガロウイルスプロモーターであり、N-M2-1およびF TM(F0DTM)はRSV抗原であり、WPREはウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメントであり、E3は初期遺伝子3が欠失していることを意味しており、ファイバーはファイバータンパク質をコードするアデノウイルス遺伝子を意味しており、かつAd5E4orf6は初期遺伝子4(E4)領域の代わりである。図7のベクターは、アデノウイルスゲノムのE1領域の代わりに第1導入遺伝子発現力セッタを挿入し、かつHE2領域内、すなわち、右のITRの下流に第2導入遺伝子発現力セッタを挿入することにより構築した。

【図8】図8は、非還元条件下で感染後48および96時間目にウェスタンプロットにより実証された、MRC5細胞系においてF0 TM導入遺伝子を発現するベクターの発現レベルの比較を示す図である。細胞には500および1250の感染多重度で感染させた。

【図9】図9は、還元条件下で感染後48時間目にウェスタンプロットにより実証された、MRC5細胞系においてNM2-1導入遺伝子を発現しているベクターの発現レベルの比較を示す図である。細胞には250および1250の感染多重度で感染させた。

【図10】図10は、RSV抗原F0 TM(F Tm)を発現するChAd155ベクター由来の免疫原性の比較を示す図である。データは、 5×10^8 個のウイルス粒子の投与によるワクチン接種後4週および8週目に収集した。

【図11】図11は、M2 RSV抗原を発現するChAd155ベクター由来の免疫原性の比較を示す図である。データは、 10^7 または 10^6 個のウイルス粒子の投与によるワクチン接種後3週目に収集した。

【図12A】図12Aは、ChAd155ベクター由来の肺T細胞応答を調査するための実施例9の実験で得た結果を例示した図である。図12AはCD4+応答を示している。

【図12B】図12Bは、ChAd155ベクター由来の肺T細胞応答を調査するための実施例9の実験で得た結果を例示した図である。図12BはCD8+応答を示している。

【図13A】図13Aは、ChAd155ベクター由来の末梢T細胞応答を調査するための実施例9の実験で得た結果を示す図である。図13AはPBMC CD4+応答を示している。

10

20

30

40

50

【図13B】図13Bは、ChAd155ベクター由来の末梢T細胞応答を調査するための実施例9の実験で得た結果を示す図である。図13BはPBMC CD8+応答を示している。

【図14A】図14Aもまた実施例9で得た結果を示す図である。図14AはRSV中和Ab力値を示している。

【図14B】図14Bもまた実施例9で得た結果を示す図である。図14Bは日付D90で得たnAbのD0に対する比を例示している。

【図15A】図15Aは、実施例10の免疫原性実験の結果を示す図である。

【図15B】図15Bは、実施例10の免疫原性実験の結果を示す図である。

【図15C】図15Cは、実施例10の免疫原性実験の結果を示す図である。

【図16A】図16Aは、実施例11においてベクターのHeLa細胞における発現を利用して取得したウェスタンプロットを示す図である。 10

【図16B】図16Bは、実施例11においてベクターのHeLa細胞における発現を利用して取得したウェスタンプロットを示す図である。

【図17】図17は、実施例12のCRPV実験の結果を例示した図である。

【図18】図18は、実施例13のHPV二重カセットベクターの特徴付けの結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0030】

配列のアノテーション

配列番号1 - 野生型ChAd155をコードするポリヌクレオチド配列

配列番号2 - 野生型ChAd83をコードするポリヌクレオチド配列

配列番号3 - CAS1プロモーターをコードするポリヌクレオチド配列

配列番号4 - ChAd155/RSVをコードするポリヌクレオチド配列

配列番号5 - RSV F0 TM-N-M2-1アミノ酸配列

配列番号6 - 増強されたhCMVプロモーターをコードするポリヌクレオチド配列

配列番号7 - hCMV NM2 bghpolyAカセットをコードするポリヌクレオチド配列

配列番号8 - NM2アミノ酸(タンパク質)配列

配列番号9 - hCMV F0 WPRE bghpolyAカセットをコードするポリヌクレオチド配列

配列番号10 - F0アミノ酸(タンパク質)配列

配列番号11 - フレキシブルリンカーのアミノ酸配列

配列番号12 - フレキシブルリンカーのアミノ酸配列

【0031】

本発明の詳細な説明

アデノウイルス

アデノウイルスは、約36 kbの線状二本鎖DNAゲノムを持つ非エンベロープ型正二十面体ウイルスである。アデノウイルスは、分裂細胞と非分裂細胞の両方を含む幾つかの哺乳動物種の多数の細胞型に、宿主細胞のゲノムに組み込むこと無く形質導入することができる。それらはその証明済みの安全性、多様な標的組織において高効率の遺伝子導入を達成するその能力、およびその大きな導入遺伝子容量のため、遺伝子導入用途に広く用いられている。ヒトアデノウイルスベクターは、遺伝子治療およびワクチンに現在使用されているが、一般的なヒトアデノウイルスへの以前の曝露後の、既存免疫の高い世界的発生率という欠点を有する。 40

【0032】

アデノウイルスは、3種の主要なタンパク質、ヘキソン(II)、ペントンベース(III)およびノブを有するファイバー(IV)を、幾つかの他の微量のタンパク質、VI、VIII、IX、IIIaおよびIVa2と共に含む正二十面体カプシドを持つ特徴的な形態を有する。ヘキソンはカプシドの構成成分の大半を占めており、該カプシドは240個の三量体ヘキソンカプソメアと2個のペントンベースからなる。ヘキソンは3つの保存された二重バレルを有し、またその頂部は3つのタワーを有し、各タワーはカプシドの大部分を形成する各サブユニット由来のループを含有する。ヘキソンの基部はアデノウイルスの血清型間で高度に保存されてい 50

るが、表面のループは可変性である。ペントンはもう1つのアデノウィルスカプシドタンパク質であり、ファイバーが結合する五量体のベースを形成する。三量体ファイバータンパク質は、カプシドの12個の頂点の各々でペントンベースから突出し、ノブを有する棒状構造をとる。ファイバータンパク質の主な役割は、ノブ領域と細胞受容体との相互作用を介して細胞表面にウイルスカプシドを繋ぎ止めることである。ファイバーの可動性シャフト、ならびにノブ領域の変動は、種々のアデノウィルス血清型に特有である。

【0033】

アデノウィルスのゲノムは十分に特徴付けられている。その線状の二本鎖DNAは強塩基性タンパク質VIIおよび小ペプチドpX(muとも称される)と結合している。別のタンパク質であるVは、このDNA-タンパク質複合体と共にパッケージングされ、タンパク質VIを介してカプシドへの構造的連結を提供する。同様に配置されている特定のオープンリーディングフレーム、例えば各ウイルスのE1A、E1B、E2A、E2B、E3、E4、L1、L2、L3、L4およびL5遺伝子の位置に関しては、アデノウィルスゲノムの組織全体に普遍的な保存が認められる。アデノウィルスゲノムの各末端は、ウイルス複製に必要である、逆方向末端反復配列(1TR)として知られる配列を含む。アデノウィルスゲノムの5'末端は、パッケージングおよび複製に必要な5'シスエレメント、すなわち、5'ITR配列(複製の起点として機能しうる)ならびに天然の5'パッケージングエンハンサーードメイン(線状アデノウィルスゲノムおよびE1プロモーターのエンハンサー要素をパッケージングするのに必要な配列を含有する)を含有する。アデノウィルスゲノムの3'末端は、パッケージングおよびカプシド形成に必要な3'シスエレメント、例えばITRを含む。該ウイルスはウイルスにコードされたプロテアーゼも含み、該プロテアーゼは感染性ビリオンを产生するために必須の構造タンパク質の一部をプロセシングする際に必要である。

10

20

30

40

【0034】

アデノウィルスゲノムの構造は、宿主細胞形質導入後にウイルス遺伝子が発現されるその順序に基づいて記載されている。より具体的には、該ウイルス遺伝子は、その転写がDNA複製の開始前または開始後に生じるか否かに応じて初期(E)または後期(L)遺伝子と称される。形質導入の初期段階では、アデノウィルスのE1A、E1B、E2A、E2B、E3およびE4遺伝子が、ウイルス複製に向けて宿主細胞を調整するために発現される。E1遺伝子はマスター・スイッチと考えられており、該E1遺伝子は転写アクチベーターとして働き、また初期および後期遺伝子の両方の転写に関与している。E2はDNA複製に関与しており、E3は免疫のモジュレーションに関与しており、かつE4はウイルスmRNAの代謝を調節している。感染の後期段階の間に、ウイルス粒子の構造成分をコードする後期遺伝子L1~L5の発現が活性化される。後期遺伝子は、主要後期プロモーター(MLP)から転写され、これには選択的スプライシングを伴う。

【0035】

HE1およびHE2部位は、これらの特定の場所への挿入がCまたはE型chimpアデノウィルス(例えば、ChAd155およびChAd83)などのchimpアデノウィルスのコード配列または重要な調節配列を分断しないことから、導入遺伝子の潜在的挿入部位として同定された。HE1およびHE2部位は任意のchimpアデノウィルスにおいて配列アラインメントにより同定することができる。従って、ChAdゲノムのHE1およびHE2部位内の発現力セットのクローニングは、該ウイルスの複製サイクルに影響を与えない。

40

【0036】

アデノウィルスの複製

歴史上、アデノウィルスワクチンの開発は、不完全な、非複製型ベクターに重点を置いてきた。それらは、複製に必須であるE1領域遺伝子の欠失により複製欠損となっている。典型的には、非必須E3領域遺伝子を同様に欠失させることで、外来導入遺伝子用の場所を空ける。外来プロモーターの制御下にある導入遺伝子を含む発現力セットをその後挿入する。これらの複製欠損ウイルスをその後、E1補完細胞で產生させる。

【0037】

用語「複製欠損」または「複製不能」アデノウィルスとは、少なくとも機能的欠失(ま

50

たは「機能喪失」変異)、すなわち遺伝子を完全に除去することなく該遺伝子の機能を低下させる欠失もしくは変異、例えば、人工終止コドンの導入、活性部位もしくは相互作用ドメインの欠失もしくは変異、遺伝子の調節配列の変異もしくは欠失等、またはウイルス複製に必須である遺伝子産物をコードする遺伝子、例えば、E1A、E1B、E2A、E2B、E3およびE4(例えば、E3 ORF1、E3 ORF2、E3 ORF3、E3 ORF4、E3 ORF5、E3 ORF6、E3 ORF7、E3 ORF8、E3 ORF9、E4 ORF7、E4 ORF6、E4 ORF4、E4 ORF3、E4 ORF2および/もしくはE4 ORF1)から選択されるアデノウイルス遺伝子のうちの1つ以上の完全除去を含むよう操作されているために複製能力がないアデノウイルスを指す。適切には、E1ならびに場合によってはE3および/またはE4を欠失させる。欠失させる場合、前述の欠失遺伝子領域は、別の配列に関して%同一性を決定する際にアラインメントにおいて考慮しないことが適切である。

10

【0038】

本発明のベクター

非ヒトサルアデノウイルスに基づくウイルスベクターは、遺伝子治療および遺伝子ワクチンのためのヒト由来ベクターの使用に代わる手段である。非ヒト類人猿から単離されたある特定のアデノウイルスは、ヒト起源の細胞におけるそれらの効率的な増殖によって実証される通り、ヒトから単離されたアデノウイルスと近縁関係にある。ヒトはサルアデノウイルスに対する免疫を殆どまたは全く発達させないため、それらはヒトアデノウイルス使用の改善された代替手段を提供する見込みがある。

20

【0039】

「低い血清陽性率」は、ヒトアデノウイルス5(Ad5)と比較して低下した既存中和抗体レベルを有することを意味し得る。同様にまたはあるいは、「低い血清陽性率」は、約30%未満の血清陽性率、約20%未満の血清陽性率、約15%未満の血清陽性率、約10%未満の血清陽性率、約5%未満の血清陽性率、約4%未満の血清陽性率、約3%未満の血清陽性率、約2%未満の血清陽性率、約1%未満の血清陽性率または検出不能な血清陽性率を意味し得る。血清陽性率は、Hum. Gene Ther. (2004) 15: 293に記載されたような方法を利用し、臨床上関連がある中和力価(50%中和力価 > 200と定義される)を有する個体のパーセンテージとして測定することができる。

【0040】

本発明のアデノウイルスベクターは、「サルアデノウイルス」とも称される非ヒトサルアデノウイルスに由来するものである。多数のアデノウイルスが非ヒト類人猿、例えば、チンパンジー、ボノボ、アカゲザル、オランウータンおよびゴリラから単離されている。これらのアデノウイルスに由来するベクターは、これらのベクターによってコードされる導入遺伝子に対する強力な免疫応答を誘導することができる。非ヒトサルアデノウイルスに基づくベクターの幾つかの利点としては、ヒト標的集団におけるこれらのアデノウイルスに対する交差中和抗体の相対的欠如が挙げられ、従ってそれらの使用はヒトアデノウイルスに対する既存の免疫を克服する。例えば、一部のサルアデノウイルスは、既存のヒト中和抗体との交差反応性を示さず、またある特定のチンパンジーアデノウイルスと既存のヒト中和抗体との交差反応は、ある特定の候補ヒトアデノウイルスベクターの場合の35%と比較して、標的集団の2%においてのみ存在する(Sci. Transl. Med. (2012) 4: 1)。

30

【0041】

本発明のアデノウイルスベクターは、例えば、チンパンジー(*Pan troglodytes*)、ボノボ(*Pan paniscus*)、ゴリラ(*Gorilla gorilla*)ならびにオランウータン(スマトラオランウータン(*Pongo abelii*)およびボルネオオランウータン(*Pongo pygmaeus*))から得たサルアデノウイルスに由来するものである。それらのものとしては、B群、C群、D群、E群およびG群からのアデノウイルスが挙げられる。チンパンジーアデノウイルスとしては、AdY25、ChAd3、ChAd19、ChAd25.2、ChAd26、ChAd27、ChAd29、ChAd30、ChAd31、ChAd32、ChAd33、ChAd34、ChAd35、ChAd37、ChAd38、ChAd39、ChAd40、ChAd63、ChAd83、ChAd155、ChAd15、SadV41およびChAd157、ChAd3、ChAd19、ChAd25.2、ChAd26、ChAd27、ChAd29、ChAd30、ChAd31、ChAd32、ChAd33、ChAd34、ChAd35、ChAd37、ChAd38、ChAd39、ChAd40、ChAd63

40

50

、ChAd83、ChAd155、ChAd15、SadV41、sAd4310A、sAd4312、SAdV31、SAdV-A1337、ChAdOx1、ChAdOx2およびChAd157が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、アデノウイルスベクターは、ボノボから単離された非ヒトサルアデノウイルス、例えばPanAd1、PanAd2、PanAd3、Pan 5、Pan 6、Pan 7(C7とも称される)およびPan 9に由来するものであってもよい。ベクターは、全体的または部分的に、非ヒトアデノウイルスのファイバー、ペントンまたはヘキソンをコードするヌクレオチドを含んでいてもよい。

【0042】

本発明のアデノウイルスベクターの実施形態において、アデノウイルスベクターは、ヒト対象において30%未満、20%未満、10%未満または5%未満の血清陽性率を示し、好ましくはヒト対象において血清陽性率を示さず、またより好ましくは、以前にチンパンジーアデノウイルスベクターと接触していないヒト対象において血清陽性率を示さない。

10

【0043】

本発明のアデノウイルスベクターの実施形態において、アデノウイルスDNAは、哺乳動物標的細胞に侵入する能力を有する、すなわち、感染性である。本発明の感染性組換えアデノウイルスベクターは、予防または治療ワクチンとして、また遺伝子治療のために、使用することができる。従って、ある実施形態において、該組換えアデノウイルスベクターは標的細胞への送達用の内在性分子を含む。該標的細胞は、哺乳動物細胞、例えば、ウシ細胞、イヌ細胞、ヤギ細胞、シカ細胞、チンパンジー細胞、翼手目細胞、ウマ細胞、ネコ細胞、ヒト細胞、オオカミ細胞、ヒツジ細胞、ブタ細胞、齧歯動物細胞、クマ細胞またはキツネ細胞である。該標的細胞への送達用の内在性分子は発現力セットである。

20

【0044】

本発明の実施形態において、前記ベクターは、左ITR領域、欠失させたE1領域、次いで欠失させたE3領域、および、場合によっては、追加のエンハンサー要素を含み、これらの後にファイバー領域、E4領域および右ITRが続く。翻訳は右および左方向に生じる。この実施形態において、第1発現力セットは、欠失させたE1領域に挿入し、かつ第2発現力セットは、欠失させたE3領域に挿入する。さらなる実施形態において、2つの発現力セットのプロモーターはCMVプロモーターである。さらに別の実施形態において、エンハンサー要素はB型肝炎ウイルス転写後調節エレメント(HPRE)またはウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)である。

30

【0045】

本発明の一実施形態において、前記ベクターは、左および右ITR領域、欠失させたE1領域、少なくとも部分的に欠失させたE3領域、ファイバー領域、E4領域、2つの発現力セット(各々が以下、すなわち、プロモーターおよび少なくとも1つの目的の抗原ならびに、場合によっては、1つ以上のエンハンサー要素を含む)を含む。第1発現力セットは、欠失させたE1領域に挿入し、かつ第2発現力セットはHE1部位に、すなわち、ファイバー遺伝子およびE4領域の終止コドン間(「HE1部位」)に挿入する。ChAd155 HE1挿入部位は、野生型ChAd155配列のbp 34611と34612の間である。ChAd83 HE1挿入部位は、野生型ChAd83配列のbp 33535と33536の間である。翻訳は右および左方向に生じる。さらなる実施形態において、プロモーターはCMVプロモーターである。好適な実施形態においては、一方のプロモーターはCMVプロモーターであり、かつ他方はeCMVプロモーターである。さらに別の実施形態において、エンハンサー要素はHPREまたはWPREである。

40

【0046】

さらなる実施形態において、前記ベクターは、左および右ITR領域、欠失させたE1領域、少なくとも部分的に欠失させたE3領域、ファイバー領域、E4領域、2つの発現力セット(各々が以下、すなわち、プロモーター、少なくとも1つの目的の抗原および、場合によっては、1つ以上のエンハンサー要素を含む)を含む。第1発現力セットは、欠失させたE1領域に挿入し、また第2発現力セットはHE2部位に、すなわち、左ITRの末端とE4 mRNAのキャップ部位との間(「HE2部位」)に挿入する。ChAd155 HE2挿入部位は野生型ChAd155配列のbp 37662と37663の間である。ChAd83 HE2挿入部位は野生型ChAd83配列のbp 36387と36388の間である。翻訳は右および左方向に生じる。さらなる実施形態において、プロ

50

モーターはCMVプロモーターである。好適な実施形態において、一方のプロモーターはCMVプロモーターであり、かつ他方はeCMVプロモーターである。さらに別の実施形態において、エンハンサー元素はHPREまたはWPREである(該エンハンサー元素は導入遺伝子の発現を増大させる)。

【0047】

前記HE1およびHE2部位は、これらの特定の場所への挿入はChAd155およびChAd83のコード配列または調節配列を分断しないことから、導入遺伝子の挿入部位として同定された。従って、ChAdゲノムのHE1またはHE2部位への発現カセットの挿入は、ウイルスの複製サイクルに影響を与えない。

【0048】

本発明の実施形態において、前記ベクターは、アデノウイルスベクターの機能性または免疫原性誘導体である。「アデノウイルスベクターの誘導体」とは、該ベクターの改変版を意味し、例えば、該ベクターの1つ以上のヌクレオチドが欠失、挿入、修飾または置換されている。

【0049】

調節エレメント

調節エレメント、すなわち、発現制御配列としては、適当な転写開始、終結、プロモーターおよびエンハンサー配列、効率的なRNAプロセシングシグナル(例えば、ウサギ-グロビンポリAを含むスプライシングおよびポリアデニル化(ポリA)シグナル)、テトラサイクリン調節系、マイクロRNA、転写後調節エレメント(例えば、WPRE、ウッドチャック肝炎ウイルスの転写後調節エレメント)、細胞質mRNAを安定化する配列、翻訳効率を向上させる配列(例えば、コザック共通配列)、タンパク質安定性を強化する配列、ならびに必要に応じて、コード化産物の分泌を亢進させる配列が挙げられる。

【0050】

「プロモーター」は、RNAポリメラーゼの結合を可能にし、かつ遺伝子の転写を指令するヌクレオチド配列である。典型的には、プロモーターは、転写開始部位に近接する、遺伝子の非コード領域内に位置する。転写の開始において機能するプロモーター内の配列エレメントは、共通ヌクレオチド配列を特徴とすることが多い。プロモーターの具体例としては、限定するものではないが、細菌、酵母、植物、ウイルス、ならびに類人猿およびヒトを含む哺乳動物に由来するプロモーターが挙げられる。内部、天然、構成的、誘導性および/または組織特異的であるプロモーターを含む非常に多くの発現制御配列が当分野で公知であり、また利用されうる。

【0051】

本発明のプロモーターは、典型的には異種プロモーターである。本発明のプロモーターは構成的なものでありうる。

【0052】

プロモーターの具体例としては、限定するものではないが、細菌、酵母、植物、ウイルス、および哺乳動物(例えばヒト)に由来するプロモーターが挙げられる。

【0053】

プロモーターの具体例としては、限定するものではないが、TβGプロモーター、レトロウイルスであるラウス肉腫ウイルスのLTRプロモーター(場合によってはエンハンサーを併用)、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーター(場合によってはCMVエンハンサーを併用、例えば、Boshartら、Cell、41：521-530 (1985)を参照されたい)、CASIプロモーター、SV40プロモーター、ジヒドロ葉酸レダクターゼプロモーター、-アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ(PGK)プロモーター、およびEF1aプロモーター(Invitrogen)が挙げられる。

【0054】

適切なプロモーターとしては、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーターおよびCASIプロモーターが挙げられる。CMVプロモーターは強力かつ遍在的に活性である。CMVプロモーターは、多くの組織型において高レベルの導入遺伝子発現を駆動する能力を有し、また当

10

20

30

40

50

分野で周知である。CMVプロモーターは、CMVエンハンサーと共に、またはCMVエンハンサー無しで、本発明のベクターに使用することができる。

【0055】

CASIプロモーターは、CMVエンハンサー、ニワトリ-アクチンプロモーター、ならびにユビキチン(UBC)エンハンサーに隣接するスプライスドナーおよびスプライスアクセプターの組み合わせとして記載されている合成プロモーターである(US 8865881)。

【0056】

幾つかの実施形態において、CASIプロモーターは、配列番号3に対して少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、またはそれ以上の配列同一性を有する核酸配列を含みうる。幾つかの実施形態において、該プロモーターは、配列番号3の核酸配列を含むかまたは配列番号3の核酸配列からなる。

10

【0057】

幾つかの実施形態において、増強されたhCMVプロモーターは、配列番号6に対して少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、またはそれ以上の配列同一性を有する核酸配列をふくみうる。幾つかの実施形態において、該プロモーターは、配列番号6の核酸配列を含むかまたは配列番号6の核酸配列からなる。

20

【0058】

場合によっては、治療上有用であるかまたは免疫原性の産物をコードする導入遺伝子を保持するベクターはさらに、選択可能なマーカーまたはレポーター遺伝子を含んでいてよい。レポーター遺伝子は、当分野で公知のものから選択してもよい。適切なレポーター遺伝子としては、増強された緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、ルシフェラーゼおよび分泌型胚性アルカリホスファターゼ(seAP)が挙げられるがこれらに限定されず、特にジェネテシン、ハイグロマイシンまたはピューロマイシン耐性をコードする配列を含んでいてよい。かかる選択可能なレポーターまたはマーカー遺伝子(ウイルス粒子にパッケージングされるウイルスゲノムの外側に配置されていても、いなくてもよい)を使用することにより、アンピシリン耐性などの細菌細胞中のプラスミドの存在を示すことができる。該ベクターの他の構成要素としては、複製の起点を挙げることができる。

30

【0059】

「転写後調節エレメント」は、本明細書中で使用する場合、転写されると、本発明のウイルスベクターにより送達される導入遺伝子(複数可)またはその断片の発現を増大させるDNA配列である。転写後調節エレメントとしては、B型肝炎ウイルス転写後調節エレメント(Hepatitis B Virus Posttranscriptional Regulatory Element)(HPRE)およびウッドチャック肝炎ウイルス転写後調節エレメント(WPRE)が挙げられるが、これらに限定されない。WPREは、ある特定の、ただし全てではないプロモーターにより駆動される導入遺伝子発現を増大させることができが実証されている、3部からなる(tripartite)シス作用エレメントである。

【0060】

本発明の実施形態において、ChAd155ベクターは、プロモーター、エンハンサー、およびレポーター遺伝子のうちの1つ以上を含んでいてよい。例えば、本発明のベクターは、ChAd155-増強hCMV-SeAP、ChAd155-CASI-seAPおよびChAd155-hCMV-seAPを、場合によってはテトラサイクリン・オン/オフ転写制御と併せて、またChAd155-CMV-hFerL-chEF1-seAPをテトラサイクリン・オン/オフ転写制御と併せて、含んでいてよい。

40

【0061】

本発明の実施形態において、ChAd83ベクターは、プロモーター、エンハンサー、およびレポーター遺伝子のうちの1つ以上を含んでいてよい。例えば、本発明のベクターは、ChAd155-増強hCMV-SeAP、ChAd83-増強hCMV-SeAP、ChAd155-CASI-seAPおよびChAd83-hCMV-SeAPを場合によってはテトラサイクリン・オン/オフ転写制御と併せて、またChAd83-CMV-hFerL-chEF1-seAPをテトラサイクリン・オン/オフ転写制御と併せて、含んでいてよい

50

。

【0062】

本発明のベクターは、本明細書中に提供する技術を、当業者に公知の技術と共に利用して作製する。かかる技術としては、教本に記載されているものなどのcDNAの従来のクローニング技術、アデノウイルスゲノムのオーバーラップするオリゴヌクレオチド配列の使用、ポリメラーゼ連鎖反応、および所望のヌクレオチド配列を提供する任意の適切な方法が挙げられる。

【0063】

導入遺伝子

「導入遺伝子」は、該導入遺伝子に隣接するベクター配列にとって異種の核酸配列であり、目的のポリペプチドをコードする。この核酸コード配列は、宿主細胞における導入遺伝子の転写、翻訳、および／または発現を可能にする様式で調節成分に動作可能に連結される。本発明の実施形態において、前記ベクターは、導入遺伝子を治療的または予防的レベルで発現する。トランスジェニックポリペプチドの「機能的誘導体」は、例えば1つ以上のアミノ酸が欠失、挿入、修飾または置換されている、ポリペプチドの改変版である。

【0064】

導入遺伝子は、予防または治療のために、例えば、免疫応答を誘導するためのワクチンとして、欠陥もしくは欠損遺伝子を修正もしくは置き換えることにより遺伝的欠陥を修正する目的で、または癌の治療法として、使用してもよい。本明細書中で使用する場合、免疫応答の誘導とは、タンパク質に対するT細胞および／または液性抗体免疫応答を誘導する、該タンパク質の能力を指す。

【0065】

導入遺伝子により誘発される免疫応答は、中和抗体を產生する抗原特異的B細胞応答であってもよい。誘発される免疫応答は抗原特異的T細胞応答であってもよく、全身性および／または局所性の応答であってもよい。抗原特異的T細胞応答は、CD4+T細胞応答、例えばサイトカイン(例えば、インターフェロン(IFN)、腫瘍壞死因子(TNF)および／またはインターロイキン2(IL2))を発現するCD4+T細胞が関与する応答を含んでいてもよい。あるいは、またはさらに、抗原特異的T細胞応答は、CD8+T細胞応答、例えばサイトカイン(例えば、IFN、TNF および／またはIL2)を発現するCD8+T細胞が関与する応答を含む。

【0066】

導入遺伝子配列の組成は、結果として得られるベクターを供する用途に依存する。ある実施形態において、導入遺伝子は、予防的導入遺伝子、治療的導入遺伝子または免疫原性導入遺伝子などの生物学および医学において有益な産物、例えば、タンパク質またはRNAをコードする配列である。タンパク質導入遺伝子としては抗原が挙げられる。本発明の抗原性導入遺伝子は、病原生物に対する免疫原性応答を誘導する。

【0067】

本発明の導入遺伝子としては、限定するものではないが、狂犬病ウイルス抗原、例えば、狂犬病糖タンパク質(RG)、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)抗原、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)抗原、またはその断片が挙げられる。

【0068】

遺伝暗号の重複の結果として、ポリペプチドは多様な種々の核酸配列によりコードされる。符号化は、他のものより、一部の同義コドン、すなわち、同一アミノ酸をコードするコドンを使用するために偏っている。「コドン最適化」とは、組換え核酸のコドン組成における改変が、そのアミノ酸配列を変更することなく行われることを意味する。コドン最適化は、生物特有のコドン使用頻度を利用することにより種々の生物におけるmRNA発現を改良するために利用されている。

【0069】

コドンバイアスに加えて、かつコドンバイアスとは関係なく、一部の同義コドンペアは他のものより頻繁に使用される。このコドンペアバイアスは、一部のコドンペアが大きな

10

20

30

40

50

比率を占めており、かつ他のものの占める比率が少ないことを意味する。コドンペアの脱最適化は、ウイルスの毒性を低下させるために利用されている。例えば、少数しか存在しないコドンペアを含有するよう改変したポリオウイルスは翻訳効率の低下を示し、また野生型ポリオウイルスと比較して弱毒化したことが報告されている(Science (2008) 320 : 1784)。コドンペアの脱最適化による合成弱毒化ウイルスの操作により、野生型と同じアミノ酸配列をコードするが同義コドンの異なるペアワイス配置を利用するウイルスを產生することができる。コドンペアの脱最適化により弱毒化したウイルスは、野生型と比較して最大で1000倍少ないブラークを生じ、より少ないウイルス粒子を产生し、またブラークを形成するために約100倍多いウイルス粒子を必要とした。

【0070】

10

対照的に、ヒトゲノムにおいて大きな比率を占めるコドンペアを含有するよう改変したポリオウイルスは、野生型RNAと類似した様式で活動し、また野生型RNAと大きさが同一のブラークを生成した(Colemanら(2008) Science 320 : 1784)。これは、大きな比率を占めるコドンペアを持つウイルスが、少数しか存在しないコドンペアを持つウイルスと同様の数の変異を含有し、かつ野生型と比較して増強された翻訳を示したという事実にも関わらず生じた。この観察結果は、コドンペアを最適化した構築物は、その非コドンペア最適化対応物と同様の様式で活動することが予想され、かつ機能的利点をもたらすことは予想されないということを示唆している。理論に拘束されることを望むものではないが、これは自然な進化によりコドンペアリングが最適化されたからであろう。

【0071】

20

本発明の構築物は、コドン最適化核酸配列を含んでいてもよい。あるいは、またはさらに、本発明のベクターは、導入遺伝子またはその免疫原性誘導体もしくは断片のコドン最適化配列を含む。本発明の構築物は、コドンペア最適化核酸配列を含んでいてもよい。あるいは、またはさらに、本発明のベクターは、導入遺伝子またはその免疫原性誘導体もしくは断片のコドンペア最適化配列を含むか、またはそれらからなる。

【0072】

30

呼吸器合胞体ウイルス(RSV)導入遺伝子

一実施形態において、本発明は、2つの発現カセットを含む組換えサル由来アデノウイルスベクターであって、各発現カセットがヒト呼吸器合胞体ウイルス(RSV)に由来する免疫原性導入遺伝子を含む該アデノウイルスベクターの、RSV感染の治療または予防における使用を提供する。一実施形態において、本発明の組換えサル由来アデノウイルスベクターは、前記発現カセットのうちの一方にRSV F抗原を含み、かつ他方の発現カセットに別のRSVウイルス抗原を含む。適切な抗原について以下でさらに検討する。一実施形態において、該組換えサル由来アデノウイルスベクターは、第2発現カセットにRSV MおよびN抗原を含む。かかる実施形態において、前記ベクターは、好ましくはRSV F0 TM抗原(膜貫通および細胞質領域を欠失させた融合(F)タンパク質)、ならびにRSV M2-1(抗転写終結)およびN(ヌクレオカプシド)抗原をコードする。

【0073】

40

RSVによる感染は完全な防御免疫を付与しない。乳児期の感染は、成人期を通じて継続する症候性RSV再感染をもたらす。これらの再感染は一般に、それらが通常はよくある急性上気道感染として現れるため、診断されないままである。しかし、より脆弱な人々(例えば、免疫不全状態の成人または高齢者)では、再感染が重篤な疾患につながる可能性もある。免疫系の両腕(液性および細胞性免疫)は重篤な疾患からの防御に関与している[Guv enel AK, Chiu CおよびOpenshaw PJ. Current concepts and progress in RSV vaccine development. Expert Rev Vaccines. 2014 ; 13(3) : 333-44.]。

【0074】

50

液性免疫応答は、ウイルスを中和しかつウイルス複製を阻害し、それによって下気道RSV感染および重篤な疾患に対する防御において主要な役割を果たすことができる[Piedra P A, Jewell AM, Cron SG, ら、Correlates of immunity to respiratory syncytial virus (RSV) associated-hospitalization : establishment of minimum protective threshold

levels of serum neutralizing antibodies. *Vaccine*. 2003 ; 21(24) : 3479-82.]。予防的に投与された免疫グロブリンG(IgG)RSV-中和モノクローナル抗体(Synagis)という形での受動免疫は、気管支肺異形成症または基礎心肺疾患を有する未熟児および新生児においてRSV疾患をある程度予防することが示された[Cardenas S, Auais AおよびPiedimonte G. *Palivizumab in the prophylaxis of respiratory syncytial virus infection. Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005 ; 3(5) : 719-26]。

【0075】

T細胞もまたRSV疾患の抑制に関与している。重症複合免疫不全症、骨髓および肺の移植レシピエントの場合のような、CD8 T細胞数が低下している患者における致死的なRSV感染が記載されている[Hertz, 1989]。新生児のRSV感染の死亡例の病理組織診断から、肺浸潤物中のCD8 T細胞の相対的不足が認められることが示された[Welliver TP, Garofalo RP, Hosakote Y, ら、*Severe human lower respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte responses. J Infect Dis.* 2007. 195(8) : 1126-36.]。さらに、インターフェロン (IFN- β)を産生するCD8 T細胞の存在は、RSVの動物モデルにおけるTh2応答の減少および好酸球増加症の低減と関連している[Castilow EMおよびVarga SM. *Overcoming T cell-mediated immunopathology to achieve safe RSV vaccination. Future Virol.* 2008 ; 3(5) : 445-454 ; Stevens WW, Sun J, Castillo JP, ら、*Pulmonary eosinophilia is attenuated by early responding CD8(+) memory T cells in a murine model of RSV vaccine-enhanced disease. Viral Immunol.* 2009 ; 22(4) : 243-51]。

10

20

30

【0076】

ヒトまたは非ヒト動物に免疫を付与するための免疫原として有用であるRSVの適切な抗原は、以下、すなわち、融合タンパク質(F)、付着タンパク質(G)、基質タンパク質(M2)および核タンパク質(N)から選択することができる。用語「Fタンパク質」または「融合タンパク質」または「Fタンパク質ポリペプチド」または「融合タンパク質ポリペプチド」は、RSV融合タンパク質ポリペプチドのアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチドまたはタンパク質を指す。同様に、用語「Gタンパク質」または「Gタンパク質ポリペプチド」は、RSV付着タンパク質ポリペプチドのアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチドまたはタンパク質を指す。用語「Mタンパク質」または「基質タンパク質」または「Mタンパク質ポリペプチド」は、RSV基質タンパク質のアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチドまたはタンパク質を指し、M2-1(本明細書中ではM2.1と記載する場合がある)およびM2-2遺伝子産物の一方または両方を含んでいてもよい。同様に、用語「Nタンパク質」または「ヌクレオカプシドタンパク質」または「Nタンパク質ポリペプチド」は、RSV核タンパク質のアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチドまたはタンパク質を指す。

30

【0077】

ヒトRSV株の2つの群(AおよびB群)は、主にG糖タンパク質の抗原性の違いに基づいて説明されている。RSVの多数の株がこれまでに単離されており、そのいずれも、本明細書中に開示した免疫原性の組み合わせの抗原という観点から適している。GenBankおよび/またはEMBLアクセション番号により示される典型的な株は、米国特許出願公開第2010/0203071号(WO2008114149)に見出すことが可能であり、かかる文献は本発明における使用に適したRSV FおよびGタンパク質の核酸およびポリペプチド配列を開示することを目的として参照により本明細書中に組み込まれるものとする。ある実施形態において、RSV Fタンパク質はRSV Fタンパク質の細胞外ドメイン(F0-TM)でありうる。

40

【0078】

典型的なMおよびNタンパク質の核酸およびタンパク質配列は、例えば、米国特許出願公開第2014/0141042号(WO2012/089833)に見出すことが可能であり、かかる文献は、本発明における使用に適したRSV MおよびNタンパク質の核酸およびポリペプチド配列を開示することを目的として本明細書中に組み込まれるものとする。

50

【0079】

適切には、本発明において共に使用するために、導入遺伝子核酸はRSV F抗原およびRSV MおよびN抗原をコードする。より具体的には、該核酸はRSV F0 TM抗原(膜貫通および細胞質領域を欠失させた融合(F)タンパク質)、ならびにRSV M2-1(抗転写終結)およびN(ヌクレオカプシド)抗原をコードする。

【0080】

膜貫通および細胞質領域を欠失させた融合(F)タンパク質(F0 TM)

RSV Fタンパク質は主要な表面抗原であり、標的細胞へのウイルスの融合を媒介する。該Fタンパク質は、RSVの亜群間および株間で高度に保存されている抗原である。該Fタンパク質は、予防的RSV-中和モノクローナル抗体Synagisを含む中和抗体の標的である。膜貫通領域および細胞質尾部の欠失により、F0 TMタンパク質の分泌が可能となる。この可溶型のFタンパク質を認識する中和抗体、例えばSynagisは、RSVの感染力を阻害する [Magro M, Andreu D, Gomez-Puertas P,ら、Neutralization of human respiratory syncytial virus infectivity by antibodies and low-molecular-weight compounds targeted against the fusion glycoprotein. *J Virol.* 2010 ; 84(16) : 7970-82]。

10

【0081】

ヌクレオカプシド(N)タンパク質

Nタンパク質は、RSV株間で高度に保存されかつ多くのT細胞エピトープの供給源であることが知られている内部(非露出)抗原である。Nタンパク質はRSVゲノムの複製および転写に必須である。Nタンパク質の主な機能は、RNAの転写、複製およびパッケージングをしてウイルスゲノムを封入し、該ウイルスゲノムをリボヌクレアーゼから保護することである。

20

【0082】

抗転写終結(M2-1)タンパク質

M2-1タンパク質は、全長メッセンジャーRNA(mRNA)の効率的な合成にとって、ならびに非分節マイナス鎖RNAウイルスの特徴であるポリシストロン性リードスルームRNAの合成にとって、重要な抗転写終結因子である。M2-1は、RSV株間で高度に保存されかつ多くのT細胞エピトープの供給源であることが知られている内部(非露出)抗原である。

30

【0083】

N-M2-1融合タンパク質

リンカーをコードするポリヌクレオチドは、RSV N抗原、またはその断片をコードするポリヌクレオチドと、RSV M2.1抗原、またはその断片をコードするポリヌクレオチドとの間に位置する。従って、ある特定の好適な例では、発現カセットは、融合されたRSVウイルスタンパク質N-リンカー-M2.1をコードする導入遺伝子を含有する。該リンカーはフレキシブルリンカー、好ましくは配列番号11のアミノ酸配列(Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly)または配列番号12のアミノ酸配列(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly)を含むフレキシブルリンカーであることが好ましい。

40

【0084】

パピローマ(PV)導入遺伝子

一実施形態において、本発明は、2つの発現カセットを含む組換えサル由来アデノウイルスベクターであって、各発現カセットがパピローマウイルス(PV)に由来する免疫原性導入遺伝子を含む該組換えサル由来アデノウイルスベクターの、パピローマウイルス誘発性疾患の治療または予防における使用を提供する。適切には、本発明の組換えサル由来アデノウイルスベクターは、前記発現カセットの一方に改変パピローマウイルスE1抗原を含み、かつ他方の発現カセットに改変パピローマウイルスE2抗原を含む。

【0085】

ヒトパピローマウイルス(HPV)は、粘膜および/または皮膚に感染して複数の疾病状態、例えば、子宮頸部新生物、子宮頸癌、および他の肛門性器癌を引き起こす小さなDNAウイルスである。ヒトの肛門性器管に感染することが知られているHPVは40を超える型が存在し、また約15のハイリスクHPV遺伝子型がヒト子宮頸癌と因果関係にある。子宮頸部上皮のHPV感染の大半は無症状であり、また2年間以内に自己解決する。しかし、ハイリスク

50

なHPV型による持続感染は、病変を引き起こして湿潤癌に進行する場合がある。

【0086】

免疫原として有用であるHPVの適切な抗原はWO2018060288に記載されており、また例としては、特にHPV E1およびE2タンパク質が挙げられる。

【0087】

狂犬病(RG)導入遺伝子

リッサウイルスは、ラブドウイルス科のエンベロープを持つ一本鎖RNAウイルスである。リッサウイルス属のメンバーは狂犬病を引き起こし、またあらゆる公知のヒトウイルス病原体の中で最も高い致死率を示す。狂犬病は感染した哺乳動物の唾液を介して伝染する。神経向性ウイルスは、その宿主の神経系に侵入し、ほぼ例外なく死に至る脳脊髄炎を引き起こす。現在、世界中で毎年約60,000人が狂犬病で死亡しており、その大半はアジアおよびアフリカ内の発展途上国でイヌ咬傷により、また北米では野生生物およびコウモリにより引き起こされている。

10

【0088】

狂犬病は狂暴型または麻痺型を呈する。その潜伏期間は約5日から数年と様々であるが、典型的には約20~90日である。臨床疾患は、不快感、食欲不振、疲労、頭痛および発熱という前駆症状から始まり、続いて曝露の部位における疼痛または感覚異常が生じることが最も多い。不安感、激越または易刺激性がこの期間中は顕著である場合があり、その後活動亢進、見当識障害、痙攣発作、恐水病、流涎過多および、最終的には、麻痺、昏睡および死に至る。

20

【0089】

狂犬病抗原は、狂犬病ウイルス糖タンパク質(RG)に由来するものであってもよい。例えば、狂犬病糖タンパク質をモデル抗原として使用してもよい。

【0090】

アデノウイルスベクターの送達

幾つかの実施形態においては、本発明の組換えアデノウイルスベクターを、皮膚上投与、皮内投与、筋肉内注射、腹腔内注射、静脈内注射、経鼻投与、経口投与、直腸投与、皮下注射、経皮投与または膣内投与により対象に投与する。

【0091】

本発明の実施形態において、前記ベクターは、筋肉内に投与(IM)する、すなわち、筋肉内に直接注射することができる。筋肉は十分に血管が発達しているので、取込みは通常迅速である。

30

【0092】

アジュバント

特定の病原体に対する強力かつ持続的な免疫を確立するためのアプローチとして、ワクチンへのアジュバントの添加が挙げられる。「アジュバント」とは、組成物の活性成分に対する免疫応答を増大させるか、刺激するか、活性化するか、増強するかまたは調節する作用物質を意味する。アジュバントの効果は細胞もしくは体液レベル、またはその両方で生じうる。アジュバントは実際の抗原に対する免疫系の応答を刺激するが、それ自体は免疫学的効果を持たない。あるいはまたはさらに、本発明のアジュバント添加組成物は、1つ以上の免疫刺激剤を含んでいてもよい。「免疫刺激剤」とは、抗原と共に投与されたか個別に投与されたかにかかわらず、対象の免疫応答の全般的、一時的な増加を誘導する作用物質を意味する。

40

【0093】

本発明の組成物は、アジュバントと共に、またはアジュバント無しで投与してもよい。あるいは、またはさらに、該組成物は1つ以上のアジュバント(例えばワクチンアジュバント)を含むかまたは該アジュバントと併用して投与してもよく、特に該組成物は、導入遺伝子をコードする本発明のベクターの免疫学的有効量を含む。

【0094】

使用方法 / 用途

50

本明細書中に開示した構築物または組成物の免疫学的有効量を投与するステップを含む、病原体により引き起こされる疾患に対する免疫応答をその必要がある対象において誘導するための方法が提供される。幾つかの実施形態においては、トランスジェニック抗原に対する免疫応答を、その必要がある対象において誘導するための、本明細書中に開示した構築物または組成物の使用が提供される。本発明のベクターを、感染による疾患の予防、治療または回復に適用してもよい。

【0095】

本発明の方法は、医薬への本発明のベクターの使用を含む。それらの方法としては、病原体により引き起こされる疾患の治療のための本発明のベクターの使用が挙げられる。本発明のベクターは、病原体により引き起こされる疾患を治療するための薬剤の製造に使用することができる。本発明のベクターは、疾患、例えば、呼吸器合胞体ウイルス(RSV)により引き起こされる疾患の予防または治療のための薬剤の製造に使用することができる。

10

【0096】

アデノウイルスベクターによる有効な免疫化は、該アデノウイルスベクター骨格の固有の免疫調節能に依存する。免疫学的に作用が弱いアデノウイルスは抗原発現をあまり誘導しない。有効な免疫化は、プロモーターの、強力かつ持続的な導入遺伝子発現を駆動するその能力にも依存する。例えば、サイトメガロウイルス前初期(CMV-IE)プロモーターにより駆動されるアデノウイルスベクターは、それらが発現を低下させるサイトカインを誘導するため、長期導入遺伝子発現を維持しない。

20

【0097】

「対象」とは、脊椎動物、例えば哺乳動物、例えばヒトまたは家畜哺乳動物を意図する。幾つかの実施形態において、該対象はヒトである。

【0098】

総論

本発明のベクターは、本明細書中に提供する技術および配列を、当業者に公知の技術と併せて使用して作製する。かかる技術としては、教本に記載されているものなどのcDNAの従来のクローニング技術、アデノウイルスゲノムのオーバーラップするオリゴヌクレオチド配列の使用、ポリメラーゼ連鎖反応、および所望のヌクレオチド配列を提供する任意の適切な方法が挙げられる。

30

【0099】

特に説明しない限り、本明細書中で使用する全ての技術的および科学的用語は、本開示が属する技術分野の熟練者により通常理解されるものと同じ意味を有する。単数形の用語「a」、「an」、および「the」は、文脈上明確に他に示さない限り、複数の指示対象を含む。同様に、単語「または(もしくは/あるいは)」は、文脈上明確に他に示さない限り、「および(ならびに)」を含むことを意図する。用語「複数」は、2つ以上であることを指す。さらに、物質の濃度またはレベルに関して与えられる数値限定、例えば、溶液成分濃度またはその比率、ならびに温度、圧力およびサイクル時間などの反応条件は、近似であることを意図する。本明細書中で使用する用語「約」は、量±10%を意味することを意図する。

40

【0100】

本発明をここで、以下の非限定的な実施例によりさらに説明する。

【実施例】

【0101】

実施例1：単一発現力セットを有するチンパンジーアデノウイルスの構築

野生型チンパンジーアデノウイルス155型(ChAd155)(WO 2016/198621)および83型(ChAd83)(WO 2010/086189)を、標準的手法を利用して健康なチンパンジーから単離し、Sci Transl Med (2012) 4:1およびWO 2010/086189に記載されている通りに構築した。

【0102】

実施例1において、ChAd155およびChAd83ベクターは各々、単一の導入遺伝子発現力セットを挿入することにより構築した。該発現力セットの構成要素には、古典的ヒトCMVブ

50

ロモーターまたはCASIプロモーターのどちらか一方、モデル抗原としての狂犬病糖タンパク質および、場合によっては、WPREエンハンサーを使用した。3つの異なる挿入部位、すなわち、

- (i) E3領域を導入遺伝子カセットで置き換える、
 - (ii) ファイバー領域とE4領域の間(部位HE1)に導入遺伝子カセットを挿入する、および
 - (iii) 右ITRの下流(部位HE2)に導入遺伝子カセットを挿入する、
- を導入遺伝子カセットについて試験した。

【0103】

これらの挿入部位のこの番号付けは、図1の図解に対応しており、ここで

- (i) 上部パネルは導入遺伝子カセットをE3領域と置き換えたRC1ベクターを例示したもので
あり、
- (ii) 中央パネルは導入遺伝子カセットをファイバー遺伝子とE4領域の終止コドン間(部位HE1)に挿入したRC3ベクターを例示したものであり、また
- (iii) 下部パネルは導入遺伝子カセットを右ITRの下流(部位HE2)に挿入したRC2ベクターを
例示したものである。

【0104】

実施例1に示すベクターでは、E1領域は全ての形態において無傷のままである。

【0105】

導入遺伝子は、配列番号1および配列番号2の次の位置、すなわち、
HE1 ChAd155：配列番号1のbp 34611と34612の間の挿入部位、
HE2 ChAd155：配列番号1のbp 37662と37663の間の挿入部位、
HE1 ChAd83：配列番号2のbp 33535と33536の間の挿入部位、
HE2 ChAd83：配列番号2のbp 36387と36388の間の挿入部位
に相同組換え技術により挿入した。

【0106】

導入遺伝子カセットを部位HE1に挿入した場合、ChAd155は複製しなかった。しかし、ChAd83のHE1部位への導入遺伝子カセットの挿入は、生存可能なベクターをもたらした。

【0107】

実施例2：実施例1のベクターのウイルス產生、ベクター力価および発現

ベクター複製を数値化するための動物モデルを特定するために、実施例1のC型アデノウイルスChAd155 RC2ベクターおよびE型アデノウイルスChAd83 RC2ベクターを、様々な動物起源の細胞において、ベクター力価およびゲノムコピー数により測定されるそれらの複製能力について評価した。結果を表1に示す。

【0108】

表1. 実施例1のRC2 ChAd155およびRC2 ChAd83の複製および発現

10

20

30

【表1】

細胞系: 種	ベクター	ベクター 力価	ゲノム コピー	発現	
				2日目	7日目
MRC5: ヒト	ChAd155	+++	+++	++	++++
	ChAd83	+++++	+++++	+++	+++++
PK15: ブタ	ChAd155	+++++	+++++	NA	NA
	ChAd83	+++	++++	NA	NA
NMuLi: マウス	ChAd155	++	+++	+++	+++
	ChAd83	ND	+	++	++
Vero: 非ヒト 霊長類	ChAd155	++	++++	+++	+++
	ChAd83	ND	+	+	+

ND=検出されず; NA=該当なし

10

【0109】

20

表1に示すように、ヒトMRC5細胞およびブタPK15細胞は、ChAd155およびChAd83の両方の高いベクターラーク価および高ゲノムコピー数を生じた。マウスNMuLiおよび非ヒト霊長類Vero細胞もRC ChAd155を産生したが、ヒトまたはブタ細胞よりもその程度は低かった。マウスNMuLi細胞および、驚いたことに、非ヒト霊長類Vero細胞では、RC ChAd83は十分に増殖しなかった。

【0110】

20

ヒトMRC5、マウスNMuLiおよび非ヒト霊長類Vero細胞は、7日を通してRC ChAd155の発現を支持した。ヒトMRC5細胞は7日を通してRC ChAd83の発現を支持し、マウスNMuLiおよび非ヒト霊長類Vero細胞も同様であったが、ヒト細胞よりもその程度は低かった。

30

【0111】

ウイルス産生

図2Aは、ChAd155またはChAd83(各々が実施例1のRC1またはRC2ベクター構築物を含む)に感染させたヒト初代MRC5細胞により産生されたウイルスの量を示している。該細胞を感染後7日目に回収し、ベクターラーク価を、3回の凍結融解サイクル後に取得した細胞溶解物において数値化した。ベクターラーク価は、それぞれのプロモーター領域に対して設計したプライマーを用いて定量的PCR(QPCR)解析により測定した。感染多密度(moi)は細胞当たり1250個のウイルス粒子とした。ウイルス産生を、バーの上に細胞当たりのウイルス粒子の数(vp/細胞)で示す。

30

【0112】

40

ヒトMRC5細胞はRC1(2.17×10^3 vp/細胞)またはRC2(4.40×10^3 vp/細胞)を含むChAd155の産生を支持し、同時にRC1(1.18×10^4 vp/細胞)またはRC2(1.06×10^5 vp/細胞)を含むChAd83の産生も支持した。図2Aに示すように、ChAd83はChAd155よりも高いレベルで産生され、RC2を含むChAd83ベクターはこれら4種のウイルス/ベクターの組み合わせの中で最も強力であった。

40

【0113】

50

図2Bは、実施例1のRC1、RC2またはRC3ベクター構築物を含むChAd83に感染させたヒト初代MRC5細胞により産生されたウイルスの量を示している。該細胞を感染後2および7日に回収した。図2Aと同様に、ベクターラーク価を、それぞれのプロモーター領域に対して設計したプライマーを用いて定量的PCR(QPCR)解析により測定した。感染多密度(moi)は細胞当たり250または1250個のウイルス粒子とした。ウイルス産生を、バーの上に細胞当たりのウイルス粒子の数(vp/細胞)で示す。

50

【0114】

ヒトMRC5細胞は、RC1、RC2またはRC3を含むChAd83の産生を支持した。図2Bに示すように、RC2およびRC3 ChAd83ベクターに関して、RC1ベクターに関するものよりも高いウイルス産生が認められた。同様に、ChAd83 RC2 HE2ベクターに関しても、RC3 HE1ベクターに関するものよりも高いウイルス産生が認められた。

【0115】

ベクターゲノムコピー数

感染後、前記ベクターは前記細胞内で複製するので、そのベクターゲノムコピー数をQPCRにより測定することができる。ベクターDNA複製は、ウイルスの複製および増殖を完全には許容しない細胞においてさえ生じうる。ベクターDNAのQPCRは、ウイルスが複製サイクルを完了しかつ成熟したウイルス子孫として放出されるその能力とは無関係に、感染細胞内のベクター複製の尺度を提供する。従って、ベクター複製は、ChAdウイルスの複製または増殖を許容しない動物種、組織型および細胞型において定量化することができる。

10

【0116】

ベクターゲノムコピー数をベクター力価と並行して測定し、結果を図3Aおよび図3Bに示した。

【0117】

図2Aに示したウイルス産生と同様に、ヒトMRC5細胞をChAd155またはChAd83(各々が実施例1のRC1またはRC2ベクター構築物を含む)に感染させた。該細胞を感染後7日目に回収し、全DNAを抽出し、ウイルスゲノムをQPCRにより定量化し、さらにその結果を細胞当たりのベクターゲノムコピーとして表した。感染多密度(moi)は細胞当たり250個のウイルス粒子とし、細胞当たりのウイルス粒子の数は、細胞当たりのウイルスゲノムコピーを意味するバーの上に示す。コピー数は導入遺伝子発現のレベルに正比例する。

20

【0118】

図3Aに示すように、ChAd155によるRC1のウイルスDNA複製の量(6.21×10^3 vp / 細胞)とRC2のウイルスDNA複製の量(6.71×10^3 vp / 細胞)は同様であった。ChAd83は、ChAd155よりも多くのRC1(2.76×10^4 vp / 細胞)およびRC2(9.19×10^4 vp / 細胞)ウイルスDNAを産生した。最も高いレベルのウイルスDNA複製はChAd83 RC2によって観察された。

【0119】

図2Bに示したウイルス産生と同様に、ヒトMRC5細胞を、実施例1のRC1、RC2またはRC3ベクター構築物を含むChAd83に感染させた。該細胞を、感染後2および7日目に回収し、全DNAを抽出し、ウイルスゲノムをQPCRにより定量化し、さらにその結果を細胞当たりのベクターゲノムコピーとして表した。感染多密度(moi)は細胞当たり250または1250個のウイルス粒子とし、細胞当たりのウイルス粒子の数は、細胞当たりのウイルスゲノムコピーを意味するバーの上に示す。コピー数は導入遺伝子発現のレベルに正比例する。

30

【0120】

図3Bに示すように、RC2およびRC3 ChAd83ベクターに関するウイルスDNA複製の量は、RC1ベクターに関するものよりも多かった。RC2およびRC3 ChAd83ベクター間で同等のウイルスDNA複製が認められた。

40

【0121】

実施例3：実施例1のベクターのアデノウイルスゲノムコピー数

細胞当たりのベクターコピーとして表される、実施例1の構築物を有する複製可能アデノウイルスベクターの効率を、マウスおよび非ヒト靈長類の両方に由来する細胞培養物において数値化した。

【0122】

図4(a)は、単層で増殖させてからChAd155 RC1、ChAd155 RC2、ChAd83 RC1またはChAd83 RC2に細胞当たり250個のウイルス粒子という感染多密度で感染させたマウス肝NMuLi細胞中で増殖させた、複製可能ベクターのゲノムコピー数を示している。全DNAを感染後5日に抽出してから、ベクターの複製を、該ベクターのプロモーター領域にアニーリングするプライマーを使用してQPCRにより測定した。

50

【 0 1 2 3 】

細胞当たりのベクターコピーとして表した結果を図4(a)に示す。ChAd155は、NMuLi細胞において高効率でRC1およびRC2ベクターの両方を増幅した。ChAd155はRC1(1.73×10^4)およびRC2(1.92×10^4)ベクターをほぼ同程度まで複製した。ChAd83はRC1およびRC2ベクターを複製する点でChAd155より効率が劣っていた。ChAd83は前記マウス細胞においてベクターDNAをごく少量複製した。RC1ベクターは 5.47×10^2 コピー／細胞のレベルで複製し、またRC2ベクターは 6.74×10^2 コピー／細胞のレベルで複製した。

【 0 1 2 4 】

非ヒト靈長類Vero細胞を同様に、単層で増殖させてから、ChAd155 RC1、ChAd155 RC2、ChAd83 RC1またはChAd83 RC2に感染させた(図4(b))。2つの異なる感染多重度、すなわち、細胞当たり50および250個のウイルス粒子を使用した。全DNAを感染後5日目に抽出してから、ベクターの複製を、該ベクターのプロモーター領域にアニーリングするプライマーを使用してQPCRにより測定した。

10

【 0 1 2 5 】

細胞当たりのベクターコピーとして表した結果を図4(b)に示す。Vero靈長類細胞系はChAd155 RC1(moi 50で 3.71×10^3 コピー／細胞およびmoi 250で 4.93×10^4 コピー／細胞)ならびにChAd155 RC2(moi 50で 8.15×10^3 コピー／細胞およびmoi 250で 7.05×10^4 コピー／細胞)に許容性を示した。該Vero靈長類細胞系は、ChAd83 RC1またはChAd83 RC2に許容性はあるにしても、わずかなものであった。moi 50ではVero細胞から発現されるChAd83 RC1またはChAd83 RC2ベクターは検出されなかった。moi 250では、ChAd83はRC1ベクターを 1.3×10^2 コピー／細胞のレベルで複製し、またRC2ベクターを 1.29×10^3 コピー／細胞のレベルで複製した。

20

【 0 1 2 6 】

実施例4：実施例1のベクターのマウスおよび非ヒト靈長類細胞からの導入遺伝子発現

ウェスタンプロット解析を実施することで、マウスNMuLi細胞におけるChAd155 RC1およびChAd155 RC2による導入遺伝子発現のレベルを比較した(図5(a))。該細胞を、ChAd155 RC1またはChAd155 RC2に細胞当たり50、250または1250個のウイルス粒子という感染多重度で感染させた。該細胞を感染後2および5日目に回収し、抽出物を標準法を利用して調製してから、等量の全細胞抽出物をSDS-PAGEゲルにロードした。電気泳動分離の後、タンパク質をニトロセルロース膜に転写し、これを次に、狂犬病糖タンパク質導入遺伝子に対する市販のモノクローナル抗体を用いてプローブした。

30

【 0 1 2 7 】

図5(a)は、ChAd155 RC1とChAd155 RC2の両方がマウスNMuLi細胞において導入遺伝子を発現することを示している。発現は感染後2および5日目の両方で観察され、狂犬病糖タンパク質(RG)の予想分子量に相当する約51 kDaのバンドにより示された。ChAd155 RC2ベクターは、感染後2および5日目の両方でChAd155 RC1ベクターより高いレベルの導入遺伝子発現を生じた。

【 0 1 2 8 】

次にウェスタンプロット解析を実施し、マウスNMuLi細胞におけるChAd155 RC1、ChAd155 RC2、ChAd83 RC1およびChAd83 RC2による導入遺伝子発現のレベルを比較した(図5(b))。該細胞を、ChAd155 RC1、ChAd155 RC2、ChAd83 RC1またはChAd83 RC2に細胞当たり50、250または1250個(ChAd83 RC1に関しては250および1250個)のウイルス粒子という感染多重度で感染させた。該細胞をウェスタンプロットのために処理した。該細胞を感染後2および7日目に回収し、抽出物を標準法を利用して調製してから、等量の抽出物をSDS-PAGEゲルにロードした。電気泳動分離の後、タンパク質をニトロセルロース膜に転写し、これを次に狂犬病糖タンパク質導入遺伝子に対する市販のモノクローナル抗体を用いてプローブした。

40

【 0 1 2 9 】

図5(b)は、ChAd155 RC1、ChAd155 RC2、ChAd83 RC1およびChAd83 RC2がマウスNMuLi細胞において導入遺伝子を発現することを示している。発現は感染後2および5日目の両方で

50

観察され、狂犬病糖タンパク質(RG)の予想分子量に相当する約51 kDaのバンドにより示された。ChAd155はChAd83よりも効率的な導入遺伝子の発現を示した。感染後2日目に、ChAd155 RC2による強力な導入遺伝子発現が50vp / 細胞という低い多重度でも観察されたが、ChAd155 RC1による強力な導入遺伝子発現はより高いmoiで初めて観察された。同様に、RC2は、ChAd155およびChAd83ウイルス血清型の両方においてRC1より効率的な導入遺伝子発現を示した。RC2は直接比較の各々においてRC1よりも強力に発現された。

【0130】

ウェスタンプロット解析を実施し、MRC5細胞におけるChAd83 RC1、RC2およびRC3による導入遺伝子発現のレベルを比較した(図5(c))。該細胞を、ChAd83 RC1、RC2またはRC3に、細胞当たり250または1250個のウイルス粒子という感染多重度で感染させた。該細胞を感染後2および7日目に回収し、抽出物を標準法を利用して調製してから、等量の全細胞抽出物をSDS-PAGEゲルにロードした。電気泳動分離の後、タンパク質をニトロセルロース膜に転写し、これを次に狂犬病糖タンパク質導入遺伝子に対する市販のモノクローナル抗体を用いてプローブした。

10

【0131】

図5(c)は、ChAd83 RC1、RC2およびRC3がいずれもMRC5細胞において導入遺伝子を発現することを示している。発現は感染後2および7日目の両方で確認され、狂犬病糖タンパク質(RG)の予想分子量に相当する約51 kDaのバンドにより示された。ChAd83 RC2ベクターは、感染後2および7日目の両方で、ChAd83 RC1およびRC3ベクターよりも高いレベルの導入遺伝子発現をもたらした。7日目のRC1およびRC3ベクターに関しては、狂犬病糖タンパク質の検出は認められなかった。

20

【0132】

実施例5：単一発現力セットを有する代替チンパンジーアデノウイルスの構築

実施例1と同様に、標準的手法を利用して健康なチンパンジーから単離した野生型チンパンジーアデノウイルス155型(ChAd155)(WO 2016/198621)を、Sci Transl Med (2012) 4:1およびWO 2010/086189に記載されている通りに複製欠損ウイルスとして構築した。

20

【0133】

実施例5において、ChAd155は、単一導入遺伝子発現力セットを挿入することにより構築した。この発現力セットには、古典的ヒトCMV(hCMV)プロモーター、F0 TM、NおよびM2-1 RSV抗原ならびに、場合によっては、WPREエンハンサーを含めた。このベクターを図6に示す。この発現力セットを前記アデノウイルスのE1領域に(該E1領域を欠失させた後に)挿入した。

30

【0134】

図6に示すChAd155は、RSV F0 TM、M2-1およびN抗原の全てをコードする導入遺伝子を含み、ここで自己切断部位(「2A」)はRSV F0 TM抗原と複合RSV N.M2-1抗原の間に含まれており、フレキシブルリンカーはRSV M2-1およびN抗原の間に含まれている。

30

【0135】

実施例5のChAd155 RSVベクターは、配列番号4のポリヌクレオチドを含み、かつ配列番号5のポリペプチドをコードする。

40

【0136】

実施例6：二重発現力セットを有するチンパンジーアデノウイルスの構築

先と同様に、標準的手法を利用して健康なチンパンジーから単離した野生型チンパンジーアデノウイルス155型(ChAd155)(WO 2016/198621)を、Sci Transl Med (2012) 4:1およびWO 2010/086189に記載されている通りに複製欠損ウイルスとして構築した。

40

【0137】

実施例6のChAd155は、2つの導入遺伝子発現力セットを前記アデノウイルスの2つの異なる位置に挿入することにより構築した：

(1)第1発現力セット構成要素は、古典的ヒトCMV(hCMV)プロモーターおよびN.M2-1 RSV複合抗原を含む。この第1発現力セットを、前記アデノウイルスのE1領域に(該E1領域を欠失させた後に)挿入する。

50

(2)第2発現力セットは、増強された古典的ヒトCMV(増強hCMV)プロモーター、F0 TM RSV抗原およびWPREエンハンサーを含む。この第2発現力セットを、前記アデノウイルスのHE2領域に(該HE2領域を欠失させた後に)挿入する。

【0138】

二重発現力セットを含むこのベクターを図7に示す。

【0139】

図7の構築物では、Ad5E4orf6を初期遺伝子4(E4)領域と置換している。該置換はHEK 293細胞における生産性を増大させるために必要である。

【0140】

実施例7：実施例6の二重発現力セットからの導入遺伝子発現

10

MRC5細胞における実施例6のChAd155ベクター中の導入遺伝子(図中では「二重」または「二重力セット」と表示)発現のレベルを比較するために、以下(i)～(iii)、すなわち、(i)単一F発現力セットを含むベクター(「F0 TM」と表示されるChAd155-F0 TM)、(ii)単一NM2発現力セットを含むベクター(「NM2-1」と表示されるChAd155-NM2)、ならびに

(iii)FおよびNM2-1 RSV抗原を含有する単一発現力セットを含む実施例5のベクター(「RSV」とも表示されるChAd155-F0 TM.NM2)

を用いてウェスタンプロット解析を実施した。

【0141】

ウェスタンプロット解析を図8および図9に示す。

20

【0142】

図8に示すように、前記細胞を、ChAd155-F0 TM、ChAd155-F0 TM.NM2(「RSV」)または実施例6のChAd155二重力セットに細胞当たり500個のウイルス粒子という感染多度で感染させた。さらに、細胞を、ChAd155-F0 TM.NM2(「RSV」)に細胞当たり500または1250個のウイルス粒子という感染多度で感染させた。該細胞を感染後48時間および96時間目に回収し、抽出物を標準法を利用して調製してから、等量の全細胞抽出物をSDS-PAGEゲルにロードした。

【0143】

図8は、ChAd155二重力セットが、MRC5細胞においてChAd155-F0 TMに匹敵しかつChAd155-F TM.NM2より高いF抗原の発現レベルを与えることを示して

30

【0144】

図9に示すように、前記細胞に、ChAd155-NM2、ChAd155-F0 TM.NM2(「RSV」)または実施例6のChAd155二重力セットを、細胞当たり250および1250個のウイルス粒子という感染多度で感染させた。該細胞を感染後48時間目に回収し、抽出物を標準法を利用して調製してから、等量の全細胞抽出物をSDS-PAGEゲルにロードした。

【0145】

図9では、ChAd155二重力セットは、MRC5細胞において少なくともChAd155-NM2単一ベクターに匹敵しかつChAd155-F TM.NM2(「RSV」)より高いNM2-1発現レベルを与えて

【0146】

実施例8：実施例6の二重発現力セットの免疫原性

40

実施例6の二重発現力セットの免疫原性を、CD1非近交系マウス(10匹/群)において数値化した。実験は、 5×10^8 個のウイルス粒子をマウスに筋肉内注射することにより実施した。B細胞応答は、免疫化後4および8週目にRSV中和力値を測定することにより測定した。各点は、一匹のマウスにおける応答を表しており、また線は各投与群の平均に対応している。この解析の結果を図10に示す。

【0147】

図10は、ChAd155二重力セットが、ChAd155-F0 TMに匹敵しかつChAd155-F0 TM.NM2(「RSV」)により引き起こされるものより高いB細胞応答をもたらすことを示して

【0148】

実施例6の二重発現力セットの免疫原性を、BALB/c近交系マウス(48、11または8匹/群

50

)においても評価した。実験は、筋肉内に 10^7 または 10^6 個のウイルス粒子を注射することにより実施した。T細胞応答は、BALB/cマウスにおいてマッピングされたM2ペプチドT細胞エピトープを使用してex vivoでのIFN- γ 酵素結合免疫スポット(ELISpot)により免疫化後3週目に測定した。結果を図11に示し、脾細胞100万個当たりのIFN- γ スポット形成細胞(SFC)として表す。各点は一匹のマウスにおける応答を表しており、また線は各投与群の平均に対応している。ウイルス粒子の数で表した注入用量をX軸上に示す。結果を図11に示す。図11は、ChAd155二重カセットが、單一カセットChAd155-F0 TM.NM2(「三重RSV」、結果は過去のデータから取得)により引き起こされるものより高いT細胞応答をもたらすことを示している。応答におけるこの差異は、 10^6 vp投与の場合により大きい。

【0149】

10

図11では、「#陽性マウス」、すなわちワクチンに応答したマウスの数に言及している。

【0150】

実施例9：ウシにおける実施例6の二重発現力セットの免疫原性

本研究デザインについて、下記表2に詳述する：

【0151】

【表2】

群	ウシの数	ワクチン	経路	用量	免疫	研究の終了
群1	4	ChAd155 單一RSV	筋肉内 (IM)	1×10^{11}	D0	D90
群2	4	ChAd155二重 RSV	筋肉内 (IM)	1×10^{11}	D0	D90
群3	4	生理食塩水	筋肉内 (IM)	N/A	D0	D90

「ChAd155単一RSV」は実施例5のChAd155であり、また「ChAd155二重RSV」は実施例6のChAd155である。

【0152】

20

計12頭の成体ウシを本研究に登録した。これらのウシは年齢が2.7歳～7.8歳であり、また平均範囲は4.8歳であった。

【0153】

これらのウシを本研究に登録する前に、該ウシをウシRSV(BRSV)抗体についてELISAによりプレスクリーニングした。これにより、類似した分布および平均BRSV Ab力値を有する研究群を確立することが可能となった(該群のいずれにも偏りが生じないようにするため)。

【0154】

試料は、ワクチン接種前(D-5またはD0)およびワクチン接種後(D7、10、14、28、60、90)にウシから採取した。本研究では、ウシに、前記2種のワクチンのうちの一方の 1×10^{11} 個のウイルス粒子または生理食塩水を0日目(D0)に接種した。

【0155】

気管支肺胞洗浄(BAL)をワクチン接種後-5、7、10または28日目に実施することにより、ウシの肺のT細胞を単離した。次に、前記ワクチンにおいてコードされているRSV抗原(ペプチドプールの形態)による刺激時のCD4+およびCD8+T細胞のIFN- γ サイトカイン産生を、細胞内サイトカイン染色(ICS)を利用して検出した(すなわち、IFN- γ ICSを利用して動物における肺T細胞応答を検出した)。本実験の結果を図12Aおよび12Bに示す。本実験から、ChAd155-二重RSVは気管支肺胞洗浄(BAL)において一貫したRSV-特異的CD4+およびCD8+応答を誘導すると結論づけることができる。

【0156】

40

50

末梢血単核細胞(PBMC)のRSV-特異的CD4+およびCD8+応答のIFN- サイトカイン産生を細胞内サイトカイン染色(ICS)を利用して検出するために、血液試料を同様にワクチン接種後0、14、28、60および90日目にウシから採取した(すなわち、IFN ICSを利用して末梢T細胞応答を検出した)。本実験の結果を図13Aおよび13Bに示す。これらの結果を踏まえると、ChAd155-二重RSVはPBMCにおける既存のRSV-特異的CD4+およびCD8+応答を一貫して増大させると結論づけることができる。

【0157】

同様に前記血液試料を使用して、血清中のRSVに対する中和抗体(nAb)を検出した(すなわち、末梢液性応答を検出した)。本実験の結果を図14Aおよび14Bに示す。これらの結果は、ChAd155-二重RSVが、ワクチン接種後3ヶ月間基準値よりも高いレベルで維持される血清中のRSV nAbをブーストすることを示している。

10

【0158】

実施例10：狂犬病GおよびRSV NM2タンパク質をコードするChAd155二重の免疫原性
使用する3つの異なるChAd155ベクター、すなわち、

- ・狂犬病G(RG)およびRSV NM2タンパク質を共にコードするChAd155(本実施例では「ChAd155二重」、およびChAd155二重hCMV NM 2-1 - CASI RG WPREと称する)、
- ・狂犬病G(RG)タンパク質のみをコードするChAd155(本実施例では「ChAd155 RG」、およびChAd155(E4)CASI RG WPREと称する)、ならびに
- ・図6に示すChAd155ベクター、すなわち、RSV F0 TM、M2-1およびN抗原の全てをコードする導入遺伝子を有するベクター(「ChAd155 RSV」と称する)

20

を本実験で構築した。

【0159】

ChAd155二重アデノウイルスの3つの異なる用量、すなわち、 10^7 個のウイルス粒子という最高用量、および 10^6 個のウイルス粒子という中用量、および 10^5 個のウイルス粒子という最低用量をマウスに投与した。

【0160】

前記のChAd155 RGおよびChAd155 RSVベクターの2つの異なる用量をマウスに投与した。ChAd155 RSVの場合、これは 10^7 個のワクチン粒子という高用量、および 10^6 個のワクチン粒子という低用量とした。ChAd155 RGの場合、これは 10^6 個のワクチン粒子という高用量、および 10^5 個のワクチン粒子という低用量とした。マウスを3週間後に犠牲にし、脾細胞を、該ワクチンがコードする抗原に対するT細胞応答についてIFN ELISpotにより試験した。

30

【0161】

本実験の結果を図15A、15Bおよび15Cに示す。図15A、15Bおよび15Cから分かるように、ChAd155二重RG-NM2ベクターは全体的に、RGおよびNM2抗原の各々を単独でコードするベクターに匹敵する免疫応答を示す。

【0162】

図15Cは、3つの異なるベクター全てに使用した共通の 10^6 vp用量での、全コード化抗原に対する累積応答を比較したものである。狂犬病Gタンパク質が2回記載されている(G1およびG2)のは、該タンパク質の全配列を網羅するためにオーバーラップペプチドの2つのペールを使用したからである。

40

【0163】

従って、2つの抗原を同一ベクター内に配置すると、異なる病原体に対する複数の抗原を同一ベクター内に提供できるようになると同時に、依然として同等の免疫応答が引き起こされる。

【0164】

実施例11：HeLa細胞における狂犬病GおよびRSV NM2タンパク質をコードするChAd155二重の発現

実施例11の実験では、HeLa細胞を、実施例10で使用した精製「ChAd155二重」、「ChAd155 RG」および「ChAd155 RSV」に感染させた。

50

【0165】

50、250および1250の感染多重度(MOI)を本実験で利用した。

【0166】

図16Aに示すウェスタンプロット(還元条件下で取得)を得るために、細胞溶解物を感染後48時間目に回収した。NM2-1の推定サイズは65 kDaである。図16Aは、ChAd155二重カセットおよびChAd155 NM2-1に関して同等の発現レベルを示している。さらに、NM2-1の発現レベルは、ChAd155二重カセットに関してはChAd155 RSVベクターより高かった。

【0167】

図16Bに示すウェスタンプロットを得るために、上清を感染後48時間目に回収した。狂犬病糖タンパク質の推定サイズは57.6 kDaである。図16Bは、ChAd155二重およびChAd155 RGアデノウイルスに関して同等の発現レベルを示している。

10

【0168】

さらに、4つの異なるベクターを使用して感染力データも収集した。精製ウイルスの感染力は、ヘキソン免疫染色により接着性Procell 92細胞において評価した。結果を下記表3に示す(vp = ウイルス粒子、ifu = 感染単位、およびRはこれら2つの数の比率である)。感染力の結果は、前記ベクターの全てが同様の感染力を有することを示している。さらに、R値の全てが300未満だったことから、全ベクターの感染力は許容性の範囲内であると思われた。

【0169】

【表3】

20

	Vp/mL	Ifu/mL	R(vp/ifu)
ChAd155 hCMV NM 2-1 – CASI RG WPRE	5.51E+11	4.53E+09	122
ChAd155(ΔE4)hCMV-RSV	1.12E+11	1.05E+09	107
ChAd155(ΔE4)hCMV NM2-1	5.68E+11	4.26E+09	133
ChAd155(ΔE4)CASI RG WPRE	3.48E+11	3.35E+09	104

【0170】

30

実施例12:CRPV E2およびE1タンパク質をコードするChAd155二重の免疫原性

2つの異なるChAd155ベクター、すなわち、

- ・第1発現カセットにおいて改変CRPV E2タンパク質をコードし、かつ第2発現カセットにおいて改変CRPV E1タンパク質をコードするChAd155(「CRPV二重」と称する)、ならびに
- ・単一発現カセットにおいて改変CRPV E2およびE1タンパク質の融合体をコードするChAd155(「CRPV融合体」と称する)

を本実験で構築した。

【0171】

前記2つのアデノベクターの2つの異なる用量、すなわち、 10^7 個のウイルス粒子という高用量、および 10^6 個のウイルス粒子という低用量をマウスに投与した。本実験の結果を図17に示す。図17は、ワクチン接種の3週間後の脾細胞に関するIFN ELISpotである。統計解析をその結果について実施したところ、異なるベクターからの応答間の差は統計学的に有意であるとは思われなかった。しかし、図17から分かるように、ChAd155 CRPV二重ベクターは、CRPV融合体ベクターに比べて、最低用量で応答マウスの出現頻度の増加を示す(10^6 用量のCRPV二重ベクターの場合は6/6が陽性応答マウスであるが、 10^6 用量のCRPV融合体ベクターの場合は4/6のみが陽性応答マウスである)。

40

【0172】

実施例13:CRPV E2およびE1タンパク質をコードするChAd155二重の発現

実施例12で使用した2つの異なるChAd155ベクターを実施例13でも使用した。

【0173】

50

250および1250の感染多重度(MOI)を本実験で使用した。細胞溶解物を感染後48時間目に回収した。改変E1タンパク質の推定サイズは48 kDaであり、改変E2タンパク質は35 kDaであり、また改変E1およびE2タンパク質の両方を含有する融合タンパク質は88 kDaである。

【0174】

図18は、前記CRPV融合体ベクターに比べて、前記CRPV二重ベクターによる改変E1およびE2タンパク質のより良好な発現が認められたことを例示するウェスタンプロット(還元条件下で取得)を示している。図18中に示す「Pvj」の列は、使用した対照である。

【0175】

さらに、感染力データを、前記の2つの異なるベクターを使用して収集した。精製ウイルスの感染力は、ヘキソン免疫染色により接着性Procell 92細胞において評価した。結果を下記表4に示す(vp=ウイルス粒子、ifu=感染単位、およびRはこれら2つの数の比率である)。感染力の結果は、前記の2つのベクターが同様の感染力を有することを示している。さらに、R値の全てが300未満だったことから、全ベクターの感染力は許容性の範囲内であると思われた。

10

【0176】

【表4】

	Vp/mL	Ifu/mL	R (vp/ifu)
ChAd155 hCMV CRPV DE2DE1 融合体 HA WPRE 「CRPV 融合体」	4.52E+11	2.97E+09	153
ChAd155 hCMV CRPV DE2 HA WPRE - 増強 CMV CRPV DE1 HA WPRE 「CRPV 二重」	6.20E+11	4.39E+09	143

20

【0177】

配列の記載

30

配列番号1 野生型ChAd155をコードするポリヌクレオチド配列

CATCATCAATAATACCTTACGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGATGGCGCGCGGGCGGGAG
 GCGGGTCCGGGGCGGGCGGGCGGGCGGTGTGGCGGAAGTGGACTTGTAAAGTGTGGCGATGTGACTTGCT
 AGTGCCGGCGCGGTAAAAGTACGTTTCCGTGCGGACAACGCCACGGGAAGTGAATTTCCCGCGTTTT
 ACCGGATGTTGAGTGAATTGGCGTAACCAAGTAAGATTGGCCATTTCGCGGGAAACTGAAACGGGAAGTGA
 AAATCTGATTAATTCGCGTTAGTCATACCGCTAATATTGTCGAGGGCGAGGGACTTGGCCATTACGTGGAG
 GACTCGCCCAGGTGTTTGGAGGTGAATTCCGCGTCCGGTCAAAGTCTCGTTTATTATTAGTCAGCTGA
 CGCGGAGTGTATTACCCCTGATCTCGTCAAGTGGCACTCTGAGTGCCAGCGAGTAGAGTTCTCCCTGC
 CGCTCTCCGCTCCGCTCCGCTGACACCGGGAAAAATGAGACATTCACCTACGATGGCGGTGTGCTCA
 CCGGCCAGCTGGCTGCTGAAGTCCTGGACACCGTATCGAGGAGGTATTGGCGATAATTACCTCCCTGACTCCT
 TTTGAGCCACCTACACTTCACGAACCTACGATCTGGATGTGGTGGGCCAGCGATCCGAACGAGCAGGCGGTTTC
 CAGTTTTTCCAGAGTCATGTTGGCCAGCCAGGAGGGGTCGAACCTGAGACCCCTCCGATCGTGGATT
 CCCCCGATCCGCCAGCTGACTAGGCAGCCGAGCCTGAGACTATGCCAGCTGCTACCTGAG
 GTGATCGATCTCACCTGTAATGAGTCGGTTTCCACCCAGCGAGGATGAGGAGCAAGAGGGTGAGCAGTTGTGTT
 AGATTCTGTGGAACAACCGGGCGAGGATGCAGGTCTTGTCAATATCACCGGAAAACACAGGAGACTCCCAGATTA
 TGTGTTCTCTGTGTTATATGAAGATGACCTGTATGTTATTACAGTAAGTTATCATCTGTGGCAGGTGGCTAT
 AGTGTGGTGGTGGTCTTGGGGTTTTAATATATGTCAGGGTTATGCTGAAGACTTTTATTGTGATTTT
 AAAGGTCCAGTGTCTGAGCCGAGCAAGAACCTGAACCGGAGCCTGAGCCTCTCGCCCCAGGAGAAAGCCTGTAAT
 CTTAACTAGACCCAGCGCACCGTAGCGAGAGGCCTCAGCAGCGCGAGACCACCGACTCCGGTGCTCCCTCATCAC
 CCCCCGGAGATTCAACCCCTGGTGCCCTGTGTCCTGTTAAGCCGTTGCCGTGAGAGTCAGTGGCGGGCTGCT
 GTGGAGTGCATTGAGGACTTGCTTTGATTACAGGAACCTTGGACTTGAGCTTGAAACGCCAGGCATTAAC
 CTGGTCACCTGGACTGAATGAGTTGACGCTATGTTGCTTTGAATGACTTAATGTGATAGATAATAAGAGTGA
 GATAATGTTAATTGATGGTGTGTTAACTTGGCGGAGTCTGCTGGTATATAAGCTTCCCTGGCTAAACTG
 GTTACACTTGACCTCATGGAGGCCCTGGAGTGGAGAACTTGGCGGAGTTCGTGCTGCTGGACGAGAGCTC
 TAACAATACCTTGGTGGAGGTATTGTTGGGCTCTCCCAGGGCAAGTTAGTTGAGAATCAAGGAGGATT
 ACAAGTGGGAATTGAGAGCTTGGAAATCCTGTGGTGAGCTATTGGATTCTTGAATCTAGGCCACAGGCTCTC
 TTCCAGGAGAAGGTATCAGGACTTGGATTCCACACCGGGGCCATTGCAAGCCGGITGCTTTCTAGCTT
 TTTGAAGGATAGATGGAGCGAAGAGACCCACTTGAGTTGGCTACGGTCTGGGATTTCTGGCCATGCAACTGTGGA
 GAGCATGGATCAGACACAAGAACAGGCTGCAACTGTTGCTTCCGTCCGCCGGTGTGATTCCGGCGAGGAGCAA
 CAGGCCGGGTCAAGAGGCCCTGGGATCCGGAGGAGAGGGCACCGAGGCCGGCGAGAGGAGCGCCTGAA
 CCTGGGAACCGGGCTGAGCCGACATCCACATGGAGTGAATGTCGGCAGGTGGATCTTCCAGAACTGCG
 GCGGAGTTGACTATTAGGGAGGATGGCAATTGTTAAGGGCTTAAGAGGGAGAGGGGGCTCTGAGCATAACG
 AGGAGGCCAGTAATTAGCTTGTGATGACAGACACCGTCCAGAGTCATCACTTCAAGCAGATTAGGAC
 AATTGTCGAATGAGTTGGATCTGTTGGGTCAAAGTATAGCATAGAGCAGCTGACCAACTACTGGCTGAGCCGG
 TGATGATCTGGAGGAAGCTATTAGGGTGTATGCTAAGGTGGCCCTGGGGCCGATTGCAAGTACAAGCTCAAGGGC
 TGGTGAATATCAGGAATTGTTGCTACATTCTGGCAACGGGGCGGAGGTGGAGATAGAGACCGAAGACAGGGTGGCT
 TTCAGATGCAGCATGATGAATATGTGGCCGGGGTGCTGGCATGGACGGGTGGTATTATGAATGTGAGGTTCAC

10

20

30

40

GGGGCCAACTTAAACGGCACGGTTGGGAACACCAACCTGGCCTGCACGGGTGAGCTTATGGTTA
 ACAACACCTGTGGAGGCCCTGGACCGATGTGAAGGTCCGGTTGGCCTTTATGGATGTTGGAAAGGCCATAGTG
 AGCCGCCCTAAAGAGCAGGAGTCCATTAAGAAATGCTTGGTGTGAGAGGTGCACCTGGGATCCTGGCGAGGGCAA
 CTGCAGGGTGCGCCACAATGTGGCCTCCGAGTGCAGTGCCTCATGCTAGTCAGAGCGTGGCGTAATCAAGCATA
 ATATGGTGTGGCAACAGCGAGGACAAGGCCACAGAGCTGGCCGTGAGCACAACGAGTGCACCCGCTGCTCCCTGCA
 TCTGGCAACAGGGGGGGTGTCTGCCTATCAATGCAACTTATGTCACACCAAGATCTGCTAGAGCCCAGA
 GCATGTCCAAGGTGAACCTGAACGGGTGTTGACATGACCATGAAGATCTGGAAGGTGCTGAGGTACGAGACC
 AGGTCCCAGGTGCAGACCCCTGCAGTGCAGTGCAGGAGCATATGAGGAACCAGCCGTGATGCTGGATGTGACCGAGGA
 GCTGAGGACAGACCACTGGTCTGGCCTGCACCAGGGCCAGTTGGTCTAGCGATGAAGACACAGATTGAGGTG
 GGTGAGTGGCGTGGCTGGGTGGTCATGAAAATATAAGTTGGGTCTTAGGGTCTCTTATTGTGTTGCAG
 AGACCGCCGGAGCCATGAGCGGGAGCAGCAGCAGCAGTACGAGCAGCGCTGGATGGCAGCATCGTGGCCCT
 TATTGACGACGCCATGGCCGGGGGGTGCCTGAGAATGTGATGGGCTCCAGCATCGACGCCGACCCGT
 CCTGCCGCAAATTCCGCCACGCTGACCTATGCGACCGTGCAGGGGACGCCGTTGGACGCCACCGCCGCCGCG
 CCACCGCAGCCGCTCGGCCGTGCGCAGCCTGCCACGGACTTGCATTCTGGGACACTGGCAGACAGGGCTACT
 TCTCGGGCGCTGCTGCCCGTCCGATGACAAGCTGACCGCCCTGCTGGCGCAGTTGGATGCGCTACTCGGGA
 ACTGGGTGACCTTCTCAGCAGGTATGGCCCTGCCAGCAGGTCTCCTCCCTGCAAGCTGGGGAAATGCTCTC
 CCACAAATGCCGTTAAGATAAAACAGACTCTGTTGGATTAAAGAAAAGTAGCAAGTGCATTGCTCTTT
 ATTTCATATAATTTCGCGCGCATAGGCCCTAGACCAGCGTTCTCGGCGTTGAGGGTGCAGGTATCTCTCCAGG
 ACGTGGTAGAGGTGGCTCTGGACGTTGAGATACTGGCATGAGCCCGTCCCGGGGGTGGAGGTAGCACCACGTGAG
 AGCTTCATGCTCCGGGGTGGTAGATGATCCAGTCAGCAGGAGCGCTGGCATGGCCTAAAGTCT
 TCAGCAGCAGGCCATGGCCAGGGGGAGGCCCTGGTAGTAAAGTGTACAAAACGGTTAAGTTGGGAAGGGTGCATT
 CGGGGAGAGATGATGTGCATCTGGACTGTATTTAGATTGGCGATGTTCCGCCAGATCCCTCTGGGATTCAT
 GTTGTGCAAGGACCAACAGTACAGTGTATCCGGCAGCTGGGAAATTGTCATGCAGCTAGAGGGAAAAGCGTGG
 AGAAACTGGAGACGCCCTTGTGGCCTCCAGATTCCATGCATTGTCAGTGGCAATGGGCCGAG
 GCAGCTGGCAAAGATATTCTGGGTGCGTACGTCAGTGTGTTCCAGGGTGAGGTGTCATAGGCCATT
 TACAAAGCGCGGGCGGAGGGTGCCCAGTGGGATGATGGCCCCTCTGGCCCTGGGCGTAGTTGCCCTCGCAGA
 TCTGCATTCCAGGCCTTAATCTGGAGGGGAAATCATATCCACCTGCCGGCGATGAAGAAAACGGTTCCAGG
 GCCGGGAGATTAACGGATGAGAGCAGGTTCTAACGAGCTGTGATTTCCACAACGGTGGGCCATAAAAC
 ACCTATAACCGTTGCAGCTGGTAGTTAGAGAGCTGCAGCTGCCGTGTCAGGGGCCACCTCGTTGA
 GCATGTCCCTGACGCGATGTTCTCCCGACCAAGATCCGCCAGAAGCGCTGCCGCCAGGGACAGCAGCTTGC
 AAGGAAGCAAAGTTTCAGCGCTTGAGGCCGTCGGTCCAGCGGGCCAGAGTCATGTCCTCCATGGCGCAGGGTCTCGTCA
 GCGGCTCCAGAGCTCGGTGACGTGCTACGGCATCTATCCAGCATCTCCGTTGCGGGTGGCGACT
 TTCGCTGTAGGGCACCAAGCGGTGGTAGCCAGCGGGCCAGAGTCATGTCCTCCATGGCGCAGGGTCTCGTCA
 GGGTGGCTGGGTACGGTAAGGGTGCCTCCGGCTGAGCGCTTGCAAGGTGCGTTGAGGCTGGTCTGCTG
 GTGCTGAAGCGCTGCCGTCTCGCCCTGCGCGTGGCCAGGTAGCATTTGACCATGGTGTATAGTCCAGCCCTC
 CGCGCGTGTCCCTGGCGCAGCTTGCCTGGAGGTGGCGCCAGGAGGAGCAGAGCAGGCTTGTAGCGCT
 AGAGCTGGGGCGAGGAAGACCGATTGGGAGTAGCGTCCGCCAGACCCGCACACGGTCTCGACTCC
 ACCAGCCAGGTGAGCTGGGCGGCCGGTAAAAACAGGTTCCCCATGCTTTGATGCGTTCTTACCTCG
 GGTCTCCATGAGGTGGTGTCCCCGCTCGGTGACGAAGAGGCTGTCCGTAGACCGACTTGAGGGTCTTT

10

20

30

40

TCTCCAGGGGGTCCCTCGGTCTCCTCGTAGAGGAACCTCGGACACTCTGAGACGAAGGCCCGCGTCCAGGCCAGG
 ACGAAGGAGGCTATGTGGGAGGGTAGCGGTGTTGTCACAGGGGTCCACCTCTCCAAGGTGTGAAGACACAT
 GTCGCCTCCTCGCGTCCAGGAAGGTGATTGGCTTAGGTGTAGGCCACGTGACCGGGGTTCTGACGGGGGG
 TATAAAAGGGGTGGGGCGCGTCGTCGTCACTCTCTCCGCATCGCTGTGCGAGGGCAGCTGCTGGGTGAG
 TATTCCCTCTCGAAGGCAGGCATGACCTCCCGCTGAGGTGTCAGTTCAAAACGAGGAGGATTGATGTTCAC
 CTGTCCCAGGGTGTACCTTGAGGGTACCCCGTCCATCTGGTCAGAAAACACGATCTTTATTGTCAGCTTGG
 TGGCGAACGACCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGCAGCTGGCGATGGAGCGCAGGGTCTGGTCTTGTCCCTGCG
 CGCTCCTGGCGCATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCGACGCAGGCCACTCGGGAAAGACCGTGGTGCCTC
 GTCGGGCACCAGCGCACCGCCAGCGCGTTGTGCAGGGTACCCAGGTCCACGCTGGTGGCAGCTCGCGCA
 GGCCTCGTGGTCCAGCAGAGACGGCGCCCTGCGGAGCAGAAGGGGGCAGGGTGTAGCTGGGTCTCGTCC
 GGGGGTCCCGTCCACGGTAAAACCCGGGCGAGCGCGCGCTGAGGGTTGAGCAGGGCCAGGGCATGGGTGG
 CAGCGCCTGCTGCCAGTCGCGGGCGAGCGCGCGCTGAGGGTTGAGCAGGGCCAGGGCATGGGTGG
 TGAGTGCAGGGCGTACATGCCAGATGTCATAGACGTAGAGGGCTCCGCAGGACCCGATGAGGTGGGTAG
 CAGCGCCGCGCGGATGCTGGCGCGACGTAGTCATACAGCTCGCGAGGGCGAGGAGGTCGGGCCCAGGTT
 GGTGCGGGCGGGCGCTCCGCGGAAGACGATCTGCCTGAAGATGGCATGCGAGTGGAGAGATGGTGGGCG
 GGAAGACGTTGAAGCTGGCTCTGCAGGCCAGCGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCGCGATGTCATATTAGCCTGCC
 ACCAGCTCGCGGTGACCTGCACGTCGAGCGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCGCGATGTCATATTAGCCTGCC
 CTTCTTTCCACAGCTCGGGTGAAGACAAACTCTCGGTCTTCCAGTACTCTTGATCGGGAAACCGTCC
 GTTCCGAACGTAAGAGCCTAGCATGTTAGACTGGTGACGGCTGGTAGGCGCAGCAGCCCTCTCACGGGAGG
 GCGTAGGCCTGCGCGGCTTGCAGGGAGCGAGGTGTGGTAGGGCGAAGGTGTCCCTGACCATGACTTGAGGTACTG
 GTGCTGAAGTCGGAGTCGTCGAGCCCGCCCTCCAGAGCGAGAAGTCGGTGCCTTCTGGAGCGGGTTGG
 GCAGAGCGAAGGTGACATCGTTGAAGAGGATTGCGCGGGCATGAAGTTGCGGGTAGCGGAAGGGCCCC
 GGCACCTCAGAGCGGTTGGTATGACCTGGCGCGAGCACGATCTCGTGAAGCCGTTGATGTTGGCCACGAT
 GTAGAGTTCCAGGAAGCGGGCGGCCCTTACGGTGGCAGCTCTTAGCTTCGTAGGTGAGCTCCTCG
 AGGCAGGGCGGTGCTCGCCAGGGCCCAGTCCCGAGGTGCGGGTTGTCTGAGGAAGGACTTCCAGAGGTGCG
 GCCAGGAGGGTCTGCAGCGGTCTGAAGCTCTGAACTGGCGCCACGGCATTTCGAGGGTGTAGCGAGTA
 GAAGGTGAGGGGGTCTTGCTGCCAGCGGTCCCAGTCGAGCTGCAGGGCGAGGTGCGCGCGGGTGA
 CGTCGCCCGAATTGACCATGACAGCATGAAGGGCACGAGCTGCTTCCGAAGGCCCATCCAAGTGTAGGTCT
 ACATCGTAGGTGACAAAGAGGCCTCCGTGCGAGGATGCGAGCGATCGGAAGAAACTGGATCTCCGCCACCAGTT
 GGAGGAGTGGCTGTTGATGTTGGAAGTAGAAGTCCCGTCCGGCGAACACTCGTGTGGCTTTGTA
 GAGCGCAGTACTGGCAGCGCTGCACGGCTGTACCTCATGCACGAGATGCACCTTCTGCCCGCAGGAGGAGCC
 AGGGAAATCTGAGCCCCCGCCTGGCTCGGGCATGGCTGGTCTCTACTTTGGATGCGTGTCCGTCTCCGTC
 TGGCTCTCGAGGGGTGTTACGGTGGAGCGGACCAACCGCCGCGAGCCAGGTCCAGAATATCGCGCGCG
 GTCGGAGTTGATGACGACATCGCCAGCTGGAGCTGTCATGGCTGGAGCTCCGGCGGGCAGGTCTAGGTGG
 GGGAGTTCTGCAGGTTACCTCGCAGAGTCGGGCCAGGGCGGGCAGGTCTAGGTGGTACCTGATCTCTAGGG
 CGTGTGGTGGCGCGTGTGATGGCTTGCAGGAGCCCGAGCCCCGGGGCGACGACGGTCCCCGGGGTGG
 TGGTGGTGGCGGTGAGCTCAGAAGCGGTGCCCGGGCCCCGGAGGTAGGGGGGCTCCGGTCCCGCG
 GGGCGGGCAGCGGCACGTCGGCGTGGAGCGCGGGCAGGAGTTGGTGTGCCCCGGAGGTGCTGGCG
 ACACGGCGGGTTGATCTCTGGATCTGGCGCTCTGCGTGAAGACGACGACGGCCGGTGA
 TTGACAGAATCAATCTCGGTGTATTGACCGCGCCTGGCGCAGGATCTCTGCACGTCTCCGAGTTGTCTGG

10

20

30

40

AGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGTTTACATGCGATGGCGTGAAGGTGCTCACCCCTGAGCGACGACCTGGCG
 TGTACCGCAACGAGCGCATCCACAAGGCCGTGAGCGTGAGCCGGCGCGAGCTGAGCGACCGCGAGCTGATGCAC
 AGCCTGCAGCGGGCGCTGGCGGCCGGCAGCGCGACAGGGAGGCAGTCCTACTTCGATGCGGGGGCGGACCT
 GCGCTGGCGCCCAGCCGGCGGGCCCTGGAGGCCGCGGGGTCGCGAGGACTATGACGAGGACGGCGAGGAGGATG
 AGGAGTACGAGCTAGAGGAGGGCGAGTACCTGACTAAACCGCGGTGGTGTTCGGTAGATGCAAGACCGAACG
 TGGTGGACCCGGCGCTCGGGCGCTCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCTTAACCTCAGACGACTGGCGACAGGTC
 ATGGACCGCATCATGTCGCTGACGGCGTAACCCGGACCGTCCGGCAGCAGCCGAGGCCAACAGGCTCTCCG
 CATCCTGGAGGCCGGTGGTGCCTGCGCCTCGAACCCCACGCAGAGAAGGTGCTGGCATAGTGAACCGCTGGCCG
 AGAACAGGCCATCCGCCGGACGAGGCCGGCTGGTGTACGACGCGCTGCTGAGCGCGTGGCCCGCTACAACAGC
 GGCAACGTGCAGACCAACTGGACCGCTGGGGGACGTGCGCAGGCCGTGGCGAGCGCGAGCGCGCGGATCG
 GCAGGGCAACCTGGGCTCATGGTGGCGCTGAATGCCCTCTGAGCACGCAGCCGGCAACGTGCGCGGGGAGG
 AAGACTACACCAACTTGTGAGCGCGCTGCGGCTGATGGTACCGAGACCCCCCAGAGCGAGGTGTACAGTCGGC
 CCGGACTACTTCTCCAGACAGCAGACAGGGCTGCAGACGGTGAACCTGAGCCAGGGCTTCAAGAACCTGCGGG
 GCTGTGGGGCGTGAAGGCCAACCGCGACCGGCGACGGTGTCCAGCCTGCTGACGCCAACTCGCGCTGCTGC
 TGCTGCTGATCGCGCGTTCACGGACAGCGCAGCGTGTCCGGGACACCTACCTGGGCACCTGCTGACCGCTGTAC
 CGCGAGGCCATCGGGCAGCGCAGGTGGACGAGCACACCTCAGGAGATCACAGCGTGAGCCGCGCGTGGGCA
 GGAGGACACGAGCAGCCTGGAGGCAGCTGAACTACCTGCTGACCAACCGGGCAGAAGATTCCCTCGCTGCACA
 GCCTGACCTCCGAGGAGGCCATTTGCGCTACGTGACAGCAGAGCGTGAACCTGATGCGCGACGGGTG
 ACGCCCAGCGTGGCGCTGGACATGACCGCGCGAACATGGAACCGGGCATGTACGCCGCGACCGGCTTACATCAA
 CCGCCTGATGGACTACCTGCATCGCGGGCGCCGTGAACCCCGAGTACTTACCAACGCCATCCTGAACCCGCACT
 GGCTCCCGCCGCCGGGTTCTACAGCGGGGCTTCGAGGTCCCGAGACCAACGATGGCTTCTGTGGGACGACATG
 GACGACAGCGTGTCTCCCCCGCGCCGAGCGCTGGCGTGGCTCTGTCCGAGCTGGGGCGGAGCCGCGCCCG
 GGAGGCGAGTCGCCGCCCGAGCAGCGCGTGGCTCTGTCCGAGCTGGGGCGGAGCCGCGCCCG
 GGTCCCTGGCGGCAGCCCTTCCGAGCCTGGGGCTCTGCACAGCGAGCGCACCACCCGCCCTGGCTGCTG
 GGCGAGGACGAGTACCTGAATAACTCCCTGCTGACGCCGGTGCAGGGAGACCAACGATGGCTTCCGCTTCC
 CGGGATAGAGAGCCTGGTGACAAGATGAGCAGATGGAAGACCTATGCCAGGAGCACAGGGACGCGCTGCGCTCC
 GGCGCCACCGCGCCAGCGCCACGCCAGACGGCAGCGGGCTGGTGGATGACGAGGACTCCGCGACGATAGC
 AGCGTGCTGGACCTGGGAGGGAGCGCAACCGTTGCGCACCTGCCCGCCCTGGGAGGATGTTTAAAAAAA
 AAAAAAAAAGCAAGAACGATGATGAAAAATTAAATAAAACTCACCAAGGCCATGGCGACCGAGCGTGGTTCTT
 GTGTTCCCTTCAGTATGCGCGCGCGATGTACCAAGGAGGGACCTCCCTCTTACGAGAGCGTGGTGGCG
 GCGCGCGCGGCCCTCTCTCCCTTGCGTGCAGCTGCTGGAGCCCGTACGTGCGCTCCGCGTACCTGCGGCC
 TACGGGGGGAGAACAGCATCCGTTACTCGGAGCTGGGCCCTGTTGACACCACCCGGGTGTACCTGGTGGACA
 ACAAGTCGGCGACGTGGCTCCCTGAACTACCAGAACGACCACAGCAATTGGATGACCGGTCCACTGGGGGGG
 GACCTACAGCCCCAGCGAGGCCAGCACCCAGACCATCAATCTGGATGACCGGTCCACTGGGGGGGAGCTGAAA
 ACATCCTGCACACCAACATGCCAACCGTGAACGAGTTCATGTTACCAATAAGTTCAAGGCCGGGTGATGGTGT
 GCGTGCACACCAAGGAAGACCGGGTGGAGCTGAAGTACGAGTGGGTGGAGTTGAGCTGCCAGAGGGCAACTACT
 GAGACCATGACCATGACTGATGACAACCGCATGTCGAGGACTATCTGAAAGTGGCAGGCCAGAACGGGTCT
 GGAGAGCGACATCGGGGTCAGTTGACACCAGGAACCTCCGCTGGGGCTGGACCCGTGACCGGGCTGGTATGC
 CGGGGGTGTACACCAACGAGGCCCTCCATCCGACATCATCCTGCTGCCCGCTGCCGGTGGACTTACCTACAGC
 CGCCTGAGCAACCTCCTGGCATCCGAAGCGCAGCCCTCCAGGAGGGTTCAAGGATCACCTACGAGGACCTGGA

10

20

30

40

GGGGGGCAACATCCCCGGCTCCTCGATGTGGAGGCCTACCAGGATAGCTTGAAGGAAAATGAGGCAGGACAGGAGG
 ATACCGCCCCCGCCCTCGCCGCCGAGCAGGGGAGGATGCTGCTGACACCGCGGGCGGACGGGGCAGAG
 GCCGACCCCGTATGGTGGGAGGCTCCCGAGCAGGAGGAGGACATGAATGACAGTGCAGTGCAGGAGACACCTT
 CGTCACCCGGGGGAGGAAAAGCAAGCGGAGGCCAGGCCCGAGGAAAAGCAACTGGCGCAGCAGCGGG
 CGCGCGCTGGCCGCCGGAGGCTGAGTCTGAGGGGACCAAGCCGCCAAGGAGGCCGTGATTAAGCCCCTGACC
 GAAGATAGCAAGAAGCGCAGTTACAACCTGCTCAAGGACAGCACCAACACCGCGTACCGCAGCTGGTACCTGGCCTA
 CAACTACGGCAGCCGTGACGGGGTGCCTGGACCTGCTGTCAGCAGGCCAGTGACCTGCCGCTCGGAGC
 AGGTGTACTGGTCGCTGCCGACATGATGCAAGACCCGTGACCTCCGCTCCACGCCAGGTCAAGCAACTTCCG
 GTGGTGGGCCGAGCTGCTGCCGTGCACTCCAAGAGCTTCTACAACGACCAGGCCGTACTCCAGCTCATCCG 10
 CCAGTTCACCTCTGACCCACGTGTTCAATCGCTTCCGTAGAACAGATTCTGGCGGCCGCCGCCACCA
 TCACCACCGTCAGTAAAACGTTCTGCTCTCACAGATCACGGGACGCTACCGCTGCGCAACAGCATCGGAGGAGTC
 CAGCGAGTGACCGTTACTGACGCCAGACGCCGACCTGCCCTACGTTACAAGGCCCTGGCATAGTCTGCCGCG
 CGTCCTTCCAGCCGACTTTTGAGCAACACCACATGTCCATCCTGATCTCACCCAGCAATAACTCCGGCTG
 GGGACTGCTGCCGCCAGCAAGATGTTGGAGGGCGAGGAAGCGTTCCGAGCAGCACCCGTGCGGTGCG
 GGCACCTCCGCCGCCCTGGGAGCGCACAAACGCCGCCGCCGCCACCCAGTGGACGCCATCGACTCG
 GTGGTGGAGCAGCGCGCAACTACAGGCCGCCGTCTACCGTGGACGCCATCCAGACCGTGGTGCAGGGCGC
 GCAGCGGTACGCCAAGCTGAAGAGCCCGGAAGCGTGGCCGCCACGCCGCCGACCCGGCCGCCA 20
 AACGCCGCCGCCGCCCTGCTTCGCCGGCCAAGCGCACGGGCCGCCGCCATGAGGGCCGCCGCCCTG
 GCCGCCGGCATCACGCCGCCACATGGCCCCCGTACCCGAAGACGCCGCCGCCGCCGCCATCAG
 TGACATGGCCAGCAGGCCGGGAAACGTGTACTGGGTGCGGACTCGGTGACCGGACGCCGTGCCGTGCGCT
 TCCGCCCCCGCGGACTTGAGATGATGAAAAAAACACTGAGTCTCTGCTGTTGTGTATCCCAGCGGCC
 GGCGCGCAGCGTATGTCAAGCGAAAATCAAAGAACAGATGCTCCAGGCGTCCGCCGGAGATCTATGGCC
 CCCGAAGAAGGAAGAGCAGGATTCAAGGCCGCCAGATAAAAGCGGGTCAAAAGAAAAGAAAGATGACGATG 30
 CCGATGGGAGGTGGAGTTCTGCGGCCACGGGCCAGGCCCGGTGCAGTGGAAAGGCCGGCGTAAAGCG
 GTCTGCGCCCCGGCACCGCGGTGGCTTCACGCCGGCAGCGCTCCACCGGACTTCAAGCGCTATGACGA
 GGTGTACGGCAGCAAGACCTGCTGGAGCAGGCCAACGAGCGTCCGGAGAGTTGCTTACGGGAAGCGTACGCC
 CGCTGGGAAGGAGGACCTGCTGGCGTCCGCTGGACCAGGGCAACCCACCCAGCTGAAGCCGTGACCGT
 CAGCAGGTGCTGCCGAGCAGCGACCCCTCGAGGCGAACGGGGTCTGAAGCGCAGGGCGACCTGGCC
 CGTGCAGCTCATGGTCCCAAGCGCAGAGCTGGAGGATGTGCTGGAGAAAATGAAAGTAGACCCGGTCTGCAGC 40
 CGGACATCAGGGTCCGCCCATCAAGCAGGTGGCGCCGGCTCGCGTGCAGACCGTGGACGTGGTACCC
 GGCAACTCCCCGCCGCCACCACCGCTGCCACGGACATGGAGACACAGACCGATCCCGCCAGCC
 AGCCGAGCCGCCGCCGACCTCTCGCGGAGGTGCAGACGGACCCCTGGCTGCCGCCGATGTCAGCT
 GCGCGCGTCCGGCGCAGGAAGTACGGGCCAACGCCACCGCTCCGAGTACGCCCTGCACTCC
 CCCACCCCGGCTACCGAGGCTATACCTACCGCCCGCAAGAGCCAAGGGTCCACCCGCCG
 CGCCGCCACCAACCGCCGCCGCCAGACGCCAGCCGACTGGCTCCAGTCTCCGTGAGGAAAGTGGCGCG
 ACGGACACACCCCTGGTGCTGCCAGGGCGCGTACCCACCCAGCATGTTAAAAGCCTGTTGGTCTTG
 ATGGCCCTCACTGCCGCCCTCCGTTCCGGTGCCGGGATACCGAGGAGGAAGATCGGCCGCAGGAGGGTCTGGC
 CGGCCGCCCTGAGCGGAGGCAGCCGCCGCCACCGCGGCCACCGCCAGCAGCATGCC
 TGCTGCCCTGTTAATCCCCCTGATGCCGCCGATGCCGCCGTGCCGGATGCC
 TCCCAAGAGGCAATTGACAGACTTGCAAATATGAAAAAAACCCAATAAAAAGTCTAGACTCTCAGC

CTCGCTTGGTCCTGTGACTATTTGAGAATGGAAGACATCAACTTGCCTCGCTGGCCCCCGTCACGGCTCGCGC
 CCGTTCCCTGGGACACTGGAACGATATCGGCACCAGCAACATGAGCGGTGGCGCTTCAGTTGGGCTCTGTGGAG
 CGGCATTAAAAGTATCGGGTCTGCCGTTAAAATTACGGCTCCCGGGCCTGGAACAGCAGCACGGGCAGATGTTGA
 GAGACAAGTTGAAAGAGCAGAACTTCCAGCAGAAGGTGGAGGGCCTGGCTCCGGCATCAACGGGTGGTGGAC
 CTGGCCAACCAGGCCGTGCAGAATAAGATCAACAGCAGACTGGACCCCCGGCCGGTGGAGGAGGTGCCGCCGC
 GCTGGAGACGGTGTCCCCGATGGCGTGGCGAGAAGCGCCCGGCCGATAGGGAAAGAGACCACCTGGTCACGC
 AGACCGATGAGCCGCCCGTATGAGGAGGGCCTGAAGCAAGGTCTGCCACCACGCCGCATGCCGCATGGCC
 ACCGGGTGGTGGGCCACACCCCGCCACGCTGGACTTGCCTCCGCCGATGTGCCGCAGCAGCAGAAGGC
 GGCACAGCCGGGCCGCCGACCCGCTCCCGTCTGCCGCCGATGCCGCCAGGGGCCAGGGGCCCG
 GGGGGTCCGAGGCACGGCAACTGGCAGAGCACGCTGAACAGCAGCATCGTGGTCTGGGGTGGCTCCGTGAAGCGC
 CGCCGATGCTACTGAATAGCTTAGCTAACGTGTTGATGTTGATGCGCCCTATGCGCCGCCAGAGGAGCTGCTG
 AGTCGCCGCCGTTCGCGCCCACCAACCGCCACTCCGCCCTCAAGATGGCAGCCCACGATGATGCCGCAGT
 GGTGTCATGCACATCTCGGCCAGGACGCCCGTGGAGTACCTGAGCCCCGGCTGGTGCAGTCGCCGCCACC
 GAGAGCTACTCAGCCTGAGTAACAAGTTAGGAACCCCACGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGGTC
 TCAGCGCCTGACGCTGCGGTTATTCCGTGGACCGCGAGGACACCGCTACTCGTACAAGGCGCGGTTACCCCTGG
 CCGTGGCGACAACCGCGTGGACATGGCCTCCACCTACTTGACATCCGCCGGGTGCTGGACCGGGTCCCACT
 TTCAAGCCCTACTCTGGCACCGCCTACAACCTCCCTGGCCCCAACGGCGCTCCAACTCCTGCGAGTGGAGCAAGA
 GGAAACTCAGGCAGTTGAAGAAGCAGCAGAAGAGGAAGAAGAGATGCTGACGGTCAAGCTGAGGAAGAGCAAGCAG
 CTACCAAAAGACTCATGTATATGCTCAGGCTCCCTTCTGGCAAAAAAATTAGTAAAGATGGTCTGCAAATAGGA
 ACGGACGCTACAGCTACAGAACAAAAACCTATTATGCAAGACCCCTACATTCCAGCCGAACCCAAATGGGAGTC
 CCAGTGGATGAGGCAGATGCTACAGTCGCCCGGTAGAGTCTAAAGAAATCTACTCCCATGAAACCATGCTATG
 GTTCCTATGCAAGACCCACAAATGCTAATGGAGGTAGGGTGTACTAACGGCAAATGCCAGGGACAGCTAGAATCT
 CAGGTTGAAATGCAATTCTTCAACTTCTGAAAACGCCGTAACGAGGCTAACACATTAGCCAAATTGGTGT
 GTATAGTGAGGATGTGACATGGAGACCCGGATACGCACCTTCTACAAGGCCGAAAAAGCGATGACAATTCAA
 AAATCATGCTGGTCAGCAGTCCATGCCAACAGACCTAATTACATGGCTCAGAGACAACATTGCAAGGTTAC
 TATTACAATAGCACTGGCACATGGAGTGCTGAGGTGCTCAGGCTCTCAGTTGAATGCAAGTGGAGACTTGCAAGA
 CAGAACACAGAACTGTCTACCAGCTTGCTTGATTCCATGGGTGACAGAACAGATACTTTCCATGTGGAATC
 AGGCAGTGGACAGTTGACCCAGATGTTAGAATTATTGAAAATCATGGAACACTGAAGACGAGCTCCCAACTATTGT
 TTCCCTCTGGTGGCATAGGGTAAGTGCACACTTACCAAGGCTTAAACCAACAATGGCAATAACGGGGCAGGT
 GACTTGGACAAAAGATGAAACTTTGCAAGATCGCAATGAAATAGGGTGGAAACAATTGCTATGGAGATCAACC
 TCAGTGCCAAACCTGTGGAGAAACTCCGTACTCCAACGTGGCGTGTACCTACCAGACAAGCTTAAGTACAACCC
 TCCAATGTGGACATCTGACAACCCCAACACCTACGATTACATGAACAAGCGAGTGGTGGCCCCGGGCTGGTGA
 CTGCTACATCAACCTGGCGCGCCTGGACTACATGGACAACGTCAACCCCTCAACCACCCAGCAATG
 CGGGCCTGCGTACCGCTCCATGCTCTGGCAACGGGCGTACGTGCCCTTCACATCCAGGTGCCAGAACGTT
 TTTGCCATCAAGAACCTCCCTGCCGGCTCCTACACCTACGAGTGGAACTTCAGGAAGGATGTCAACATGGT
 CCTCCAGAGCTCTGGTAAAGATCTCAGGGTGGACGGGCCAGCATCAAGTTCAGAGGACATCTGCCCTACGCCA
 CCTTCTCCCCATGGCCACAACACGGCTCCACGCTCGAGGCCATGTCAGGAACGACACCAACGACCAGTCCTC
 AATGACTACCTCTCCGCCAACATGCTCTACCCCATACCGCCAACGCCACCAACGTCCCCATCTCCATCCCC
 GCGCAACTGGCGGCCCTCCGCGCTGGCCTTCACCCGCTCAAGACCAAGGAGACCCCTCCCTGGCTCGGGAT
 TCGACCCCTACTACACCTACTCGGGCTCCATTCCCTACCTGGACGGCACCTTACCTCAACCACACTTCAAGAAG

GTCTCGGTACCTTCGACTCCTCGGTAGCTGCCGGGAAACGACCGTCTGTCACCCCCAACGAGTCAGATCAA
 GCGCTCGGTACGGGGAGGGCTACACGTGGCCAGTGCACATGACCAAGGACTGGTCCTGGTCCAGATGCTGG
 CCAACTACAACATCGGCTACAGGGCTCTACATCCCAGAGAGCTACAAGGACAGGATGTACTCCTCTCAGGAAC
 TTCCAGCCATGAGCCGGCAGGTGGGACCAAGAACGAGACTACCAAGGAGGTGGCATCCACAGCA
 CAACAACTCGGCTCGTGGCTACCTCGCCCCACCATGCGCAGGGACAGGCTACCCGCAACTTCCCCTATC
 CGCTCATAGGCAAGACCGGGTCGACAGCATACCCAGAAAAAGTCTCTGCGACCGCACCCCTGGCGCATCCCC
 TTCTCCAGCAACTTCATGTCCATGGGTGCGCTCGGACCTGGGCCAGAACCTGCTCTACGCCAATCCGCCCACGC
 CCTCGACATGACCTCGAGGTGACCCATGGACGAGCCACCCCTCTATGTTCTGTTGAAGTCTTGACGTGG
 TCCGGTCCACCAGCGCACCGCGTCATCGAGACCGTGTACCTGCGTACGCCCTCTCGGCCGGCAACGCCACC
 ACCTAAAGAACGAAAGCCGAGTCATGCCGCCATGCCGTGCGTACAGCAGGAGCTCAGGGCATCGTC
 AGAGACCTGGGATGCGGGCCCTATTTTGGGACCTTCGACAAGCGCTTCCCTGGCTTGTCTCCCCACACAAGCT
 GGCGTGCACATCGTCAACACGCCGGCGAGACCGGGCGTGCAGTGGCTGGCCTCGCCTGGAACCCGCGCT
 CCAAAACATGCTTCCCTTTGACCCCTCGGCTTTCGACAGCGCTCAAGCAAATCTACGAGTCAGGAGTACGAG
 GGCTTGCTGCGTCGAGCGCCATGCCCTCGCCGACCGCTGCGTACCCCTGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCA
 GGGGCCGACTCGGCCCTGCGTCTCTGCTGCATGTTCTGACGCCCTTGTGCACTGGCCTCAGAGTCCA
 TGGACCGAACCCCACCATGAACTTGCTGACGGGGTGCCTACTCCATGCTCCAGAGCCCCAGGTGAGGCCACC
 CTGCGCGCAACCAGGAGCAGCTACAGCTTCTGGAGCGCCACTGCCCTACTCCGCGCACAGCGCACAGAT
 CAGGAGGGCACCTCTGCCACTTGAAGAGATGCAAGAAGGTAATAACGATGTACACACTTTTTCTCAAT
 AAATGGCATTTTATTATACAAGCTCTGGGTATTCAATTCCCACCAACCCGCCGTTGCGCATCTGGC
 TCTATTAGAAATGAAAGGGTCTGCCGGAGTCGCCGTGCGCACGGCAGGGACACGTTGCGATACTGGTAGCG
 GGTGCCCACTGAACTCGGGCACCAACAGCGAGGAGATCTGAAGTCGAGTTGGGCCGCGCCCTGCGCGAGTTGCG
 CCAGCGCTTCATCAGGTCGGCGCGAGATCTGAAGTCGAGTTGGGCCGCGCCCTGCGCGCGAGTTGCG
 TACACCGGGTGCAGCAACACCAACAGCGCCGGTGTTACGCTGGCCAGCAGCAGCTGCGTGGAGATCAG
 CTCGGCGTCCAGGTCTCCCGTGTCTAGCGAACGGCATCTGGCCTTGGCGCCCTCCGAGAAGAACATGCCGAGGACTT
 GCCCCGGTTGAGTTGCGAGCTGGCGTGTGCAGGCAGCAGCGCGTGGTGTGGCGATCTGACCCACGT
 GCGCGCATGAAGGCCTGACATCTGGCGAAGGCATCTGGCCTTGGCGCCCTCCGAGAAGAACATGCCGAGGACTT
 GCCCAGAACTGGTTGCGGGGAGCTGGCGTGTGCAGGCAGCAGCGCGTGGTGTGGCGATCTGACCCACGT
 TGCGCCCCCACCGTTCTCACGATCTGGCCTTGGACGATTGCTCTTCAGCGCGCTGCCGTTCTCGCTGGTC
 ACATCCATCTGATCACATGTTCTGTCACCATGCTGCTGCCGTGAGACACTTCAGCTGCCCTCCGTCTCGT
 GCAGCGGTGCTGCCACAGCGCGCAGCCGTGGCTCGAAAGACTTGTAGGTACCTCCGCGAAGGACTGAGGTAC
 CCTGCAAAAGCGGCCATCATGGTACGAAGGTCTGTTGCTGCTGAAGGTCAAGCTGCAAGCCGCGGTGCTCTCG
 TTCAGGCCAGGTCTGCACACGCCGCCAGCGCCTCCACCTGGTGGCAGCATCTGAAGTTCACCTTCAGCTCATT
 CTCCACGTGGTACTTGTCCATCAGCGTGCGCCGCCATGCCCTCCAGGCCGACACCAGCGGAGGCTCA
 CGGGGTTCTCACCATCAGCGTGGCCGCCCTCCGCGCTTCCGCTTCCGCCCCGCTGTTCTCTCCCTCTCC
 TCCTCTCCTGCCGCCACTCGCAGCCCCGACCAAGGGTGTCTTCTGCAAGCGCTGCACCTTGCGCT
 GCCGTTGCGCCCCCTGCTTGATGCGCACGGCGGGTGTGAAGGCCACCATCACAGCGCGCCTCTTCTGCTCGT
 CCTCGCTGTCCAGAATGACCTCCGGGAGGGGGGGTGGTACCTCAGTACCGAGGCACGCCCTTTTCTTCCTG
 GGGCGTTGCGCACGCTCCGCGCTGCCGCGCTGCCGAGGTGCAAGGCCAGGGCTGGCGTGCAGGCCACAGCGC
 GTCCTGCGAGCCGTCTCGTCTCCGACTCGAGACGGAGGCGGGCGCTTCTCGGGGGCGCGGGGGCG
 GAGGCGGGCGGCCGACGGAGACGGGACGAGACATCGTCCAGGGTGGTGGACGGCGGGCGCGCGTCCGCGC

10

20

30

40

TCGGGGGTGGTCTCGCCTGGTCCTTCCCCTGGCAGTGGCCATCTCCACTGCTCCTCTCCTATAGGCAGAAAGAGAT
 CATGGAGTCTCTCATGCGAGTCGAGAAGGAGGAGGACAGCCTAACCGCCCCCTGAGCCCTCCACCACCGCCGCA
 CCACCGCCAATGCCGCCGCCGACGACGCCACCGAGACCACCGCCAGTACCAACCCCTCCCCAGCGACGCACCCCG
 CTCGAGAATGAAGTGCTGATCGAGCAGGACCCGGTTTGTGAGCGGAGAGGAGGATGAGGTGGATGAGAAGGAGAA
 GGAGGAGGTCGCCGCCCTCAGTGCCAAAAGAGGATAAAAAGCAAGACCAAGGACGACGCAGATAAGGATGAGACAGCAG
 TCGGGCGGGGGAACGGAAGCCATGATGCTGATGACGGCTACCTAGACGTGGGAGACGACGTGCTGCTTAAGCACCTG
 CACCGCCAGTGCCTCATCGTCTGCGACGCCCTGCAGGAGCGCTGCGAAGTGCCTGGACGTGGCGAGGTCAGCCG
 CGCCTACGAGCGGACCTCTCGCCTGCACGTGCCCCCAAGCGCCGGAGAACGGCACCTGCGAGCCCAACCCGC
 GTCTCAACTCTACCCGGCTTCGCGGTACCCGAGGTGCTGGCCACCTACCACATCTTTCCAAAATGCAAGATC 10
 CCCCTCTCTGCCGCCAACCGCACCCGCCGACAAAACCTGACCTGCGGCAGGGCGCCACATACCTGATAT
 CGCCTCTCTGGAGGAAGTGCCAAGATCTCGAGGGTCTCGTCGCGACGAGAAACGGCGCGAACGCTCTGCACG
 GAGACAGCGAAAACGAGAGTCACTCGGGGGTGTGGAGCTCGAGGGCGACAACGCGCCTGGCGTACTCAAG
 CGCAGCATAGAGGTACCCACTTGCTACCCGGCGCTAACCTGCCCCCAAGGTATGAGTGTGGTATGGCGA
 GCTCATCATGCGCCGCCAGCCCTGGCGGATGCAAACCTGCAAGAGTCCTCGAGGAAGGCCTGCCCG
 TCAGCGACGAGCAGCTGGCGCTGGCTGGAGACCCCGCAGCTGGAGGAGCGCGAACGCTCATGATG
 GCCCGGGTGTGGTACCGTGGAGCTCGAGTGTGCAAGCGCTTCTCGGGACCCGAGATGCAAGCTCGA
 GGAGACCTGCACTACACCTCCGCCAGGGTACGTGCGCAGGCCTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTGCAACC
 TGGTCTCCTACCTGGCATCCTGCACGAGAACCGCTCGGGAGAACGTCTGCAACTCCACCCCTAAAGGGAGGCG 20
 CGCCCGACTACATCCGCGACTGCGCTACCTCTCTGCTACACCTGGCAGACGCCATGGGGTCTGGCAGCA
 GTGCCTGGAGGAGCGAACCTCAAGGAGCTGGAAAAGCTCTCAAGCGCACCCCTCAGGGACCTCTGGACGGCTTCA
 ACGAGCGCTCGTGGCCGCCGCTGGCGACATCATCTTCCCAGCGCCTGCTCAAGACCTGCAAGCAGGGCTG
 CCCACTTCACCAGCCAGAGCATGCTGAGAACACTCAGGACTTTCATCCTGGAGCGCTCGGCATCCTGCCGCCAC
 TTGCTCGCGCTGCCAGCGACTCGTCCCCTCAAGTACAGGGAGTGGCCGCCGCTCTGGGGCACTGCTTAC
 TCTTCCAGCTGGCAACTACCTCGCTACCACCTGGACCTCATGGAAGACGTGAGCGCGAGGGCTGCTCGAGTGC
 CACTGCCGCTGCAACCTCTGCACGCCAACCGCTCTAGTCTGCAACCCGAGCTGCTCAGCGAGAGTCAGATTAT
 CGGTACCTTCGAGCTGCAAGGTCCCTGCCCTGACGAGAACGTCCGCCGCTCCAGGGCTGAAACTCACTCCGGGCTGT
 GGACTTCCGCCTACCTACGCAAATTGTACCTGAGGACTACCACGCCAGAGATCAGGTTCTACGAAGACCAATCC 30
 CGCCCGCCAAGCGGAGCTACCGCTGCGTACCCAGGGCACATCTGGCCAATTGCAAGCCATCAACAA
 AGCCCGCCGAGAGTCTTGCTGAAAAGGGTGGGGGTGACCTGGACCCCCAGTCCGGCGAGGAGCTAAACCGC
 TACCCCCGCCGCCGCCAGCAGCGGACCTTGCTTCCCAGGATGGCACCCAGAAAGAAGCAGCAGCCGCCGCC
 GCCGCAGCCATACATGCTCTGGAGGAAGAGGAGGAGACTGGACAGTCAGGAGAGGAGTTCGGACGAGGAGC
 AGGAGGAGATGATGGAAGACTGGAGGAGGACAGCAGCCTAGACGAGGAAGCTTCAGAGGCCAGAGGTGGCAGAC
 GCAACACCATGCCCTCGTCGAGCCCCCTGCCGGGGCCCTGAAATCCTCCGAACCCAGCACCAGCGCTATAAC
 CTCCGCTCTCCGGCGCCGCCACCCGCCAGACCCAACCGTAGATGGACACCACAGGAACCGGGCTGGTA
 AGTCCAAGTGCCGCCGCCACCCAGCAGCAGCAGCAGCGCCAGGGTACCGCTCGTGGCGGGCACAAG
 AACGCCATAGTCGCCCTGCTTGCAAGACTGCGGGGGCAACATCTTTGCCCGCCGCTCTGCTATTCCACCACGG
 GGTGCGCTTCCCGCAATGTCCTGCAATTACTACCGTACCTACAGCCCTACTGCAAGCGGCCAGCCAGAGGCGG 40
 CAGCGGCAGCCACAGCGGCAGCACCACCTAGGAAGATACTCTCCGCCGGCAAGACAGCGGCAGCAGCGGCCAGGAG
 ACCCGCGCAGCAGCGGCCGGAGCGGTGGCGACTGCGCTCTGCCAACGAACCCCTCTGACCCGGAGCTCA
 GACACAGGATCTCCCCACTTGATGCCATCTTCAACAGAGCAGAGGCCAGGAGCAGGAGCTGAAAATAAAAAC

AGATCTCTGCGCTCCCTCACCCGCAAGCTGTCTGTATCACAAAAGCGAAGATCAGCTCGGCGACGCTGGAGGACGC
 GGAGGCACTCTCAGCAAATACTGCGCGCTCACTCTTAAAGACTAGCTCCGCCCCCTCTCGAATTAGGCAGGAGA
 AAACTACGTCATCGCCGGCGCCGCCAGCCCCAGCCAGCGAGATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCATACATGTGGA
 GCTACCAGCCGCAGATGGGACTCGCGGGAGCGGCCAGGACTACTCCACCCGATGAACATACATGAGCGCGGGA
 CCCCCACATGATCTCACAGGTCAACGGGATCCGCGCCCAGCGAAACCAAATACTGCTGGAACAGGCAGGCCATCACCG
 CACGCCCGCCATAATCTCAACCCCCGAAATTGGCCCGCCCTCGTGTACCAAGGAAACCCCTCCGCCACCACCG
 TACTACTCCCGGTGACGCCAGGGCAAGTCCAGATGACTAACTCAGGGCGCAGCTCGGGCGGGCTTCGTCAC
 GGGCGCGGCCGCTCCGACCAGGTATAAGACACCTGATGATCAGAGGCCAGGTATCCAGCTAACGACGAGTCGGT
 GAGCTCTCGCTCGGTCTCCGTCCGGACGGAACCTTCAGCTCGCCGGATCCGGCGCTCTCGTCACGCCCGCC 10
 AGCGTACCTGACTCTGAGACCTCGTCCTCGAGCCCCGCTCCGGCGGATCGGAACCCCTCCAGTCAGTGGAGGAG
 TTCGTGCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTCTCGGGACCTCCCGACGCTACCCGACCAGTCATTCCGAACCTTG
 CGCGGTGAAGGACTCGCGGACGGCTACGACTGAATGTCAGGTGTCAGGCAGAGCAGCTCGCTGAGACACCTCG
 AGCACTGCCGCCACAAGTCTCGCCCGGGTCTGGTGAGTTCTGACTCTCAGCTACCCGAGGAGCATACC
 GAGGGGCCGGCGCACGGCGTCCGCGCTGACCACCCAGGGCGAGGTTACCTGTCCTCATCCGGAGTTACCCCTCCG
 TCCCTGCTAGTGGAGCGGGAGCGGGGCTGTGCTTAACATATCGCCTGCACTGCCCTAACCCCTGGATTACATC
 AAGATCTTGCTGTATCTCTGTGCTGAGTTAATAAACGCTGAGATCAGAACACTGGGCTCTGCGCATCC
 TGTGAACGCCACCGTCTCACCCACCCGACCAGGCCAGGGCAACCTCACCTCGGGTCTGCATGGAGGGCAAGA 20
 AGTACCTCACCTGGTACTTCAACGGCACCCCTTGTTGAGTTAACACAGCTCGACGGGAGGGACTCCCTGAA
 GACCAGCTCTCGGTCTCAGCTACTCCATCCACAAGAACACCACCCCTCCAACCTTCCCTCCCTACCTGCCGGGAAAC
 CTACGAGTGCACCGGCCGCTGCACCCACCTCACCCGCGTGTAAACAGAGCTTCCGGGAAACAGATAACT
 CCCCTTCCCCAGAACAGGAGGTGAGCTCAGGAAACTCCCGGGGACCAGGGCGGAGACGTACCTCGACCCCTGTG
 GGGTTAGGATTTTATTACCGGGTTGCTGGCTTTAATCAAAGTTCTGAGATTGTTCTTCTACGT
 GTATGAACACCTCAACCTCCAATAACTTACCCCTTCTCGGAATCAGGTGACTTCTGAAATGGGCTTGGTGTG
 CTGTTACTCTGTTGATTTTCTTATCATACTCAGCCTCTGTGCGCTCAGGCTCGCCCTGCGCACACAT
 CTATATCTACTGCTGGTTGCTCAAGTGCAGGGTCGCCACCCAGATGAACAGGTACATGGCTTATCGATCCTAGG
 CCTGCTGGCCCTGGCGGCTGCGCCGCCCCAAGAGATTACCTTGAGGAGCCGCTGCAATGTAACCTCA
 AGCCCGAGGGTGACCAATGCACCAACCTCGTCAAATGCCTTACCAATCATGAGAGGCTGCGCATCGACTACAAAAC 30
 AAAACTGGCCAGTTGCGGTCTATAGTGTGTTACGCCGGAGACCCCTCTAACACTACTCTGTCACCGTCTCCAGGG
 CGGACAGTCTAACGATATTCAATTACACTTCCCTTTATGAGTTATGCGATGCGGTCTGACATGTCAAAACAGT
 ACAACCTGTGGCCTCCCTCTCCCCAGGCGTGTGGAAAATACTGGGTCTTACTGCTGTATGGCTTCGCAATCACT
 ACGCTCGCTTAATCTGCACGGTGTATACATAAAATTCAAGGCAGAGGCGAACCTTATCGATGAAAAGAAAATGCC
 TTGATCGCTAACACCGGTTCTATCTGCAGAATGAATGCAATCACCTCCCTACTAACATCACCACCCCTTGCG
 ATTGCCCATGGGTTGACAGAATCGAAGTGCAGTGGGTCCAATGTCACCATGGTGGGCCCCGCCGCAATTCCAC
 CCTCATGTGGAAAAATTGTCGCCAATCAATGGGTCATTCTGCTCTAACCGAATCAGTATCAAGCCAGAGCCA
 TCTGCGATGGCAAAACTAACTCTGATCAATGTGCAAATGATGGATGCTGGTACTATTACGGCAGCGGGAGAA
 ATCATTAATTACTGGCGACCCACAAGGACTACATGCTGATGAGGCACTTCCACTACCAACCCCCACTAC
 CACCTCTCCCACCAACCAACCAACTACTACTACTACTACTACTACTAACCACTACCGCTGCCGCCATA 40
 CCCGCAAAAGCACCAGATTAGCACAAGCCCCCTGTGCTCACTCCCACGCCGGGGCCATGGTGCACCTCA
 GAAACCACCGAGCTTGCTTCTGCCAATGCACTAACGCCAGCGCTCATGAACCTGTCAGCTGGAGAATGAGGATGT
 CCAGCAGAGCTCCGCTTGCTGCCAGGAGGCTGTGGAGGCCGTTGCCCTGAAGCAGATCGGTATTCAATAATTG

ACTCTTCTTCTTGCCACTCCGAATACCCCTCCGATTCTACTTTCCACATCACGGGTACCAAAGACCCCTAACCTC
 TCTTTCTACCTGATGCTGCTCTGTATCTCTGTGGTCTCTCCCGCCTGATGTTACTGGGGATGTTCTGCTGCT
 GATCTGCCGCAGAAAAGAGAAAAGCTCGCTCTCAGGGCCAACCACTGATGCCCTTCCCCTACCCCCCGGATTTCAG
 ATAACAAGATATGAGCTCGCTGCTGACACTAACCGCTTACTAGCCTGCGCTCTAACCCCTGTCGCTTGCAGCTCGA
 GATTCCACAATGTCACAGCTGTGGCAGGAGAAAATGTTACTTCAACTCCACGGCCGATACCCAGTGGCTGTTGGAGT
 GGCTCAGGTAGCTACTTAACATCTGCAATAGCTCCACTCCCCCGGCATATCCCCAACCAAGTACCAATGCAATGC
 CAGCCTGTTCACCCCTCATCAACGCTCCACCCCTGGACAATGGACTCTATGTAGGCTATGTACCCCTTGGGGAG
 GAAAGACCCACGCTTACAACCTGGAAGTTCGCCAGCCCAGAACCAACTACCCAGCTTCTCCCACCACCAACCA
 ACCACCATCACCAAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGATTATTGACTTTGGGTTGGCCAGCCTC
 ATCTGCCGCTACCCAGGCCATCTACAGCTCTGTGCCGAAACCAACTCAGATCCACCGCCAGAAACGACCACCGCCA
 CCACCCCTACACACCTCCAGCGATCAGATGCCGACCAACATCACCCCTTGGCTCTCAAATGGGACTTACAAGCCCC
 ACTCCAAAACCAGTGGATGCCGAGGTCTCCGCCCTCGTCAATGACTGGCGGGCTGGGAATGTGGTGGTTCGC
 CATAGGCATGATGGCGCTGCCTGCTCTGGCTCATCTGCTGCCCTCACCGCAGGGCAGGCCAGACCCCCCA
 TCTATAGACCCATCATTGTCCTGAACCCCGATAATGATGGATCCATAGATTGGATGGCCTGAAAAACCTACTTTT
 TCTTTACAGTATGATAAATTGAGACATGCCCGCATTTCTGTACATGTTCCCTCCACCTTTCTGGGT
 TCTACGCTGCCGCTGTGCTCACCTGGAGGTAGACTGCCCTCACCCCTACTGTCTACCTGCTTACGGATTGGT
 CACCCCTCACTCTCATCTGCAAGCTTAATCACAGTAATCATGCCCTCATCCAGTGCATTGATTACATCTGTGCGCC
 TCGCATACTCAGACACCACCCCGAGTACCGAGACAGGAACATTGCCAACCTCTAAGACTGCTTAATCATGCATA
 AGACTGTGATGCCCTCTGATCCTGCATCCTGCCACCCCTCACCTCCTGCCAGTACACCACAAATCTCCGCGC
 AAAAGACATGCCCTCTGCCGCTTCACCCAACTGTGGAATATACCCAAATGCTACAACGAAAAGAGCGAGCTCCGA
 AGCTGGCTGTATGGGTCATCTGTGCTTAGTTCTGAGCAGTGTCTTGCCCTCATAAATCTACCCCTACTTG
 ATTTGGGATGGAACCGCATGATGCCATGAATTACCCACCTTCCCGACCCGAGATAATTCCACTGCGACAAGTT
 GTACCCGGTTGCTTAATCACGCCCTCATCCCTACGCCACTGAAATCAGCTACTTAAACCTAACAGGGGAGA
 TGACTGACGCCCTAGATCTAGAAATGGACGGCATCAGTACCGAGCAGCGTCTCTAGAGAGGGCAGGCAGGG
 GAGCAAGAGCGCCTCAATCAGGAGCTCGAGATCTGTTAACCTGCACCAGTGCAGGAAAGAGGCATCTTGTG
 AAACGAGGCCAAAGTCACCTACGAGAAAGACCGCAACAGCCACCGCCCTAGTTACAAATTGCCACCCAGCGCC
 AGCTGGTGCTCATGGGGTGAGAATCCCACCTACCGTCACCCAGCAGTGGTAGAGACCGAGGGGTGCTGCACTCC
 CCCTGTCGGGTCCAGAAGACCTCTGCAACCTGGTAAAGACCCCTGTGCGGTCTCAGAGATTAGTCCCTTAAC
 ATCAAACACTGGAATCAATAAAAGAAATCACTACTTAAATCAGACAGCAGGTCTGTCCAGTTTATTGAC
 ACCTCCCTCCCTCCCAACTCTGGTACTCCAAACGCCCTGGCCGAAACTCCCTCACCCCTGAAGGGAAAT
 GTCAGATTCTGCTCCTGTCCTCCGCACCCACTATCTCATGTTGTCAGATGAAGCGCACCAAAACGTCTGAC
 AGAGCTTCAACCCCGTGACCCCTATGACACGGAAAGCGGCCCTCCCTCCGTCCCTTCCCTCACCCCTCCCG
 TCTCCCGATGGATTCCAAGAAAGTCCCCCGGGGTCTGTCTGAAACCTGGCCGAGCCCTGGTCACCTCCACGG
 CATGCTCGCCCTGAAAATGGGAGTGGCTCTCCCTGGACGACGCTGGCAACCTCACCTCTCAAGATATCACCAC
 CTAGCCCTCCCTCAAAAAACCAAGACCAACCTCAGCCTAGAAACCTCATCCCCCTAACCTGTGAGCACCTCAG
 GCCCTCACCGTAGCAGCCGCCCTGGGGTGGCCGGCACCTCCCTACCATGCAATCAGAGGCCCCCTGAC
 AGTACAGGATGCAAAACTCACCTGCCACCAAGGCCCCCTGACCGTGTCTGAAGGCAAACCTGGCCTGCAAAC
 CGGCCCCGCTGACGGCCGCTGACAGCAGCAGCACCCTCACAGTCAGTGCACACCACCCCTAGCACAAGCA
 ATGGCAGTGTAGTTACTGGCAAGGTCTTACGATAAACGGAACAGCCCTACAAACTAGAG
 TTGGGTATTGACATGCAAGCCCCATTACACCACCAATGGAAAATAGGACTTAACCTGGCGCTCCCTGCATGT
 GGTAGACAGCCTAAATGCACTGACTGTAGTTACTGGCAAGGTCTTACGATAAACGGAACAGCCCTACAAACTAGAG

10

20

30

40

TCTCAGGTGCCCTCAACTATGACACATCAGGAAACCTAGAATTGAGAGCTGCAGGGGTATGCGAGTTGATGCAAAT
 GGTCAACTTATCCTGATGTAGCTTACCCATTGATGCACAAACAACTCTCAGCCTTAGGCTTGGACAGGGACCCCT
 GTTTGTTAACTCTGCCCAACTTGATGTTAACTACAACAGAGGCCCTCACCTGTTCACATCTGAAATACCAAAA
 AGCTAGAAGTTAATATCAAAACAGCCAAGGGTCTCATTTATGATGACACTGCTATAGCAATCAATGCGGGTGTGG
 CTACAGTTGACTCAGGCTCAGATACAAATCATTAAAACACTAACTGGATTAGGACTGGATTATGACTCCAGCAG
 AGCCATAATTGCTAACTGGGACTGGCTAAGCTTGACAACACAGGTGCCATCACAGTAGGCAACAAAATGATG
 ACAAGCTTACCTTGTGGACCACACCAGACCCATCCCCTAATGTAGAATCTATTCAAGAGAAAGATGCTAAATTACA
 CTTGTTTGACTAAATGCGGCAGTCAGGTGTTGCCAGCGTTCTGTTTATCTGAAAAGGTAGCCTGCGCCCAT
 CAGTGGCACAGTAACTAGTGCTCAGATTGTCCTCAGATTGATGAAAATGGAGTTCTACTAAGCAATTCTCCCTG 10
 ACCCTCAATACTGGAACACAGAAAAGGTGACCTTACAGAGGGCACTGCATATACCAACGCAGTGGGATTATGCC
 AACCTCACAGCATAACCCAAAACACAGGCCAAACTGCTAAAGCAACATTGTAAGTCAGGTTACTTGAATGGGA
 CAAATCCAAACCCATGACCCCTACCATTACCTCAATGAACTAATGAAACAGGAGATGCCACAGTAAGCACTTACT
 CCATGTCATTCTCATGGAACCTGGAAGTAATTACATTAATGAAACGTTCAAACCAACTCCTCACCTCTCC
 TACATGCCAAGAATAAAAGCATGACGCTGTTGATTCAATGTGTTCTGTTTATTTCAAGCACAACAA
 AATCATTCAAGTCATTCTCATCTAGCTTAATAGACACAGTAGCTTAATAGACCCAGTAGTGCAGGCCCCATT
 TAGCTTATAGATCAGACAGTGATAATTAAACCACCAACACCCATACCTTGATTCAAGGAAATCATGATCATCACA
 GGATCCTAGTCTTCAGGCCGCCCCCTCCCTCCAAGACACAGAATAACACAGTCTCTCCCGACTGGCTTAAAT 20
 AACACCATCTGGTGGTACAGACATGTTCTAGGGTTATATTCCACACGGTCTCTGCCGCCAGGGCTCGTC
 GGTGATGTTGATAAAACTCTCCGGCAGCTCGCTCAAGTTACGTCGCTGTCCAGCGCTGAACCTCCGGCTGACGCG
 ATAACGTGCGACCGGCTGCTGGACGAACGGAGGCCGCTACAAGGGGTAGAGTCATAATCCTCGGTAGGATA
 GGGCGGTGATGCGAGCAGCAGCAGGAAACATCTGCTGCCGCCGCTCCGTCCGGCAGGAAAACAACACGCCGGT
 GGTCTCCTCCCGATAATCCGACCGCCCGCAGCATCAGCTCCTCGTTCTCCGGCGCAGCACCTCACCTTATCT
 CGCTCAAATCGCGCAGTAGGTACAGCACAGCACGATGTTATTCAATGATCCCACAGTGCAGGGCTGTATCCA
 AAGCTCATGCCGGAACACCACGCCACGTGCCATCGTACCAAGCGCACGTAATCAAGTGTGACCCCTCAT 30
 GAACCGCTGGACACAAACATTACTCCTGGCATGTTGAATTCAACCACCTCCGGTACAGATAAACCTCTGGT
 TGAACAGGGCACCTCCACCACTCTGAACCAAGAGGCCAGAACCTGCCACCGGTATGCACTGCAGGGAACCC
 GGGTTGGAACAATGACAATGCAGACTCCAAGGCTCGTAACCGTGGATCATCGGCTGCTGAAGGCATGATGTTGGC
 ACAACACAGACACACGTGCATGCACTTCTCATGATTAGCAGCTCTCCCTCGTCAGGATCATATCCAAAGGAATAA
 CCCATTCTGAATCAACGTTAAACCCACACAGCAGGGAAAGGCCCGCACATAACTCACGTTGTGCATGGTCAGCGTG
 TTGCAATTCCGGAAACAGCGGATGATCCTCCAGTATCGAGGCCGGTCTCCTCTCACAGGGAGGTAAGGGTCCCT
 GCTGTACGGACTGCCGGGACGACCGAGATCGTGTGAGCGTAGTGTATGGAAAAGGGAACGCCGGACGTGGTCA
 TACTCTTGAAAGCAGAACAGGTTGCCGTGGCAGGCCCTCTGCCGTCTGCCGTCTAGCTCGTCCGT
 GTGATAGTTGAGTACAGCCACTCCCGCAGAGCGTCGAGGCCGACCCCTGGCTCCGGATCTATGTAGACTCCGTCTT
 GCACCGCGGCCCTGATAATATCCACCAACCGTAGAATAAGCAACACCCAGCCAAGCAATACACTCGCTCGAGCGG
 CAGACAGGAGGAGCGGGCAGAGATGGAGAACCATGATAAAAAACTTTTAAAGAATATTTCAATTCTCGAA
 AGTAAGATCTATCAAGTGGCAGCGCTCCCTCCACTGGCGGGTCAAACCTACGGCCAAAGCACAGACAACGGCAT
 TTCTAAGATGTTCTTAATGGCGTCCAAAGACACACCGCTCTCAAGTTGCAGTAAACTATGAATGAAAACCCATCC 40
 GGCTGATTTCATGATGCAAAATTCAAGGTTCTCAGAGACCTGTATAAGATTCAAAATGGGAACATTAACAAAAA
 CTGCTCAAGCAAATCCCTTATATCAAGTCCGACCATGCCAAAATCTGCTCAAGAGCGCCCTCCACCTCATGTACA
 AGCAGCGCATGATTGCAAAATTCAAGGTTCTCAGAGACCTGTATAAGATTCAAAATGGGAACATTAACAAAAA

TTCCCTCTGTCGCGCAGATCCCTCGCAGGGCAAGCTGAACATAATCAGACAGGTCCGAACGGACCAGTGAGGCCAAA
 TCCCCACCAGGAACCAGATCCAGAGACCCCTATACTGATTATGACGCCATACTCGGGCTATGCTGACCAGCGTAGC
 GCCGATGTAGGCGTGCTGCATGGGCGCGAGATAAAATGCAAAGTGTGGTAAAAAATCAGGCAAAGCCTCGCGCA
 AAAAGCTAACACATCATAATCATGCTCATGCAGGTAGTTGCAGGTAAAGCTCAGGAACCAACGGAATAACACACG
 ATTTCTCAAACATGACTTCGCGGATACTGCGTAAACAAAAATTATAAATAAAAATTAAATTAAATAACTTA
 AACATTGGAAGCCTGTCTACAACAGGAAAACCACCTTAATCAACATAAGACGGGCCACGGCATGCCGGCATAGC
 CGTAAAAAAATTGGTCCCCGTGATTAACAAGTACCCAGACAGCTCCCGGTATGTCGGGGTATCATGTGAGAC
 TCTGTATACACGTCTGGATTGTGAACATCAGACAAACAAAGAAATCGAGGCCACGTAGCCCAGGTATAATCACCCG
 CAGGCGGAGGTACAGCAAAACGACCCCCATAGGAGGAATCACAAATTAGTAGGAGAAAAAAATACATAAACACCAG
 AAAAACCTGTTGCTGAGGCAAATAGCGCCCTCCCGATCCAAAACACATAAAGCGTTCCACAGGAGCAGCCATA
 ACAAAAGACCCGAGTCTTACCAAGTAAAGAAAAAGATCTCTAACCGCAGCACCAACACTTCGAGTGTAAA
 AGGCCAAGTGCCGAGAGAGTATATAGGAATAAAAGTACGTAAACGGCAAAGTCCAAAAACGCCAGAAAAA
 CCGCACGCGAACCTACGCCCCGAAACGAAAAACACTAGACACTCCCTCCGGCGTCAACTCCGTTCC
 CACGCTACGTCACTCCCCGGTCAAACAAACTACATATCCGAACTTCAAGTGCACGCCAAAACACCGCCTA
 CACCTCCCCGCCGCCGGCCCCGCCCCGGACCCGCTCCGCCCGCGCCATCTCATTATCATATTGGCTTCA
 ATCCAAAATAAGGTATATTATTGATGATG

10

20

30

40

【 0 1 7 8 】

配列番号2 野生型ChAd83をコードするポリヌクレオチド配列

CATCATCAATAATATACCTCAAACCTTTGGTGCCTTAATATGCAAATGAGCTGTTGAATTGGGAT
 GCGGGCGCTGATTGGCTGCGGGAGCGGCCACCGTTAGGGGGGGGGGTGACGTTTGATGACGTGGC
 CGTAGGGCGGAGCCGGTTGCAAGTTCTCGTGGAAAAGTACGTAAACGAGGTGTGGTTGAACACGG
 AAATACTCAATTTCGGCTCTGACAGGAATGAGGTGTTCTGGCGGATGCAAGTAAAAACGGG
 CCATTTCGCGCAAACACTGAATGAGGAAGTAAAATCTGAGTAATTGCGTTATGGCAGGGAGGAGT
 ATTTGCCGAGGGCCGAGTAGACTTGTACCGATTACGTGGGGTTCGATTACCGTATTTCACCTAAAT
 TTCCCGTACGGTGTCAAAGTCCGGTTTACGTAGGCGTCAGCTGATGCCAGGGTATTAAACCTG
 CGCTCACTAGTCAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGTAGAGTTCTCCCGCCGCGAGTCAGA
 TCTACACTTGAAAGATGAGGCACTTGAGAGACCTGCCGGTAATGTTCTGGTACTGGAACGAGA
 TTCTGGAATTGGTGGACGCCATGATGGGTGACGACCCCTCCCGAGCCCCCTACCCATTGAGGCC
 TTGCGCTGTACGATTGTATGATCTGGAGGTGGATGTGCCCGAGAACGACCCCAACGAGGAGGCC
 GATTTGTTAGCGATGCCGCTGCTGGCTGCCGAGCAGGCTAACGGACTTGGCTCAGACAGCGATT
 CTTCTCTCCATACCCCGAGACCCGGCAGAGGTGAGAAAAGATCCCCGAGCTTAAAGGGAAAGAGCTCGA
 CCTGCGCTGTATGAGGAATGCTGCCCTCCGAGCGATGATGAGGAGGACGAGGAGGCCATTGAGCTGCA
 GCGAACCAAGGGAGTGAAAGCTGCCGGAAAGCTTACGCTGGACTGTCTACTCTGCCGGACACGGCT
 GTAAGTCTTGTGAATTTCATCGCATGAATACTGGAGATAAGAATGTGATGTGCCCTGTGCTATATGAG
 AGCTTACAACCATTGTGTTACAGTAAGTGTGATTAACTTAGTTGGAGGCAGAGGGTACTGGTGC
 TGACTGGTTATTATGTATATGTTTATGTGTTAGGTCCCGTCTGTGACGAGATGAGACCCCCACTT
 CAGAGTGCATTTCATACCCCCAGAAATTGGCGAGGAACGCCGAAGATATTTCATAGACCAGTTGC
 AGTGAGAGTCACCGGGCGGAGAGCAGCTGTGGAGAGTTGGATGACTTGTCTACAGGGTGGGATGAACT
 TTGGACTTGTGTACCCGGAAACCCCCAGGCACTAAGTGCCACACATGTGTGTTACTTAAGGTGATGTC
 AGTATTATAGGGTGTGGAGTGCAATAAAATCCGTGTTGACTTTAAGTGCCTGGTTATGACTCAGGGGT

GGGGACTGTGGGTATATAAGCAGGTGCAGACCTGTGGTCAGTCAGAGCAGGACTCATGGAGATCTGG
ACGGTCTTGGAAAGACTTTCAACCAGACTAGACAGCTGCTAGAGAACTCATCGGAGGGAGTCTCTTACCTGT
GGAGATTCTGCTTCGGTGGGCCTCTAGCTAAGCTAGTCTATAGGGCCAAGCAGGATTATAAGGATCAATT
TGAGGATATTGAGAGAGTGTCCCTGGTATTTGACTCTCTCAACTTGGGCATCAGTCTCACTTTAAC
CAGAGTATTCTGAGAGCCCTTGACTTTCCACTCCTGGCAGAACTACCGCCGCGTAGCCTTTGCCT
TTATCCTTGACAAATGGAGTCAAGAAACCCATTCAGCAGGGATTACCGTCTGGACTGCTTAGCAGTAGC
TTTGTGGAGAACATGGAGGTGCCAGCGCTGAATGCAATCTCCGGCTACTTGCCAGTACAGCCGGTAGAC
ACGCTGAGGATCCTGAGTCTCCAGTCACCCAGGAACACCAACGCCAGCAGCCGAGCAGGAGCAGC
AGCAAGAGGAGGACCGAGAAGAGAACCCGAGAGGCCGGTCTGGACCCCTCCGGTGGCGAGGAGGAGGAGTA
GCTGACTTGTTCGGAGCTGCCCGGGTGCTGACTAGGTCTCCAGTGGACGGAGAGGGGAGTTAAC
GGGAGAGGCATGAGGAGACTAGTCACAGAACTGAACGTGACTGTCAGTGTGATGAGCCGCAGGCCAGA
ATCGGTGTGGCATGAGGTGCAGTCAGGGATAGATGAGGTCTCGGTGATGCATGAGAAATATTCC
CTAGAACAGTCAGACTGTTGGAGCCTGAGGATGATTGGAGGTAGCCATCAGGAATTATGCCA
AGCTAGCTCTGAAGCCAGACAAGAAGTACAAGATTACCAAACGATTAATATCAGAAATTCTGCTACAT
TTCAGGAATGGGCCAGGTGGAGATCAGTACCCAGGAGAGGGTGGCCTTCAGATGCTGCATGATGAAT
ATGTACCCGGGGTGGTGGCATGGAGGTACCTTATGAACGCGAGGTTCAAGGGCGATGGGTATA
ATGGGGTGGTCTTATGGCAACACCAAGCTGACAGTCACGGATGCTCCTTCTTGGCTCAATAACAT
GTGCATCGAGGCCTGGGCAGTGTTCAGTGAGGGATGCAGTTTCAGCCAACGGATGGGTGCGT
GGCAGAACCAAGAGCAAGGTGTCAGTGAGGAAATGCCTGTTGAGAGGTGCCACCTGGGGTGTGAGCG
AGGGCGAAGCCAAAGTCAAACACTGCGCCTCTACTGAGACGGCTGCTTGCTGATCAAGGGCAATGC
CCAAGTCAGCATAACATGATCTGTTGGGCCTCGGATGAGCGCGCTACCGAGTGTGACCTGCGCCG
GGAACAGCCATATGCTGGCCACCGTCATGTGACCTCGCACCCCCGCAAGACATGGCCGAGTCAGC
ACAACGTGATGACCGCTGCAATGTGACCTGGCTCCCGCCAGGCATGTTGATGCCCTACCAAGTGCAA
CATGCAATTGTAAGGTGCTGGAGCCCAGTGCATGTGACCTGGCTCCCGCCAGGCATGTTGATGCC
ATGAATGTGGAGATGTGGAAATTCTGAGATATGATGAATCCAAGACCAGGTGCCGGGCTGCAATGCG
GAGGCAAGCAGCCAGGCTTCAGCCGTGTTGAGGTGACGGAGGACCTGCGACCCGATCATTG
GTTGCTGCAACGGACGGAGTTCGGCTCCAGCGGGAGAAATCTGACTAGAGTGAGTAGTGT
GAGGTGGAGGGCCTGGATGAGGGCAGAATGACTAAATCTGTTTCTGCGCAGCAGCATGAGCG
AGCGCCTCTTGAGGGAGGGTATTGAGCCCTATCTGACGGGCGTCTCCCTCTGGCGGGAGTGC
GTCAGAATGTGATGGGATCCACGGTGGACGGCCGGCGTGCAGCCCGCGAATCTTCAACCCCTGACCTA
CGCGACCCCTGAGCTCGTGGACGCGAGCTGCCCGCAGCTGCTGCTTCCGCCAGCGCCG
CGCGGAATGGCCCTGGCGCCGGCTACTACAGCTCTGGTGGCCAACCTCGAGTCCACCAATAATCCCG
CCAGCCTGAACGAGGAGAAGCTGCTGCTGATGGCCAGCTGAGGCCCTGACCCAGCGCCTGGCG
GCTGACCCAGCAGGTTGCTCAGCTGCAAGCGGGAGACGCGGGCGGTTGCCACGGTAAAACCAAATAA
AAAATGAATCAATAAAACGGAGACGGTTGTTGATTTAACACAGAGTCTGAAATCTTATTTGATT
TTCGCGCGCGTAGGCCCTGGACCAACGGTCTCGATCATTGAGCACCCGGTGGATCTTCCAGGACCC
GTAGAGGTGGCTGGATGTTGAGGTACATGGCATGAGCCCGTCCGGGGTGGAGGTAGCTCCATTGC
AGGGCCTCGTGCCTGGGGTGGTGTAAATCACCCAGTCAGTGAGGGCGCAGGGCGTAGGTGCTGCA
CGATGTCCTTGAGGAGGAGACTGATGCCACGGCAGCCCTGGTGTAGGTGTTGACGAACCTGTTGAG
CTGGGAGGGATGCATGCCGGGGAGATGAGATGCATCTGGCCTGGATCTTGAGATTGGCGATTTCCCG

10

20

30

40

CCAGATCCGCCGGGGTTATGTTGTGCAGGACCACCAGCACGGTGTATCCGGTGCACTTGGGAATT
TGTATGCAACTTGGAAAGGAAGGCGTAAAGAATTGGAGACGCCCTGTGGCCGCCAGGTTTCCAT
GCACTCATCCATGATGATGGCGATGGGCCGTGGCGCGCTGGCAAAGACGTTGGGGTCGGAC
ACATCGTAGTTGTGGCCTGGTGAGCTCGTCAGGCCATTAAATGAATTGGGCGGAGGGTGCCCG
ACTGGGGACGAAGGTGCCCTCGATCCCAGGGCGTAGTTGCCCTCGCAGATCTGCATCTCCAGGCCTT
GAGCTCGGAGGGGGATCATGCCACCTGCAGGGCGATGAAAAAAACGGTTCCGGCGGGGAGATG
AGCTGCGCCGAAAGCAGGTTCCGGAGCAGCTGGACTGCCAGCGGTGGGGCGTAGATGACCCGA
TGACCGGCTGCAGGTGGTAGTTGAGGGAGAGACAGCTGCCGCCTCGGGAGGAGGGGCCACCTCGTT
CATCATCTCGCGCACATGCATGTTCTCGCCACGAGTTCCGCCAGGAGGCCTCGCCCCCAGCGAGAGG 10
AGCTCTTGCAGCGAGGCGAAGTTTCAGCGGTTGAGGCCATGGCATTGGAGAGGGTCT
GTTGCAAGAGTCCAGACGGTCCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTAGGGCATCTCGATCCAGCAGACCTCC
TCGTTTCGCGGGTTGGCGACTGCCAGGGTAGGGCACCGAGCGATGGCGTCCAGCGAGGCCAGGGTCC
GGTCCCTCCAGGGTCGCAGGGTCCCGTCAGCGTGGCTCCGTACGGTAAGGGGTGCGGCCGGCTG
GGCGCTTGCAGGGTGCCTCAGGCTATCCGGCTGGTCAGAACCGCTCCGGTGGGCCCTGTGCG
TCGCCAGGTAGCAATTGAGCATGAGTTGTAGTTGAGGCCCTGGCGTAGGGCTGGCCCTTGGCGGGAGCT
TACCTTGGAAAGTGTCCGCAGACGGACAGAGGAGGGACTTGAGGGTAGAGCTTGGGGGAGGAA
GACGGACTCGGGCGTAGGCCCGCAGCTGGCGAGCGGTCTCGCACTCCACGAGCCAGGTG
AGGTGGGGCGGTGGGGTCAAAAGAGGTTCCCTCCGTGCTTTGATGCGTTCTTACCTCTGGTCT 20
CCATGAGCTCGTGTCCCCGCTGGTGACAAAGAGGCTGTCGTCCCGTAGACCGACTTATGGCCG
GTCCTCGAGCGGGTGCCCGGTCCTCGTAGAGGAACCCGCCACTCCAGACGAAGGCCGGTC
CAGGCCAGCACGAAGGAGGCCACGTGGGAGGGTAGCGGTCGTTGTCACCAGCGGGCACCTCTCCA
GGGTATGCAAGCACATGTCCCCCTCGTCCACATCCAGGAAGGTGATTGGCTTGTAAAGTGTAGGCCACGTG
ACCGGGGGTCCCGGGGGGTATAAAAGGGGGCGGGCCCTGCTCGTCTCAGTGTCTCCGGATCG
CTGTCAGGAGCGCCAGCTGGGTAGGTATTCCCTCTCGAAGGCCGGCATGACCTCGGACTCAGGT
TGTCAGTTCTAGAACGAGGAGGATTTGATATTGACGGTGCCGGTAGGCCCTTATGAGCCCTC
GTCCATCTGGTCAGAAAGACGATCTTTGTTGTCAGCTGGTGGCGAAGGAGCCGTAGAGGGCTTG
GAGAGCAGCTGGCGATGGAGCGCATGGCTGGTTCTTCTGCGCGCTCCTGGGGCGATGT
TGAGCTGCACGTACTCGCGGCCACGCACTCCATTGGGAAGACGGTGGTAGCTCGTGGGCACGAT 30
TCTGACCGCCAGCCGGTTGTCAGGGTAGGATGCCAGCTGGCCACCTCGCCGCGCAGGGC
TCGTTGGTCCAGCAGAGGCCCGCCCTGCGCGAGCAGAACGGGGCAGCGGGTCCAGCATGAGCTCGT
CGGGGGGTGGCGTCCACGGTAAGATGCCGGCAGGAGCTGGGTGCAAGTAGCTGATGAGGTGCC
CAGATCGTCCAGGCCGCTGCCAGCTGCCAGCGCACGCCAGCGCGCTCGTAGGGCTGAGGGCGTGC
CAGGGCATGGGTGCGTGAGCGGGAGGCGTACATGCCAGATGTCGTAGACGTAGAGGGCTCCTCGA
GGACGCCAGTGTAGGGGGTAGCAGGCCGGCGGATGCTGGCGGCACGTAGCTGTACAGCTCGT
CGAGGGCGAGGAGGCCCGTGGCGAGGTTGGAGCGTTGCCGGCTTCCGGCGCGTAGACGATCTGGCG
AAGATGGCGTGGAGGAGATGGTGGGGCTCTGGAAGATGTTGAAGTGGCGTGGGGCAGGCCGA
CCGAGTCCCTGATGAAGTGGCGTAGGAGTCCTGCAGCTGGCAGAGCTGGCGGTGACGAGGACGTC
CAGGGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCTGGATGATGTCGTACTTGAGCTGCCCTCTGCTTCCACAGCTCG
CGGTTGAGAAGGAACCTCGCGGTCTCCAGTACTCTCGAGGGGAACCCGTCTGATGGCACGGT
AAGAGCCCACCATGTAGAACTGGTTGACGCCCTGTAGGCGCAGCAGCCCTCTCCACGGGGAGGGCGTA 40

AGCTTGCAGCGCCCTGCGCAGGGAGGTGTGGGTGAGGGCGAAGGTGTCGCGCACCATGACTTGAGGAAC
TGGTGCTTGAAGTCGAGGTGCGCAGCCGCCCTGCTCCCAGAGTTGGAAGTCCGTGCGCTTCTTAGG
CGGGGTTGGGCAAAGCGAAAGTAACATCGTTGAAGAGGATCTTGCCTCGCGGGCATGAAGTTGCGAGT
GATGCGGAAAGGCTGGGCACCTCGGCCCGTTGTTGATGACCTGGCGCGAGGACGATCTCGTGAAG
CCGTTGATGTTGTGCCCCGACGATGTAGAGTTCCACGAATCGCGGGCAGCCCTTGACGTGGGCAGCTTCT
TGAGCTCGTGTAGGTGAGCTCGCGGGTCGCTGAGCCGTGCTGAGGGCCCAGTCGGCGACGTG
GGGTTGGCGCTGAGGAAGGAAGTCCAGAGATCCACGGCCAGGGCGGTCTGCAAGCGGTCCCAGTACTGA
CGGAACGTGCTGGCCACGGCATTTCGGGGTGACGCAGTAGAAGGTGCGGGGTCGCCGTGCCAGC
GGTCCCACCTTGAGTTGGAGGGCGAGGTGCGAGCTGCTGCCAAGGACCCCATTCAAGGTGAGGTTCCACATCGTAGGTG
GACCAGCATGAAGGGGACGAGCTGCTGCCAAGGACCCCATTCAAGGTGAGGTTCCACATCGTAGGTG
AGGAAGAGCCTTCGGTGCAGGGATGCGAGCCGATGGGAAGAACTGGATCTCTGCCACCAGTTGGAGG
AATGGCTGTTGATGTGATGGAAGTAGAAATGCCGACGGCGCCGAGCACTCGTGTGTTTACAA
GCGTCCCGAGTCGCTCGAACGCTGCACGGATGCACTGAGCTGACGAGCGGGTCCCGAGAGTT
AGGAATTTCAGTGGCAGTGGAGCGCTGGCGCTGCATCTGGTGTACTACGTCTGCCATCGGCGT
GGCCATCGTCTGCCATGGTGGTCACTGCTGACGAGCCGCGGGAGGCAGGTCCAGACCTCGGCTCG
GACGGGTCGGAGAGCGAGGACGAGGGCGCGCAGGCCGGAGCTGTCAGGGCCTGAGACGCTGCGGAGTC
AGGTCACTGGCAGCGGGCGCGCGTTGACTTGCAAGGAGCTTCCAGGGCGCGGGAGGTCCAGAT
GGTACTTGATCTCCACGGCGCCGGTGGTGGCGACGTCACGGCTTGCAAGGGTCCCGTGCCTGGGCG
CACCACCGTCCCCGTTCTTCTGGCGGGCGGCTCCATGCTTAGAAGCGGGCGAGGACGCGCGC
CGGGCGCAGGGCGGCTGGGGCCGGAGGCAGGGCGGCAGGGCACGTCGGCGCGCGCGGGCAG
GTTCTGGTACTGCGCCGGAGAAGACTGGCGTGAGCGACGCGACGGTGACGTCCTGGATCTGACGC
CTCTGGTGAAGGCCACGGACCCGTGAGTTGAACCTGAAAGAGAGTTGACAGAATCAATTTCGGTAT
CGTTGACGGCGGCCTGCCAGGATCTCTGACGTCGCCGAGTTGTCCTGGTAGGCGATCTCGGT
GAACTGCTCGATCTCCTCCTGAAGGTCTCCGCGGCCGCGCTGACGGTGCCGAGGTCGTG
GAGATGCGGCCATGAGCTGCGAGAAGGCGTTCATGCCGCCCTGTTCCAGACGCGGCTGTAGACCACGG
CTCCGTTGGGTGCGCGCGCATGACCACCTGGCGAGGTTAAGCTGACGTGGCGCGTGAAGACCG
GTAGTTGCAAGAGCGCTGGTAGAGGTAGTTGAGCGTGGTGGCGATGTGCTCGTGACGAAGAAGTACATG
ATCCAGCGCGGAGCGGCATCTCGTGCACGTCGCCAGGGCTTCAAGCGCTCATGGTCTCGTAGAAGT
CCACGGCGAAGTTGAAAAACTGGAGTTGCGCGCCAGACGGTCAACTCTCCTCCAGAAGACGGATGAG
CTCGCGATGGTGGCGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCCCGGGGGCTCCTCTTCCATCTCCTCCTCC
TCTTCCTCCTCCACTAACATCTCTTACTTCCTCCTCAGGAGGCGGGCGGGGAGGGGCCCTCG
GCCGGCGCGCACGGCAGACGGTCGATGAAGCGCTCGATGGTCTCCCCGCGCCGCGACGCGATGGTCTC
GGTGACGGCGCCGCGCTCGCGGGGCCAGCGTGAGACGCCGCGCATCTCCAGGTGGCGCG
GGGGGGTCTCCGTTGGCAGGGAGAGGGCGCTGACGATGCATCTTCAATTGGCCGTAGGGACTCCGC
GCAAGGACCTGAGCGTCTCGAGATCCACGGATCCGAAACCGCTGAACGAAGGCTCGAGCCAGTCGCA
GTCGCAAGGTAGGCTGAGCCGGTTCTGTTCTCGGTATTGGTGGAGGCGGGGAGGGCGATGCTG
CTGGTGATGAAGTTGAAGTAGGCGGTCTGAGACGGCGGATGGTGGCGAGGAGCACCAGGTCTTGGGCC
CGGCTGCTGGATGCGCAGACGGTGGCCATGCCAGGGCGTGGTCTGACACCTGGCGAGGTCTTGT
GTAGTCCTGCATGAGCCGCTACGGCACGTCCTCGCCCGCGGGCGTGCATGCGCGTGA
AACCCGCGTGGCGTGGACGAGCGCCAGGTGGCGACGACGCGCTGGCGAGGATGGCCTGCTGGATCT

10

20

30

40

GCCTGCTGCTGCTGGTGGCGCCCTCACGGACAGCGCAGCGTGAGCCGACTCGTACCTGGGCTA
 CCTGCTTAACCTGTACCGCGAGGCCATGGGCAGGGCACGTGGACGAGCAGACCTACCAGGAGATCACC
 CACGTGAGCCGCGCTGGCCAGGAGGACCCGGAACCTGGAGGCCACCCCTGAACCTCCTGCTGACCA
 ACCGGTCGAGAAGATCCCGCCCCAGTACCGCCTGAGCACCAGGAGGAGCGCATCCTGCGCTACGTGCA
 GCAGAGCGTGGGCTGTTCTGATGCAGGAGGGGCCACGCCAGCGCCGCTCGACATGACCGCGCG
 AACATGGAGCCCAGCATGTACGCCAACCAGCCATCTGAACCCGACTGGCTCCGCCGCCGGTT
 CTACACGGGCGAGTACGACATGCCGACCCAAAGACGGGTTCTGTGGGATGACGTGGACAGCAGCGTG
 TTCTCGCCGCGTCCCACCACCGTGTGAAAGAAAGAGGGCGGGACCGCGCCGTCTCGCGCTGT
 CCGTCGCGCGGGTGCTGCCGCGGTGCCAGGCCAGCCCTTCCGAGCCTGCCCTTCGCT
 GAACAGCGTGCAGCAGCGAGCTGGTCTGAGCAGGCCGCTGCTGGCGAGGAGGAGTACCTG
 AACGACTCCTGTTGAGGCCGAGCGCAGAAAGAACCTCCAAATAACGGGATAGAGAGCCTGGTGGACA
 AGATGAGCCGCTGGAAGACGTACGCGCACGAGCACAGGACGAGCCCGAGCTAGCAGCGCAGGCACCCG
 TAGACGCCAGCGCACGACAGGCAGCGGGCTGGTGTGGGACGATGAGGATTCCGCCGACGACAGCAGC
 GTGTTGGACTGGTGGGAGTGGTGTGTAACCCGTTCTGCTACCTGCGCCCCGTATCGGGCGCTGA
 TGTAAGAATCTGAAAATAAAACGGTACTCACCAAGGCCATGGCGACCAGCGTGCCTTCTCTGTT
 GTTGTAGTAGTATGATGAGGCCGTGTACCGGAGGGCTCTCCCTCGTACGAGAGCGTATGCAGC
 AGGCCGTGGCGCGCGATGCAGCCCCCTGGAGGCCCTAACGTGCCCCCGCGTACCTGGCGCTAC
 GGAGGGCGGAACAGCATTGTTACTCGGAGCTGGCACCCCTGTACGATACCACCGGTTGTACCTGGT
 GACAACAAGTCGGCGACATCGCCTCGCTGAACCTACAGAACGACCAAGCAACTCCTGACCACCGTGG
 TGCAGAACAAAGATTCAACCCACGGAGGCCAGCACCCAGACCATCAACTTGACGAGCGCTCGCGGTG
 GGGCGCCAGCTGAAAACCATCATGCACACCAACATGCCAACGTGAACGAGTTCATGTACAGAACAAAG
 TTCAAGGCAGGGTGATGGTCTCGCGCAAGACCCCCAACGGGTCACAGTAACAGATGGTAGTCAGGACG
 AGCTGACCTACGAGTGGTGGAGTTGAGCTGCCAGGGCAACTTCTCGGTGACCATGACCATCGATCT
 GATGAACAACGCCATCATGACAACACTTGGCGTGGGCGCAGAACGGGTTGCTGGAGAGCGACATC
 GCGTGAAGTTCGACACCGCAACTTCCGGCTGGGACATCGCCTGCTGCCGGCTGCCGTGGACTTCACCGAGAG
 TGTACACCAACGAGGCCCTCCACCCGACATCGCCTGCTGCCGGCTGCCGTGGACTTCACCGAGAG
 CCGCCTCAGAACCTGCTGGCATCCGCAAGCGCAGCCCTCCAGGAGGGCTCAGATCCTGTACGAG
 GACCTGGAGGGGGCAACATCCCCGCGCTTGGATGTCGAAGCCTACGAGAAAAGCAAGGAGGATAGCA
 CCGCGTGGCTACCGCCGACTGTGGCAGATGCCACTGTCACCAGGGCGATAATTGCCACCCAGGC
 GGAGGAAGCAGCCGCCCTAGCGGCAGCGATGATAGTGAAGAGATAAGATAGTTCAAGCCGGTGGAGAAG
 GACAGCAAGGACAGGAGCTACACGTTCTATCGGATGGAAAGAACACCGCCTACCGCAGCTGGTACCTGG
 CCTACAAACTACGGCGACCCCGAGAAGGGCGTGCCTGGACGCTGCTCACCACCTCGGACGTACCTG
 CGCGTGGAGCAAGTCTACTGGTCGCTGCCGACATGATGCAAGACCCGGTCACCTTCCGCTCCACCGT
 CAAGTTAGCAACTACCCGGTGGTGGGCGCCGAGCTCCTGCCGTACTCCAAGAGCTTCTTCAACGAGC
 AGGCCGTACTCGCAGCTGCGCGCCTCACCTCGCTACGCACGTCTCAACCGCTTCCCCGAGAA
 CCAGATCCTCGTCCGCCGCCGCCCCACCATTACCAACCGTCAGTGAAAAGCTTCTGCTCTCACAGAT
 CACGGGACCCCTGCCGCTGCGCAGCAGTATCCGGGAGTCCAGCGCGTACCGTACTGACGCCAGACGCC
 GCACCTGCCCTACGTCTACAGGCCCTGGCGTAGTCGCGCCGCGTCCCTCGAGCCGACCTCTA
 AAAATGTCCATTCTCATCTGCCAGTAATAACACCGGTTGGGCTGCGCGCCAGCAAGATGTAC

10

20

30

40

GGAGGCCTGCCAACGCTCCACGAAACACCCGTGCGGTGCGCGGGACTTCGCGCTCCCTGGGGCG
 CCCTCAAGGGTGCCTGCCTCGCGCACCACCGTCGACGTGATGACCAGGTGGTGGCCGACGCGCG
 CAACTACACGCCGCCGCCGCCCTCCACCGTGGACGCCGTATCGACAGCGTGGTGGCCGACGCG
 CGCCGGTACGCCGCCAAGAGCCGGCGGGCGCATGCCCGGGCACCGGAGCACCCCGCCATGC
 GCGCGCGCGAGCCTTGCTGCGCAGGCCAGGCGCACGGACGCAGGCCATGCTCAGGGCGGCCAGACG
 CGCGCCTCCGGCAGCAGCAGGCCGGCAGGACCCGCAGACGCGCCACGGCGGGCGGCCATC
 GCCACCATGTCCCCCCCCGGGGCACCGTGTACTGGTGGCGACGCCGCCACCGTGTGGCGTGC
 CCGTGCACCCGCCCTCGCACTTGAAGATGCTGACTTCGCGATGTTGATGTTGATGTC
 AGGATGTCCAAGCGAAATACAAGGAAGAGATGCTCCAGGTATCGGCCTGAGATCTACGGCCCCGG
 CGCGGTGAAGGAGGAAAGAAAGCCCCGAAACTGAAGCGGGTCAAAAGGACAAAAGGAGGAGGAAGA
 TGTTGGACGGACTGGTGGAGTTGTGCGCGAGTTGCCCCCGGGCGCGTGCAGTGGCGGGCGGAAA
 GTGAAACCGGTGCTGCCGCCGGCACACGGTGGTCTTCACGCCCGCGAGCGTTCCGGCTCCGCTCCA
 AGCGCTCTACGACGAGGTGTACGGGACGAGGACATCCTCGAGCAGGCCGAGCGTCTGGCGAGTT
 TGCTTACGGCAAGCGCAGCCGCCGCGCCCTTGAAAGAGGAGGAGGCGGTGTCATCCGCTGGACCACGGC
 AACCCCCACGCCGAGCCTGAAGCCGGTACCCCTGCAGCAGGTGTCGCCAGCGGGCGCCGCCGGGCG
 TCAAGCGCAGGGCGGGAGGATCTGTACCCGACCATGCAGCTGATGGTGCCTAACGCCAGAAGCTGGA
 GGACGTGCTGGAGCACATGAAGGTGGACCCCGAGGTGCAAGCCGAGGTCAAGGTGCGGCCATCAAGCAG
 GTGGCCCCGGCCTGGCGTGCAGACCGTGGACATCAAGATCCCCACGGAGCCATGGAAACGCCAGACCG
 AGCCCGTGAAGCCCAGCACCAGCACCATGGAGGTGCAAGCGGATCCCTGGATGCCGGCGCCGGCTTCCAC
 CACCACTGCCGAAGACGCAAGTACGGCGCCAGCCTGCTGATGCCAACTACGCCGCTGCATCCTTCC
 ATCATCCCCACGCCGGCTACCGCGGACCGCCTTCTACCGCGGCTACAGCAGGCCGCAAGACCACCA
 CCCGCCGCCGCGCCGCACCCGCCGAGCACCCCGCAGACTCCGCCGCCCTGGTGGAGAGT
 GTACCGCAGGGCGTGAGCCTCTGACCCCTGCCGCGCGCTACCACCCGAGCATGCCATTAACTC
 TGCCGTCGCCCTTGAGATATGCCCTCACATGCCGCTCCCGTCCCCATTACGGTACCGAGGAA
 GAAAGCCGCCGTAGAAGGCTGACGGGAACGGGCTGCGTCGCCATCACCACCGGGCGGGCGGCCAT
 CAGCAAGCGGTTGGGGGAGGCTCCTGCCGCGCTGATCCCCATCATGCCGCGGCGATGGGGCGATC
 CCCGCATAGCTCCGTGGCGGTGAGGCCCTCAGCGCCACTGAGACACAGCTGGAAAATTGTAATA
 AAAAAATGGACTGACGCTCTGGCCTGTGATGTTAGATGGAAGACATCAATTTCGTCCT
 GGCACCGCGACACGGCACGCCGTTATGGGCACCTGGAGCGACATCGCAACAGCAACTGAAACGGG
 GGCGCCTCAATTGGAGCAGTCTCTGGAGCGGCTTAAGAATTGGGCTCACGCTCAAAACCTATGGCA
 ACAAGCGTGGAACAGCAGCACAGGGCAGGCGCTGAGGGAAAGCTGAAAGAGCAGAACTCCAGCAGAA
 GGTGGTCGATGGCCTGGCCTCGGCATCAACGGGTGGACCTGGCAACCAGGCCGTGAGAACAG
 ATCAACAGCCGCTGGACCGCGTCCGCCGGGTCCGTGGAGATGCCCCAGGTGGAGGAGGAGCTGC
 CTCCCCCTGGACAAGCGCGGCCGACAAGCGACCGCGTCCGACGCCGGAGGAGACGCTGACGCACACGG
 CGAGCCGCCCGTACGAGGAGGCCGTGAAACTGGGTCTGCCACCGCCCGTGGCGCTCTGGCC
 ACCGGGTGCTGAAACCCAGCAGCAGCACGCCAGGCCGACCCCTGGACTTGCCTCACCTGCC
 CCACAGTGGCTAAGCCCTGCCGCCGGTGGCGTGCCTCGCGCCCCCGAGGCCGCCAGGC
 CTGGCAGAGCACTCTGAACAGCAGCATCGTGGGTCTGGAGTGCAGAGTGTGAAAGCGCCCG
 AAGACACTGTAGCGCTTAACCGTGTGTGTTATGTATGTGTC
 AGGCGCGTCCGAGTTGCAAGATGGCCACCCATCGATGCTGCCAGTGGCGTACATGCACATGCC

10

20

30

40

GGACAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGTCCGGGTCTGGTGCAGTCGCCCGGCCACAGACACCTACTTCA
 GTCTGGGAACAAGTTAGGAACCCCACGGTGGCACCCACGCACGATGTGACCACCGACCGCAGCCAGCG
 GCTGACGCTGCGCTTCGTGCCGTGGACCGCGAGGACAACACCTACTCGTACAAAGTGCCTACACGCTG
 GCCGTGGCGACAACCGCGTGGACATGCCAGCACCTACTTGTACATCCGCGCGTGTGGATCGGG
 GCCCGCTTCAAACCCACTCCGGCACCGCTACAACAGCCTGGCTCCAAGGGAGCGCCAACACCTC
 ACAGTGGATAACCAAAGACAATGGAACGTGATAAGACATACAGTTGGAAATGCTCCAGTCAGAGGATTG
 GACATTACAGAAGAGGGTCTCAAATAGGAACCGATGAGTCAGGGGTGAAAGCAAGAAAATTTGAG
 ACAAAACCTATCAGCCTGAACCTCAGCTGGAGATGGCATGATACTATTGGAGCTGAAGACAA
 GTATGGAGGCAGAGCGCTTAAACCTGCCACCAACATGAAACCTGCTATGGTCTTCGCCAAGCCA
 ACTAATGCTAAGGGAGGTCAAGCAGAAACCAAGGACATGGCACTACTGAGCCTGATATTGACATGG
 CCTTCTTGACGATCGCAGTCAGCAAGCTAGTTCAGTCCAGAACTTGTGTTGTACTGAGAATGCGA
 TCTGGACACCCCGGATACCCACATTATTACAAACCTGGCAGTGTGAAACAAGTCTTCTTC
 GGTCAGCAGTCCATGCCAACAGACCCAACTACATTGGCTTCAGAGACAACCTTATCGGGCTCATGTACT
 ACAACAGCACTGGCAATATGGGTGACTGCCGGTCAGGCCTCCAGCTGAATGCTGTGGTGGACTTGCA
 GGACAGAAACACTGAACGTGCTTACAGCTTGACTCTGGTGAACAGAACCCAGGTATTCAGT
 ATGTGGAATCAGCGGTGGACAGCTATGACCCCGATGTGCGCATTATTGAAATCACGGTGTGGAGGATG
 AACTCCCCAACTATTGCTTCCCTTGAATGGTGTGGCTTACAGATACTCCAGGGATTAAAGGTTAA
 AACTACAAATAACGGAACAGCAAATGCTACAGAGTGGAAATCTGATACCTCTGTCAATAATGCTAATGAG
 ATTGCCAAGGGCAATCCTTCGCCATGGAGATCAACATCCAGGCCAACCTGTGGCGGAACTTCCTCTACG
 CGAACGTGGCGCTGTACCTGCCGACTCCTACAAGTACACGCCAACATCACGCTGCCAACAC
 CAACACCTACGATTACATGAACGGCCGCGTGGTGGCCCTCGCTGGTGGACGCCATCACACATCGGG
 GC CGCTGGTCGCTGGACCCCATGGACAACGTCAACCCCTCAACCACCACCGCAACGCCGGCTCGC
 ACCGCTCATGCTCTGGCAACGGCGCTACGTGCCCTCCACATCCAGGTGCCAAAAGTTTTC
 CATCAAGAGCCTCCTGCCCTGGCTACACCTACGAGTGGAACTTCCGCAAGGACGTCAACATG
 ATCCTGCAGAGCTCCCTCGCAACGACCTGCGCACGGACGGACGCCATCGCCTTCACCAGCATCAACC
 TCTACGCCACCTCTCCCATGGCGCACACCCCTCCACCGCTCCACGCTCGAGGCCATGCTGCGCAACGACAC
 CAACGACCAGTCCTCAACGACTACCTCTGGCGCAACATGCTCTACCCCATCCGGCAACGCCACC
 AACGTGCCACCTCCATCCCCCTCGCGCAACTGGGCCCTCCGGATGGCCTTCACGCGCTCAAGA
 CCCGCGAGACGCCCTCGCTCGGCCGGTTGACCCCTACTTCGTCTACTCGGCCATCCCCTACCT
 CGACGGCACCTCTACCTCAACCACACCTCAAGAAGGTCTCCATCACCTCGACTCCTCC
 CGCTGGCAACGACGCCCTCGACGCCAACGAGTTGAAATCAAGCGCACCGTCGACGGAGAGGGTACA
 ACGTGGCCCAGTGCACACATGACCAAGGACTGGTCTGGTCCAGATGCTGGCCACTACAACATCGGCTA
 CCAGGGCTTCTACGTGCCGAGGGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTCTTCGCAACTTCCAGGCCATG
 AGCCGCCAGGTGCGTGGACGAGGTCAACTACAAGGACTTACCGAGGCCGTACCCCTGGCTACCAGCACACA
 ACTCAGGGCTTCGTCGGTACCTCGGCCACCATGCGCCAGGGCCAGGCCCTACCCGCCACTACCCCTA
 CCCGCTCATCGCAAGAGCGCCGTGCCAGCGTCACCCAGAAAAAGTTCTCTGCGACCGGGCATGTGG
 CGCATCCCCCTCTCAGCAACTTCATGTCCATGGCGCGCTCACCGACCTCGGCCAGAACATGCTCTACG
 CCAACTCCGCCACGCGCTAGACATGAATTGAGTCGACCCCATGGATGAGTCCACCCCTCTATGT
 TGTCTCGAAGTCTCGACGTCGTGGAGTGCACCAAGGCCACCGCGGCGTACGAGGCCGTACCTG
 CGCACGCCCTCTCGGCCGGCAACGCCACCACTAACGCTTTGCAAGATGACGCCGTGGC

10

20

30

40

TCCGGCGAGCAGGAGCTCAGGGCCATCCTCCGCGACCTGGGCTGCGGGCCCTACTTCCTGGGCACCTTCG
 ACAAGCGCTTCCCAGGATTCATGGCCCCGACAAGCTGGCCTGCGCCATCGTAAACACGGCCGGCCGCGA
 GACCGGGGGCGAGCACTGGCTGGCCTCGGAAACCGCGCACCCACACCTGCTACCTCTTCGACCCCC
 TTCGGGTTCTCGGACGAGCGCTCAAGCAGATCTACCAGTTGAGTACGAGGGCCTGCTGCGCCGAGCG
 CCCTGGCCACCGAGGACCGCTCGCTCACCTGGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGTCCCGCTCGGC
 CGCCTGCGGGCTTCTGCTGCATGTTCTGCACGCCTCGTGCAGTGGCCGACCGCCCCATGGACAAG
 AACCCCCACCATGAACTTGCTGACGGGGGTGCCAACGGCATGCTCCAGTCGCCCCAGGTGGAACCCACCC
 TGCGCCGCAACCAGGAGGCGCTTACCGCTTCAACGCCACTCCGCCTACTTCGCTCCCACCGCGC
 GCGCATCGAGAAGGCCACCGCCTCGACCGCATGAATCAAGACATGTAAACTGTGTGTATGCAATGCTT
 TATTCTATAAAACAGCACATGTTATGCCACCTCTGAGGCTCTGACTTTATTAGAAATCGAAGGG
 GTTCTGCGGGCTCTCGCGTGCAGGGCAGGGATACGTTGCGGAACACTGGTACTTGGGCAGCCACTTG
 AACTCGGGGATCAGCAGCTCGGCACGGGAGGTGGAAACGAGTCGCTCCACAGCTGCGGTGAGTT
 GCAGGGCGCCACAGCAGTCGGCGCGGATATCTTAAATCACAGTTGGGACCCCGCTTCTGCGCGAGA
 GTTGCAGGTACACGGGTTGCAGCACTGGAACACCATCAGGGCGGGTGCTTACGCTGCCAGCACCCTC
 GCGTCGGTATGCCCTCACGTCCAGTCAGCTCGCGTGGCCATCCGAAGGGGGTCACTTGCAGGTCT
 GCCGCCCCATGCTGGCACGCAGCCGGCTTGTGGTTGCAATCGCAGTGCAGGGGATCAGCATCATCTG
 GGCGCTCGGAGCTCATGCCGGGTACATGGCCTTCATGAAAGCCTCAGCTGGCGGAAGGCCTGCTGC
 GCCTTGCCTCGGTGAAGAAGACCCCGCAGGACTTGCTAGAGAACTGGTTGGCGCAGCCGGT
 CGTGCACGCAGCAGCGCGTCGTTGCAAGGCAGCTGCACCACGCTGCCCTCAGCGGGTTCTGGGTGAT
 CTTGGCCCGGTGGGTTCTCCTTCAGCGCGCTGCCGTTCTCGCTGCCACATCCATCTGATCGT
 TGCTCCTCTGGATCATCAGGTCCCGTGAGGCACCGCAGCTGCCCTCGGCTTGGTGATCCGTGCA
 GCCACAGCGCGCAGCGGTGCACTCCCAGTTCTGTTGGCGATCTGGGAGTGCAGTCACGAAGCCCTG
 CAGGAAGCGGCCATCATCGCGGTAGGGTCTTGTGAAGGTCAAGCAGGGATGCCCGGGTCTCC
 TCGTTCACATACAGGTGGCAGATGCCCGGTACACCTGCCCTGCTGGGCATCAGCTGGAAGGCGGACT
 TCAGGTCGCTCTCCACCGCGTACCGCTCCATCAGCAGCGTCACTTCCATGCCCTCTCCAGGCCGA
 AACGATCGGAGGCTCAGGGGGTCTTCACCGTTGCACTTTAGTGCCTGCCGCCGAGGTCAAGGGGTC
 TTCTCGTCCAGGGTCTCAAACACTCGCTGCCGTCTCGGTGATGCCACGGGGAAAGCTGAAGC
 CCACGGCCGCCAGCTCCCTCGGCTGCCCTCGTCTGCTGGCTGATGTCTTGCACAGGCAC
 ATGCTTGGTCTTGCAGGGTTCTTTGGCGGGCAGAGGCGGGGGAGACGTGCTGGCGAGCGCGAG
 TTCTCGCTCACCACGACTATTCTTCTCGGTGCTCCAGACCGGGGTAGGCATGCCCT
 TCTGGGGCAGAGGCGGGAGGCGACGGGCTCTCGCGGTTGGCGGGCTGGCAGAGGCCCTCCCGT
 GGGGGTGCCTGGCGCTGCTCTGACTGACTTCCCTCCGCGGCCATTGTGTTCTCCTAGGGA
 GCAAGCATGGAGACTCAGCCATCGTCGCCAACATGCCATCTGCCCGGCCGACGAGAACCGAC
 AGCAGCAGAATGAAAGCTTAACCGCCCCGCCGCCAGCCCCACCTCGACGCCGGGGCCAGACATGCA
 AGAGATGGAGGAATCCATCGAGATTGACCTGGCTACGTGACGCCCGGGAGCACGAGGAGGAGCTGGCA
 GCGCGCTTTCAGCCCCGGAAGAGAACCAAGAGCAGCCAGAGCAGGAAGCAGAGAGCGAGAGGCC
 AGGCTGGGCTCGAGCATGGCACTACCTGAGGGGAGAGGACGTGCTCATCAAGCATCTGGCCGCCA
 ATGCATCATCGTCAAGGATGCGCTGCTCGACCGCGCCGAGGTGCCCTCAGCGTGGCGAGCTCAGCCGC
 GCCTACGAGCGCAACCTCTCGCCGCGTGCCTGGGCAAGCGCCAGGCCAACGGCACCTGCGAGGCCA
 ACCCGCGCCTCAACTTACCCGGTCTTGCAGGGCTGGCCACCTACCACCTTTTCAA

10

20

30

40

GAACCAAAGGATCCCCGTCTCCTGCCGCCAACCGCACCCGCCGACGCCCTGCTAACCTGGGCC
 GGCGCCCGCCTACCTGATATGCCCTCCTGGAAGAGGTTCCAAGATCTCGAGGGTCTGGGCAGCAG
 AGACTCGGGCCGCAACGCTCTGCAAGGAAGCGGAGAGGAGCATGAGCACACAGGCCCTGGTGGAGTT
 GGAAGGCGACAACGCCGCTGGCGCTCAAGGCCACGGTCAGCTGACCCACTTCGCTACCCGGCG
 CTCAACCTGCCCTCAAGGTATGAGCGCGTATGGACCAGGTGCTCATCAAGGCCCTGCCCTCT
 CGGAGGAGGAGATGCAGGACCCGAGAGCTGGACGAGGGCAAGCCGTGGTCAAGCAGCAGCTGGC
 GCGCTGGCTGGGAGCGAGTAGCACCCCCCAGAGCCTGGAAGAGCGGCCAAGCTCATGATGCCGTGGC
 CTGGTACCGTGGAGCTGGAGTGTCTGCCGCTTCTGCCGACGCCAGAGACCCCTGCGCAAGGTGAGG
 AGAACCTGCACTACCTCTCAGGCACGGGTCGTGCCAGGCCTGCAAGATCTCAAACGTGGAGCTGAC
 CAACCTGGTCTCCTACATGGCATTGCACTGCCGAGAACCGCTGGGCAGAACGTGCTGCACACCACCTG
 CGCGGGAGGCCGCGCAGTACATCCGCACTGCGTACCTGTACCTCTGCCACACCTGGCAGACGG
 GCATGGCGTGTGGCAGCAGTGCCTGGAGGAGCAGAACCTGAAAGAGCTTGCAAGCTCCTGAGAAGAA
 CCTGAAGGCCCTGTGGACCGGGTCGACGAGCGCACCCGCCCTGGACCTGGCCACCTCATCTCCCC
 GAGCGCCTGCCGCTGACGCTGCCAACGGCTGCCACTTTATGAGCAAAGCATGTTGCAAAACTTTC
 GCTCTTCATCCTCGAACGCTCCGGATCCTGCCGCCACCTGCTCCGCGCTGCCCTCGGACTTCGTGCC
 GCTGACCTTCCGCGAGTGCCCCCGCCCTGGAGCCACTGCTACCTGCTGCCGCTGGCCAACCTACCTG
 GCCTACCACTCGGACGTGATCGAGGACGTCAGCGCGAGGGTCTGCTGAGTGCCACTGCCGCTGCAACC
 TCTGCACGCCGACCGCTCCCTGCCCTGCAACCCCCAGCTGCTGAGCGAGACCCAGATCATGGCACCTT
 CGAGTTGCAAGGCCCGAGGAGGGCAAGGGGGTCTGAAACTCACCCGGGCTGTGGACCTCGGCC
 TACTTGCAGTTCGTGCCGAGGACTACCATCCCTCGAGATCAGGTTCTACGAGGACCAATCCCAGC
 CGCCCAAGGCCGAGCTGCGGCCGTCATCACCCAGGGGCCATCCTGCCCAATTGCAAGCCATCCA
 GAAATCCCAGCAAGAATTCTGCTGAAAAGGGCACGGGTCTACTGGACCCCCAGACCGGAGAGGAG
 CTCAACCCCAGCTCCCCCAGGATGCCAGAGGAAGCAGCAAGAAGCTGAAAGTGGAGCTGCCGCTGCC
 CCGGAGGATTGGAGGAAGACTGGAGAGCAGTCAGGCAGAGGAGGAGATGGAAGACTGGACAGCA
 CTCAGGCAGAGGAGGACAGCCTGCAAGACAGTCTGGAAGACGAGGTGGAGGAGGAGGAGAGAAGC
 AGCCGCCAGACCGCTCGCTCGCGAGAAAGCAAGCAGCACGGATACCATCTCGCTCCGGTCTGG
 GGTCTGGCGCCGGGCCACAGTAGGTGGACGAGACCGGGCGCTCCGAACCCACCAACCCAGACCG
 GTAAGAAGGAGCGGCAGGGATACAAGTCCTGGGGGGCACAAAAGCCATCGTCTCTGCTTGCAAGC
 CTGGGGGGCAACATCTCCTCACCGCGCTACCTGCTCTCCACCGCGGGTGAACCTCCCCGCAAC
 ATCTTGCAATTACTACCGTCACCTCCACAGCCCTACTACTGTTCCAAGAAGAGGAGAAACCCAGCAGC
 AGCAGAAAACCAGCAGCAGCTAGAAAATCCACAGCGCGGCCGGCAGGTGGACTGAGGATCGCGCG
 ACGAGCCGGCGCAGACCCGGAGCTGAGGAACCGGATCTTCCCACCCCTATGCCATCTCCAGCAGAG
 TCGGGGCGAGGAGCAGGAAGTCAAGAACCGTTCTGCGCTCGCTACCCGAGTTGTCTGTAT
 CACAAGAGCGAAGACCAACTTCAGCGACTCTCGAGGACGCCAGGCTCTCAACAAGTACTCGCGCG
 TCACTCTAAAGAGTAGCCCGCGCCGCCACACCGAAAAGGCGGGATTACGTCAACCACCTGCGCC
 CTTGCCGACCATCATGAGCAAAGAGATTCCCACGCCCTACATGTGGAGCTACCAGCCCCAGATGG
 GCCTGGCCGCCGGCGCCAGGACTACTCCACCCGATGAAGTGGCTCAGTGCGGGCCCGATGAT
 CTCACGGGTGAATGACATCCGCGCCGCCAAACAGATACTCCTAGAACAGTCAGCGATCACGCCACG
 CCCGCCATCACCTTAATCCGCGTAATTGCCGCCCTGGTGTACCAAGGAAATTCCCCAGCCCCACGA
 CCGTACTACTTCCCGAGACGCCAGGCCAGTCCAGCTGACTAACTCAGGTGTCCAGCTGCCGGCG

10

20

30

40

CGCCGCCCTGTGTCGTACCGCCCCGCTCAGGGTATAAGCGGCTGGTATCCGAGGCAGAGGCACACAG
CTCAACGACGAGGTGGTGAGCTCTCGCTGGGCTGCGACCTGACGGAGTCTCCAACTCGCCGGATCGG
GGAGATCTTCCTCACGCCTCGTCAGGCCGCTGACTTGGAGAGTTCGTCCTCGCAGCCCCGCTCGG
TGGCATCGGCACTCTCAGTCAGGGAGGAGTCACTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTCTCCGGCTCC
CCCGGCCACTACCCGGACGAGTTCATCCGAACCTCGACGCCATCAGCGAGTCGGTGGACGGCTACGATT
GAATGTCCCAGGTGGCGCGCTGACCTAGCTCGGCTTCGACACCTGGACCCTGCCGCCGCTCCGCTG
CTTCGCTCGGGATCTCGCCGAGTTGCCTACTTGAGCTGCCGAGGAGCACCCCTAGGGCCGGCCAC
GGAGTGCAGGATCATCGTCGAAGGGGGCTCGACTCCACCTGCTCGGATCTCAGCCAGCGTCCGATCC
TGGTCGAGCGCAGCAAGGACAGACCGTCTGACCCGTACTGCATCTGCAACCACCCGGCCTGCATGA
AAGTCTTGTGTCTGCTGTACTGAGTATAATAAAAGCTGAGATCAGCGACTACTCCGGACTTCCGTG
TGTTCTGAATCCATCAACCAGTCCCTGTTCTCACCGGGAACGAGAGACCAGCTCCAGTGTAAAG
CCCCACAAGAAGTACCTCACCTGGCTTCCAGGGCTCCCGATGCCGTTGTCAACCAGTGCAGAACG
ACGGAGTCCTGCTGAGCGGCCCTGCCAACCTACTTTTCCACCCGAGAACAGCAAGCTCCAGTCTTCCA
ACCCCTCCTCCCCGGGACCTATCAGTGCCTCGGACCCCTGCCATCACACCTCACCTGATCCGAAT
ACCACAGCGTCGCTCCCCGCTACTAACAAACAAACTACCCACCAACGCCACCGTGCACCGTCTCTG
AATCTAATACCAACTACCGGAGGTGAGCTCCGAGGTGACCAACCTCTGGGATTTACTACGGCCCTGGGA
GGTGGTGGGTTAATAGCGCTAGGCCTAGTTGTGGGCTTTGGCTCTGCTACCTATACCTCCCT
TGCTGTTGTAATTGCTTAGTGGTGTGTTAAGAAATGGGGCAGATCACCTAGTGAAGGAGAAGGCCGAT
TGTGCTGGTGGCGGTGGTGTTCGATTGTGGGACTGGGCGGGCGGCTGTAGTGAAGGAGAAGGCCGAT
CCCTGCTTGCATTCAATCCGACAAATGCCAGCTGAGTTTCAGCCGATGGCAATCGGTGCGCGGTGC
TGATCAAGTGCAGGGATGGGAATGCCAGAACGTGAGAACATCGAGTACAATAACAAGACTCGGAACAATACT
CGCGTCCGTGTGGCAGCCGGGACCCCGAGTGGTACACCGTCTGTCCCCGGTGCACGGCTCCCCG
CGCACCGTGAATAATACTTCATTTGCGCACATGTGCGACACGGTATGTGGATGAGCAAGCAGTACG
ATATGTGGCCCCACGAAGGAGAACATCGTGGTCTCTCCATCGCTACAGCCTGTGCACGGTCTAAT
CACCGCTATCGTGTGCCTGAGCATTACATGCTCATCGCTATTGCCCGAGAAATAATGCCAAAAAGAG
AAACAGCCATAACACGTTTTCACACACCTGTTTACAGACAATGCGTCTGTTAAATTAAACAA
TTGTGCTCAGTATTGCTTATGCCTCTGGCTATGCAAACATACAGAAAACCTCTATGTAGGATCTGATGA
TACACTAGAGGGTACCAATCACAAGCTAGGGTTCATGGTATTTTATAAAAGCTCAGATAATCCTATT
ACTCTTGCAAAGGTGATCAGGGCGGACAACAAAGCCGCTATCACATTAGTGTACCGAGAACAAATC
TCACGCTTTCTCAATTACAAACATATGCTGGTATTTATTACAGTACAACCTTCATAGTGGCAAGA
TAAATATTATACTGTTAAGGTAGAAAATCCTACCAACTGAGTACCAACCCACCCACCCAC
ACTACTGCGAAGCCCACAAACCTAAACACTACCAAGAAAACCAACTGTGAAAACACTACAACAGAAC
CAACTACAGAAACCACCAACAGCACAACACTGCTGCAACTACACACACACACTGAGCTAACCTTACA
GACCACTAATGATTGATAGCCCTGTTGCAAAAGGGGATAACAGCACCACCTCCAATGAGGAGATA
AAATCCATGATTGGCATTATTGTTGCTGTAGTGGTGTGCATGGTGCATCGCCTGTGCATGGTGTACT
ATGCCTTCTGCTACAGAAAGCACAGACTGAACGACAAGCTGGAACACTTACTAAGTGTGAATT
TTTTAGAACCATGAAGATCCTAGGCCTTTAGTTTCTATCATTACCTCTGCTCTATGCAATT
AATGAGGACGTTACTGTCGTTGGATCAAATTACACTGAAAGGTCCAGCGAAGGGTATGCTT
GGTATTGCTGGTTGGAACTGACACTGATCAAACACTGAGCTTGCAATGCAATGAAAGGTCAA
CTCAAAAATTAAACATAATGCAATGGTACTGACTTAGTACTCAATATCACGAAATCATATGCTGGC

10

20

30

40

AGCTATTGATGCCCTGGAGATGATGCTGAGAACATGATTTTACAAAGTAACGTGTTGATCCCACTA
 CTCCACCACCCACCACAACTACTCACACCACACACAGAACAAACACCAGAGGCAGCAGAACAGA
 GTTGGCCTTCAGGTTACGGAGATTCTTGTCAATACCCCTACACCGATCATCGGTGTCCGGGG
 CTGCTAGTCAGCGCATTGTCGGTGTCTTCGGGATTAGCAGTCATAATCATCTGCATGTTCAATT
 CTTGCTGCTATAGAAGGCTTACCGACAAAAATCAGACCCACTGCTGAACCTCTATGTTAATT
 AGAGCCATGAAGGCAGTTAGCGCTCTAGTTTGTCTTGATTGGCATTGTTTGCAATCCTATT
 CTAGAGTTAGCTTATTAAAGATGTGAATGTTACTGAGGGGGCAATGTGACACTGGTAGGTAGAGGG
 TGCTAAAAACACCACCTGGACAAAATACCACCTGGGTGGAAAGATATTGCAATTGGAGTGTCACTGTG
 TACACATGTGAGGGAGTTAATCTTACCAATTGTCATGCCACCTCAGCTAAAATGGTAGAATTCAAGGAC
 AAAGTGTAGTGTGACCAGTGTGGTATTACCCACATACTTTATCTATGACGTTAAAGTCATACC
 ACTGCCTACGCCCTAGCCCACCTAGCACCACACTACACAAACACCAACTACACAGACAACCACATACAGT
 ACATCAAATCAGCCTACCACCACTACAGCAGCAGAGGTTGCCAGCTCGTCTGGAGTTCAAGTGGCATT
 TGTTGTTGCCCATCTAGCAGTCCCCTGCTATTGACGGTGTGGTATTACCAATGAGCAGACTACTGCATT
 CGAGAGCCACACCACAGCTACCTCCAGTGCCTCTCTAGCACCGCAATCTCTCGCTTCCTCTACA
 CCAATCAGTCCGCTACTACTACTACCCCCGCTATTCTCCACTCCCCGTAAGCAAACAGACGGCG
 TGCAATGGCAGATCACCTGCTATTGATCGGGTTGGTATTCCAGTGCCTACTACATCTT
 CTGCCGCCGCATTCCAAACGCGCACCGCAAGCCGGTCTACAAGCCCATTGTCGGGCAGCCGGAGCCG
 CTTCAAGGTGAAAGGGGTCTAAGGAATTCTCTCTTACAGTATGGTATTGAACTATGATTCT
 AGACAATTCTGATCACTATTCTTATCTGCCTCCTCCAAGTCTGTGCCACCCCTCGCTCTGGTGGCCAACG
 CCAGTCCAGACTGTATTGGGCCCTCGCCTCCTACGTGCTCTTGCCATTGACCTGCATCTGCTGCTG
 TAGCATAGTCGCTGCTTATCACCTCTTCCAGTTCATTGACTGGATCTTGCGCATGCCCTACCTG
 CGCCACCACCCCCAGTACCGCACCGGACAGCGAGTGGCGAGCTGCTCAGGCTCCTCTGATAAGCATGCGGGC
 TCTGCTACTTCTCGCGCTCTGCTGTTAGTGCTCCCCGTCGGTACCCCCGGCCCCACTCAGTCC
 CCCGAGGAGGTCCGCAAATGCAAATTCCAAGAACCTGAAATTCTCAAATGCTACCGCAAATCAG
 ACATGCATCCCAGTGGATCATGATCATTGGATCGTAACATTCTGGCCTGCACCCCTCATCTCCTTGT
 GATTTACCCCTGCTTGACTTTGGTGGAACTGCCAGAGGGCGCTATCTCCGCTGAACCTGACACA
 CCACCACAGCAACCTCAGGCACACGCACCTACACCACAGCCTAGGCCACAATACATGCCATTAG
 ACTATGAGGCCGAGCCACAGCAGCAGCCATGCTCCCCGCTATTAGTTACTTCAATCTAACCGGGAGATGA
 CTGACCCACTGGCCAACAACAAACGTCAACGACCTTCTCCTGGACATGGACGGCCGCGCTCGGAGCAGCG
 ACTCGCCCAACTCGCATTGCCAGCAGCAGCAGGAGAGGCCAGCTGAGGAGCTGCAGGACGGCATGCCATC
 CACCACTGCAAGAAAGGCATCTGCTGGTGAACACAGGCCAGATCTCTACGAGGTCAACCGACCG
 ACCATGCCCTCCTACGAGCTCCTGCAGCAGGCCAGAACAGTTCACCTGCCCTGGTGGAGTCAACCCAT
 CGTCATCACCCAGCAGTCGGCGATACCAAGGGGTGCATCCACTGCTCTGCGACTCCCCGACTCGCTC
 CACACTCTGATCAAGACCCCTCTGCCCTCCGCACCTCCCCATGAACTAATACCCACTTATCCAG
 TGAAATAAAAAATAATCATTGATTGAAATAAGATAACATATTGATGATTGAGTTAACAAA
 ATAAAGAATCACTTACTTGAATCTGATACCAAGGTCTGTCCATATTCTGCCAACACCACCTCACTC
 CCCTCTCCAGCTGGTACTGCAGGCCGGCGGGCTGCAAACCTCCACACGCTGAAGGGGATGT
 CAAATTCTCTGCCCTCAATCTTATCTTCTATCAGATGTCCAAAAGCGCGTCCGGGTGGAT
 GATGACTTCGACCCGTCTACCCCTACGATGCAGAACAGCACCGACCCTGCCCCATCAACCCCC
 TCGTCTTCAAGATGGATTCCAAGAGAACGCCCTGGGGTGTGACTGCCACTGGCCGACCCGTAC

10

20

30

40

CACCAAGAACGGGAAATCACCTCAAGCTGGAGAGGGGTGGACCTCGACTCCTGGAAAATC
 TCCAACACGCCACCAAGGCCGTGCCCCCTCAGTTTCAACACACCATTCCCTAACATGGATC
 ACCCTTTACACTAAAGATGGAAAATTAGCCTACAAGTTCTCCACCATTAAATATACTGAGAACAG
 CATTCTAACACACTAGCTTAGGTTGGATCAGGTTAGGACTCCGTGGCTGCCTGGCAGTACAG
 TTAGTCTCTCCACTTACATTGATACTGATGGAACATAAAGCTTACCTAGACAGAGGTTGCATGTTA
 CAACAGGAGATGCAATTGAAAGAACATAAGCTGGCTAAAGGTTAAATTAAGATGGAGGCCATAGC
 AACCAACATTGAAATGGGTTAGAGTTGGAAGCAGTAGACAGAACAGGTGTCGATGATGCTTACCCA
 ATCCAAGTTAAACTTGGATCTGGCCTTAGCTTGACAGTACAGGAGCCATAATGGCTGGTAACAAAGAAG
 ACGATAAAACTCAGTTGTGGACAACACCTGATCCATCACCAAACGTCAAATACTCGCAGAAAATGATGC
 AAAACTAACACTTGCTTGTGACTAAATGTGGTAGTCAAATACTGCCACTGTGTCAGTCTTAGTTGAGGA
 AGTGGAAACCTAAACCCATTACTGGCACCGTAAGCAGTGCTCAGGTGTTCTACGTTGATGCAAACAG
 GTGTTCTTTAACAGAACATTCTACACTAAAAAAACTGGGGGTAGGCAGGGAGATAGCATAGATGG
 CACTCCATATGTCATGCTGAGGATTGATGCCAATTAAAAGCTTACCAAAGTCACAAAGTTCTACT
 ACTAAAAATAATATAGTAGGGCAAGTATACATGAATGGAGATGTTCAAACCTATGCTTCACTATAA
 CCCTCAATGGTACTGATGACAGAACAGTACATATTCAATGTCATTTCTACACACTGGACTAATGGAAG
 CTATGTTGGAGCAACATTGGAGCTAACTTTACCTTACATGCCAAGAATGAATACTGTAT
 CCCACCCCTGCATGCCAACCTCCCCACCTCTGCTATATGAAAACCTCTGAAACACAAAATAA
 AGTTCAAGTGTGTTATTGATTCAACAGTTACAGGATTGAGCAGTTATTTCTCCACCCCTCCAGG
 ACATGGAATACACCACCTCTCCCCCGCACAGCCTGAAACATCTGAATGCCATTGGTATGGACATGCT
 TTTGGTCTCACGTTCCACACAGTTCAAGGCGAGCCAGTCTCGGGTCGGTCAGGGAGATGAAACCCCTCC
 GGGCACTCCCGCATCTGCACCTCACAGCTAACAGCTGAGGATTGTCCTCGGTGGTCGGATCACGGTTA
 TCTGGAAGAACAGAAGAGCGGGGTGGGAATCATAGTCCCGCAACGGGATCGGCCGGTGGTCGCATC
 AGGCCCCCGCAGCTGCTGCCGCCGCTCCGTCAAGCTGCTCAGGGGGTCCGGGTCCAGGGACT
 CCCTCAGCATGATGCCACGCCCTCAGCATCAGTCGCTGGTGCAGCGGGCGCAGCGCATCGGGAT
 CTCGCTCAGGTCGCTGCAAGTACGGACACAGGACCACCAGGTTGTTCAACAGTCCATAGTTCAACACG
 CTCCAGCCGAAACTCATCGCGGGAGGATGCTACCCACGTGGCCGTGTCAGGACATCCTCAGGTAAATCA
 AGTGGCGCCCCCTCCAGAACACGCTGCCATGTACATGATCTCCTGGCATGTGGCGTTACCACCTC
 CCGGTACCACATCACCCCTGGTTGAACATGCAGCCCCGGATGATCCTGCGAACACAGGCCAGCACC
 GCCCGCCCCGCATGCAGCGAAGAGACCCGGTCCCGCAATGGCAATGGAGGACCCACCGCTCGTAC
 CGTGGATCATCTGGGAGCTGAACAAGTCTATGTTGGCACAGCACAGGACACGCTCATGCATCTTCAG
 CACTCTCAGCTCTGGGGTCAAAACCATATCCAGGGCACGGGAAACTCTTGCAGGACAGCGAACGCC
 GCAGAACAGGGCAATCCTCGCACATAACTTACATTGTCATGGACAGGGTATCGCAATCAGGCAGCACCG
 GGTGATGGCGGGACGCCGCTGATCGTGTTCGCGACCGTGTATGATGCAGTTGCTTGGACATTTGTA
 CTTGCTGAAGCAGAACCTGGTCCGGCGCTGCACACCGATGCCGGCGCGTCTCGCGCTTGGAACAGC
 TCGGTGTTGAAGTTAAAACAGCCACTCTCAGACCGTGCAGCAGATCTAGGGCTCAGGAGTGTGA
 AGATCCCACATGCCTGATGGCTCTGATCACATCGACCACCGTGAATGGGCCAGACCCAGCCAGATGAT
 GCAATTGTTGGTTTCGGTACGGCGGGGAGGGAAAGAACAGGAAGAACCATGATTAACTTAAC
 AACGGTCTCGGAGCATTCAAAATGAAGTCGCGAGATGGCACCTCTCGCCCCCGCTGTGTTGGTGG
 AAATAACAGCCAGGTCAAAGGTGATACGGTTCTCGAGATGTTCCACGGTGGCTTCCAGCAAAGCCTCAC

10

20

30

40

GCGCACATCCAGAAACAAGACAATAGCGAAAGCGGGAGGGTCTCTAATTCCCTCAATCATCATGTTACAC
 TCCTGCACCATCCCCAGATAATTTCACTTTCCAGCCTGAAATGATTGAACTAGTTCCCTGAGGTAAAT
 CCAAGCCAGCCATGATAAAAGAGCTCGCGCAGAGCGCCCTCCACCGCATTCTTAAGCACACCCCTATAAT
 TCCAAGATATTCTGCTCCTGGTTCACCTGCAGCAGATTGACAAGCGGGATATCAAATCTGCCCGCAT
 CCCTGAGCTCCTCCCTCAGCAATAACTGTAAGTACTCTTCATATCCTCTCCGAAATTAGGCCATTAGG
 ACCCCCAGGAATAAGAGAAGGGCAAGCCACATTACAGATAAACGAAGTCCCCCCCAGTGAGCATTGCCA
 AATGTAAGATTGAAATAAGCATGCTGGCTAGACCCGGTATCTCCAGATAACTGGACAGAAAATCGG
 GCAAGCAATTAAAGAAAATCAACAAAAGAAAATCTCCAGGTGCACGTTAGGGCCTCGGAACAAAC
 GATGGAGTAAGTGCAAGGGTGCCTCAGCATGGTTAGTTAGCTGATCTGAAAAAAACAAAAAATAAA
 ACATTAAACCATGCTAGCCTGGCGAACAGGTGGTAAATCGTCTCTCCAGCACCAGGCAGGCCACGGGG
 TCTCCGGCGCGACCTCGTAAAATTGTCGCTATGATTGAAAACCACATCACAGAGAGACGTTCCCGTGGC
 CGCGTGAATGATTGAGAAGACATACACCCCCGAAACATTGGAGTCCGTGAGTGAAAAAAAGCGGCC
 GAGGAAGCAATGAGGCACTACAACGCTCACTCTCAAGTCCAGCAAAGCGATGCCATCGGGATGAAGCACA
 AAATTTCAAGGTGCGTAAAAATGTAATTACTCCCCCTGCACAGGCAGCGAAGCTCCGATCCCTCCA
 GATACACATACAAAGCCTCAGCGTCCATAGCTTACCGAGCGGCAGCAGCGGACACAAACAGGCGCAA
 GAGTCAGAGAAAAGACTGAGCTAACCTGTCCGCCGCTCTGCTCAATATATAGCCCCAGATCTACA
 CTGACGTAAAGGCCAAGTCTAAAATACCGCCAAATAATCACACACGCCAGCACGCCAGAAACC
 GGTGACACACTCAAAAAAATACCGCACTTCCTCAAACGCCAAACTGCCGTATTCCGGTTCCACG
 CTACGTCTACAAACACGACTTCAAATTCCGTCACCGTTAAAACGTCACCCGCCCGCCCTAACGG
 TCGCCGCTCCGCAGCCAATCAGGCCCGCATCCCCAATTCAAACAGCTCATTGCATATTACGCGC
 ACCAAAAGTTGAGGTATATTATTGATGATG

10

20

30

40

【0179】

配列番号3 CASIプロモーターをコードするポリヌクレオチド配列

GGAGTTCCCGCTTACATAACTTACGGTAAATGCCCGCCTGGCTGACCGCCAAAGACCCCCGCCATTGACGTCAA
 TAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTATTACGGTAAACT
 GCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGC
 CTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCCACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATT
 CCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTTCACTCTCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCCAATTGTATT
 TTTATTTTAATTATTGTGCAGCGATGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCCAGGCAGGGCGGGCGGGCGGG
 GAGGGCGGGCGGGCGAGCGGAGAGGTGCGCGGCAGCCAATCAGAGCGCGCGCTCCGAAAGTTCCCTTTAT
 GGCAGGCGGGCGGGCGGCCATAAAAAGCGAACCGCTCCCTATCAGTGTAGAGATCTCCCTATCAGTGT
 AGAGATCGTCGAGCGCTCGCGGGCGGGAGTCGCTCGCGCTGCCCTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCCGCC
 TCGCGCCGCCGCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTAAACAGGTAAGTCCGGCTCCGCCGGGTTTGGCGC
 CTCCCGCGGCCGCCCTCCTCACCGCGAGCGCTGCCACGTCAAGCGAACGGCGAGCGTCTGATCCTTCC
 GCCCGGACGCTCAGGACAGCGGCCGCTGCTCATAGACTCGGCTTAGAACCCAGTATCAGCAGAAGGACATT
 AGGACGGGACTGGGTGACTCTAGGGCACTGGTTCTTCCAGAGAGCGGAACAGCGAGGAAAAGTAGTCCCTC
 TCGGGGATTCTCGGGAGGGATCTCCGTGGGGCGGTGAACGCCGATGATGCCCTACTAACCATGTTCATGTT
 TTTTTCTACAGGTCTGGGTGACGAACAG

【0180】

配列番号4 ChAd155/RSVをコードするポリヌクレオチド配列

CATCATCAATAATACCTTATTTGGATTGAAGCCAATATGATAATGAGATGGCGCGCGGGCGG
GGCGCGGGCGGGAGGCGGTTGGGGCGGGCGGGCGGGCGGTGTGCGGAAGTGGACTTT
GTAAGTGTGGCGGATGTGACTTGCTAGTGCGGGCGCGTAAAGTACGTTTCCGTGCGCACAAC
GCCCGGGAAAGTGACATTTCGCCGGTTTACCGATGTTAGTGAATTGGCGTAACCAAGT
AAGATTGGCATTTCGCCGGAAAAGTGAAACGGGAAGTGAATCTGATTAATTGCGTTAGTCA
TACCGCGTAATATTGCTAGGGCCAGGGACTTGGCCATTACGTGGAGGACTGCCAGGTGTTT
TTGAGGTGAATTCCCGTCCGGTCAAAGTCTCGTTTATTATTAGGATATCCCATTGACATACG
TTGTATCCATATCATAATATGTACATTATATTGGCTCATGTCCAACATTACGCCATGTTGACATTGAT
TATTGACTAGTTATTAAATAGTAATCAATTACGGGTCAATTAGTCAAGCCCATAATGGAGTCCCG
TTACATAACTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACGCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATA
ATGACGTATGTTCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTATTACG
GTAAACTGCCACTTGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATG
ACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCCACTTGGCAGTACA
TCTACGTATTAGTCATCGTATTACCATGGTGTGCGGTTGGCAGTACATCAATGGCGTGGATAGC
GGTTGACTCACGGGATTCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGAGTTGTTGGCACCAAA
ATCAACGGACTTCCAAAATGCGTAACAACCTCCACCCATTGACGCAAATGGCGGTAGCGTGT
CGGTGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCCCTATCAGTGTAGAGATCTCCCTATCAGTGTAGAGA
TCGTCACGAGCTCGTTAGTGAACCGTCAGATGCCCTGGAGACGCCATTGACGCTGTTGACCTCCA
TAGAAGACACCAGGACCGATCCAGCCTCCGCCGGAACGGTGCATTGAAACGCCATTCCCGT
GCCAAGAGTGAGATCTCGTTATCTAGGTACCAAGATATGCCACCATGAACTGCTGATCCTGAAG
GCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCCGTGACCTCTGCCAGCGGCCAGAACATCACC
GGAATTCTACCAGAGCACCTGTAGGCCGTGAGCAAGGGTACCTGAGCGCCCTGAGAACCGGCTGG
ACACCAGCGTGTACCATCGAGCTGAGCAACATCAAAGAAAACAAGTGCAACGGCACCGACGCCA
AGTGAAGCTGATCAAGCAGGAACCTGGACAAGTACAAGAACGCCGTGACCGAGCTGAGCTGCTGATG
CAGAGCACCCCGCCACCAACAACCGGGCAGACGGGAGCTGCCCGGTTCATGAACACTACCC
ACAACGCCAAAAGACCAACGTGACCTGAGCAAGAACGCCGAAGCGCGTCCCTGGCTTG
GGCGTGGCAGGCCATTGCCAGCGCGTGGCGTCTAAGGTGCTGACCTGAAAGCGAAGTG
AACAGATCAAGAGCGCCCTGCTGAGCACCAACAAGGCCGTGGTCCCTGAGCAACGGCGT
TGCTGACCAGCAAGGTGCTGGATCTGAAGAAACTACATGACAAGCAGCTGCTGCC
CAGAGCTGCAGCATCAGAACATCGAGACAGTGATCGAGTTCCAGCAGAACAAACCGGCTG
AAATCACCCGGAGTTCAAGCGTGAACGCCCGTGTGACCAACCGGTTCTGAC
AGCGAGCTGCTGAGCCTGATCAACGACATGCCATACCAACGACCAAGAAAAGCTGATGAG
ACGTGCAGATCGTGCAGCAGCAGAGCTACTCCATCATGTCATCAAAGAACAGAGGTG
GTGGTGCAGCTGCCCTGTACGGCGTGTGACACCCCTGCTGGAAAGCTGACACCAG
CACCACCAACACCAAAAGAGGGCAGCAACATCTGCCGTGACCCGGACCGACAGAGGCTGG
AACGCCGGCAGCGTGTCAATTCTTCCACAGGCCAGACATGCAAGGTGAGAGCAACCGGG
CGACACCATGAACAGCCTGACCCCTGCCGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCT
10
20
30
40

AGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGTGTCCAGCTCCGTGATCACCTCCCTGGCGCC
ATCGTGTCTGCTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACCGGGCATCATCAAGACCTT
CAGCAACGGCTGCGACTACGTGTCCAACAAGGGGGTGGACACCGTGTCCGTGGCAACACCCGTACT
ACGTGAACAAACAGGAAGGCAGAGGCCTGTACGTGAAGGGCAGCCATCATCAACTTACGACCC
CCTGGTGTCCCCAGCGACGAGTTGACGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAGAGC
CTGGCCTTCATCCGGAAGTCCGACGAGCTGCTGCACAATGTGAATGCCGGCAAGTCCACCACCAACCG
GAAGCGGAGAGGCCCTGTGAAGCAGACCTGAACCTGACCTGCTGAAGCTGGCGACGTGGAG
AGCAATCCGGCCCTATGCCCTGAGCAAAGTGAACGATACTGAACAAGGACCGAGCTGC
TGTCCAGCAGCAAGTACACCATCCAGCGAGCACCGCGACAGCATCGATACCCCAACTACGACGT
GCAGAAGCACATCAACAAGCTGCGGCATGCTGATCACAGAGGACGCCAACACAAGTTAC
GGCCTGATCGGCATGCTGTACGCCATGAGCCGCTGGGCCGGAGGACACCATCAAGATCCTGCGGG
ACGCCGGTACCGTGAAGGCCATGGCGTGGACGTGACCAACACCCGGCAGGACATCAACGGCAA
AGAAAATGAAGTTCGAGGTGCTGACCTGCCAGCCTGACCACCGAGATCCAGATCAATATCGAGATCG
AGAGCCGGAAAGTCTACAAGAAAATGCTGAAAGAAAATGGCGAGGTGGCCCCCGAGTACAGACACGA
CAGCCCCGACTGCGGCATGATCATCCTGTATGCCGCCCTGGTATCACAAAGCTGGCGCTGGCG
ACAGATCTGCCCTGACAGCCGTGATCAGACGGCCAACAATGTGCTGAAGAACGAGATGAAGCGGT
CAAGGGCCTGCTGCCAAGGACATTGCCAACAGCTTACGAGGTGTTGAGAAGTACCCCACTTCA
TCGACGTGTTGTCGACTTCGGCATTGCCAGAGCAGCACAGAGGCCGCTCCAGAGTGGAGGGCATC
TTCGCCGCCCTGTTCATGAACGCCCTACGGCGCTGGCCAGGTGATGCTGAGATGGGGCGTGTGGCAA
GAGCGTGAAGAACATCATGCTGGCCACGCCAGCGTGCAGGCCAGATGGAACAGGTGGAGGTG
TACGAGTACGCCAGAAGCTGGCGGAGAGGCCGCTCTACACATCCTGAACAACCCCTAACGGCCTC
CCTGCTGCCCTGACCCAGTTCCCCACTTCCAGCGTGGTGTGGAAATGCCGCCGACTGGCAT
CATGGCGAGTACGGGGCACCCAGAAAACCAGGACCTGACGCCGCCAACGGCTACGCCAG
CAGCTGAAAGAAAACGGCGTGATCAACTACAGCGTGCCTGACCGCTGAGGAACGGCA
TCAAGCACCAGCTGAACCCCAAGGACAACGACGTGGAGCTGGAGGCCGAGGATCTGGCGGCGAGG
CATGAGCAGACGGAACCCCTGCAAGTTGAGATCCGGGCCACTGCCCTGAACGGCAAGCGGTGCCAC
TTCAGCCACAACACTTCGAGTGGCCCCCATGCTCTGCTGGTGCAGAACCTCATGCTGAACCGG
ATCCTGAAGTCCATGGACAAGAGCATCGACACCCCTGAGCGAGATCAGCGAGGCCGCCAGCTGGACA
GAACCGAGGAATATGCCCTGGCGTGGAGTGTGAAAGCTACATCGGCCATCAACAAACAT
CACAAAGCAGAGCGCCTGCGTGGCATGAGCAAGCTGCTGACAGAGCTGAACAGCGACGACATCAAG
AAGCTGAGGGACAACGAGGAACCTGAAACAGCCCCAAGATCCGGGTGTACAACACCCGTGATCAGCTACA
TTGAGAGCAACCGCAAGAACACAAGCAGACCATCCATCTGCTGAAGCGGCTGCCGCCAGTGTCT
GAAAAAGACCATCAAGAACACCCCTGGACATCCACAAGTCCATCACCATCAACAAATCCAAAGAAC
ACCGTGTCTGACACCAACGATCACGCCAGAACACGACACCACCTGATGAGCGGCCGATCTGCTG
TGCCTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGCCCCCTCCCCCGTGCCTTCCATTGACCTGGAAAGGTGCCAC
TCCCACTGTCCCTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTATTCTATTCT
GGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGA

10

20

30

40

TGCGGTGGCTATGCCGATCGATCGCTGAGGTGGTGAGTGGCGTGGCCTGGGTGGTCAT
GAAAATATAAGTGGGGTCTAGGGCTTATTGTGTTGAGAGACCGCCGGAGCCATGAGC
GGGAGCAGCAGCAGCAGCAGTAGCAGCAGCGCCTGGATGGCAGCATCGTGAGCCCTTATTGACGA
CGGGATGCCCACTGGCCGGGTGCGTCAGAATGTGATGGCTCAGCAGCATCGACGGCCACCGTC
CTGCCGCAAATTGCCACGCTGACCTATGCGACCGTCGCGGGACGCCGTTGGACGCCACCGCC
CGCCGCCACCGCAGCCCTCGGCCGTCAGCCTGCCACGGACTTGACATTCTGGGACCAC
TGGCGACAGGGCTACTTCGGGCCGCTGCTGCCCGTTCGCGATGACAAGCTGACCGCCCTGCTG
GCGCAGTTGGATGCGCTTACTCGGAACCTGGTGACCTTCTCAGCAGGTATGCCCTGCGCCAGCA
GGTCTCCCTGCAAGCTGGGGAAATGCTTCTCCACAAATGCCTTAAGATAAATAAAACAGA
CTCTGTTGGATTAAAGAAAAGTAGCAAGTGCATTGCTCTTATTICATAATTTCGCGCGATA
GCCCTAGACCAGCGTCTCGGTGAGGTGCGGTATCTTCTCAGGACGTGGTAGAGGTGGC
TCTGGACGTTGAGATACATGGCATGAGCCGTCCGGGGGGAGGTAGCACCAGTCAGAGCTTCA
TGCTCCGGGTGGTGTAGATGATCCAGTCGTAGCAGGAGCGCTGGCATGGCCTAAAATGTC
CTTCAGCAGCAGGCCATGCCAGGGGAGGCCCTGGTGTAAAGTAAACAGGTTAAGTTGGG
AAGGGTGCATTGGGAGAGATGATGTGCATCTGGACTGTATTAGATTGGCATTTCCGCCA
GATCCCTCTGGATTATGTTGCAAGGACCACAGTACAGTGTATCCGGTCACTGGGAATTG
CATGCAGCTTAGAGGGAAAAGCGTGGAAAGAACCTGGAGACGCCCTTGTGGCCTCCAGATTTCAG
CATTGTCATGATGATGGCAATGGGCCCGGGAGGCAGCTGGCAAAGATATTCTGGGTGCT
GACGCGTAGTTGTTCCAGGGTGAGTCGTATAGGCCATTAAACGCGGGCGAGGGTGC
CCGACTGGGGATGATGGTCCCTCTGGCCCTGGCGTAGTTGCCCTCGCAGATCTGATTCCAG
GCCTTAATCTGGAGGGGGAAATCATATCCACCTGCGGGCGATGAAGAAACGGTTCCGGAGCC
GGGAGATTACTGGATGAGAGCAGGTTCTAACGAGCTGTGATTTCACACCGGTGGCCATAA
ATAACACCTATAACCGGTTGCAGCTGGTAGTTAGAGAGCTGCAGCTGCCGTCCGGAGGG
GCCACCTCGTGAGCATGTCCTGACGCGCATGTTCTCCCGACAGATCCGCCAGAAGCGCTCG
CGCCCAGGGACAGCAGCTTGAAGGAAGCAAAGTTTCAGCGGCTTGAGGCCGTCGGCGTGGC
ATGTTTCAGGGTCTGGCTCAGCAGCTCCAGCGTCCCAGAGCTCGGTGACGTGCTACGGCATCT
CTATCCAGCATATCTCGTTCGGGTTGGCGACTTCGCTGTAGGGCACCAAGCGGTGGT
CCAGCGGGGCCAGAGTCATGTCCTCATGGCGCAGGGTCTCGTCAGGGTGGTCTGGTACGGT
AAGGGTGCGCTCCGGCTGAGCGCTGCCAAGGTGCGCTTGAGGCTGGTCTGCTGGTGAAGCG
CTGCCGGTCTCGCCCTGCGCGTGGCCAGGTAGCATTTGACCATGGTGTACAGTCCAGCCCTCC
GGCGTGTCCCTGGCGCGAGCTTGCCTGGAGGTGGCGCCGACGAGGGCAGAGCAGGCTCTGA
GCGCTAGAGCTGGGGCGAGGAAGACCGATTGGGGAGTAGGCCTCGCGCCGAGACCCCGCA
CACGGTCTCGCACTCCACCAAGCCAGGTGAGCTGGGGCGCCGGTCAAAACCCAGGTTCCCC
GCTTTGATGCGTTCTTACCTCGGGTCTCCATGAGGTGGTGTCCCCGCTCGGTGACGAAGAGG
CCGTGTCTCCGTAGACCGACTTGAGGGTCTTCTCCAGGGGGTCCCTCGGTCTCCTCGTAGAGGA
ACTCGGACCACTCTGAGACGAAGGCCCGTCCAGGCCAGGACGAAGGAGGCTATGTGGAGGG
GCGGTGTTGCACTAGGGGTCCACCTCTCCAAGGTGTGAAGACACATGTCGCTTCGGCGTC

10

20

30

40

CAGGAAGGTGATTGGCTTGTAGGTGTAGGCCACGTACCGGGGTTCCCTGACGGGGGGTATAAAAG
GGGGTGGGGCGCGCTCGTCACTCTTCCGCATCGCTGTGAGGGCCAGCTGCTGGGTGA
GTATTCCCTCTCGAAGGCAGGCATGACCTCCGCCTGAGGTGTCAGTTCAAAACGAGGAGGATT
TGATGTTACCTGTCCCAGGGTACACCTTGAGGGTACCCCGTCCATCTGGTCAGAAAACACGATCT
TTTATTGTCCAGCTTGGTGGCGAACGACCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGCAGCTGGCGATGGAGCGC
AGGGTCTGGTCTTGTCCCTGCGCGCCTTGGCGCGATGTTGAGCTGCACGTACTCGCGCG
ACGCAGGCCACTCGGGAAAGACGGTGGCGCTCGTGGGCACCAGCGCACGCCAGCCCG
TGTGAGGGTACCAAGGTCCACGCTGGCGACCTGCCCGCAGGGCGCTGTTGGTCCAGCAGAGA
CGGCCGCCCTGCGAGCAGAAAGGGGGCAGGGGCGAGCTGGTCTCGTCCGGGGTCCCG
CCACGGTAAAACCCGGGGCGCAGGCCCGTCAAGTAGTCTATCTGCAACCTGCATGCCAGC
GCCTGCTGCCAGTCGCGGGCGCGAGCGCGCTCGTAGGGTGTAGCGGGCCCGCAGGCATGG
GGTGGGTGAGTGCAGGGCGTACATGCCAGATGTCATAGACGTAGAGGGCTCCCGCAGGACCC
GATGTAGGTGGGTAGCAGCGCCGCCCGATGCTGGCGCGACGTAGTCATACAGCTCGTGCAG
GGGCGAGGAGGTGGGGCCAGGTTGGTGCAGGGCGCTCCCGCGGAAGACGATCTGCCTGA
AGATGGCATGCGAGTTGGAAGAGATGGTGGGGCGCTGGAAGACGTTGAAGCTGGCGTCTGCAGGCC
GACGGCGTCGCGCACGAAGGAGGCGTAGGAGTCGCGCAGCTGTGTACCGACTCGCGGTGACCTGC
ACGTCGAGCGCGCAGTAGTCGAGGGTCTCGGGATGATGTCATATTAGCCTGCCCTTTCCAC
AGCTCGCGTTGAGGACAAACTCTCGCGTCTTCCAGTACTCTGGATCGGAAACCGTCCGGTCC
GAACGGTAAGAGCCTAGCATGAGACTGGTGACGGCCTGGTAGGCGCAGCAGCCCTCTCCACGG
GAGGGCGTAGGCCTGCGCGCCTGCGGAGCGAGGTGTGGTCAGGGCGAAGGTGTCCCTGACCATG
ACTTGAGGTACTGGTGTCTGAAGTCGGAGTCGTCGCAGCCCGCCCTCCAGAGCGAGAAGTCGG
GCGCTTCTGGAGCGGGGTTGGCAGAGCGAAGGTGACATCGTTGAAGAGGATTGCCCCGCG
GGCATGAAGTTGCGGGTGTAGCGGAAGGGCCCGCACTCAGAGCGTTGTGACCTGGCG
CGAGCACGATCTCGTCAAGCGTTGATGTTGCCCCACGATGTTAGAGTCCAGGAAGCGGGCG
CCCTTACGGTGGCAGCTTCTAGCTCTCGTAGGTGAGCTCCTCGGCGAGGCAGGCCGTGCTCG
GCCAGGGCCCAGTCGCGAGGTGCGGGTTGTCTGAGGAAGGACTCCAGAGGTGCGGGCCAGGA
GGGTCTGCAGCGGTCTCTGAAGGTCTGAACCTGGGCCACGCCATTTCGGGGGTGATGCA
TAGAAGGTGAGGGGGCTTGCTGCCAGCGTCCCAGTCGAGCTGCAGGGCGAGGTGCGCGCG
TGACCAGCGCTCGCCCGAATTGACGACGATGAAGGGCACGAGCTGCTTCCGAAGGCC
CCCATCCAAGTGTAGGTCTACATCGTAGGTGACAAAGAGGCCTCCGTGCGAGGATGCGAGCCGAT
CGGGAAAGAACTGGATCTCCGCCACCAGTTGGAGGAGTGGCTGTTGATGTTGGAGAAGTAGAAGTCCC
GTCGCCGGCGAACACTCGTGTGGCTTTGTAAGAGCGAGCGCAGTACTGGCAGCGCTGACGGC
TGTACCTCATGCAAGAGATGCACTTCCGCGCACGAGGAAGGCCAGGGAAATCTGAGCCCC
GCCTGGCTCGCGCATGGCTGGTCTCTACTTGGATGCGTGTCCGTCTCCGTCTGGCTCTCGAG
GGGTGTTACGGTGGAGCGGACCAACGCCCGCGAGCCGAGGTCCAGATATCGGCGCGCG
CGGAGTTGATGACGACATCGCGCAGCTGGAGCTGTCATGGTCTGGAGCTCCCGCGGGCG
GTCAGCCGGAGTTCTGCAGGTTACCTCGCAGAGTCGGGCCAGGGCGGGCAGGTCTAGGTGGT

10

20

30

40

ACCTGATCTAGGGCGTGTGGTGGCGCGTCATGGCTGCAGGAGCCCGCAGCCCCGGGGGGCG
ACGACGGTCCCCCGGGGGTGGTGGTGGTGGCGGTGCAGCTCAGAAGCGGTGCCGCGGCGGGC
CCCCGGAGGTAGGGGGGCTCCGGTCCCAGGGCAGGGCGGACGGCACGTGGTGGAGCGCG
GGCAGGAGTTGGTGTGCCCCGGAGGGTGTGGCGAAGGCAGCAGCGGGCGGTGATCTCCTGGAT
CTGGCGCCTCTCGGTGAAGACGACGGGCCGGTGAACCTGAAAGAGAGTCGACAGAATCA
ATCTCGGTGTGATTGACCGCGGCCGGCGCAGGATCTCCTGCACGTCTCCAGTTGCTTGGTAGGCG
ATCTCGGCCATGAACCTGCTGATCTCCTCCTGGAGGGTCTCCCGTCCGGCGCGTCCACGGTGGCC
GCCAGGTCGTTGGAGATGCGCCCCATGAGCTGCAGAAGGGCGTTGAGTCCGCCCTCGTCCAGACTCG
GCTGTAGACCACGCCCCCTGGTCATCGCGGGCGCGCATGACCAACCTGCGCAGGGTTGAGCTCCACGT
GCCGCGCGAAGACGGCGTAGTTGCGCAGACGCTGGAAGAGGTAGTTGAGGGTGGCGGTGTGCTC
GGCCACGAAGAAGTTCATGACCCAGCGCGAACGTGGATTGTTGATGTCCCCAAGGCCTCCAGCC
GTTCCATGGCCTCGTAGAAGTCCACGGCGAAGTTGAAAAACTGGGAGTTGCGCGCCACACGGTCAAC
TCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGCACGGTGTGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCTATGGGAT
CTCTTCCTCCGCTAGCATCACCAACCTCCTCCTCTTCTGGCACTTCCATGATGGCTTCCCT
CTTCGGGGGGTGGCGGGCGCGGTGGGGGAGGGGGCGCTCTGCGCCGGCGCGACCGGGAG
GCGGTCCACGAAGCGCGCATCATCTCCCCCGCGCGCGCATGGTCTCGGTGACGGCGCGCGT
TCTCCGGGGCGCAGTTGAAGACGCCCGGACATCTGGTGTGGGGCGGTGGCGTGAGGCAG
CGAGACGGCGCTGACGATGCATCTAACAAATTGCTGCGTAGGTACGCCGCCAGGGACCTGAGGGAG
TCCATATCCACCGGATCCGAAAACCTTTCAGGAAGGGCTAACCAGTCGCACTCGCAAGGTAGGCT
GAGCACCGTGGCGGGCGCGGGGGTGGGGGAGTGTCTGGCGGAGGTGCTGATGATGTAATTG
AAGTAGGCAGCTTGACACGGCGATGGTCGACAGGAGCACCATGTCCTGGTCCGGCTGCTGGAT
GCGGAGGCGGTGGCTATGCCCAAGGCTCGTGGCATCGCGCAGGTCTGTAGTAGTCTTGCAT
GAGCCTTCCACCGCACCTCTCCTCCTCTGCTTCTTCATGTCCTGGCCCTGGGGCG
CGCCGCGCCCCCTGCCCGCATGCGCGTACCGGGGAGTGTCTGGCGGAGGTGGAGCAGGGCCAGGTC
GGCGACGACGCGCTGGCCAGGATGGCCTGCTGCACCTGCGTGAGGGTGGTTGGAAGTCATCCAAGT
CCACGAAGCGGTGGTAGGCCTGGTGTGATGGTAGGTGAGTGGCCATGACGGACCAGTGTGACG
GTCTGGGGCCGGTGGCACATCTCGGTGACCTGAGTCGCACTGGCGAGTAGGCGGGAGTCGAAGACGTA
GTCGTTGCAAGTCGCACCAAGTACTGGTAGGCCACCAAGGAAGTGCAGGGCGGCTGGCGTAGAGG
GGCCAGCGCAGGGTGGCGGGGGCTCCGGGGCCAGGTCTCCAGCATGAGGCGGTGGTAGGCGTAGA
TGTACCTGGACATCCAGGTGATACCCCGGGCGGTGGAGGCGCGGGAAGTCGCGCACCCGGTT
CAGATGTTGCGCAGGGCAGAAAGTGTCCATGGTAGGCGTGCTGTCCAGTCAGACGCGCGAGTC
GTTGATACTCTAGACCAGGGAAAACGAAAGCCGGTACGCCGACTCTCCGTGGTGTGGGAATAGA
TCGCAAGGGTATCATGGCGAGGGCCTCGGTTGAGCCCCGGTCCGGGGGACGGTCCGCATGAT
CCACCGGGTTACCGCCCGCGTGTGCAACCCAGGTGTGCGACGTCAGACAAACGGTGGAGTGTCT
GGCGTTTCTGGCCGGCGCCGGCGCGTAAGAGACTAAGCCGCAAAGCGAAAGCAGTAAGTG
GCTCGCTCCCCGTAGCCGGAGGGATCCTGCTAAGGGTGTGCGTGGCGAACCCGGTTCGAATCCC
GTACTCGGGCCGGCGGGACCCCGCGCTAAGGTGTGGATTGGCTTCCCGTATAAAAGACCCCGCT

TGCGGATTGACTCCGGACACGGGGACGAGCCCCTTTATTTGCTTCCCCAGATGCATCCGGTGCTG
CGGCAGATGCGCCCCCGCCCCAGCAGCAGCAACAACACCAGCAAGAGCGGCAGCAACAGCAGCGGG
AGTCATGCAGGGCCCCCTACCCACCCTCGGCGGGCCACCTCGCGTCCGCGGCCGTCTGGC
GCCTCGGGCGGCGGGGGGGCCGGCTGACGACCCCGAGGAGGCCCCCGCGCAGGGCCAGACACT
ACCTGGACCTGGAGGAGGGCGAGGGCCTGGCGGGCTGGGGCGCCGTCTCCGAGCGCCACCCGCG
GGTGCAGCTGAAGCGCAGCTCGCGAGGCAGTGCCTCGCAGAACCTGTTAGGGACCGCG
GGCGAGGAGCCCAGGGAGATGCGGCACAGGAGGTTAGGGCAGGGAGCTGCGGCAGGGCTG
AACCGCGAGCGGCTGCTGCGAGGAGGACTTGAGCCCACGCGCGACGGGATCAGCCCCGCG
GCGCGACGTGGCGGCCGACCTGGTACGGCGTACGAGCAGACGGTAACCAGGAGATCAACTT
10 CAAAAAGAGTTCAACAACCACGTGCGCACGCTGGTGGCGCGAGGAGGTGACCATCGGCTGATG
CACCTGTGGACTTGTAAAGCGCGCTGGTACAGAACCCAAACAGCAAGCCTTGACGGCGAGCTGTT
CCTGATAGTGCAGCACAGCAGGGACAACGAGGCAGGGCTGCTGAACATCACCAGGCC
GAGGGTCGGTGGCTGGTGGACCTGATTAACATCCTGAGAGCATAGTGGTGCAGGAGCGCAGCCTGA
GCCTGGCCGACAAGGTGGCGGCCATCAACTACTCGATGCTGAGCCTGGCAAGTTTACCGCGCAG
ATCTACCAGACGCCGTACGTGCCATAGACAAGGAGGTGAAGATCGACGGTTTACATGCGCATGGC
20 GCTGAAGGTGCTCACCTGAGCGACGACCTGGCGTACCGCAACGAGCGCATCCACAAGGCC
AGCGTGAGCCGGCGCGAGCTGAGCGACCGCGAGCTGATGCACAGCCTGAGCGGCCGCTGGCG
GCGCCGGCAGCGCGACAGGGAGGCAGTCCTACTTCGATGCGGGGGCGGACCTGCGCTGGCGCC
CAGCCGGCGGGCCCTGGAGGCCGCGGGGTCCCGAGGACTATGACGAGGACGGCGAGGAGGATGA
GGAGTACGAGCTAGAGGAGGGCGAGTACCTGGACTAAACCGCGGGTGGTGTTCGGTAGATGCAAG
ACCCGAACGTGGTGGACCCGGCGCTGCGGGCGCTGCAAGAGCCAGCGTCCGGCTTAACCTCA
GACGACTGGCGACAGGTATGGACCGCATCATGTCGCTGACGGCGCTAACCCGGACCGTCCGGCA
30 GCAGCCGCAGGCCAACAGGCTCTCCGCATCCTGGAGGCCGAGAACAGGGCATCCGCCGGACGAGGCC
ACGAGAAGGTGCTGGCCATAGTGAACCGCTGGCGAGAACAGGGCATCCGCCGGACGAGGCC
GCTGGTGTACGACCGCTGCTGAGCGCGTGGCCGCTACAACAGCGCAACGTGAGACCAACCTG
GACCGGCTGGTGGGGACGTGCGCGAGGCCGAGCGCGAGCGCGGGATGGCAGGGCAACC
TGGGCTCCATGGTGGCGCTGAATGCCTTCCGTGAGCACCGCAGCCGCCAACGTGCCGCGGGCAGGA
AGACTACACCAACTTGTGAGCGCGCTGCGGCTGATGGTACCGAGACCCCCCAGAGCGAGGTGTACC
AGTCGGGCCGGACTACTTCTCCAGACCCAGCAGACAGGGCCTGAGACGGTAACCTGAGCCAGGCT
TTCAAGAACCTGCGGGGGCTGTGGGGCGTGAAGGCGCCACCGCGACCGGGGACGGTGTCCAGCC
TGCTGACGCCAACCTCGCGCTGCTGCTGCTGATCGCGCCGTTACGGACAGCGCAGCGTGTCC
CGGGACACCTACCTGGGCACCTGCTGACCGCGAGGCCATCGGGCAGGCCAGGTGGACG
AGCACACCTCCAGGAGATCACCAGCGTGAAGCCCGCGCTGGGGCAGGAGGACACGAGCAGCCTGGA
GGCGACTCTGAACACTGCTGACCAACCGCGGGAGAACAGATTCCCTGCTGAGCCTGACAGCCTGACCTCCG
40 AGGAGGAGCGCATCTGCGCTACGTGAGCAGAGCGTGAACCTGATGCGCGACGGGTGAC
GCCAGCGTGGCGCTGGACATGACCGCGCAACATGGAACCGGGCATGTACGCCCGCACCGGC
TACATCAACCGCCTGATGGACTACCTGACCGCGGGCGTGAACCCCGAGTACTTACCAACGC

TTGAGCAACACCACCATCATGTCCATCCTGATCTCACCCAGCAATAACTCCGGCTGGGACTGCTGCG
CGCGCCCAGCAAGATGTTGGAGGGCGAGGAAGCGTTCCGAGCAGCACCCCGTGCCTGCGCGGG
CACTTCCCGCCCCCTGGGAGCGCACAAACCGCGCCGCGGGCGCACCACCGTGGACGACGCCA
TCGACTCGGTGGTGGAGCAGGCGCGCAACTACAGGCCGCGGTCTTACCGTGGACGCCATCCAG
ACCGTGGTGCAGGGCGCGCGCGGTACGCCAAGCTGAAGAGCCGCCGAAGCGCTGGCCGCC
ACCGCCGCCGACCCGGGGCGCCAAACCGCCGCCGCGGCCATCAGTGACATGGCCAGCAGGCGCG
GGGGCGCCGCCGCGCCATGAGGGCCGCGCCGCTTGGCCGCCGGCATCACCGCCGCCACCATGGCC
CCCGTACCCGAAGACCGCGCCGCCGCGCCGCCATCAGTGACATGGCCAGCAGGCGCG
GGGCAACGTGTACTGGGTGCGCAGCTCGTGACCGGCACGCCGTGCCGTGCGCTTCCGCCCCCGC
GGACTTGAGATGATGTGAAAAAAACAACACTGAGTCTCCTGCTGTTGTGTATCCCAGCGGCC
GCGCGCAGCGTCATGTCCAAGCGAAAATCAAAGAAGAGATGCTCCAGGCGCAGCAGGAGATCT
ATGGGCCCCGAAGAAGGAAGAGCAGGATTGAAAGCCCCCAAGATAAAAGCGGTAAAAAGAAAA
AGAAAGATGATGACGATGCCGATGGGAGGTGGAGTTCTGCGGCCACGCCGCCCCAGGCCCGGT
GCAGTGGAAAGGGCCGGCGTAAAGCGCTCCTGCGCCCCGGCACCGCGGTGGTCTTCACGCCG
GAGCGCTCCACCCGGACTTCAAGCGCTATGACGAGGTGTACGGCAGAAGACCTGCTGGAGCA
GGCCAACGAGCGCTCGGAGAGTTGCTACGGAAGCGTCAGCGGCCGCTGGGAAGGAGGACCTG
CTGGCGCTGCCGCTGGACCAGGGCAACCCACCCCGACTCTGAAGCCCGTACCCCTGCAAGCAGGTGCT
GCCGAGCAGCGCACCCCTCGAGGCGAAGCGGGGCTGAAGCGCAGGGCGGCCACCTGGCGCCACC
GTGCAGCTCATGGTGCCCAAGCGCAGAGGCTGGAGGATGTGCTGGAGAAAATGAAAGTAGACCCCG
GTCTGCAGCCGGACATCAGGGTCCGCCCATCAAGCAGGTGGCGCCGGGCTGGCGTGCAGACCGTG
GACGTGGTCATCCCCACCGCAACTCCCCGCCGCCACCAACTACCGCTGCCCTCACGGACATGGA
GACACAGACCGATCCCCCGCAGCCGAGCCGAGCCGCCGACCTCCTGGCGAGGTGCA
ACGGACCCCTGGCTGCCGCCGATGTCAGCTCCCCGCCGCGTGCAGGGCGCAGGAAGTACGGCG
CCGCCAACGCGCTCCTGCCAGTACGCCCTGCATCCTCCATCGGCCAACCCCGCTACCGAGGCT
ATACCTACCGCCCGCAAGAGCAAGGGTCCACCGCCGCTCCCGGCCACGCCGCCGCCACCACC
CGCCGCCGCCGCCAGACGCCAGCCGACTGGCTCCAGTCTCCGTGAGGAAGTGGCGCGACG
GACACACCCCTGGTGTGCCAGGGCGCTACCACCCAGCATCGTTAAAAGCTGTTGGTCTTG
CAGATATGGCCCTCACTTGCCGCCCTCGTTCCCGGTGCCGGGATACCGAGGAGGAAGATCGCGCC
AGGAGGGGCTGGCCGGCCGCGCTGAGCGGAGGCAGCCGCCGCGCACGGCGGACGCC
CCAGCCGACGCATGCCGGCGGGGTGCTGCCCTGTTAACCCCTGATGCCGCCGATGGCG
GTGCCGGGATGCCCTCGTGGCCTTGCAAGCGTCCAGAGGCATTGACAGACTTGCAA
TATGGAAAAAAACCCAATAAAAAGTCTAGACTCTCACGCTCGCTGGTCTGTGACTATTITGT
AGAATGGAAGACATCAACTTGCCTCGCTGGCCCCCGCTCACGGCTCGGCCCTTCTGGACACTG
GAACGATATCGGACCAAGCAACATGAGCGGTGGCGCCTTCAGTTGGGCTCTGTGGAGCGGC
AAAGTATCGGGTCTGCCGTTAAAATTACGGCTCCGGGCTGGAACAGCAGCACGGCCAGATGTTG
AGAGACAAGTGTGAAAGAGCAGAACACTCCAGCAGAAGGTGGAGGGCCTGGCTCCGG
GGGTGGTGGACCTGGCCAACCAGGCCGTGCAGAATAAGATCAACAGCAGACTGGACCCCGGCC
10
20
30
40

GGTGGAGGAGGTGCCGCCGGCGCTGGAGACGGTGTCCCCGATGGCGTGGCGAGAAGCGCCCGGG
 CCCGATAGGAAAGAGACCACTCTGGTCACGCAGACCGATGAGCCGCCCGTATGAGGAGGCCCTGA
 AGCAAGGTCTGCCACCACGCCCGCCATCGGCCATGCCACCGGGGTGGTGGGCCACACCCCC
 GCCACGCTGGACTTGCTCCGCCCGATGTGCCAGCAGCAGAAGGCCACAGCCGGCC
 CGCGACCGCCCTCCGTTCCGCCCGTCTGCCGCCGCCAGCGGCCCGGGGTC
 GCGAGGCACGGCACTGGCAGAGCACGCTGAACAGCATCGTGGTCTGGGGTGGTCCGTGAAGC
 GCCGCCGATGCTACTGAATAGCTTAGCTAACGTGTTGTTGCTATGCGCCCTATGTCGCCAGA
 GGAGCTGCTGAGTCGCCGCCGTTCGCGCCACCACCGCCACTCCGCCCTCAAGATGGCGACC 10
 CCATCGATGATGCCGCAGTGGTCGTACATGCACATCTCGGCCAGGACGCCCTGGAGTACCTGAGCCC
 CGGGCTGGTGCAGTTGCCGCCACCGAGAGCTACTTCAGCCTGAGTAACAAGTTAGGAACCCCA
 CGGTGGCGCCACGCACGATGTGACCACCGACCGGTCTAGCCTGACGCTGCCGTTATTCCGTG
 GACCGCGAGGACACCGCGTACTCGTACAAGGCCGTTCACCCCTGGCGTGGCGACAACCGCGTGCT
 GGACATGGCCTCCACCTACTTGACATCCGCCGGGTGCTGGACCGGGTCCCACTTCAAGCCCTACTC
 TGGCACCGCCTACAACCTGGCCCCAACGGCGCTCCAACTCCTGCGAGTGGGAGCAAGAGGAA
 ACTCAGGCAGTTGAAGAAGCAGCAGAAGAGGAAGAAGAAGATGCTGACGGTCAAGCTGAGGAAGAG
 CAAGCAGCTACCAAAAGACTCATGTATATGCTCAGGCTCCCTTCTGGCAAAAAATTAGTAAAGA
 TGGCTGCAAATAGGAACGGACGCTACAGCTACAGAACAAAAACCTATTTATGCAAGACCCCTACATTCC 20
 AGCCCGAACCCAAATCGGGGAGTCCCAGTGGATGAGGCAGATGCTACAGTCGCCGGTAGAGT
 GCTAAAGAAATCTACTCCCATGAAACCATGCTATGGTCTATGCAAGACCCACAAATGCTAATGGAG
 GTCAGGGTGTACTAACGGCAAATGCCAGGGACAGCTAGAATCTCAGGTTGAAATGCAATTCTTCA
 ACTTCTGAAAACGCCGTAAACGAGGCTAACAAACATTAGCCAAATTGGTGCTGTATAGTGAGGATGT
 GCACATGGAGACCCCGATACGCACCTTCTACAAGCCGAAAGCGATGACAATTCAAAATCA
 TGCTGGGTCAAGTCAGTCCATGCCAACAGACCTAATTACATCGCTTCAGAGACAACTTTATGCCCTC
 ATGTATTACAATAGCACTGGCAACATGGAGTGCTGAGTCAGGCTCTCAGTTGAATGCACTGGT
 GGACTTGCAAGACAGAAACACAGAACTGTCTTACCGACTCTTGATTCCATGGGTGACAGAACCA 30
 GATACTTTCCATGTGGAATCAGGCAGTGGACAGTTATGACCCAGATGTTAGAATTATTGAAAATCAT
 GGAACCTGAAGACGAGCTCCCAACTATTGTTCCCTCTGGGTGGCATAGGGTAAGTGCACACTTACCA
 GGCTGTTAAACCAACAATGGAATAACGGGGCCAGGTGACTGGACAAAGATGAAACTTTGCA
 GATCGCAATGAAATAGGGTGGAAACAATTGCGTATGGAGATCAACCTCAGTGCCAACCTGTGGA
 GAAACTCCTGTACTCCAACGTGGCGCTGTACCTACAGACAAGCTTAAGTACAACCCCTCCAATGTG
 GACATCTCTGACAACCCAAACACCTACGATTACATGAACAAGCGAGTGGTGGCCCGGGCTGGTGG
 CTGCTACATCAACCTGGCGCGCTGGCGCTGGACTACATGGACAACGTCAACCCCTCAACCAC 40
 ACCGCAATGCCGCTCGCTACCGCTCCATGCTCTGGCAACGGCGCTACGTGCCCTCCACATC
 CAGGTGCCCGAGAAGTTCTTGCCATCAAGAACCTCCTCCTGCCGGCTCCTACACCTACGAGTGG
 AACTCAGGAAGGATGTCAACATGGCTCCAGAGCTCTGGTAACGATCTCAGGGTGGACGGGC
 CAGCATCAAGTTGAGAGCATCTGCCCTACGCCACCTTCTCCCCATGGCCCACAACACGGCCTCAC
 GCTCGAGGCCATGCTCAGGAACGACACCAACGACCGACTCCTCAATGACTACCTCTCCGCCAACAA

TGCTCTACCCATACCGCCAACGCCACCAACGTCCCCATCTCATCCCCCGCGCAACTGGCGGCCT
 TCCGGCGCTGGGCCTTCACCCGCTCAAGACCAAGGAGACCCCTCCCTGGCTCGGGATTCGACCCC
 TACTACACCTACTCGGGCTCCATTCCCTACCTGGACGGCACCTCTACCTCAACCACACTTCAAGAAG
 GTCTCGGTACACCTCGACTCCTCGGTCACTGGCCGGCAACGACCGTCTGCTCACCCCCAACGAGTT
 GAGATCAAGCGCTCGGTGACGGGAGGGTACAACGTGGCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGT
 TCCTGGTCCAGATGCTGGCCAACACTAACACATCGGCTACCAGGGCTTACATCCCAGAGAGCTACAAG
 GACAGGATGTACTCCTCTCAGGAACCTCCAGCCATGAGCCGGCAGGTGGTGGACCAAGACCAAGTA
 CAAGGACTACCAGGAGGTGGGCATCATCCACCAGCACAAACTCGGGCTTCGTGGCTACCTCGCCC
 CCACCATGCCGAGGGACAGGCCTACCCGCCAACCTCCCTATCCGCTCATAGGCAAGACCGCGGT
 GACAGCATCACCCAGAAAAAGTCCTCTGCGACCGCACCCCTCTGGCGCATCCCTCTCCAGCAACTTC
 ATGTCCATGGGTGCGCTCGGACCTGGCCAGAACCTGCTCTACGCCAACCTCCACGCCCTCGA
 CATGACCTTCGAGGTGACCCATGGACGGCCACCCCTCTATGCTCTACGCCAACCTCCACGCCCTCGA
 GGTCCGGGTCCACCAGCCGACCCGCGTACCGAGACCGTGTACCTGCGTACGCCCTCTCGGCCG
 GCAACGCCACCACCTAAAGAACAGCCGAGTCATGCCGCCTGCATGCCGTGGTCCACCGAGC
 AAGAGCTCAGGGCCATCGTCAGAGACCTGGATGCCGCCTATTTTGGGCACCTCGACAAGCGC
 TTCCCTGGCTTGTCTCCCCACACAAGCTGGCTGCCATCGCAACACGCCGGCGAGACCGG
 GGGCGTGCACTGGCTGGCCTCGCCCTGGAACCCCGCTCCAAAACATGCTTCCTTGTACCCCTTCGG
 CTTTCGGACCAGCGGCTCAAGCAAATCTACGAGTTGAGTACGAGGGCTTGCTCGTGCAGCGCCA
 TCGCCTCCTCGCCGACCGCTCGTCACCCCTGAAAAGTCCACCCAGACCGTGCAGGGGCCACTCG
 GCCGCTCGGGTCTCTGCTGCATGTTCTGCACGCCCTGTGACTGCCCTCAGAGTCCATGGAC
 CGCAACCCACCATGAACCTGCTGACGGGGTGCCAACTCCATGCTCCAGAGCCCCAGGTCGAGCC
 CACCCCTGCGCCGCAACCAGGAGCAGCTCACAGCTTCCGAGCGCCACTGCCCTACTTCCGCCGCC
 ACAGCGCACAGATCAGGAGGGCACCTCCCTGCCACTTGAAGAGATGCAAGAAGGGTAATAACG
 ATGTACACACTTTTCTCAATAATGGCATTTTATTATACAAGCTCTGGGTATTCAATTCC
 CACCACCACCCGCCGTTGCGCATCTGGCTCTATTAGAAATGAAAGGGTCTGCCGGAGTCGCC
 GTGCGCCACGGCAGGGACACGGTGCATACTGGTAGCGGGTCCCCACTGAACCTGGCACCACCA
 GGCGAGGCAGCTGGGAAGTTCGCTCCACAGGCTCGGGTCAGCACCGCGTTCATCAGGTC
 GGCGCCGAGATCTGAAGTGCAGTTGGGCCGCCCCCTGCGCGCGAGTTGCGGTACACCGGTT
 GCAGCACTGGAACACCAACAGCGCCGGTGCTCACGCTGCCAGCACGCTGCCAGGAGATCAGC
 TCGCGTCCAGGTCCCGCGTTGCTCAGCGCAACGGGTCACTTGGGACTTGCAGGCCAGGAA
 GGGCGCGTCCCCGGTTGAGTTGCACTGCGAGCGCAGCGGGATCAGCAGGTGCCGTGCCGGACT
 CGCGTGGGTACAGCGCGCATGAAGGCCTGCATCTGGCGAAGGCCATCTGGCCTGGCGCC
 TCCGAGAAGAACATGCCGCAGGACTTCCCAGAAGACTGGTTGCCAGCTGGCGTGTGAGGC
 AGCAGCGCGCGTCGGTGTGGCAGTGCACCAAGGTTCTCACGATCTGGCCT
 TGGACGATTGCTCCTCAGCGCGCTGCCGTTCTCGCTGGTCACATCCATCTCGATCACATGTTCT
 TGTTCACCATGCTGCTGCCGTGCAAGACACTTCAGCTGCCCTCCGTCTGGTGCAAGCGGTGCTGCCACA
 GCGCGCAGCCGTGGCTGAAAGACTTGTAGGTACCTCCCGAAGGACTGCAGGTACCCCTGCAAA

10

20

30

40

AAGCGGCCATCATGGTCACGAAGGTCTTGTGCTGAAGGTAGCTGCAGCCCGGGTGCCTC
GTTCAAGGCCAGGTCTTGCACACGGCCGCCAGCGCCTCCACCTGGTCGGGCAGCATCTTGAAGGTCACCTT
CAGCTCATTCTCCACGTGGTACTTGTCCATCAGCGTGCAGGCCCTCCATGCCCTCTCCAGGCCA
CACCAAGCGGCAGGCTCACGGGTTCTTACCATCACCGTGGCCGCCCTCCGCCGCTTC
CGCCCCGCTGTTCTCTCCCTCTCCCTCGCCGCCACTCGCAGCCCCGCACCACGGG
TCGTCTTCCCTGCAGGCGCTGCACCTGCGCTTGCGCCCTGCTGATGCGCACGGCGGGTTG
CTGAAGCCCACCATCACCAAGCGCCCTCTTCTGCTCGCTGTCCAGAATGACCTCCGGGGAG 10
GGGGGGTTGGTCATCCTCAGTACCGAGGCACGCTTCTTTCTTCCCTGGGGCGTTGCCAGCTCCCG
GCTCGGGCCGCTGCCAGGTGAAGGCCAGGGCTGGCGTGCAGGCCACCAGCGCGTCTGCGAGC
CGTCCTCGTCCTCTCGGACTCGAGACGGAGGCCGCGCTTCTCGGGGGCGCGCGGGCGGA
GGCGCGGGCGGCGACGGAGACGGGACGAGACATCGTCCAGGGTGGACGGCGGGCGCGCC
CGTCCCGCTCGGGGGTGGCTCGCGCTGGCTTCCGACTGGCCATCTCCACTGCTCCTCTCCT
ATAGGCAGAAAGAGATCATGGAGTCTCTCATGCGAGTCGAGAAGGAGGAGGACAGCCTAACCGCCCC
CTCTGAGCCCTCCACCACCGCCGCCACCACCGCCAATGCCGCCCGAACGACGCCAACCGAGACCA
CCGCCAGTACCAACCCCTCCCCAGCGACGCACCCCGCTCGAGAAATGAAGTGCTGATCGAGCAGGACCCG
GGTTTGTGAGCGGAGAGGAGGATGAGGTGGATGAGAAGGAGAAGGAGGAGGTCGCCCTCAGTGC
CAAAAGAGGATAAAAGCAAGACCAAGAGGACGACGACGATAAGGATGAGACAGCAGTCGGCGGGGA 20
ACGGAAGCCATGATGCTGATGACGGCTACCTAGACGTGGAGACGACGTGCTGCTTAAGCACCTGCAC
CGCCAGTGCATCGTCTCGACGCGCTGCAGGAGCGCTCGAAGTGCCTGGACGTGGCGGAGGT
CAGCCGCCTACGAGCGGACCCCTCGCCGACGTGCCCCCAAGCGCCGGAGAACGGCACCT
GCGAGCCAACCGCGTCTCAACTTCTACCCGGTCTCGCGGTACCGAGGTGCTGCCACCTACCAC
ATCTTTTCCAAAAGTCAAGATCCCCCTCTCTGCCGCCAACCGCACCCGCGGACAAAACCTG
ACCCCTCGGCAGGGCGCCACATACCTGATATCGCCTCTGGAGGAAGTGCCCAAGATCTCGAGGG
TCTCGGTGCGACGAGAAACGGCGCGAACACGCGCCCTGGCGTACTCAAGCGCAGCATAGAGGTCA 30
GGGGTGTGGTGGAGGCTCGAGGGCGACAACCGCGCCCTGGCGTACTCAAGCGCAGCATAGAGGTCA
CCCACTTGCCAACCGCGCTAACCTGCCCGAACGGTCAAGTGAGTGTGGCATGGCGAGCTCATC
ATCGCCGCCAGCCCCCTGGCGCGATGCAAACACTGCAAGAGTCTCCGAGGAAGGCTGCCC
GGTCAGCGACGAGCAGCTGGCGCTGGCTGGAGACCCCGCGACCCCGCGCAGCTGGAGGAGCGCG
AAGCTCATGATGGCCCGGTGCTGGTACCGTGGAGCTGAGTGTCTGCAGCGCTTCTCGCGGACCC
CGAGATGCGCAAGCTCGAGGAGACCCCTGCACTACACCTGCCAGGGCTACGTGCGCCAGGCCT
GCAAGATCTCAACGTGGAGCTGCAACCTGGCTCCTACCTGGCATCCTGCACGAGAACGCC
GGGCAGAACGTCCTGCACTCCACCCCTCAAAGGGAGGCGCCGCGACTACATCCCGACTGCGCTA
CCTCTCTGCTACACCTGGCAGACGCCATGGGGTCTGGCAGCAGTGCCTGGAGGAGCGCAACC
TCAAGGAGCTGGAAAAGCTCTCAAGCGCACCCCTAGGGACCTCTGGACGGCTCAACCGAGCGCTG 40
GTGGCCGCCGCGCTGGCGACATCATCTTCCGAGCGCCTGCTCAAGACCCCTGCAGCAGGGCTGCC
CGACTTCACCAGCCAGAGCATGCTGCAGAACCTCAGGACTTCACTCTGGAGCGCTGGCATCCTGC
CGGCCACTTGTGCGCGCTGCCAGCGACTCGTGCCATCAAGTACAGGGAGTGCCGCCGCGCTC

TGGGGCCACTGCTACCTCTCCAGCTGGCCAACACCTCGCCTACCACTCGGACCTCATGGAAGACGT
GAGCGGCGAGGGCCTGCTCGAGTGCCACTGCGCTGCAACCTCTGCACGCCCCACCGCTCTAGTCT
GCAACCCGAGCTGCTCAGCGAGAGTCAGATTATCGGTACCTTCGAGCTGCAGGGTCCCTGCCTGAC
GAGAAGTCCCGGGCTCCAGGGCTGAAACTCACTCCGGGCTGTGGACTTCGCCTACCTACGCAAATT
TGTACCTGAGGACTACCACGCCACGAGATCAGGTCTACGAAGACCAATCCGCCGCCAAGGCG
AGCTCACCGCCTGCGTCATCACCCAGGGCACATCCTGGCCAATTGCAAGCCATCAACAAAGCCGC
CGAGAGTTCTGCTGAAAAAGGGTCGGGGGTGTACCTGGACCCCCAGTCGGCAGGGAGCTAAACC
CGCTACCCCGCCGCCGCCCCAGCAGCGGACCTTGCTTCCCAGGATGGCACCCAGAAAGAAGCAGC
AGCCGCCGCCGCCCGCAGCCATACATGCTTCTGGAGGAAGAGGAGGAGACTGGACAGTCAGGC
AGAGGAGGTTCGGACGAGGAGCAGGAGGAGATGATGGAAGACTGGGAGGAGGACAGCAGCCTAGA
CGAGGAAGCTTCAGAGGCCAAGAGGTGGCAGACGCAACACCATGCCCTCGTCGAGCCCCCTCG
CCGGGGCCCCCTGAAATCCTCCGAACCCAGCACCGCTATAACCTCCGCTCTCCGGCCGCCGCC
ACCCGCCCGCAGACCCAACCGTAGATGGGACACCACAGGAACCAGGGTCGGTAAGTCCAAGTCCCG
CCGCCGCCACCGCAGCAGCAGCAGCAGCGCCAGGGTACCGCTCGTGGCGGGACAAGAACG
CCATAGTCGCTGCTGCAAGACTGCGGGGCAACATCTTCCGCCCCGCTCTGCTATTCCACC
ACGGGGTGCCTTCCCCGAATGTCTGCATTACTACCGTCATCTACAGCCCTACTGCAGCGCG
ACCCAGAGGCCAGCGGACGCCACAGCGGAGACCACCTAGGAAGATATCCCTCCGGGCAAGA
CAGCGGCAGCGGCCAGGAGACCCGCCAGCAGCGGGAGCGGTGGCGCACTGCGCTCTC
GCCCAACGAACCCCTCTGACCCGGAGCTCAGACACAGGATCTTCCCACTTGTATGCCATCTCCA
ACAGAGCAGAGGCCAGGAGCAGGAGCTGAAAATAAAACAGATCTCGCCTCCACCCGCAAGC
TGTCTGTATCACAAAGCGAAGATCAGCTTCCGCGCACGCTGGAGGACGCCAGGACTCTTCAGCAA
ATACTGCGCCTCACTCTTAAAGACTAGCTCCGCCCTCTCGAATTAGGCGGGAGAAAACACTACGT
CATCGCCGGCCGCCGCCAGCCCGCCAGCCGAGATGAGCAAAGAGATTCCACGCCATACATGTGG
AGCTACCAGCCGAGATGGACTCGCGGGAGCGGCCAGGACTACTCCACCCGATGAACCTACA
TGAGCGCGGACCCACATGATCTCACAGGTCAACGGATCCGCGCCAGCGAAACCAAATACTGCT
GGAACAGGCCATCACCGCCACGCCCGCCATAATCTCAACCCCGAAATTGGCCGCCCTCG
TGTACCAGGAAACCCCTCCGCCACCACCGTACTACTTCCGCGTACGCCAGGCGAAGTCCAGATG
ACTAACTCAGGGCGCAGCTCGGGCGGCTTCGTACCGGGCGGGCCGCTCCGACCAGGTATAAG
ACACCTGATGATCAGAGGCCAGGTATCCAGCTCAACGACGAGTCGGTGAGCTTCTCGCTCGTCTCC
GTCCGGACGGAACCTTCCAGCTCGCCGGATCCGGCGCTTCGTTACGCCCGCCAGGCGTACCTG
ACTCTGCAGACCTCGTCCCTCGGAGCCCCGCTCCGGCGGATCGGAACCTCCAGTTCGAGGAGTT
CGTCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTCTCGGACCTCCGGACGCTACCCCGACCAAGTTCATTCCGAA
CTTGACCGGTGAAGGACTCGCGGACGGCTACGACTGAATGTCAGGTGTCAGGCGAGCAGCAGCTTC
GCCCTGAGACACCTCGAGCACTGCCGCCACAAGTCTCGCCCGGGTCTGGTGAGTTCTGCTACT
TTCAGCTACCGAGGAGCATACCGAGGGGCCGGCAGCGCTCCGCTGACCCACCCAGGGCGAGGT
TACCTGTTCCCTCATCCGGAGTTACCCCTCCGCTCCCTGCTAGTGGAGCGGGAGCGGGGTCCTGTG
CCTAACTATCGCCTGCAACTGCCCTAACCTGGATTACATCAAGATCTTGCTGTCATCTGTGCTGA

10

20

30

40

GTTAATAACGCTGAGATCAGAATCTACTGGGCTCTGCGCATCCTGTGAACGCCACCGTCTCA
CCCACCCGACCAGGCCAGCGAACCTCACCTCGGTCTGCATCGAGGGCCAAGAAGTACCTCACC
TGGTACTTCAACGGCACCCCTTGTGGTTACAACAGCTCGACGGGACGGAGTCTCCCTGAAAGA
CCAGCTCTCCGGTCTCAGCTACTCCATCCAAGAACACCACCCCTCAACTCTCCCTCCCTACCTGCC
GGGAACCTACGAGTGCCTCACCGGCCCTGCACCCACCTCACCCGCCTGATCGTAAACCAGAGCTTC
CGGAAACAGATAACTCCCTTCCCCAGAACAGGAGGTGAGCTCAGGAAACTCCCCGGGACCAGGG
CGGAGACGTACCTCGACCCTTGTGGGGTAGGATTTTATTACCGGGTGTGGCTCTTTAATCAA
AGTTTCTTGAGATTGTTCTTCTTACGTGTATGAACACCTCAACCTCAATAACTCTACCCCTTC
10 TTCGAATCAGGTGACTTCTCTGAAATCGGGCTTGTGCTGCTTACTCTGTGATTTTTCTTATC
ATACTCAGCCTCTGTGCCTCAGGCTGCCGCCTGTCGCACACATCTATCTACTGCTGGTTGCTC
AAGTGCAGGGTCGCCACCCAAAGATGAACAGGTACATGGCCTATCGATCCTAGGCCTGCTGCCCTG
GCCGCTGCAGCGCCAAAAAAGAGATTACCTTGAGGAGCCGCTGCAATGTAACCTTCAAGCC
CGAGGGTACCAATGCACCACCCCTCGTCAAATGCGTTACCAATCATGAGAGGCTGCGCATGACTACA
AAAACAAAACGGCCAGTTGGGTCTATAGTGTGTTACGCCGGAGACCCCTCTAACTACTCTGTCA
CCGTCTCCAGGGCGGACAGTCTAACGATATTCAATTACACTTCCCTTATGAGTTATGCGATGCC
TCATGTACATGTCAAAACAGTACAACCTGTGCCCTCCCTCCCCAGGCCTGTGGAAAATCTGGG
TCTTACTGCTGTATGGCTTCGCAACTACGCTCGCTTAATCTGCACGGTGTATACATAAAATT
20 AGGCAGAGGCGAATCTTATCGATGAAAAGAAAATGCCTGATCGCTAACACCCGCTTCTATCTGCA
GAATGAATGCAATCACCTCCCTACTAACACCACCCCTCCTGCGATTGCCCATGGGTTGACACGA
ATCGAAGTGCCAGTGGGTCCAATGTCACCATGGTGGGCCCCGCCGAATTCCACCCCTCATGTGGGA
AAAATTGTCGCAATCAATGGGTCATTCTGCTCTAACGAATCAGTATCAAGCCCAGAGCCATCTG
CGATGGGAAAATCTAACTCTGATCAATGTGAAATGATGGATGCTGGTACTATTACGGGCAGCGGG
GAGAAATCTTAAATTACTGGCGACCCCACAAGGACTACATGCTGCATGTAGTCGAGGCACCTCCACT
ACCACCCCCACTACCACCTCTCCCACCACCAACCACCAACTACTACTACTACTACTACTACT
ACCACTACCGCTGCCGCCATACCGCAAAAGCACCATGATTAGCACAAAGCCCCCTGTGCTCACT
30 CCACGCCGGGGCCCATCGGTGCGACCTCAGAAACCACCGAGCTTGTCTGCCATGCACTAACG
CCAGCGCTCATGAACCTGTCACCTGGAGAATGAGGATGTCAGCAGAGCTCCGCTTGCGCTGACCCAG
GAGGCTGTGGAGCCGTTGCCCTGAAGCAGATCGGTGATTCAATAATTGACTCTTCTTGTGGCACT
CCCCAATACCCCTCCGATTCTACTTCCACATCACGGTACCAAAGACCCCTAACCTCTTCTACCTG
ATGCTGCTGCTCTGTA TCTCTGTGGTCTCTCCGCGCTGATGTTACTGGGGATGTTCTGCTGCTGATCT
GCCGCAGAAAGAGAAAAGCTCGCTCTCAGGGCAACCAACTGATGCCCTCCCTACCCCCGGATTT
GCAGATAACAAGATATGAGCTCGCTGTCACACTAACCGCTTACTAGCCTGCGCTCTAACCTGTG
CTTGCCTCGAGATTCCACAATGTCACAGCTGTGGCAGGAGAAAATGTTACTTCAACTCCACGGCC
GATAACCCAGTGGCTGGAGTGGCTCAGGTAGCTACTTAACCTATGCAATAGCTCCACTCCCCGGC
40 ATATCCCCACCAAGTACCAATGCAATGCCAGCCTGTTACCCCTTGGGCAAGGAAAGACCCACGCTTACAACCTGGAAGTTCG
CCAGCCCAGAACCAACTACCAAGCTCTCCACCACCAACCACCAACCACCATCACCAGCAGCAGCA

GCAGCAGCAGCCACAGCAGCAGCAGCAGATTATTGACTTGGTTGGCCAGCTCATCTGCCGCTACC
CAGGCCATCTACAGCTCTGTGCCGAAACCACTCAGATCCACCGCCCAGAAACGACCACCGCCAC
CCTACACACCTCCAGCGATCAGATGCCACCAACATCACCCCTGGCTCTCAAATGGGACTTACAA
GCCCCACTCCAAAACCACTGGATGCCGGCGAGGCTCCGCCCTCGTCAATGACTGGCGGGCTGGGA
ATGTGGTGGTTCGCCATAGGCATGATGGCGCTCGCCTGCTCTGGCTCATCTGCTGCCCTCAC
CGCAGGCGAGCCAGACCCCCCATCTATAGACCCATCATTGCTGAAACCCGATAATGATGGGATCCA
TAGATTGGATGGCCTGAAAAACCTACTTTTCTTACAGTATGATAAATTGAGACATGCCCGCATT
TTCTGTACATGTTCTCCACCTTCTGGGTCTACGCTGCCGCTGTCTCACCTGGAGG 10
TAGACTGCCCTCACCCCTACTGTCTACCTGCTTACGGATTGGTCACCCACTCTCATCTGCAGCCT
AATCACAGTAATCATGCCCTCATCCAGTGCATTGATTACATCTGTGCGCCTCGCATACTCAGACA
CCACCCGAGTACCGAGACAGGAACATTGCCAACCTCTAAGACTGCTCTAACATGCATAAGACTGT
GATCTGCCCTCTGATCCTCTGCATCCTGCCACCCACCTCCTGCCAGTACACCACAAATCTCCGCG
CAAAGACATGCCCTGCCGCTCACCCAACTGTGGAATATACCCAAATGCTACAACGAAAAGAGCG
AGCTCTCGAAGCTGGCTGTATGGGTCTACCTGTCTTAGTTCTGCAGCACTGCTTGCCTCAT
AACTCTACCCCTACTTGATTGGATGGAACCGCAGTCATGCCATGAATTACCCACCTTCCCGCACC
CGAGATAATTCCACTGCGACAAGTTGTAACCGTTGCTTAATCAACGCCCCATCCCTACGCCAC
TGAAATCAGCTACTTAACCTAACAGGCGGAGATGACTGACGCCCTAGATCTAGAAATGGACGGCATC
AGTACCGAGCAGCGTCTCCTAGAGAGGGCGAGGCAGGCGCTGAGCAAGAGCGCCTCAATCAGGAGC
TCCGAGATCTGTTAACCTGCACCACTGCAAAAGAGGCATCTTGCTGGTAAAGCAGGCCAAAGTC
ACCTACGAGAAGACCCGCAACAGCCACCGCCTCAGTTACAAATTGCCACCCAGGCCAGAGCTGG
TGCTCATGGTGGGTGAGAATCCATCACCCTCACCCAGCAGTCAGGTTAGAGACCGAGGGGTCTGCAC
TCCCCCTGTCGGGTCCAGAAGACCTCTGCACCCCTGGTAAAGACCCCTGCGGTCTCAGAGATTAGT
CCCCCTTAACTAATCAAACACTGGAATCAATAAAAGAATCACTTACTTAAATCAGACAGCAGGTCT
CTGTCAGTTATTGAGCAGCACCTCCTCCCCCTCTCCAACTCTGGTACTCCAAACGCCCTGGCG
GCAAACCTCCTCCACACCCCTGAAGGGAATGTCAGATTCTGCTCCTGCCCCGCCACCCACTATCTC
ATGTTGTTGAGATGAAGCGCACAAACGTCTGACGAGAGCTCAACCCGTGTACCCCTATGACAC
GGAAAGCGCCCTCCGTCCTCCTCACCCCTCCGACCGCTGGCAACCTCACCTCTCAAGATACTACCACCGCTAGCC
TCCCCCTCAAAAAACCAAGACCAACCTCAGCCTAGAAACCTCATCCCCCTAACTGTGAGCACCTCA
GGCGCCCTCACCGTAGCAGCCCGCTCCCTGGCGGTGGCCGGCACCTCCCTCACCATGCAATCAGA
GGCCCCCTGACAGTACAGGATGCAAAACTCACCCCTGGCCACCAAGGCCCCCTGACCGTGTGAAG
GCAAACCTGGCTTGCAAACATCGGCCCCGCTGACGGCCGCTGACAGCAGCACCCCTCACAGTCAGTGC
ACACCAACCCCTAGCACAAGCAATGGCAGCTGGGTATTGACATGCAAGCCCCCATTACACCACAA
TGGAAAACCTAGGACTTAACCTTGCGCTCCCTGCATGTGGTAGACAGCCTAAATGCACTGACTGTAG 40
TTACTGGCCAAGGTCTACGATAAACGGAACAGCCCTACAAACTAGAGTCTCAGGTGCCCTCAACTAT
GACACATCAGGAAACCTAGAATTGAGAGCTGCAGGGGTATGCGAGTTGATGCAAATGGTCAACTTA

TCCTTGATGTAGCTTACCCATTGATGCACAAAACAATCTAGCCTTAGGCTGGACAGGGACCCCTGT
 TTGTTAACTCTGCCACAACCTGGATGTTAACTACAAACAGAGGCCTCACCTGTTACATCTGGAAATA
 CCAAAAAGCTAGAAGTTAATATCAAAACAGCCAAGGGTCTCATTATGATGACACTGCTATAGCAATC
 AATGCGGGTGTAGGGCTACAGTTGACTCAGGCTCAGATACAAATCCATTAAAAACTAAACTTGGATT
 AGGACTGGATTATGACTCCAGCAGGCCATAATTGCTAAACTGGAACTGGCCTAAGCTTGACAAACA
 CAGGTGCCATCACAGTAGGCAACAAAATGATGACAAGCTTACCTTGACCAACACCAGACCCATCC
 CCTAACTGTAGAATCTATTAGAGAAAAGATGCTAAATTACACTTGTGTTGACTAAATGCGGCAGTCA
 GGTGTTGCCAGCGTTCTGTTTATCTGAAAAGGTAGCCTGCGCCATCAGTGGCACAGTAACAG 10
 TGCTCAGATTGTCCTCAGATTGATGAAAATGGAGTTCTACTAAGCAATTCTCCCTTGACCCCTCAATA
 CTGGAACATACAGAAAAGGTGACCTTACAGAGGGCACTGCATATACCAACGCAGTGGATTATGCCA
 ACCTCACAGCATACCCAAAACACAGAGCCAACTGCTAAAGCAACATTGTAAGTCAGGTTACTTG
 AATGGGGACAAATCCAAACCCATGACCTCACCATACCTCAATGGAACATGAAACAGGAGATG
 CCACAGTAAGCACTTACTCCATGTCATTCTCATGGAACCTGGAAATGGAAGTAATTACATTAATGAAACG
 TTCCAAACCAACTCCTCACCTTCTCCTACATGCCCAAGAATAAAAAGCATGACGCTGTGATTGAT
 TCAATGTGTTCTGTTTATTTCAGCACAACAAATCATTCAAGTCATTCTCCATCTAGCTTAATA
 GACACAGTAGCTTAATAGACCCAGTAGTGCAAAGCCCCATTCTAGCTTAACTAGTGGAGAAGTACT
 CGCCTACATGGGGTAGAGTCATAATCGTCATCAGGATAGGGCGGTGGCTGAGCAGCGCGCGA 20
 ATAAACTGCTGCCGCCGCTCGCTGCAGGAATACAACATGGCAGTGGCTCCTCAGCGATGAT
 TCGCACCGCCCGCAGCATAAGGCCCTTGTCCCTCCGGCACAGCAGCGCACCCGATCTCACTTAAAT
 CAGCACAGTAACTGCAGCACAGCACCAATATTGTCAAAATCCCACAGTGCAAGGCCTGTATCCA
 AAGCTCATGGCGGGACCACAGAACCCACGTGGCCATCATACCACAAGCGCAGGTAGATTAGTGGC
 GACCCCTATAAACACGCTGGACATAAACATTACCTTTGGCATGTTGAATTACCAACCTCCCGT
 ACCATATAAACCTCTGATTAAACATGGGCCATCCACCACCATCCTAAACCAGCTGGCAAAACCTGC
 CCGCCGGCTATACACTGCAGGGAACCGGGACTGGAACAAATGACAGTGGAGAGGCCAGGACTCGAAC
 CATGGATCATCATGCTCGTCATGATATCAATGTTGGCACAACACAGGCACACGTGCATACTTCCTC
 AGGATTACAAGCTCCTCCCGTTAGAACCATATCCCAGGGACAACCCATTCTGAATCAGCGTAAA 30
 TCCCACACTGCAGGGAAAGACCTCGCACGTAACTCACGTTGTCATTGTCAGTGTACATTGGCA
 GCAGCGGATGATCCTCCAGTATGGTAGCGCGGGTTCTGTCTCAAAAGGAGGTAGACGATCCCTACTG
 TACGGAGTGCCTGGAGACAACCGAGATCGTGTGTCGTAGTGTACATGCCAAATGGAACGCCGGACGT
 AGTCATATTCTGAAGTCTTAGATCTCTCAACGCAGCACCGACCAACACTTCGCACTGTAAAAGG
 CCAAGTGCCGAGAGAGTATATAGGAATAAAAAGTGACGTAAACGGCAAAAGTCCAAAAACGCC
 AGAAAAACCGACGCGAACCTACGCCCCGAAACGAAAGCCAAAAACACTAGACACTCCCTCCGGC
 GTCAACTTCCGTTCCCACGCTACGTCACTGCCCCAGTCAGTACATATCCGAACCTCAA
 GTCGCCACGCCAAAACACCGCCTACACCTCCCCGCCGGCCCCAAACCCGCCCTCCGCC
 CCGCGCCCCGCCCGCCGCCATCTCATTATGTCATTGCTCAATCCAAAATAAGGTATATTATTG
 ATGATG 40

【0181】

配列番号5 RSV F0 TM-N-M2-1アミノ酸配列

MELLILKANAITTILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENCNGTDA
 KVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKKNTVTLSKRKRRFLGFLGV
 GSIAISGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLSDLKNYIDKQLLPIVNQSCSISNI
 ETVIEFQQKNNRLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSNDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSI
 IKEEVLAYVVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNCLTRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQS
 NRVFCDTMNSLTLPEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGTKCTASNKNRGIKTF
 SNGCDYVSNKGVDTSVGNTLYVNKQEGKSLYVKEPIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIR
 KSDELLHNVNAGKSTTNRKRRAPVKQTLNFDLLLAGDVESNPGPMALSKVKNLNDTLNKDQLLSSSKYTI
 QRSTGDSIDTPNYDVQKHINKLCGMLITEDANHKFTGLIGMLYAMSRLGREDTIKILRDAGYHVKANGVD
 VTTHRQDINGKEMKFEVLTLASLTTEIQINIEIESRKSYKKMLKEMGEVAPEYRHSPDCGMIILCIAALVIT
 KLAAGDRSGLTAVIRRANNVLKNEMKRYKGLLPKDIANS
 FYEVFEKYPHFIDVFVHFGIAQSSTRGGSRVEGIFAGLFMNAYGAGQVMLRWGVLAKSVKNIMLGHASVQ
 AEMEQVVEVYEEAQKLGGEAGFYHILNNPKASLLSLTQFPHFSSVVLGNAAGLGIMGEYRGTPRNQDLYD
 AAKAYAEQLKENGVINYSVLDLTAEELEAIKHQLNPKDNDVELGGGGSGGGMSRRNPCKFEIRGHCLNG
 KRCHFSHNYFEWPPHALLVRQNFMLNRILKSMDKSIDLSEISGAAELDRTEEYALGVVGVLVESYIGSINNIT
 KQSACVAMSKLLTELNSDDIKKLRDNEELNSPKIRVYNTVISYIESNRKNNKQTIHLLKRLPADVLKKT
 TLDIHKSIITINNPKESTVSDTNDHAKNNDTT

10

20

30

40

【 0 1 8 2 】

配列番号6 増強されたhCMVプロモーターをコードするポリヌクレオチド配列

CCATTGCATACGTTGTATCCATATCATAATATGTACATTATATTGGCTCATGTCCAACATTACGCCATGTTG
 ACATTGATTATTGACTAGTTATTAAATAGTAATCAATTACGGGTCTAGTTCAATGCCATATATGGAGTTCC
 GCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACGCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATG
 ACGTATGTTCCCAGTAGAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGC
 CCACCTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCG
 CCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCT
 ATTACCATGGTATGCGTTTGGCAGTACATCAATGGCGTGGATAGCGGTTGACTCACGGGATTCCAAG
 TCTCCACCCATTGACGTCAATGGAGTTGGCACC AAAATCAACGGACTTCAAAATGCGTAACA
 ACTCCGCCCCATTGACGAAATGGCGGTAGCGTGTACGGTGGAGGTCTATATAAGGCGAAGCGCTCCCTAT
 CAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAGATCGCGACGCTCGCGGGGGAGTCGCTGCGCGCTG
 CCTTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCCGCCCTCGCGCCGCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTAAAC
 AGGTAAGTCCGGCCTCCGCCGGTTGGCGCCTCCGCCGGCCCCCTCTCACGGCGAGCGCTGCCAC
 GTCAGACGAAGGGCGCAGCGAGCGTCTGATCCTCCGCCGGACGCTCAGGACAGCGGGCGCTGCTCATAAG
 ACTCGGCCTAGAACCCAGTATCAGCAGAAGGACATTAGGACGGACTGGTGACTCTAGGGCACTGGTT
 TTCTTCCAGAGAGCGGAACAGGGAGGAAAAGTAGTCCCTCTCGCGGATTCTCGGGAGGGATCTCGTGGGG

CGGTGAACGCCGATGATGCCCTACTAACCATGTTCATGTTCTTTCTACAGGTCTGGTGACGAA
 CAG

【 0 1 8 3 】

配列番号7 hCMV NM2 bghpolyAカセットをコードするポリヌクレオチド配列

CCATTGCATACTTGTATCCATATCATAATATGTACATTATGGCTCATGCCAACATTACGCCATGTTG
 ACATTGATTATTGACTAGTTATAATAGTAATCAATTACGGGTCAATTAGTCATAGCCCATAATGGAGTTCC
 GCGTTACATAACTTACGGTAAATGCCCGCCTGGCTGACCGCCAAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATG
 ACGTATGTTCCCATACTAACGCCAATAGGGACTTCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGC
 CCACCTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGCCCG
 CCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCT
 ATTACCATGGTGTGCGGTTTGGCAGTACATCAATGGCGTGGATAGCGGTTGACTCACGGGATTCCAAG
 TCTCCACCCATTGACGTCAATGGAGTTGGCACCAAAATCAACGGACTTCCAAAATGCGTAACA 10
 ACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGCGGTAGCGTGTACGGTGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCCCTATC
 AGTGTAGAGATCTCCATCAGTGTAGAGATCGTCAGGAGCTCGTTAGTGAACCGTCAGATGCCCTGGAG
 ACGCCATCCACGCTGTTTACCTCCATAGAAGACACCGGACCGATCCAGCCTCCGGCCGGAACGGTGCA
 TTGGAACGGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGAGATCTCGTTATCTAGGTACCGATATGCCACCATGGCC
 TGAGCAAAGTGAACGATACTGAACACAAGGACAGCTGCTGTCCAGCAGCAAGTACACCATTCCAGCGG
 AGCACCGGCACAGCATCGATAACCCCAACTACGACGTGAGAACAGCACATCAACAAGCTGTGGCATGCTGCT
 GATCACAGAGGACGCCAACACAAGTTACCGGCCTGATCGGATGCTGTACGCCATGAGCCGGCTGGCCGG
 AGGACACCATCAAGATCCTGCGGGACGCCGGTACCGTGAAGGCCAATGGCGTGGACGTGACCAACACCCGG
 CAGGACATCAACGGCAAAGAAATGAAGTTCGAGGTGCTGACCCCTGCCAGCCTGACCACCGAGATCCAGATCAA
 TATCGAGATCGAGAGCCGAAGTCTACAAGAAAATGCTGAAAGAAAATGGCGAGGTGGCCCCCGAGTACAGAC
 ACGACAGCCCCACTGCGGATGATCATCCTGTATGCCGCCCTGGTATCACAAAGCTGGCCCTGGCGAC 20
 AGATCTGGCCTGACAGCGTGTACAGACGGCCAACAATGTGCTGAAGAACGAGATGAAGCGGTACAAGGGCCT
 GCTGCCAACGGACATTGCCAACAGCTTACGAGGTGTTGAGAAGTACCCCATTCATCGACGTGTTGTC
 ACTTCGGCATTGCCAGAGCAGCACCAGAGGGCGCTCCAGAGTGGAGGGCATCTCGCCGGCTGTTCATGAAC
 GCCTACGGCGCTGCCAGGTGATGCTGAGATGGGGCGTGGCTGCCAGAGCGTGAAGAACATCATGCTGGCCA
 CGCCAGCGTGCAGGCCAGAGATGGAACAGGTGGTGGAGGTGTACGAGTACGCCAGAAGCTGGCGAGAGCCG
 GCTTCTACCACATCCTGAACAACCTAACGGCTCCCTGCTGCTGCCCTGACCCAGTCCCCACTTCTCCAGCGT 30
 GTGCTGGAAATGCCCGGACTGGCATCATGGCGAGTACCGGGCACCCCCAGAAACCGAGGACCTGTACGA
 CGCCGCCAACGGCTACGCCAGCAGCTGAAAGAAAACGGCGTGTACAACTACAGCGTGTGGACCTGACCGCTG
 AGGAACCTGGAAGCCATCAAGCACCAGCTGAACCCCAAGGACAACGACGTGGAGCTGGAGGCGGAGGATCTGGC
 GCGGAGGCATGAGCAGACGGAACCCCTGCAAGTTGAGATCCGGGGCACTGCCGTGACGGCAAGCGGTGCCA
 CTTCAGCCACAACACTTCGAGTGGCCCCCTCATGCTCTGCTGGTGCAGAACCTCATGCTGAACCGGATCC
 TGAAGTCCATGGACAAGAGCATCGACACCCCTGAGCGAGATCAGGGAGCCGGAGCTGGACAGAACCGAGGAA

TATGCCCTGGCGTGGTGGAGTGTGGAAAGCTACATCGGCTCCATCAACAAACATCACAAAGCAGAGCGCCTG
 CGTGGCCATGAGCAAGCTGCTGACAGAGCTGAACAGCGACATCAAGAACGAGCTGAGGGACAACGAGGAAC 40
 ACAGCCCCAACGATCCGGGTGTACAACACCGTGTACAGCTACATTGAGAGCAACCGCAAGAACAAACAGCAGACC
 ATCCATCTGCTGAAGCGGCTGCCGCCGACGTGCTGAAAAAGACCATCAAGAACACCCCTGGACATCCACAAGTC
 CATCACCATCAACAATCCAAAGAAAGCACCAGCTGACACCAACGATCACGCCAAGAACAAACGACACCACCT
 GATGAGCGGCCGCGATCTGCTGTGCTTAGTTGCCAGCCATCTGTTGCTGCCCTCCCCGTGCTTCC
 GACCCCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTCTAATAAAATGAGGAAATTGACATCGCATTGCTGAGTAGGT
 GTCATTCTATTCTGGGGGTGGGTGGGCAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGAAAGACAATAGCAGGCATGCT
 GGGGATGCGGTGGCTCATGG

CMVプロモーター配列：太字

導入遺伝子配列NM2：斜体

bghpolyA ポリAシグナル：斜体 + 下線

【0 1 8 4】

配列番号8 NM2タンパク質配列

MALSKVKLN^DTLN^KDQLSSSKY^TIQ^RSTGDSIDTPNYDVQKHINKLCGMLLITEDANH^KFTGLIGMLYAMSRL
 GREDTIKILRDAGYHV^KANGDV^TTHRQDINGKEMKF^EVLTLASLTTEI^QINIEIESRKSYKKMLKEMGEVAPE
 YRHDS^PDCGMIILCIAALVITKLAAGDRSGLTAVIRRANNVLKNEMKRYKGLLPKDIANSFYEV^FEKYPHFIDV
 FVHFGIAQSSTRGGSRVEGIFAGLFMNAYGAGQVMLRGVLAKSVKNIMLGHASVQAEMEQVVEVY^EYAQKLGG 10
 EAGFYHILNNPKASLLSLTQFPHFSSVVLGNAAGLGIMGEYRGT^PRNQDLYDAAKAYAEQLKENGVINYSVLDL
 TAEELA^IKHQLNPKDNDVELGGGSGGGMSRRNPCKFEIRGHCLNGKRCHFSHNYFEWPPHALLVRQNFMLN
 RILKSMDKSIDLSEISGAAELDRTEEYALGVVG^VLE^SYIGSINNITKQSACVAMSKLLTELNSDDIKLRDNE
 ELNSPKIRVYNTV^ISYIESNRKNNQ^TI^HLLKRLPADVLKKTI^KNTLDIHKSITINNP^KESTVSDTNDHAKNN
 TT

【0 1 8 5】

配列番号9 hCMV F0 WPRE bghpolyAカセットをコードするポリヌクレオチド配列

CCATTGCATACGTTG^TTATCCATATCATAATATGTACATTATATTGGCTCATGT^CAACATTACGCCATGTTG 20
 ACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGT^CATTAGTTCATAGCCC^ATATATGGAGTTCC
 GCGTTACATAACTACGGTAAATGGCCCGC^TGGCTGACGCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATG
 ACGTATGTTCCC^ATAGTAACGCCAATAGGGACTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTATTACGGTAAACTGC
 CCAC^TGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCC^CCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCG
 CCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGGACTTCC^TACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCT
 ATTACCATGGT^GATGCGGTTTGGCAGTACATCAATGGCGTGGATAGCGGTTGACTCACGGGATTCCAAG

TCTCCACCCATTGACGTCAATGGGAGTTGGCACCAAAATCAACGGACTTCCAAATGTCATA
 ACTCCGCCCCATTGACGAAATGGCGGTAGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCGAAGCGCTCCCTAT
 CAGTGATAGAGATCTCCCTATCAGTGATAGAGATCGCGACGAGCTCGCGGGGGAGTCGCTGCGCGCTG
 CCTTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCCGCCCTCGCGCCGCCGCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTAAAAC
 AGGTAAGTCCGGCCTCCGCCGGGTTTGGCGCCTCCCGGGGCCCTCCTCACGGCGAGCGCTGCCAC
 GTCAGACGAAGGGCGAGCGAGCGTCTGATCCTCCGGACGCTCAGGACAGCGCCGCTGCTCATAAG
 ACTCGGCCTAGAACCCCCAGTATCAGCAGAAGGACATTAGGACGGACTGGGTACTCTAGGGCACTGGTT
 TTCTTCCAGAGAGCGGAACAGGCAGGAAAAGTAGTCCCTCTCGCGATTCTCGGGAGGGATCTCGTGGGG
 CGGTGAACGCCGATGATGCCCTACTAACCATGTTATGTTCTTTCTACAGGTCTGGGTGACGAA
 CAGGATATGCCACCATGGAACTGCTGATCCTGAAGGCCAACGCCATCACCACCATCCTGACCGCCGTGACCTT
 CTGCTTCGCCAGCGGCCAGAACATCACCGAGGAATTCTACCAGAGCACCTGTAGCGCCGTGAGCAAGGGCTACC
 TGAGCGCCCTGAGAACCGGCTGGTACACCAGCGTGTACCATCGAGCTGAGCAACATCAAAGAAAAGACTG
 AACGGCACCGACGCCAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAACGGACAAGTACAAGAACGCCGTGACCGAGCTGCA
 GCTGCTGATGCAGAGCACCCCCGCCACCAACACCGGCCAGACGGAGCTGCCCGGTTCATGAACACTACACCC
 TGAACAAACGCCAAAAGACCAACGTGACCTGAGCAAGAACGGGAAGCGGCGGTTCTGGCTTCTGCTGGGC
 GTGGGCAGCGCCATTGCCAGCGCGTGGCGTGTCAAGGTGCTGCACCTGGAAGGCAAGTGAACAAAGATCAA
 GAGCGCCCTGCTGAGCACCAACAGGCCGTGGTGTCCCTGAGCAACGGCGTGGCTGACCGAGCAAGGTGC
 TGGATCTGAAGAACTACATCGACAAGCAGCTGCTGCCATCGTAACAAGCAGAGCTGCAGCATCAGAACATC
 GAGACAGTGATCGAGTCCAGCAGAAGAACACCGGCTGCTGGAAATCACCCGGAGTTCAAGCGTGAACGCCGG
 CGTGACCACCCCTGTGTCACCTACATGCTGACCAACAGCGAGCTGCTGAGCCTGATCAACGACATGCCATCA
 CCAACGACCAGAAAAGCTGATGAGCAACACGTGCAGATCGTGGCAGCAGAGCTACTCCATCATGTCCATC
 ATCAAAGAACAGGGTGTGGCTACGTGGTGCAGCTGCCCTGTACGGCGTGTACACCCCCCTGCTGGAAGCT
 GCACACCAGCCCCGTGACCAACACCAACAGGGCAGCAACATCTGCTGACCCGGACCGACAGAGGCT
 GGTACTGCGACAACGCCGGCAGCGTGTCAATTCTTCCACAGGCCAGACATGCAAGGTGAGAGCAACCGGGTG
 TTCTGCGACACCATGAACAGCCTGACCCCTGCCCTCGAAGTGAACCTGTGCAACGTGGACATCTCAACCCCAA
 GTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAGACCGACGTGTCAGCTCCGTGATCACCTCCCTGGCGCCATCGTGT
 CCTGCTACGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAAGAACCGGGCATCATCAAGACCTCAGCAACGGCTGC
 GACTACGTGTCACAAAGGGGGTGGACACCGTGTCCGTGGCAACACCCCTGTACTACGTGAACAAACAGGAAGG
 CAAGAGCCTGTACGTGAAGGGCGAGCCCACATCAACTTCTACGACCCCCCTGGTGTCCCCAGCGACGAGTTCG
 ACGCCAGCATCAGCCAGGTGAACGAGAAGATCAACCAAGAGCCTGCCCTCATCCGGAAAGTCCGACGAGCTGCTG
 CACAATGTGAATGCCGCAAGTCCACCAACTGATGAGCGGCCATCTAATCAACCTCTGGATTACAAAATT
GTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTAATGCCCTTG
TATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTCACTTCTCCTCTGTATAAATCCTGGTGCTGTCTCTTATGA
GGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGG
GCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCCTCGGACTTCCGCTTCCCTCCCTATTGCCACGGCGAACATC
GCCGCCCTGCCATTGCCCGTGGACAGGGCTCGGCTGGACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAA

10

20

30

40

ATCATCGTCCTTCCTGGCTGCTGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTCTGCTACGTCC
CTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTTCCCGGTCTTCGC
CTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGC GGCCGCGATCTGCTGTGCCTTCTA
GTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCCGTGCCTTCCTGACCCCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTT
TCCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCA
GGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTATGG

増強されたCMVプロモーターの配列：太字

導入遺伝子配列F0：斜体

WPRE配列：下線付きの太字

bghpolyA ポリAシグナル：斜体 + 下線

【0 1 8 6】

配列番号10 F0タンパク質配列

MELLILKANAITILTAVTFCFASGQNITEEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKNGTDA
KVKLKQELDKYKNAVTELQLLMQSTPATNNRARRELPRFMNYTLNNAKTNVTLSKKRKRFLGFLGVGSAI
ASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLNSNGSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPIVNQKQSCSISNIETVIE
FQQKNNRLLEITREFSVNAGVTPVSTYMLTNSELLSILNDMPITNDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEV
LAYVQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTNTKEGSNICLRTDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKVQSNRVFCDTM
NSLTLPEVNLCNVDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKTCTASNKNRGIIKTFNSNGCDYVSN
KGVDTVSVGNTLYYVNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVFPSEFDASIISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNA
GKSTTN

【0 1 8 7】

配列番号11 フレキシブルリンカーのアミノ酸配列

Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly

【0 1 8 8】

配列番号12 フレキシブルリンカーのアミノ酸配列

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly

10

20

30

【図1】

(i) RC1



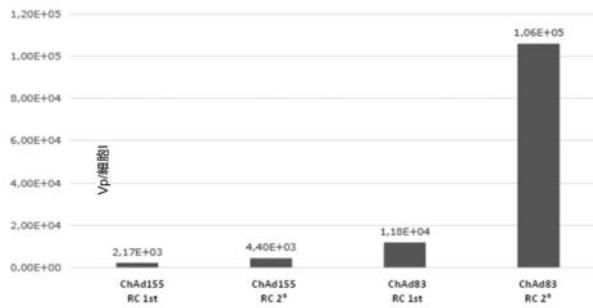
(ii) RC3:



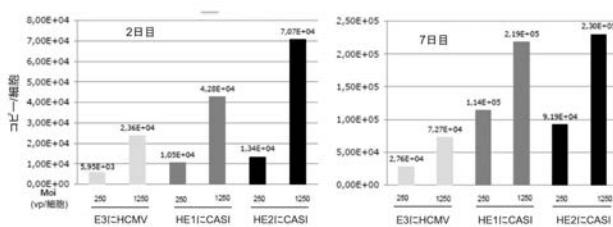
(iii) RC2:



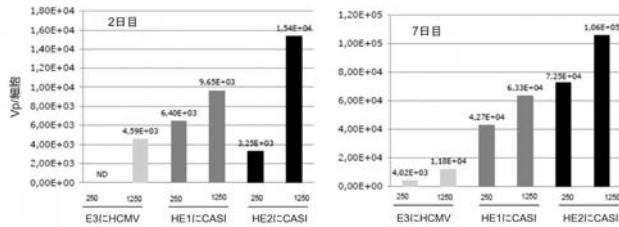
【図2 A】



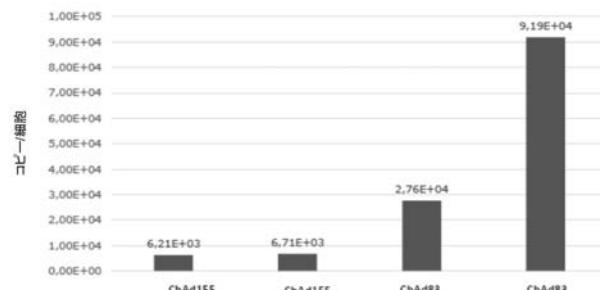
【図2 B】



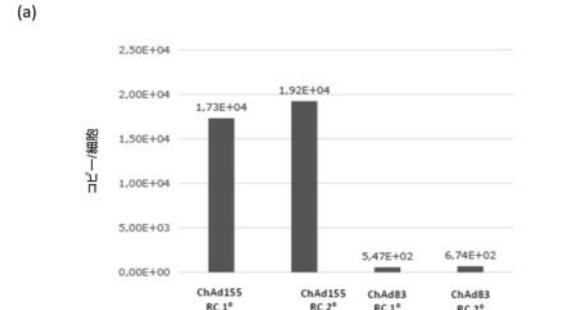
【図2 B】



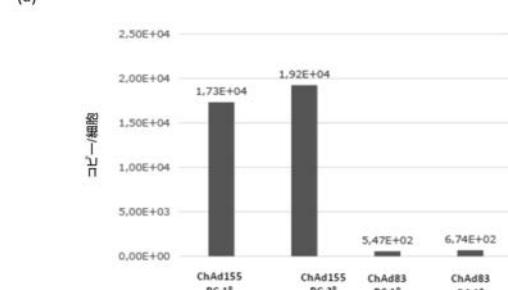
【図3 A】



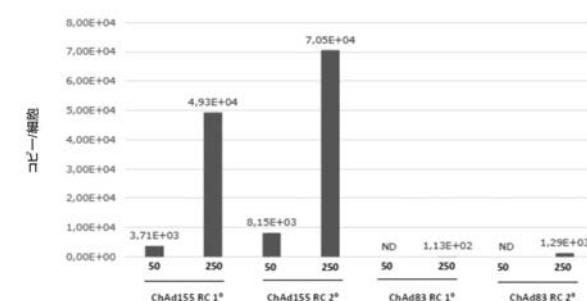
【図3 B】



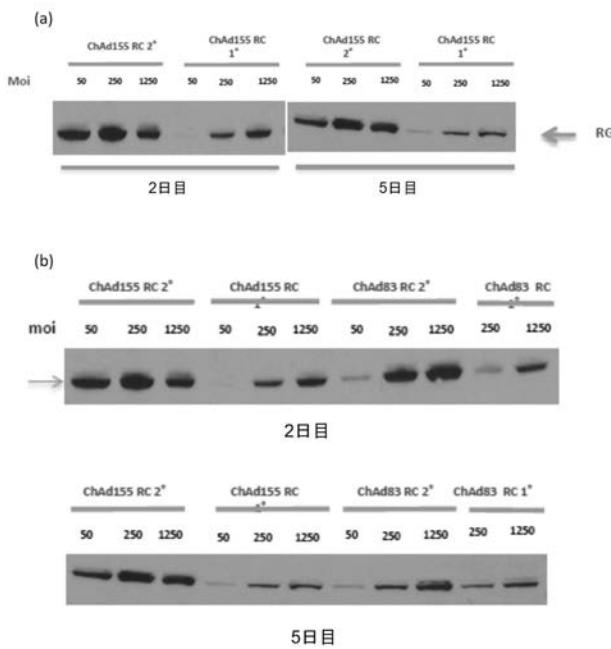
(a)



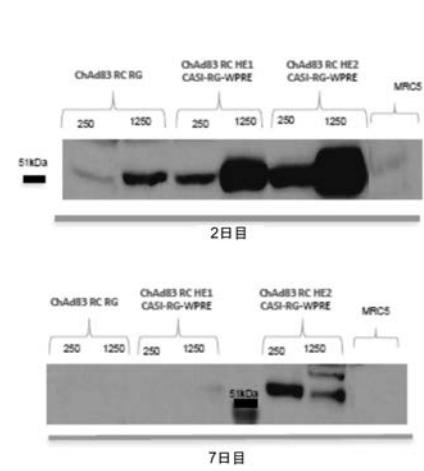
(b)



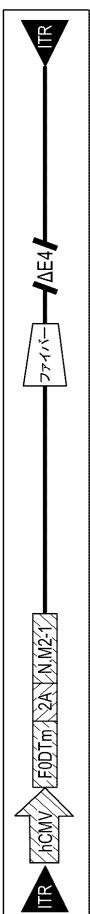
【図5-1】



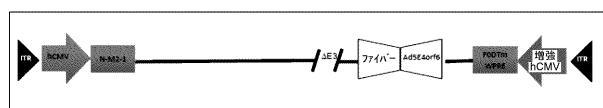
【図5-2】



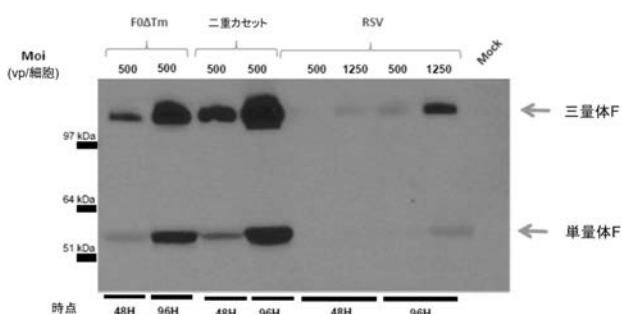
【図6】



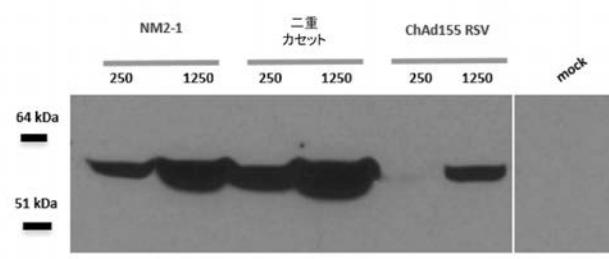
【図7】



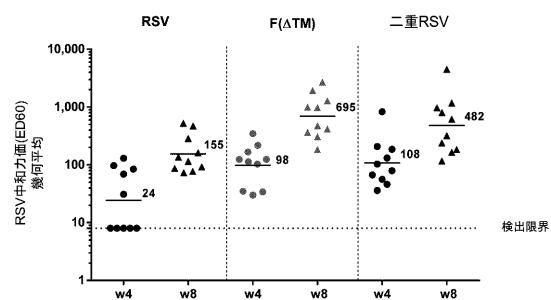
【図8】



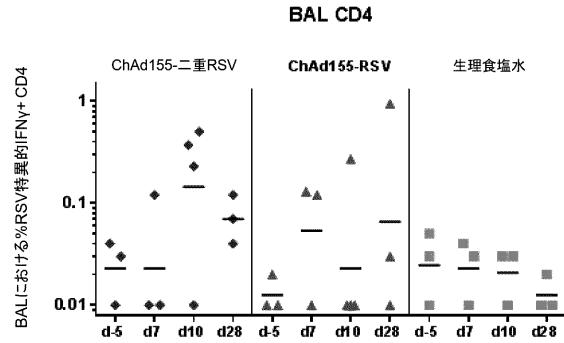
【図9】



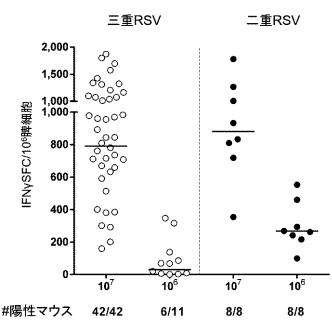
【図 1 0】



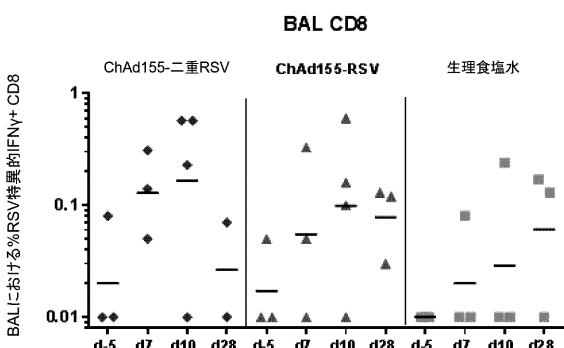
【図 1 2 A】



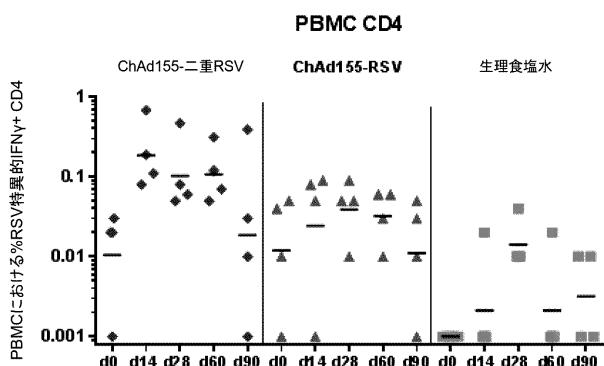
【図 1 1】



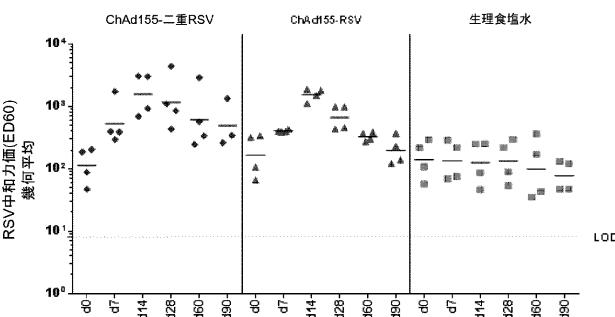
【図 1 2 B】



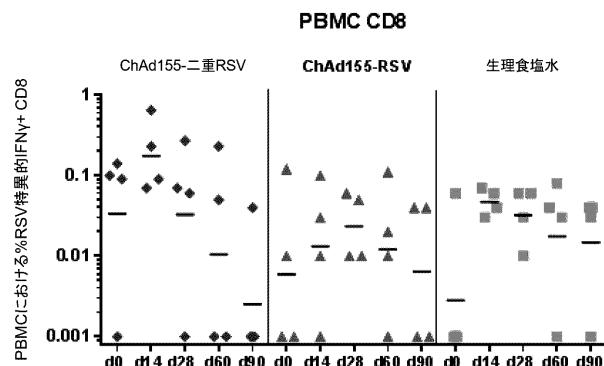
【図 1 3 A】



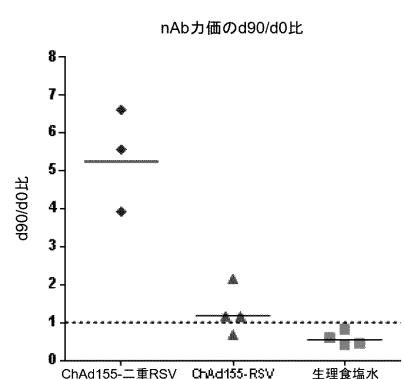
【図 1 4 A】



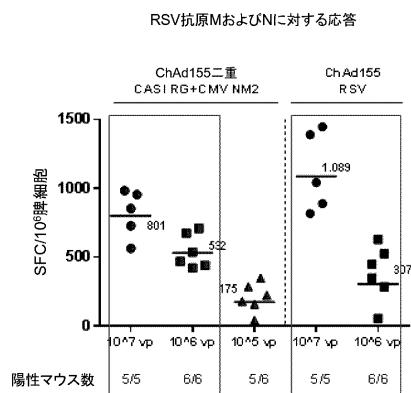
【図 1 3 B】



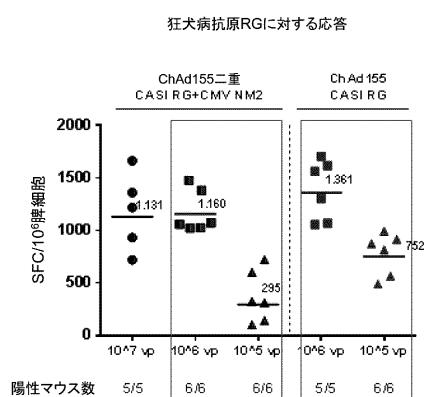
【図 1 4 B】



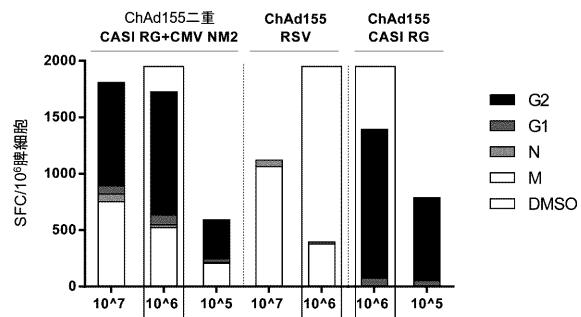
【図 15 A】



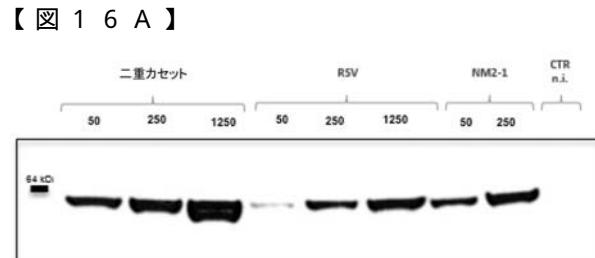
【図 15 B】



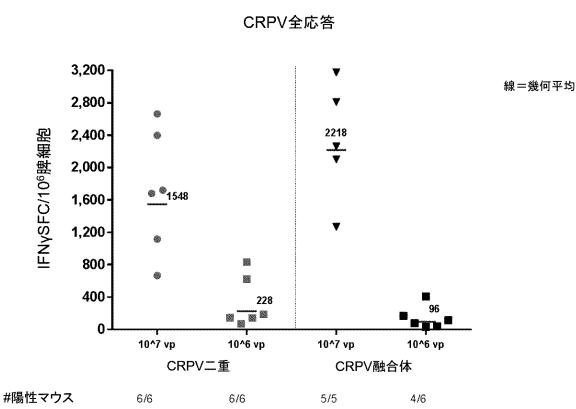
【図 15 C】



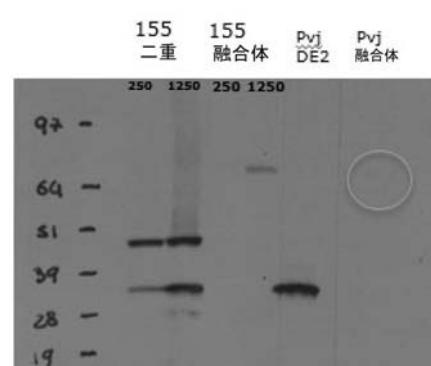
【図 16 A】



【図 17】



【図 18】



【配列表】

2021500880000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2018/078210

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N15/861 A61K39/235 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12N A61K
--

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
--

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
--

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/106002 A2 (UNIV PENNSYLVANIA [US]; GAO GUANGPING [US]; WILSON JAMES M [US]; ZHOU) 10 November 2005 (2005-11-10) figure 2 -----	1-3, 6-11,14, 15,18-22 16,17
X	WO 2017/017049 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA [BE]) 2 February 2017 (2017-02-02) figures 5,6; examples 3.1, 3.2, 5 -----	1,6-11, 14,15, 18-22 16,17
Y		-/-

<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.
--

<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
--

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report
--

16 November 2018

28/11/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016
--

Authorized officer

Brenz Verca, Stefano

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/078210

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JULIANA C. SMALL ET AL: "Construction and Characterization of E1- and E3-Deleted Adenovirus Vectors Expressing Two Antigens from Two Separate Expression Cassettes", HUMAN GENE THERAPY, vol. 25, no. 4, 1 April 2014 (2014-04-01), pages 328-338, XP055523391, US ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/hum.2013.216 Section "Induction of antibody responses"; page 328, right-hand column, lines 6-9; figures 1,6,7 -----	1-3, 6-11, 14-22
Y	D. L. LI ET AL: "Modified recombinant adenoviruses increase porcine circovirus 2 capsid protein expression and induce enhanced immune responses in mice", ACTA VIROLOGICA, vol. 60, no. 03, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 271-280, XP055524650, DOI: 10.4149/av_2016_03_271 page 279, left-hand column, lines 9-18; figures 1,5,6 -----	16,17
1		16,17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2018/078210

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2005106002	A2	10-11-2005	AU 2005238527 A1	10-11-2005
			BR P10510385 A	13-11-2007
			CA 2562893 A1	10-11-2005
			CN 1965086 A	16-05-2007
			EP 1743028 A2	17-01-2007
			JP 5690038 B2	25-03-2015
			JP 2007535326 A	06-12-2007
			KR 20070004877 A	09-01-2007
			MA 28637 B1	01-06-2007
			NZ 550411 A	28-08-2009
			SG 152267 A1	29-05-2009
			US 2007218536 A1	20-09-2007
			WO 2005106002 A2	10-11-2005
<hr/>				
WO 2017017049	A1	02-02-2017	AR 105470 A1	04-10-2017
			AU 2016301029 A1	01-02-2018
			BE 1023915 A1	12-09-2017
			BE 1023916 A1	12-09-2017
			BR 112018001683 A2	18-09-2018
			CA 2993277 A1	02-02-2017
			CA 2993371 A1	02-02-2017
			CN 108135991 A	08-06-2018
			CN 108367061 A	03-08-2018
			EA 201890355 A1	31-08-2018
			EP 3328420 A1	06-06-2018
			EP 3328421 A1	06-06-2018
			JP 2018521666 A	09-08-2018
			JP 2018524393 A	30-08-2018
			KR 20180034589 A	04-04-2018
			US 2018216081 A1	02-08-2018
			US 2018250375 A1	06-09-2018
			WO 2017017049 A1	02-02-2017
			WO 2017017050 A1	02-02-2017
<hr/>				

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT