



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105671083 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 15

(21) 申请号 201610083007. 3

A61P 35/00(2006. 01)

(22) 申请日 2016. 02. 03

(83) 生物保藏信息

CCTCC NO :V201601 2016. 01. 27

(71) 申请人 安徽柯顿生物科技有限公司

地址 242700 安徽省合肥市高新区黄山路
605 号民营科技创业服务中心 229 号

(72) 发明人 孙昌秀

(74) 专利代理机构 北京市科名专利代理事务所
(特殊普通合伙) 11468

代理人 陈朝阳

(51) Int. Cl.

C12N 15/867(2006. 01)

C12N 7/01(2006. 01)

C12N 15/12(2006. 01)

A61K 35/768(2015. 01)

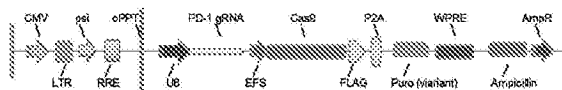
权利要求书1页 说明书12页
序列表6页 附图2页

(54) 发明名称

PD-1 基因重组病毒质粒及构建、重组逆转录病毒 Lenti-PD-1-Puro 及包装与应用

(57) 摘要

本发明公开了一种 PD-1 基因重组病毒。该重组病毒 Lenti-PD-1-Puro 保藏号为 CCTCC No : V201601。本发明是通过将 PD-1gRNA 序列克隆进逆转录病毒质粒 Lenti-CRISPR/Cas9-Puro 中, 得到 PD-1 重组病毒质粒 Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro, 再将此病毒质粒与质粒 pSPAX 及 pMD2.G 共同转染 293T 细胞, 完成重组病毒 Lenti-PD-1-Puro 的包装。此 PD-1 重组病毒感染肿瘤患者外周血的 T 细胞后成功敲除了 T 细胞上的 PD-1, 解除肿瘤患者 T 细胞的抑制状态, 从而使此种 PD-1 重组病毒修饰后的 T 细胞恢复其攻击肿瘤细胞的能力, 达到免疫细胞治疗的作用。



1. 一种PD-1基因重组病毒质粒,属逆转录病毒质粒,命名为慢病毒载体KGEN-0626,于2016年1月27日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏号为CCTCC NO:V201601,其序列为SEQ ID NO:1。

2. 权利要求1所述PD-1基因重组病毒质粒的构建,其是通过选择PD-1基因序列中2859-2878共20个碱基序列即CACGAAGCTCTCCGATGTGT作为PD-1特异性引导RNA即gRNA,并在T4连接酶的作用下与其互补链ACACATCGGAGAGCTTCGTG结合形成双链互补DNA,最后将此双链DNA克隆进病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-Puro即得到重组PD-1病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro。

3. 权利要求1或2所述PD-1基因重组病毒质粒的构建,其特征在于,包括下述步骤:

1) 使用EcoR1和Age1核酸内切酶和磷酸酶37℃处理30分钟去磷酸化Lenti-CRISPR/Cas9质粒;

2) 以PD-1基因序列中2859-2878位的共20个碱基序列作为PD-1特异性引导RNA也即PD-1gRNA,在T4连接酶的作用下将PD-1gRNA引物序列与其互补的链经37℃孵育30分钟,95℃孵育5分钟,再以每分钟5℃的速度降温至25℃的条件退火合成PD-1双链DNA;

3) 使用快速核酸连接酶将PD-1双链DNA与Lenti-CRISPR/Cas9-Puro质粒连接,室温孵育10分钟即可得到重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro。

4. 一种重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro,其特征在于,包含有权利要求1所述的或者由权利要求2或3得到的PD-1基因重组病毒质粒。

5. 权利要求4所述重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro的包装,其特征在于,包括下述步骤:

1) 将重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro转入Stb13细菌,经氨苄青霉素筛选,扩增,纯化,测序;

2) 转染前一天种293T细胞到10cm培养皿,细胞密度以第二天长到细胞80%汇合为宜;培养基为DMEM含10%胎牛血清、5000U的抗生素;

3) 转染前2小时换新鲜培养基,将PD-1重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro与质粒pSPAX、pMD2.G转染试剂混合到1.5ml离心管中;

4) 将混合液轻轻混匀后室温放置10分钟后加入10ml细胞培养基中,轻摇混匀;

5) 37℃,5%CO₂细胞培养箱培养6小时后,更换新鲜培养基;

6) 培养48小时后收集富含病毒的培养基,用0.45um的滤器过滤后分装保存于-80度,或直接用于感染T细胞。

6. 权利要求4所述的或者由权利要求5得到的重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro在制备用于治疗肿瘤细胞的免疫治疗体系中的应用。

PD-1基因重组病毒质粒及构建、重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro及包装与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术及细胞治疗的技术工程领域,具体涉及一种PD-1基因重组病毒质粒,命名为病毒质粒KGEN-0626,于2016年1月27日保藏于位于中国武汉武汉大学的中国典型培养物保藏中心,保藏号为CCTCC NO:V201601,本发明还涉及重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro的包装及在利用该重组病毒对肿瘤细胞进行免疫治疗中的应用。

背景技术

[0002] 癌症已超过心脏疾病,成为全球第一大死亡原因。癌症治疗在过去几十年中取得了可喜的进展。肿瘤治疗除了外科手术外,还包括化疗、放疗及靶向药物治疗。尽管这些方法在一定程度上控制了癌症的发展,但其缺乏特异性,会在杀死肿瘤细胞的同时杀死正常细胞,此外这些药物治疗毒性大,严重损伤了正常免疫系统,影响病人的生存质量。

[0003] PD-1(Programmed Death 1)程序性死亡受体-1:是一种重要的免疫抑制分子。最初从小鼠T细胞杂交瘤2B4.11克隆出来。PD-1抑制疗法是通过解除肿瘤逃避免疫系统能力的新型免疫治疗方法。癌细胞逃避免疫杀伤的一种机制,是通过它的表面产生一种称为程序性死亡配体-1(PD-L1)。当这种PD-L1联接到一类免疫细胞T细胞的PD-1蛋白上即引起T细胞失活。T细胞就不能够发现肿瘤向免疫系统发出攻击肿瘤的信号。

[0004] 该免疫治疗方法的设计思路是,针对肿瘤患者T细胞上的PD-1基因锁定或基因敲除,将使患者T细胞上的PD-1与肿瘤细胞表面的PD-L1不产生联接,从而激活患者自身的T细胞功能,达到杀死肿瘤细胞的目的。

[0005] 目前美国已经有抗PD-1药物的临床实验,证明了这种机理治疗癌症成效显著。2014年施贵宝公司研制的Opdivo(PD-1抑制剂Nivolumab)先后在日本和美国上市,而默沙东公司研制的Keytruda(PD-1抑制剂Pembrolizumab)则是第一个在美国上市的用于晚期转移皮肤黑色素瘤(Melanoma)的抑制剂,该PD-1抑制剂在这些皮肤黑色素瘤晚期转移病人的临床实验中,被发现持续性地抑制肿瘤,大大提高病人的存活时间和存活率(60%的病人存活超过两年)。更令人振奋的病例发生在纽约斯隆·凯特琳癌症纪念研究中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center,MSK)的黑色素瘤病人的治疗反应。一位患有转移性黑色素瘤的49岁女患者,左胸下有一巨大有蒂的坏死性肿瘤。在进行一个剂量的试验性结合免疫治疗3周后,肿瘤消失了。此文发表在4月20号新英格兰杂志(NEJM)上。与此同时,MSK的Paul Chapman博士报道,其有效率达22%(74个病人中有16个治疗后未再发现肿瘤存在)。

[0006] 另外,晚期非小细胞性肺癌(NSCLC)和肝癌(Hepatocellular Cancer)治疗中亦取得相当好的效果。在2015年第5届美国临床肿瘤年会(ASCO)中(5月29日至6月2日在美国芝加哥召开),美国南加州大学Norris大学癌症中心Anthony B.EL-Khoueiry教授报导在一项I/II期研究成果表明Nivolamab治疗晚期肝癌是安全有效的。42名患者有8名患者(19%)肿瘤缩小30%,12个月总存活率为62%,最长达17个月,而目前市场上最新药物索拉菲尼(一种FDA批准的晚期肝癌治疗药物-多靶点酪氨酸激酶抑制剂),客观肿瘤缓解率只有2%的患

者有效,总生存率为10-11个月。施贵宝公司亦公布了Opdivo(Nivolumab)的试验数据,在对582位患者临床试验中,使用标准化疗法,四期肺癌患者生存期为9.4个月,而使用Nivolumab药物治疗,患者平均生存期提高到12.2个月,有的甚至到19.4个月。是常规标准化疗的近2倍。另外,默沙东的Keytruda(Pemboolizumab)是美国首个获批的抗PD-1药物,用于恶性黑色素瘤及非小细胞性肺癌。另外在临床试验中,对胃癌(Gastric Cancer)的有效率达53%的患者肿瘤缩小。食管癌(Esophageal Cancer)患者52%肿瘤缩小,头颈部肿瘤(Head and Neck Cancer)57%的肿瘤缩小。

[0007] 综上所述,PD-1抗体药物治疗肿瘤疗效显著。然而目前国内尚无PD-1抗体,PD-1抗体治疗药物仍在研发之中,尚未进入临床试验。另外,PD-1抗体制备及纯化过程复杂,周期长,制造成本高,造成抗体药物昂贵,事实上普通百姓是难于承受这种高昂的治疗费用。

[0008] 有鉴于此,我们发明了一个PD-1重组病毒的制备方法,并利用此重组病毒进行肿瘤的免疫细胞治疗。

发明内容

[0009] 本发明通过构建PD-1重组病毒质粒,并通过包装得到重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro,同时利用此重组病毒经体外感染T细胞从而敲除T细胞上PD-1受体,从而使此种基因修饰后的T细胞恢复在人体内攻击肿瘤细胞的能力,达到免疫细胞治疗的作用。

[0010] 本发明提供了一种PD-1基因重组病毒质粒,属逆转录病毒质粒,命名为病毒质粒KGEN-0626,于2016年1月27日保藏于中国典型培养物保藏中心,保藏号为CCTCC NO: V201601,其序列为SEQ ID NO:1。

[0011] 本发明还提供了上述所述PD-1基因重组病毒质粒的构建,其是通过选择PD-1基因序列中2859-2878共20个碱基序列即CACGAAGCTCTCCGATGTGT作为PD-1特异性引导RNA即gRNA,并在T4连接酶的作用下与其互补链ACACATCGGAGAGCTTCGTG结合形成双链互补DNA,最后将此双链DNA克隆进病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-Puro即得到重组PD-1病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro。

[0012] 上述所述PD-1基因重组病毒质粒的构建,其具体包括下述步骤:

[0013] 1)使用EcoR1和Age1核酸内切酶和磷酸酶37℃处理30分钟去磷酸化Lenti-CRISPR/Cas9质粒;

[0014] 2)以PD-1基因序列中2859-2878位的共20个碱基序列作为PD-1特异性引导RNA也即PD-1gRNA,在T4连接酶的作用下将PD-1gRNA引物序列与其互补的链经37℃孵育30分钟,95℃孵育5分钟,再以每分钟5℃的速度降温至25℃的条件退火合成PD-1双链DNA;

[0015] 3)使用快速核酸连接酶将PD-1双链DNA与Lenti-CRISPR/Cas9-Puro质粒连接,室温孵育10分钟即可得到重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro。

[0016] 本发明还提供了一种重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro,其包含有PD-1基因重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro。

[0017] 上述所述重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro的包装,包括下述步骤:

[0018] 1)将重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro转入Stb13细菌,经氨苄青霉素筛选,扩增,纯化,测序;

[0019] 2)转染前一天种293T细胞到10cm培养皿,细胞密度以第二天长到细胞80%汇合为

宜;培养基为DMEM,其中含10%胎牛血清、5000U的抗生素;抗生素可以为氨苄青霉素和/或链霉素;

[0020] 3)转染前2小时换新鲜培养基,将PD-1重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro与质粒pSPAX、pMD2.G转染试剂混合到1.5ml离心管中;

[0021] 4)将混合液轻轻混匀后室温放置10分钟后加入10ml细胞培养基中,轻摇混匀;

[0022] 5)37℃,5%CO₂细胞培养箱培养6小时后,更换新鲜培养基;

[0023] 6)培养48小时后收集富含病毒的培养基,用0.45um的滤器过滤后分装保存于-80度,或直接用于感染T细胞。

[0024] 上述步骤中所述培养基均指DMEM培养基,其中含10%胎牛血清、5000U的抗生素,抗生素可以为氨苄青霉素和/或链霉素;

[0025] 本发明还提供了该重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro在制备用于治疗肿瘤细胞的免疫系统中的应用。

[0026] 本发明是通过将PD-1基因的一段特异性引导RNA(gRNA)序列克隆进逆转录病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-Puro中,从而得到PD-1重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro,再将此病毒质粒与另外两种逆转录病毒辅助质粒pSPAX及pMD2.G共同转染293T细胞后,最后包装成重组病毒Lentivirus PD-1-Puro(Lenti-PD-1-Puro)。此PD-1重组病毒感染T细胞后可在Cas9的作用下切割PD-1基因从而敲除T细胞上的PD-1,解除肿瘤患者T细胞的抑制状态并使其激活攻击肿瘤细胞。

[0027] 目前与本发明最接近的现有技术是在欧美及日本等国开展的PD-1抗体治疗肿瘤技术。该抗体治疗技术存在以下几点明显不足之处:第一,很多正常的组织及细胞亦表达少量的PD-1配体,PD-L1或PD-L2,因此PD-1抗体也会结合到这些组织和细胞的配体而产生一些不同程度的副作用;第二,由于PD-1抗体不是仅仅针对肿瘤细胞表面的PD-L1或PD-L2配体(其他组织也表达该配体),因此不可避免的降低抗体治疗的特异性;第三,抗体制备及纯化过程复杂,制造成本高,治疗费用昂贵,且疗程长。有的病人需要半年甚至一年以上的疗程。造成病人沉重的经济负担。相较于PD-1抗体治疗,本发明具有明显的如下优点:

[0028] 1.本发明使用的免疫细胞治疗特异性强,我们使用的技术是特异性敲除T细胞上的PD-1基因,阻碍其与肿瘤细胞表面PD-L1或PD-L2配体的结合,从而解除T细胞被抑制的状态,达到激活T细胞杀灭肿瘤细胞的目的;

[0029] 2.本发明使用患者自身的T细胞在体外敲除PD-1基因,这些T细胞是病人自身的免疫细胞,无免疫排斥作用,细胞来源方便,易在体外培养扩增;

[0030] 3.本发明方法采用的自身的T细胞,相较于抗体治疗费用低,具有安全性、针对性、持久性、全身性及彻底性。

附图说明

[0031] 图1为PD-1基因重组病毒(Lenti-PD-1-Puro)质粒结构示意图;

[0032] 图2为利用PD-1基因重组病毒体外治疗肝癌细胞的应用结果图(应用前后T细胞流式鉴定的结果);肿瘤患者(肝癌志愿者)外周血T细胞,pd-1基因敲除效率(KO efficiency):CD3:35.2%;CD4:26.5%;CD8:47.1%;

[0033] 图3为利用PD-1基因重组病毒体外治疗肺癌细胞的应用结果图(应用前后T细胞流

氏鉴定的结果);肿瘤患者(非小细胞肺癌志愿者)外周血T细胞,pd-1基因敲除效率(KO efficiency):CD3:81.1%;CD4:85.4%;CD8:88.6%。

具体实施方式

[0034] 下述实施例是对于本发明内容的进一步说明以作为对本发明技术内容的阐释,但本发明的实质内容并不仅限于下述实施例所述,本领域的普通技术人员可以且应当知晓任何基于本发明实质精神的简单变化或替换均应属于本发明所要求的保护范围。

[0035] 实施例1(PD-1基因重组病毒的制备)

[0036] 1)采用EcoR1、Age1核酸内切酶和磷酸酶37℃处理30分钟使Lenti-CRISPR/Cas9质粒(Addgene 52961)去磷酸化,得到Lenti-CRISPR/Cas9-Puro质粒;

[0037] 2)以PD-1基因序列中2859-2878位的共20个碱基序列作为PD-1特异性引导RNA也即PD-1gRNA,在T4连接酶(NEB M2200S)的作用下将PD-1gRNA引物序列与其互补的链经37℃孵育30分钟,95℃孵育5分钟,再以每分钟5℃的速度降温至25℃的条件退火合成PD-1双链DNA;

[0038] 3)使用快速核酸连接酶即T4连接酶(NEB M2200S)将PD-1双链DNA与步骤1)所得Lenti-CRISPR/Cas9-Puro质粒连接,室温孵育10分钟即可得到重组病毒质粒 Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro;

[0039] 实施例2(重组逆转录病毒Lenti-PD-1-Puro的包装)

[0040] 1)将重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro转入Stb13细菌,经氨苄青霉素筛选,扩增,纯化,测序,具体如下:

[0041] 筛选:将转入质粒的细菌种在含氨苄青霉素(100微克/毫升)的琼脂板上,37℃孵育12小时后长出10到20个菌落,选择3到5个的菌落进行扩增;

[0042] 扩增:将上述选择的菌落放入300毫升LB细菌培养液(含氨苄青霉素,100微克/毫升),37℃摇床孵育16小时,细菌大量扩增;

[0043] 纯化:用美国Qiagen公司质粒大抽试剂盒(货号12162)进行提纯,得到1到2毫克病毒质粒;

[0044] 测序:将提出的质粒送测序公司(美国Laragen公司)进行测序,选择100%序列正确匹配的病毒质粒作为后续使用。

[0045] 2)转染前一天种293T细胞到10cm培养皿,细胞密度以第二天长到细胞80%汇合为宜;细胞培养基为DMEM,其中含10%胎牛血清、5000U/ml抗生素(3000U/ml氨苄青霉素和2000U/ml链霉素);

[0046] 3)转染前2小时换新鲜细胞培养基,将PD-1重组病毒质粒Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro与辅助包装质粒pSPAX、pMD2.G转染试剂混合到1.5ml离心管中;其中,Lenti-CRISPR/Cas9-PD-1-Puro、pSPAX、pMD2.G的接种量比为4:3:1;

[0047] 4)将混合液轻轻混匀后室温放置10分钟后加入10ml细胞培养基中,轻摇混匀;

[0048] 5)37℃,5%CO₂细胞培养箱培养6小时后,更换新鲜细胞培养基;

[0049] 6)再培养48小时后收集富含病毒的培养基,用0.45um的滤器过滤后分装保存于-80℃,可直接用于感染T细胞。

[0050] 应用例

- [0051] 利用PD-1基因重组病毒对肿瘤T细胞感染进行免疫细胞治疗
- [0052] 1. 恶性肿瘤患者(实体瘤志愿者)外周血T细胞的分离与纯化(ficoll paque)
- [0053] 1) 静脉取血30毫升加入30毫升的PBS含50u/毫升的肝素;
- [0054] 2) 取2个50毫升离心管分别加入20毫升ficoll-paque plus(比重:1.077克/毫升),
- [0055] 3) 再将稀释后的静脉血30毫升加到Ficoll的上层,应注意保持两者界面清晰;
- [0056] 4) 20℃, 400g/分钟离心30分钟,后取中间层细胞到50毫升离心管中;
- [0057] 5) 加入30毫升PBS悬浮细胞后,100g每分钟离心5分钟;
- [0058] 6) 重复步骤4后,计数培养T细胞。
- [0059] 2. PD-1病毒感染T细胞
- [0060] 1) 用重组白细胞介素-2(IL-2), 30纳克/毫升刺激活化T细胞72小时;
- [0061] 2) 将以上收集的病毒培养基与T细胞培养基(RPMI1640含10%胎牛血清)按1:1(v/v)混合后感染T细胞同时加入polybrener 10微克/毫升增加感染效率;
- [0062] 3. T细胞的收集及鉴定
- [0063] 1) 感染T细胞24小时后,收集并离心T细胞,并更换新鲜培养基(RPMI 1640含10%胎牛血清)培养48小时,收集并离心T细胞,经细胞计数后用生理盐水冲洗2-3次。
- [0064] 2) 使用PD-1抗体试剂采用流式分析(Flow cytometry)鉴定:鉴定经重组病毒感染后肿瘤患者外周血中T细胞此时的PD-1的敲除率(CD3、CD4、CD8)。肿瘤细胞实施此种方法分别治疗肝癌、肺癌前后的结果分别见图2、图3。经鉴定,此时T细胞上的PD-1敲除率可在26-89%,我们称之为基因修饰过的T细胞,即完成了此种PD-1基因重组病毒体外治疗肿瘤细胞的应用。
- [0065] 由图2:提取肝癌病人外周血T细胞后分为两组,一组用PD-1病毒(Lenti-PD-1)感染,另一组用对照病毒(Lenti-PLJM)感染。经流式细胞分析,结果表明,CD3阳性T细胞中PD-1的表达由对照组的28.1%下降到PD-1病毒感染组的18.2%,敲除率为35.2%;CD4阳性T细胞中PD-1的表达由23.8%下降到17.5%,敲除率为26.5%;CD8阳性T细胞中PD-1的表达由23.8%下降到12.6%,敲除率为47.1%。
- [0066] 由图3:提取肺癌病人外周血T细胞后分为两组,一组用PD-1病毒(Lenti-PD-1)感染,另一组用对照病毒(Lenti-PLJM)感染。经流式细胞分析,结果表明,CD3阳性T细胞中PD-1的表达由对照组的60.53%下降到PD-1病毒感染组的11.40%,敲除率为81.1%;CD4阳性T细胞中PD-1的表达由52.93%下降7.75%,敲除率为85.4%;CD8阳性T细胞中PD-1的表达由41.54%下降到4.74%,敲除率为88.6%。

[0067]

SEQUENCE LISTING

<110>安徽柯顿生物科技有限公司

<120> PD-1 基因重组病毒质粒及构建、重组逆转录病毒 Lenti-PD-1-Puro
及包装与应用

<160> 1

<210>1

<211>14873

<212>DNA

<213>人工序列

<400>1

```

gtcgacggat  egggagatct  cccgatcccc  tatggtgca  tctcagtaca  atctgctctg      60
atgccgcata  gttaagccag  tatctgctcc  ctgcttgtgt  gttggaggtc  gctgagtagt     120
gcgcgagcaa  aatttaagct  acaacaaggc  aagccttgac  cgacaattgc  atgaagaatc     180
tgetttaggt  taggcgtttt  gegctgcttc  gcgatgtacg  ggccagatat  acgcgttgac     240
attgattatt  gactagttat  taatagtaat  caattacggg  gtcattagtt  catagcccatt     300
atatggagtt  ccgcgttaca  taacttacgg  taaatggccc  gectggetga  ccgcccacac     360
accccegecc  attgaegtca  ataatgacgt  atgttcccat  agtaacgcca  atagggactt     420
tceattgacg  teaatgggtg  gagtatttac  ggtaaacitg  ccaettggca  gtacatcaag     480
tgtatcatat  gccaaagtac  cccctatttg  acgtcaatga  cggtaaatgg  cccgcctggc     540
attatgcccc  gtacatgacc  ttatgggact  ttctactctg  gcagtacatc  tacgtatttag     600
tcatcgctat  taccatgggt  atgcggtttt  ggcagtacat  caatgggcgt  ggatagcggg     660
ttgactcaag  gggatttcca  agtctccacc  ccattgacgt  caatgggagt  ttgttttggc     720
accaaaatca  acgggacttt  ccaaaaatgc  gtaacaacte  cgccccattg  acgcaaatgg     780
gcggtaggcg  tgtacgggtg  gaggtctata  taagcagcgc  gttttgcctg  tactgggtct     840
ctctggttag  accagatctg  agcctggggg  ctctctggct  aactagggaa  cccactgett     900
aagcctcaat  aaagcttgcc  ttgagtgcct  caagtagtgt  gtgcccgtct  gttgtgtgac     960
tctggtaact  agagatecct  cagacccttt  tagtcagtgt  ggaaaatctc  tagcagtggc    1020
gcccgaacag  ggacttgaaa  gcgaaaggga  aaccagagga  gctctctcga  cgcaggactc    1080
ggcttgctga  agcgcgcacg  gcaagaggcg  aggggcggcg  actggtgagt  acgccccaaaa    1140
ttttgactag  cggaggctag  aaggagagag  atgggtgcga  gagcgtcagt  attaagcggg    1200
ggagaattag  atcgcgatgg  gaaaaaatte  ggtaaaggcc  agggggaaag  aaaaaatata    1260
aattaaaaca  tatagtatgg  gcaagcaggg  agctagaacg  attcgcagtt  aatcctggcc    1320
tgtagaaac  atcagaaggc  tgtagacaaa  tactgggaca  gctacaacca  tcccttcaga    1380
caggatcaga  agaacttaga  tcattatata  atacagtage  aacctctat  tgtgtgcatc    1440
aaaggataga  gataaaagac  accaaggaag  ctttagacaa  gatagaggaa  gagcaaaaaca    1500
aaagtaagac  caccgcacag  caageggcgg  ctgatcttca  gacctggagg  aggagatatg    1560
agggacaatt  ggagaagtga  attatataaa  tataaagtag  faaaaattga  accattagga    1620

```


[0068]

gtagcaccca	ccaaggcaaa	gagaagagt	gtgcagagag	aaaaaagagc	agtgggaata	1680
ggagctttgt	tccttgggtt	cttgggagca	gcaggaagea	ctatgggagc	agegtcaatg	1740
acgctgacgg	tacagccag	acaattattg	tctggtatag	tgcagcagca	gaacaatttg	1800
ctgagggcta	ttgagcgca	acagcatctg	ttgcaactca	cagtctgggg	catcaagcag	1860
ctccaggcaa	gaatcetggc	tgtggaaaga	facctaaagg	atcaacagct	cctggggatt	1920
tggggttgct	ctggaaaact	catttgcacc	actgetgtgc	cttgggaatgc	tagttggagt	1980
aataaatctc	tggaacagat	ttggaatcac	acgacctgga	tggagtggga	cagagaaatt	2040
aacaattaca	caagcttaat	aeactcetta	attgaagaat	cgcaaaaacca	gcaagaaaag	2100
aatgaacaag	aattattgga	attagataaa	tgggcaagtt	tgtggaattg	gtttaacata	2160
acaaattggc	tgtggtatat	aaaattatc	ataatgatag	taggaggctt	ggtaggttta	2220
agaatagttt	ttgctgtact	ttctatagt	aatagagtta	ggcagggata	ttcaccatta	2280
tcgtttcaga	eccacctccc	aaccccagg	ggacccgaca	ggcccgaagg	aatagaagaa	2340
gaaggtggag	agagagacag	agacagatcc	attcgattag	tgaacggatc	ggcactgcgt	2400
gcgccaattc	tgcagacaaa	tggcagtatt	catccacaat	tttaaaagaa	aaggggggat	2460
tggggggtac	agtgcagggg	aaagaatagt	agacataata	gcaacagaca	tacaaactaa	2520
agaattacaa	aaacaaatta	caaaaattca	aaatttcgg	gtttattaca	gggacagcag	2580
agatccagtt	tggtaatta	aggtaccgag	ggcctatttc	ccatgattcc	ttcatatttg	2640
catatacgat	acaaggctgt	tagagagata	attagaatta	atttgactgt	aaacacaaag	2700
atattagtac	aaaatacgtg	acgtagaaag	taataatttc	ttgggtagtt	tgcagtttta	2760
aaattatgtt	ttaaaatgga	ctatcatatg	cttaccgtaa	cttgaaagta	tttegatttc	2820
ttggctttat	atatcttgtg	gaaaggacga	aacaccggag	acggttgtaa	atgagcacac	2880
aaaatacaca	tgctaaaata	ttatattcta	tgacctttat	aaaatcaacc	aaaatcttct	2940
ttttaataac	tttagtatec	ataattagaa	ttttatgitt	ccftttttgca	aacttttaat	3000
aaaaatgagc	aaaataaaaa	aacgetagtt	ttagtaacte	gcgttgtttt	cttcaccttt	3060
aataatagct	actccaccac	ttgttctaa	gcggtcagct	cctgettcaa	tcattttttg	3120
agcatcttca	aatgttctaa	ctccaccagc	tgccttaact	aaagcattgt	ctttaacaac	3180
tgacttcatt	agtttaacat	cttcaaatgt	tgcacctgat	tttgaaaatc	ctggtgatgt	3240
tttaacaaat	tetaatccag	cttcaacagc	tatttcacaa	gctttcatga	tttcttcttt	3300
tgttaataaa	caattttcca	taatacattt	aacaacatgt	gatccagctg	ctttttttac	3360
agctttcatg	tcttetaaaa	ctaattcata	atttttgtct	tttaatgcac	caatatttaa	3420
taccatatac	atctctgttg	caccatcttt	aattgcttca	gaaacttcga	atgettttgt	3480
agctgtttgt	catgcacctc	gaggaaaacc	tacaacattt	gttatctcta	catttgtgcc	3540
ttttaataat	tctttacaat	agcttgttca	atatgaatta	acacaaactg	ttgcaaaate	3600
aaattcaatt	gettatecac	ataattgitt	aatttcagct	ttcgtagcat	cttgttttaa	3660
taatgtgtga	tctatatatt	tgtttagttt	cattttttct	cctatatatt	catttttaat	3720
tttaattctt	taataatttc	gttacttta	actttagcgt	tttgaacaga	ttcaccacaa	3780
cctataaaat	aaatttttag	tttaggttca	gttccacttg	ggcgaacagc	aatcatgac	3840
ttatctteta	aataaaattt	tagtaagtct	tgtcctggca	tattatacat	ttcatcgatg	3900
tagtcttcaa	cattaacaac	tttaagtcca	gcaatttgag	ttaaggggtg	tgetctcaat	3960
gatttcatta	atggttcaat	ttttaatttc	tttctctctg	gtttaaaatt	caagtttaaa	4020
gtgaaagtgt	aatatgcacc	catttcttta	aataaatctt	ctaaatagtc	tactaatggt	4080
ttattttggt	ttttataaaa	tcaagcagcc	tctgctatta	atatagaagc	ttgtattcca	4140
tctttatctc	tagctgagtc	atcaattaca	tatccataac	tttcttcata	agcaaaaaaca	4200

[0069]

aaatttaate	cgttatette	ttetttagca	atttctctac	ccattcatti	aaatccagtt	4260
aaagtthtta	caatattaac	tccatatttt	lcatgagcga	ttetatcacc	caaatcaett	4320
gttacaaaaac	ttgaatatag	agcaggattt	tttggaatgc	tatttaagcg	tttttagattt	4380
gataattttc	aatcaattaa	aattggteet	gtttgatttc	catetaatet	tacaaaatga	4440
ccatcatggt	ttattgceat	tccaaatctg	tcagcatctg	ggtcattcat	aataataata	4500
tctgcatcat	gtttaatacc	atattcaage	ggtatttttc	atgcaggate	aaattctgga	4560
tttgatttta	caacattttt	aaatgttca	tettcaaatg	catgctcttc	aacctcaata	4620
acgttatatac	ctgattcagc	taatattttt	ggggtaaatt	tagttectgt	tccattaact	4680
gcgctaaaaa	taatttttaa	atctttttta	gettcttgc	cttttttgta	cgtctctggt	4740
ttagagctag	aaatagcaag	ttaaaataag	getagtcctg	tatcaacttg	aaaaagtggc	4800
accgagtcgg	tgcttttttg	aattcgctag	ctaggtcttg	aaaggagtgg	gaattggctc	4860
cggtgcccgt	cagtgggcag	agcgcacatc	gcccacagtc	cccgagaagt	tggggggagg	4920
ggtcggcaat	tgatccgggtg	cctagagaag	gtggcgcggg	gtaaacggg	aaagtgatgt	4980
cgtgtaetgg	ctcegecttt	ttcccagggg	tgggggagaa	ccgtatataa	gtgcagtagt	5040
cgecgtgaac	gttctttttc	gcaacgggtt	tgccgccaga	acacaggacc	ggttctagag	5100
cgetgccaac	atggacaaga	agtacagcat	cggcctggac	atcggcacca	actctgtggg	5160
ctgggcccgtg	atcaccgacg	agtacaaggt	gcccagcaag	aaatteaagg	tgetgggcaa	5220
caccgaccgg	cacagcatea	agaagaacct	gatcggagcc	ctgctgttcg	acagcggcga	5280
aacagcccag	gccaccggc	tgaagagaac	cgccagaaga	agatacacca	gacggaagaa	5340
ccgatctgc	tatctgcaag	agatcttcag	caacgagatg	gccaaagggtg	acgacagett	5400
cttccacaga	ctggaagagt	ccttcttggt	ggaagaggat	aagaagcacg	agcggcacc	5460
catcttcggc	aacatcgtgg	acgaggtggc	ctaccacgag	aagtacccca	ccatctacca	5520
cetgagaaaag	aaactggtgg	acagcaccga	caaggecgac	ctgcggetga	tctatctgge	5580
cctggcccac	atgateaagt	tecggggcca	cttctgac	gagggcgacc	tgaaccccga	5640
caacagcgac	gtggacaage	tgttcatcca	getggtgeag	acctacaacc	agctgttcga	5700
ggaaaacccc	atcaacgcca	geggcgtgga	cgccaaggcc	atctgtctg	ccagactgag	5760
caagagcaga	cggctgga	atctgatcgc	ccagctgccc	ggcgagaaga	agaatggcct	5820
gttcggaaac	ctgattgecc	tgagcctggg	cctgaccccc	aacttcaaga	gcaacttcga	5880
cctggcccag	gatgccaac	tgcagctgag	caaggacacc	tacgacgacg	acctggacaa	5940
cctgctggcc	cagatcggeg	accagtaegc	cgacctgttt	ctggccgcca	agaacctgtc	6000
cgacgccate	ctgetgagcg	acatctgag	agtgaacacc	gagatcacca	agccccccct	6060
gagcgcctct	atgatcaaga	gatacgacga	gcaccaccag	gacctgacce	tgetgaaagc	6120
tctcgtgagg	cagcagctgc	ctgagaagta	caaagagatt	ttcttcgacc	agagcaagaa	6180
eggetacgcc	ggctacattg	acggcggagc	cagccaggaa	gagttctaca	agttcatcaa	6240
gcccactctg	gaaaagatgg	acggcaccga	ggaactgctc	gtgaagctga	acagagagga	6300
cctgctgagg	aagcagcgga	ccttcgacaa	cggcagcacc	ccccaccaga	tccacctggg	6360
agagctgcac	gccattctgc	ggcggcagga	agatttttac	ccattcctga	aggacaaccg	6420
ggaaaagatc	gagaagatec	tgaecttcg	catcccctac	tacgtgggce	ctctggccag	6480
gggaaacagc	agattcgect	ggatgaccag	aaagagcgag	gaaaccatca	ccccctggaa	6540
cttcgaggaa	gtgggtggaca	agggcgttc	cgcccagagc	ttcatcgagc	ggatgaccaa	6600
cttcgataag	aacctgcccc	acgagaaggt	getgcccag	cacagcctgc	tgtacgagta	6660
cttcaccgtg	tataacgagc	tgaccaaagt	gaaatacgtg	accgaggga	tgagaaaagcc	6720
cgccttctctg	agcggcagc	agaaaaagcc	catcgtggac	ctgctgttca	agaccaaccg	6780

[0070]

gaaagtgacc	gtgaagcagc	tgaagagga	ctacttcaag	aaaatcgagt	gcttcgactc	6840
cgtggaaatc	tccggcgtgg	aagatcggft	caacgcctcc	ctgggcacat	accacgatct	6900
gctgaaaatt	atcaaggaca	aggacttcct	ggacaatgag	gaaaacgagg	acattcttga	6960
agatatactg	ctgaccctga	cactgtttga	ggacagagag	atgatcgagg	aacggctgaa	7020
aacctatgcc	caectgttcg	acgacaaagt	gatgaagcag	ctgaagcgge	ggagatacac	7080
eggctggggc	aggctgagcc	ggaagctgat	caacggcacc	cgggacaagc	agtcggcaa	7140
gacaatcctg	gatttcctga	agtcgacgg	cttcgccaac	agaaacttca	tgcagctgat	7200
ccacgacgac	agcctgacct	ttaaagagga	catccagaaa	gcccgagtgt	ccggccaggg	7260
cgatagcctg	cacgagcaca	ttgccaatct	ggccggcagc	cccgccatta	agaagggcat	7320
cctgcagaca	gtgaaggtgg	tggacgagct	cgtgaaagtg	atgggcccgc	acaagcccga	7380
gaacatcgtg	atcgaaatgg	ccagagagaa	ccagaccacc	cagaagggac	agaagaacag	7440
cegcgagaga	atgaagcgga	tcgaagaggg	catcaaagag	ctgggcagcc	agatcctgaa	7500
agaacacccc	gtggaaaaca	cccagctgca	gaacgagaag	ctgtacctgt	actacctgca	7560
gaatggggcg	gatatgtacg	tggaccagga	actggacacc	aaccggctgt	cegactacga	7620
tgtggacct	atcgtgcctc	agagcttct	gaaggacgac	tccatcgaca	acaaggtgct	7680
gaccagaagc	gacaagaacc	ggggcaagag	cgacaacgtg	ccctccgaag	aggctcgtgaa	7740
gaagatgaag	aactactggc	ggcagctgct	gaacgccaa	ctgattacc	agagaaagtt	7800
cgacaatctg	accaaggccg	agagaggcgg	cctgagcga	ctggataagg	ccggcttcat	7860
caagagacag	ctggtggaaa	cccggcagat	cacaaagc	gtggcacaga	tcctggactc	7920
ecggatgaac	actaagtacg	acgagaatga	caagctgacc	cggaagtga	aagtgatcac	7980
cctgaagtcc	aagetggigt	ccgatttccg	gaaggatttc	cagttttaca	aagtgcgcga	8040
gatcaacaac	taccaccacg	cccacgacgc	ctacctgaac	gccgtcgtgg	gaaccgccct	8100
gatcaaaaag	taccetaagc	tggaaagcga	gttcgtgtac	ggcgactaca	agggtgtacga	8160
cgtgcggaag	atgatcgcca	agagcgagca	ggaaatcgcc	aaggctaccg	ccaagtactt	8220
cttctacagc	aacatcatga	actttttcaa	gaccgagatt	accctggcca	acggcgagat	8280
ecggaagcgg	cctctgatcg	agacaaacgg	cgaaaccggg	gagatcgtgt	gggataaggg	8340
ecgggatttt	gccaccgtgc	ggaaagtgct	gagcatgccc	caagtgaata	tcgtgaaaaa	8400
gaccgaggtg	cagacaggcg	gcttcagcaa	agagcttacc	ctgcccaga	ggaacagcga	8460
taagctgacc	gccagaaaga	aggactggga	ccctaagaag	tacggcggct	tcgacagccc	8520
caccgtggcc	tattctgtgc	tgggtgtggc	caaagtggaa	aaggccaagt	ccaagaaact	8580
gaagagtgtg	aaagagctgc	tggggatcac	catcatggaa	agaagcagct	tcgagaagaa	8640
tccatcgacc	tttctggaag	ccaagggcta	caaagaagtg	aaaaaggacc	tgateatcaa	8700
gctgcctaag	tactccctgt	tcgagctgga	aaacggcccg	aagagaatgc	tggcctctgc	8760
eggcgaactg	cagaagggaa	acgaactggc	cctgcccctc	aaatatgtga	acttctctga	8820
cctggccagc	cactatgaga	agctgaaggg	ctccccgag	gataatgagc	agaaacagct	8880
gtttgtggaa	cagcacaagc	actacctgga	cgagatcacc	gagcagatca	gcgagttctc	8940
caagagagtg	atcctggccc	acgtaatct	ggacaaagtg	ctgtccgccc	acaacaagca	9000
ecgggataag	cccacagag	agcaggcccga	gaatataacc	caactgttta	ccctgaccaa	9060
tctgggagcc	cctgcccctc	tcaagtactt	tgacaccacc	atcgaccgga	agaggtacac	9120
cagcaccaaa	gaggtgctgg	aecccacct	gatccaccag	agcateaccg	gcctgtaega	9180
gacacggacc	gacctgtctc	agetgggagg	cgacaagcga	cctgccgcca	caaagaaggc	9240
tggacagget	aagaagaaga	aagattacaa	agacgatgac	gataagggat	ccggcgcaac	9300
aaacttctct	ctgetgaaac	aagccggaga	tgctgaagag	aatcctggac	cgaccgagta	9360

[0071]

caagcccacg	gtgcgccctcg	ccaccgcgga	cgacgtcccc	agggccgtac	gcaccctcgc	9420
cgcccggttc	gccgaactacc	ccgccacgcg	ccacaccgtc	gatccggacc	gccacatcga	9480
gegggtcacc	gagctgcaag	aactcttcct	cacgcgcgtc	gggtctgaca	tcggcaaggt	9540
gtgggtcgeg	gacgacggcg	ccgcggtgge	ggtctggacc	acgccggaga	gcgtcgaage	9600
gggggcggtg	ttegccgaga	teggcccgcg	catggccgag	ttgagcggtt	cccggctgge	9660
cgcgagcaa	cagatggaag	gectcttgge	gcgcaccgg	cccaaggagc	ccgctggtt	9720
cctggccacc	gteggagtct	cgcccacca	ccagggcaag	ggtctgggca	gcgccgtcgt	9780
gctccccgga	gtggaggcgg	ccgagcgcgc	cggggtgccc	gccttctgg	agacctccgc	9840
gccccgcaac	ctccccctt	acgagcggct	cggcttcacc	gtcaccgccg	acgtcgaggt	9900
gccccgaagga	ccgcgcacct	ggtgeatgac	ccgcaagccc	ggtgcctgaa	cgcgttaagt	9960
cgacaatcaa	cctctggatt	acaaaatttg	tgaaagattg	actggtattc	ttaactatgt	10020
tgetctttt	acgctatgtg	gatacgtcgc	tftaatgcct	ttgtatcatg	ctattgcttc	10080
cegtatgget	tccattttct	cctccttgta	taaatcctgg	ttgetgtctc	tttatgagga	10140
gttgtggccc	gttgtcagge	aacgtggcgt	ggtgtgcact	gtgtttgctg	aegcaacccc	10200
cactggttgg	ggcattgcca	ccacctgtea	getccttcc	gggaactttcg	ctttccccct	10260
ccctattgcc	acggcggaac	tcctgcgccg	ctgccttgcc	cgtctctgga	caggggctcg	10320
gctgttggge	actgacaatt	ccgtggtgtt	gtcggggaaa	tcctcgtcct	ttccttggct	10380
gctcgcctgt	gttgccacct	ggattctgcg	cgggacgtcc	ttctgetacg	tcccctcggc	10440
cctcaateca	geggacette	cttcccgcgg	cctgctgecg	gctctgcgge	ctcttccgcg	10500
tcttegectt	cgccctcaga	cgagtcggat	ctcccttgg	gccgcctccc	cgcgtcgact	10560
ttaagaccaa	tgaettacaa	ggeagctgta	gatcttagcc	actttttaaa	agaaaagggg	10620
ggactggaag	ggetaattca	ctcccaacga	agacaagate	tgtttttgce	ttgtactggg	10680
tctctctggt	tagaccagat	ctgagcctgg	gagctctctg	gctaactagg	gaacccactg	10740
cttaagcctc	aataaagctt	gccttgagtg	cttcaagtag	tgtgtgcccc	tcigtgtgtg	10800
gactctggta	actagagate	cctcagacct	ttttagtcag	tgtggaaaat	ctctagcagg	10860
gcccgtttaa	acecgctgat	eagcctcgac	tgtgccttct	agttgccage	catctgttgt	10920
ttgcccctcc	cccgctgcctt	ccttgacct	ggaaggtgcc	actcccactg	tcctttccta	10980
ataaaatgag	gaaattgcat	cgcattgtct	gagtaggtgt	cattctattc	tggggggtgg	11040
ggtggggcag	gacagcaagg	gggaggattg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	11100
ggtgggctct	atggettctg	aggcggaaag	aaccagctgg	ggctctaggg	ggtatcccc	11160
cgcgccctgt	agcggcgcat	taagegcggc	gggtgtgggt	gttacgcgca	gcgtgaccgc	11220
tacacttgc	agegccctag	cgccegetcc	tttctcttcc	ttcccttct	ttctegccac	11280
gttcgcggge	tttccccgctc	aagctctaaa	tcgggggctc	cctttagggt	tccgatttag	11340
tgctttacgg	cacctcgacc	ccaaaaact	tgattagggt	gatggttcac	gtagtgggccc	11400
atcgccctga	tagacggttt	ttegcccctt	gacgttgag	tccacgttct	ttaatagtgg	11460
actcttcttc	caaacctggaa	caaacctcaa	ccctatctcg	gtctattctt	ttgatttata	11520
agggattttg	ccgatttccg	cctattggtt	aaaaaatgag	ctgatttaac	aaaaatttaa	11580
cgcaattaa	ttctgtggaa	tgtgtgtcag	ttagggtgtg	gaaagtcgcc	aggctcccc	11640
gcaggcagaa	gtatgcaag	catgcattct	aattagtcag	caaccagggt	tggaaagtcc	11700
ccaggctccc	cagcaggcag	aagtatgcaa	agcatgcate	tcaattagtc	agcaaccata	11760
gteccgcccc	taactcgcgc	cateccgcgc	ctaactcgcg	ccagttccgc	ccattctcgc	11820
ccccatgget	gactaatttt	ttttatttat	gcagaggccc	aggccgcctc	tgcctctgag	11880
ctattccaga	agtagtgagg	aggtttttt	ggaggcctag	gcttttgcaa	aaagctcccc	11940

[0072]

ggagcttgta	tatccatfff	cggatctgat	cagcacgtgt	tgacaattaa	tcacggcat	12000
agtatafcgg	catagtataa	tacgacaagg	tgaggaaacta	aaccatggcc	aagttgacca	12060
gtgccgttcc	ggtgctcacc	gcccgcgacg	tcgccggagc	ggfcgagttc	tgaccgcacc	12120
ggctcgggtt	ctcccgggac	ttcgtggagg	acgacttcgc	cgggtgggtc	cgggacgacg	12180
tgacctgttt	catcagcgcg	gtccaggacc	aggtgggtcc	ggacaacacc	ctggcctggg	12240
tgtgggtgcg	cgccctggac	gagctgtaeg	ccgagtggtc	ggaggtegtg	tccaegaact	12300
tccgggaecg	ctccgggccc	gcatgaccg	agatcggcga	gcagccgtgg	ggcggggagt	12360
tcgccctgcg	cgaccggccc	ggcaactgcg	tgcacttcgt	ggccgaggag	caggactgac	12420
acgtgctacg	agatttcgat	tecaccgccc	cctctatga	aaggttgggc	ttcggaatcg	12480
ttttccggga	cgccggctgg	atgatectcc	agcgcgggga	tctcatgctg	gagttcttcg	12540
cccaccccaa	cttgtttatt	gcagcttata	atggttacia	ataaagcaat	agcatcacia	12600
atttcacaaa	taaagcattt	tttcaactgc	attctagtgt	tggtttgtcc	aaactcata	12660
atgtatctta	tcatgtctgt	ataccgtcga	cctctagcta	gagcttggcg	taatcatggt	12720
catagctgtt	tcctgtgtga	aattgttatc	cgtccacaat	tccacacaa	atacgagecg	12780
gaagcataaa	gtgtaaagcc	tgggggtgct	aatgagtgag	ctaactcaca	ttaattgctt	12840
tgcgctcact	gcccgtttc	cagtcgggaa	acctgctgtg	ccagctgcat	taatgaatcg	12900
gccaacgcgc	ggggagaggc	ggtttgcgta	ttgggcctc	ttccgcttc	tcgctcactg	12960
actcgtgctg	ctcggctggt	cggtgcggc	gagcggatc	agctcactca	aaggcggtaa	13020
tacggttate	cacagaatca	ggggataacg	caggaaagaa	catgtgagca	aaaggccage	13080
aaaaggccag	gaaccgtaaa	aaggccgctt	tgctggcgtt	tttccatagg	ctccgcccc	13140
ctgacgagca	tcacaaaaat	cgacgtcaa	gtcagagggt	gcaaaaccg	acaggactat	13200
aaagatacca	ggcgtttccc	cctggaaget	ccctcgtgcg	ctctcctggt	ccgaccctgc	13260
cgcttaccgg	atacctgtcc	gcctttctcc	cctcgggaag	cgtggcgtt	tctcatagct	13320
cacgctgtag	gtatctcagt	tegggttagg	tegttcctc	caagctgggc	tgtgtgcaeg	13380
aaacccccgt	tcageccgac	cgtgcgctt	tatccggtaa	ctatcgtctt	gagtcacaac	13440
cggtaaagca	cgacttatcg	ccaetggcag	cagccactgg	taacaggatt	agcagagcga	13500
ggatgttagg	cggtgctaca	gagttcttga	agtgggtggc	taactacggc	tacactagaa	13560
gaacagtatt	tggtatctgc	gctctgctga	agccagttac	cttcggaaaa	agagttggta	13620
gctcttgatc	cggcaaaaa	accaccgctg	gtagcgggtg	ttttttgtt	tgcaagcagc	13680
agattacgcg	cagaaaaaaa	ggatctcaag	aagatccttt	gatctttct	acggggtctg	13740
acgctcagtg	gaecgaaaac	tcacgtaag	ggattttggt	catgagatta	tcaaaaagga	13800
tcttcaceta	gatcctttta	aattaaaaat	gaagttttaa	atcaatctaa	agtatatatg	13860
agtaaaactt	gtctgacagt	taccaatget	taatcagtga	ggcacctate	tcagegatct	13920
gtctatttct	ttcatccata	gttgectgac	tcccctcgt	gtagataact	acgatacggg	13980
agggttacc	atctggcccc	agtgtgcaa	tgataaccg	agaccacgc	tcaccggctc	14040
cagatttate	agcaataaac	cagccagccc	gaagggccga	gcccagaagt	ggtcctgcaa	14100
ctttatccgc	ctccatccag	tctattaatt	gttgccggga	agctagagta	agtagttcgc	14160
cagttaatag	tttgcccaac	gttgttgcga	ttgctacagg	catcgtgggt	tcacgctcgt	14220
cgtttggtat	ggcttcattc	agctccggtt	cccaacgac	aaggcagatt	acatgatecc	14280
ccatgtttgt	caaaaaagcg	gtagctctc	tcggtcctcc	gatcgttgct	agaagtaagt	14340
tgcccgagct	gttateactc	atggttatgg	cagcactgca	taattctctt	actgtcatgc	14400
catecgtaag	atgctttctt	gtgactgggt	agtaactaac	caagtcattc	tgagaatagt	14460
gtatgcggcg	accgagttgc	tcttgcccgg	cgtaataacg	ggataatacc	gcccacata	14520

[0073]

gcagaacttt	aaaagtgetc	atcattggaa	aacgttcttc	ggggcgaaaa	ctctcaagga	14580
tcttaccget	gttgagatec	agttcgatgt	aacceacteg	tgacaccaac	tgatcttcag	14640
catcttttac	ttcaccagc	gtttctgggt	gagcaaaaac	aggaaggcaa	aatgccgcaa	14700
aaaagggaat	aagggcgaca	cggaaatggt	gaatacteat	actcttctct	tttcaatatt	14760
attgaagcat	ttatcagggt	tattgtctca	tgagcggata	catatttgaa	tgtatttaga	14820
aaaataaaca	aataggggtt	ccgcgcacat	ttccccgaaa	agtgccacct	gac	14873

SEQUENCE LISTING

<110>安徽柯顿生物科技有限公司

<120> PD-1 基因重组病毒质粒及构建、重组逆转录病毒 Lenti-PD-1-Puro 及包装与应用

<160> 1

<210>1

<211>14873

<212>DNA

<213>人工序列

<400>1

[0001] gtcgacggat cgggagatct cccgatcccc tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg 60
atgccgata gttaagccag tatctgctcc ctgcttgtgt gttggaggtc gctgagtagt 120
gcgcgagcaa aatttaagct acaacaaggc aaggcttgac cgacaattgc atgaagaatc 180
tgcttagggt taggcgtttt gcgctgcttc gcgatgtacg ggccagatat acgcgttgac 240
attgattatt gactagttat taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat 300
atatggagtt ccgcttaca taacttacgg taaatggccc gectggctga ccgccaacg 360
acccccccc attgacgtca ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt 420
tccattgacg tcaatgggtg gattatttac ggtaaactgc ccacttgcca gtacatcaag 480
tgtatcatat gccaagtacg cccctattg acgtcaatga cggtaaatgg cccgctggc 540
attatgcccc gtacatgacc ttatgggact ttctacttg gcagtacac tacgtattag 600
tcatcgctat taccatggtg atcggtttt ggcagtacat caatgggcgt ggatagcgg 660
ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt caatgggagt ttgtttggc 720
accaaaatca acgggacttt ccaaaatgac gtaacaactc cgccccattg acgcaaatgg 780
gcggtaggcg tgtacggtgg gaggtctata taagcagcgc gttttgctg tactgggtct 840
ctctggttag accagatctg agcctgggag ctctctggct aactagggaa cccactgctt 900
aagcctcaat aaagcttgc ttgagtgtt caagtagtgt gtgccctct gttgtgtgac 960
tctggttaact agagatccct cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtggc 1020
gcccgaacag ggacttgaaa gcgaaaggga aaccagagga gctctctcga cgcaggactc 1080
ggcttgctga agcgcgcacg gcaagaggcg aggggcgcg actggtgagt acgcaaaaaa 1140
tttgactag cggaggctag aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg 1200
ggagaattag atcgcgatgg gaaaaaattc ggtaagcc agggggaaag aaaaaatata 1260
aattaaaaca tatagtatgg gcaagcagg agctagaacg attcgcagt aatcctggcc 1320
tgttagaaac atcagaaggc ttagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga 1380
caggatcaga agaacttaga tcattatata atacagtagc aacctctat tgtgtgcatc 1440
aaaggataga gataaaagac accaaggaag cttagacaa gatagaggaa gagcaaaaa 1500
aaagtaagac caccgcacag caagcggccg ctgatctca gacctggagg aggagatag 1560
agggacaatt ggagaagtga attatataaa tataaagtag taaaaattga accattagga 1620
gtagcaccca ccaaggcaaa gagaagagtg gtgcagagag aaaaaagagc agtgggaata 1680

ggagctttgt tccttggggt cttgggagca gcaggaagca ctatgggcgc agcgtcaatg	1740
acgctgacgg tacaggccag acaattattg tctggtatag tgacgacgca gaacaattg	1800
ctgagggcta ttgaggcgca acagcatctg ttgcaactca cagtctgggg catcaagcag	1860
ctccaggcaa gaatcctggc tgtggaaaga tacctaaagg atcaacagct cctggggatt	1920
tggggttgc ctggaaaact catttgcacc actgctgtgc cttggaatgc tagttggagt	1980
aaataatctc tggaaacagat ttggaatcac acgacctgga tggagtggga cagagaaatt	2040
aacaattaca caagcttaac acactcctta attgaagaat cgcaaaaacca gcaagaaaag	2100
aatgaacaag aattattgga attagataaa tgggcaagtt tgtggaattg gtttaacata	2160
acaaattggc tgtggtatat aaaattattc ataattgatag taggaggctt ggttagttta	2220
agaatagttt ttgctgtact ttctatagtg aatagagtta ggcagggata ttcaccatta	2280
tcgtttcaga cccacctccc aaccccagg ggacccgaca ggcccgaagg aatagaagaa	2340
gaagggtggag agagagacag agacagatcc atfcgattag tgaacggatc ggcactgct	2400
gcgccaattc tgacagacaaa tggcagtatt catccacaat tttaaaagaa aaggggggat	2460
tgggggttac agtgcagggg aaagaatagt agacataata gcaacagaca tacaactaa	2520
agaattacaa aaacaaatta caaaaattca aaattttcgg gtttattaca gggacagcag	2580
agatccagtt tggtaatta aggtaccgag ggcctattc ccatgattcc ttcattttg	2640
catatacgat acaaggctgt tagagagata attagaatta atttgactgt aaacacaaag	2700
atattagtac aaaatacgtg acgtagaag taataattc ttgggtagt tgacgtttta	2760
aaattatgtt ttaaaatgga ctatcatatg cttaccgtaa cttgaaagta ttctgattc	2820
ttggctttat atatcttgtg gaaaggacga aacaccggag acggttgtaa atgagcacac	2880
aaaatacaca tgctaaaata ttatattcta tgacctttat aaaatcaacc aaaatcttct	2940
tttaataac tttagtatca ataattagaa ttttatgtt cctttttgca aacttttaat	3000
aaaaatgagc aaaaataaaa aacgctagtt tttagtaactc gcgttgtttt cttcaccttt	3060
aataatagct actccaccac ttgttcctaa gcggtcagct cctgcttcaa tcaatttttg	3120
agcatcttca aatgttctaa ctccaccagc tgctttaact aaagcattgt ctttaacaac	3180
tgacttcatt agtttaacat ctcaaatgt tgcacctgat tttgaaaac ctgttgatgt	3240
tttaacaaat tcaatccag ctcaacagc tatttcaaa gctttcatga tttcttctt	3300
tgttaataaa caattttcca taatacattt aacaacatgt gatccagctg cttttttac	3360
agctttcatg tcttctaaaa ctaattcata attttgtct ttaatgcac caatatttaa	3420
taccatatac atttctgttg caccatcttt aattgcttca gaaacttca atgctttgt	3480
agctgtgtg catgcaccta gaggaaaacc tacaacattt gttattccta catttggcc	3540
tttaataat tctttacaat agcttgttca atatgaatta acacaaaactg ttgcaaaatc	3600
aaattcaatt gcttcatcac ataattgttt aatttcagct ttcgtagcat cttgttttaa	3660
taatgtgtga tctatatatt tgtttagttt catttttct cctatatatt catttttaat	3720
tttaattctt taataatttc gtctacttta actttagcgt tttgaacaga ttcaccaaca	3780
cctataaaat aaatttttag tttaggttca gtccacttg ggcgaacagc aatcatgac	3840
ttatcttcta aataaaattt tagtaagtct tgccttgga tattatacat tccatcgatg	3900
tagtcttcaa cattaacaac ttttaagtcca gcaatttgag ttaagggigt tgctctcaat	3960
gatttcatta atggttcaat ttttaattc ttttctctg gtttaaaatt caagttaaa	4020
gtgaaagtgt aatatgcacc catttcttta aataaatctt ctaaatagtc tactaatgtt	4080
ttattttgtt ttttataaaa tcaagcagcc tctgctatta atatagaagc ttgtattcca	4140
tctttatctc tagctgagtc atcaattaca tatccataac tttctcata agcaaaaaca	4200
aaatttaac cgttatcttc tcttttagca atttctctac ccattcattt aaatccagtt	4260
aaagttttta caatattaac tccatatttt tcatgagcga ttctatcacc caatcactt	4320

[0002]

gttacaaaac ttgaatatag agccggattt tttggaatgc tatttaagcg ttttagattt	4380
gataattttc aatcaattaa aattggctct gtttgatttc catctaactc taaaaatga	4440
ccatcatggt ttattgccat tccaaatctg tcagcatctg ggtcattcat aataataata	4500
tctgcatcat gtttaatacc atattcaagc ggtatttttc atgcaggatc aaattctgga	4560
tttgattta caacattttt aaatgtttca tcttcaaatg catgctcttc aacctcaata	4620
acgttatatc ctgattcacg taatattttt ggggtaaatt tagttcctgt tccattaact	4680
gcgctaaaaa taatttttaa atctttttta gcttcttgct cttttttgta cgtctctgtt	4740
ttagagctag aaatagcaag ttaaataag gctagtccgt tatcaacttg aaaaagtggc	4800
accgagtcgg tgctttttg aattcgctag ctaggcttg aaaggagtgg gaattggctc	4860
cggtgccctg cagtgggcag agcgcacatc gccacagtc cccgagaagt tggggggagg	4920
ggtcggcaat tgatccggtg cctagagaag gtggcgcggg gtaaactggg aaagtgatgt	4980
ctgtactggt ctccgcttt ttccgaggg tgggggagaa ccgtatataa gtgcagtagt	5040
cgccgtgaac gttcttttt gcaacgggtt tgccgccaga acacaggacc ggttctagag	5100
cgctgccacc atggacaaga agtacagcat cggcctggac atcggcacca actctgtggg	5160
ctgggccgtg atcaccgacg agtacaaggt gccagcaag aaattcaagg tgctgggcaa	5220
caccgaccgg cacagcatca agaagaacct gatcggagcc ctgctgttcg acagcggcga	5280
aacagccgag gccaccggc tgaagagaac cgcgagaaga agatacacca gacggaagaa	5340
ccggatctgc tatctgaag agatctttag caacgagatg gccaaagtgg acgacagctt	5400
cttcacaga ctggaagagt ctttctggtt ggaagaggat aagaagcag agcggcaccc	5460
catctcggc aacatctggt acgaggtggc ctaccacgag aagtaccca ccatctacca	5520
cttgagaag aaactggtgg acagcacga caaggccgac ctgcggtga tctatctggc	5580
cttggccac atgatcaagt tccggggcca cttctgacg gagggcgacc tgaacccga	5640
caacagcgac tggacaagc tttcatcca gctggtgag acctacaacc agctgttca	5700
ggaaaacccc atcaaccca gggcggtgga cgccaaggcc atcctgtctg ccagactgag	5760
caagagcaga cggctggaaa atctgatgc ccagctgcc ggcgagaaga agaattgcct	5820
gttcgaaaac ctgattgcc tgagcctggg cctgacccc aacttcaaga gcaacttca	5880
cctggccgag gatgcaaac tgacgtgag caaggacacc tacgacgacg acctggacaa	5940
cctgctgccc cagatcggcg accagtacgc cgacctgtt ctggcccca agaacctgtc	6000
cgacgccatc ctgctgagcg acatctgag agtgaacacc gagatcacca agggcccct	6060
gagcgcctct atgatcaaga gatacagca gcaccaccag gacctgacc tctgaaagc	6120
tctctgctgg cagcagctgc ctgagaagta caaagagatt ttcttcgacc agagcaagaa	6180
cggctacgcc ggctacattg acggcggagc cagccaggaa gagttctaca agttcatcaa	6240
gcccacctg gaaaagatgg acggcacga ggaactgctc gtgaagctga acagagagga	6300
cctgctgctg aagcagcgga ccttcgacaa cggcagcacc cccaccaga tccacctggg	6360
agagctgcac gccattctgc ggcggcagga agattttac ccattctga aggacaaccg	6420
ggaaaagatc gagaagatc tgaccttcg catcccctac tacgtgggcc ctctggccag	6480
gggaaacagc agattcgcct ggatgaccag aaagagcgag gaaacatca ccccctggaa	6540
cttcgaggaa gtgggggaca agggcgcttc cgcccagagc ttatcagagc ggatgaccaa	6600
cttcgataag aacctgccca acgagaaggt gctgccaag cacagcctgc tgtacgagta	6660
cttcaccgtg tataacgagc tgaccaaaagt gaaatactg accgagggaa tgagaaagcc	6720
cgcttctctg agcggcgagc agaaaaggc catcgtggac ctgctgttca agaccaaccg	6780
gaaagtgacc gtgaagcagc tgaagagga ctacttcaag aaaatcgagt gcttcgactc	6840
cttgaaaatc tccggcgtgg aagatcgtt caacgcctcc ctgggcacat accacgatct	6900
ctgaaaaatt atcaaggaca aggacttctt ggacaatgag gaaaacgagg acattctgga	6960

[0003]

agatattctg ctgacctga cactgtttga ggacagagag atgatcgagg aacggctgaa	7020
aacctatgcc cacctgttcg acgacaaagt gatgaagcag ctgaagcggc ggagatacac	7080
cggctggggc aggctgagcc ggaagctgat caacggcatc cgggacaagc agtccggcaa	7140
gacaatcctg gatttctga agtccgacgg ctccccaac agaaacttca tgcagctgat	7200
ccacgacgac agcctgacct ttaaagagga catccagaaa gccaggtgt cggccaggg	7260
cgatagcctg cagcagcaca ttgccaatct ggccggcagc cccgccatta agaaggcat	7320
cctcgagaca gtgaagggtg tggacgagct cgtgaaagt atgggcccgc acaagcccga	7380
gaacatcgtg atcgaatgg ccagagagaa ccagaccacc cagaaggac agaagaacag	7440
ccgcgagaga atgaagcggg tcgaagagg catcaaagag ctgggcagcc agatcctgaa	7500
agaacacccc gtggaaaaca cccagctgca gaacgagaag ctgtacctgt actacctgca	7560
gaatggcgcg gatattgacg tggaccagga actggacatc aaccggctgt ccgactacga	7620
tgtggacat atcgtgcctc agagcttct gaaggacgac tccatcgaca acaaggtgct	7680
gaccagaagc gacaagaacc ggggcaagag cgacaacgtg ccctccaag aggtcgtgaa	7740
gaagatgaag aactactggc gccagctgct gaacgccaag ctgattacc agagaaagt	7800
cgacaatctg accaaggccg agagaggcgg cctgagcga ctggataagg ccggcttcat	7860
caagagacag ctggtggaaa cccggcagat caaaagcac gtggcacaga tcctggactc	7920
ccggatgaac actaagtacg acgagaatga caagctgac cgggaagtga aagtatcac	7980
cctgaagtcc aagctggtgt ccgatttccg gaaggattc cagtttaca aagtgcgca	8040
gatcaacaac taccaccag cccaagcgc ctacctgaa gccgtcgtg gaaccgccct	8100
gatcaaaaag taccctaagc tggaaagcga gttcgtgac gccgactaca aggtgtacga	8160
ctgtcgggaag atgatcgcca agagcgagca ggaaatcggc aaggctacc ccaagtactt	8220
cttctacagc aacatcatga acttttcaa gaccgagatt accctggcca acggcgagat	8280
ccggaagcgg cctctgatcg agacaacgg cgaaaccggg gagatcgtgt gggataaggg	8340
ccgggatttt gccaccgtgc ggaaagtgt gagcatgccc caagtgaata tcgtgaaaa	8400
gaccgaggtg cagacagggc gcttcagcaa agagtctatc ctgcccaaga ggaacagga	8460
taagctgac gccagaaaga aggactggga ccctaagaag tacggcggct tcgacagccc	8520
caccgtggcc tattctgtgc tgggtgggc caaagtggaa aaggccaagt ccaagaaact	8580
gaagagtgtg aaagagtgc tggggatcac catcatgaa agaagcagct tcgagaagaa	8640
tccatcgac ttctggaag ccaaggccta caaagaagtg aaaaaggacc tgatcatcaa	8700
gctgcctaag tactccctgt tcgagctgga aaacggcggc aagagaatgc tggcctctgc	8760
cggcgaactg cagaagggaa acgaactggc cctgccctcc aaatatgta acttctgta	8820
cctggccagc cactatgaga agtgaaggc ctccccgag gataatgagc agaaacagct	8880
gtttgtggaa cagcacaagc actacctgga cgagatcacc gagcagatca gcgattctc	8940
caagagagtg atcctggccc acgctaact ggacaaagt ctgtccgctt acaacaagca	9000
ccgggataag cccatcagag agcaggccga gaatatcacc cacctgtta cctgaccaa	9060
tctgggagcc cctgccgctt tcaagtactt tgacaccacc atcgaccgga agaggtacac	9120
cagcaccaaa gaggtgctg acgccacct gatccaccag agcataccg gcctgtacga	9180
gacacggatc gacctgtct agctgggagg cgacaagcga cctgccgcca caaagaaggc	9240
tggacaggct aagaagaaga aagattacaa agacgatgac gataaggat cgggcgcaac	9300
aaacttctct ctgctgaaac aagccggaga tctcgaagag aatcctggac cgaccgagta	9360
caagcccacg gtgcgctcg ccaccgcga cgacgtccc agggccgtac gcacctcgc	9420
cgccgcttc gccgactacc ccgccagcg ccacaccgtc gatccggacc gccacatcga	9480
gcgggtacc gagctgcaag aactcttct cagcgcgtc gggctcgaca tggcaaggt	9540
gtgggtcgcg gacgagggc ccgcggtggc ggtctggacc acgccggaga gcgtcgaagc	9600

[0004]

ggggcggtg ttcgccgaga tcggcccgcg catggccgag ttgagcggtt cccggctggc	9660
cgcgagcaa cagatggaag gcctcctggc gccgcaccgg cccaaggagc ccgcgtggtt	9720
cctggccacc gtcggagtct cgcccacca ccagggcaag ggtctgggca gcgcctcgt	9780
gctccccgga gtaggagcgg ccgagcgcgc cgggggtccc gccttctgg agacctccg	9840
gccccgaac ctccccctct acgagcggct cggcttcacc gtcaccgccg acgtcgaggt	9900
gccccgaagga ccgcgcacct ggtgcatgac ccgcaagccc ggtgcctgaa cgcgttaagt	9960
cgacaatcaa cctctggatt acaaaattg tgaaagattg actggtattc ttaactatgt	10020
tgctccttt acgctatgtg gatacgtgc ttaatgcct ttgtatcatg ctattgcttc	10080
ccgtatggct ttcattttct cctccttgta taaatcctgg ttgctgtctc tttatgagga	10140
ggttgggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgact gtgtttgctg acgcaacccc	10200
cactggttg ggcattgcca ccacctgtca gctccttcc gggactttcg cttccccct	10260
ccctattgcc acggcggaac tcacgcgcgc ctgccttccc cgctgctgga caggggctcg	10320
gctgtgggc actgacaatt ccgtgggtt gtcgggaaa tcacgtcct tccttggt	10380
gctgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctac tccttcggc	10440
cctcaatcca gcggacctc ctcccgcgg cctgctgcc gctctgggc ctctccgcg	10500
tcttgcctt cgcctcaga cgagtcggt ctcccttgg gccgcctccc cgcgtcact	10560
ttaagaccaa tgacttaaa ggagctgta gatcttagcc actttttaa agaaaagggg	10620
ggactggaag ggctaattca ctccaacga agacaagatc tgcttttgc ttgtactggg	10680
tctctgtgt tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaaccactg	10740
ctaaacctc aataaagctt gccttgagtg ctcaagtag tgtgtcccg tctgttgt	10800
gactctgta actagagatc cctcagacc ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagg	10860
gcccgttaa acccgctgat cagcctcgc tgctcctct agttgccagc catctgtgt	10920
ttgccctcc ccggtgcct ccttgacct ggaaggtgcc actccactg tctttccta	10980
ataaatgag gaaattgcat cgcattgtct gagtaggtg cattctattc tggggggtg	11040
ggtggggcag gacagcaagg gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggatgc	11100
ggtgggctct atggctctg aggcggaaag aaccagctgg ggctctaggg ggtatccca	11160
cgcgcctgt agcggcgc ataacgcggc ggggtgtgtg gttacgcga gcgtgaccgc	11220
tacacttgc agcgcctag cgcgcctcc tttcgcttc ttccttct tctcggccac	11280
ggtcgcggc tttccccgc aagctctaaa tcgggggctc ccttagggg tccgatttag	11340
tgcttacgg cacctcacc caaaaaact tgattagggt gatggttac gtagtgggcc	11400
atcgcctga tagacggtt ttcgccctt gacgttgag tccacgtct ttaatagtgg	11460
actctgttc caaactgaa caaactcaa ccctatctc gtctattct ttagattata	11520
agggatttg ccgattcgg cctattggt aaaaaatgag ctgattaac aaaaatttaa	11580
cgcaattaa ttctgtgaa tgtgtctag ttaggtgtg gaaagtccc aggctccca	11640
gcaggcagaa gtagcaaaag catgcatctc aattagtcag caaccagggtg tgaaagtcc	11700
ccaggctccc cagcaggcag aagtagcaa agcatgcatc tcaattagtc agcaaccata	11760
gtcccccc taactccgc catcccgcc ctaactccg ccagtccgc ccattctccg	11820
ccccatgct gactaattt tttatttat gcagaggccg aggccctc tgcctctgag	11880
ctattcaga agtagtgagg aggcctttt ggaggcctag gctttgcaa aaagtcccg	11940
ggagctgta tatccattt cggatctgat cagcacgtgt tgacaattaa tcatcgcat	12000
agtatatcg catagtataa tacgacaagg tgaggacta aaccatggcc aagttgacca	12060
gtccgttcc ggtgctcacc gcgcgcgac tcgcccggagc ggtcgagttc tgaccgacc	12120
ggctcgggt ctcccggac ttcgtggagg acgactcgc cgggtgtgtc cgggacgacg	12180
tgaccctgt catcagcgcg gtcaggacc aggtggtgcc ggacaacacc ctggcctggg	12240

[0005]

tgagggtgcg cggcctggac gagctgtacg ccgagtggtc ggaggtcgtg tccacgaact	12300
tccgggacgc ctccgggccc gccatgaccg agatcggcga gcagccgtgg gggcgggagt	12360
tcgccctgcg cgaccggcc ggcaactcgc tgcacttcgt ggccgaggag caggactgac	12420
acgtgctacg agatttcgat tccaccgccc ccttctatga aaggttgggc ttcggaatcg	12480
ttttccggga cggcgctgg atgatcctcc agcgcgggga tctcatgctg gagttcttcg	12540
cccccccaa ctgtttatt gcagcttata atggttaca ataaagcaat agcatcaca	12600
atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagtgt tggttgtcc aaactcatca	12660
atgtatctta tcatgtctgt ataccgtcga cctctagcta gagcttggcg taatcatggt	12720
catagctgtt tctgtgtga aattgttatc cgctcacaat tccacacaac atacgagccg	12780
gaagcataaa gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgcgt	12840
tcgctcact gcccgcttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taatgaatcg	12900
gccaacgcgc ggggagaggc ggtttcgta ttggcgctc ttccgcttc tcgctcactg	12960
actcgtcgcg ctggctggtt cggctcggc gagcggatc agctcactca aaggcggtaa	13020
tacggttatc cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc	13080
aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgctg tctggcgtt tttccatagg ctccgcccc	13140
ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctca gtcagagggt gcgaaaccg acaggactat	13200
aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct cctcgtgcg ctctctgtt ccgacctgc	13260
cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc ctccgggaag cgtggcgctt tctcatagct	13320
cacgctgtag gtatctcagt tcgggttagg tcgctcgtc caagctgggc tgtgtcacg	13380
aacccccgt tcagcccag cgctcgcct tatccgtaa ctatcgtctt gactcaacc	13440
cggtaaagca cgacttatc cactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga	13500
ggtatgtagg cgggtctaca gagttctga agtggtggc taactacggc tacactagaa	13560
gaacagtatt tggatctgc gctctgcta agccagtac ctccgaaaa agagttggt	13620
gctctgac cggcaaaaa accaccgctg gtagcggtag ttttttgtt tgcaagcagc	13680
agattacgcg cagaaaaaaa ggatctcaag aagatcctt gatctttct acggggtctg	13740
acgctcagt gaacgaaaac tcacgttaag ggattttgt catgagatta tcaaaaagga	13800
tcttcaccta gatccttita aattaaat gaagttitaa atcaatctaa agtatatatg	13860
agtaaactgt gtctgacagt taccaatgct taatcagtga ggacacctc tcagcgtct	13920
gtctatttcg ttcaccata gttgcctgac tccccgtgt gtagataact acgatacggg	13980
aggccttacc atctggcccc agtctgcaa tgataaccg agaccacgc tcaccggctc	14040
cagatttacc agcaataaac cagccagccg gaaggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa	14100
ctttatccgc ctccatccag tctattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc	14160
cagttaatag tttgcgaac gttgtgcca ttgctacagg catcgtggtg tcacgctcgt	14220
cgtttggtat ggcttcattc agctccggtt cccaacgac aaggcgagtt acatgatccc	14280
ccatgtgtg caaaaaagcg gttagctcct tcgctctcc gatcgttgc agaagtaagt	14340
tggccgaggt gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt actgtcatgc	14400
catccgtaag atgctttct gtgactggtg agtactcaac caagcttctc tgagaatagt	14460
gtatgcggcg accgagttgc tcttccccg cgtcaatag ggataatacc gcgccacata	14520
gcagaacttt aaaagtctc atcattgaa aacgttctc gggcgaaaa ctctcaagga	14580
tcttaccgct gttgagatcc agttcagat aaccactcg tgcaccaac tgatctcag	14640
catcttttac tttaccagc gtttctgggt gagcaaaaac aggaaggcaa aatgccgcaa	14700
aaaagggaat aaggcgaca cggaaatgt gaatactcat actctctt tttcaatatt	14760
attgaagcat ttatcaggtt tattgtctca tgagcggata catattgaa tgtatttaga	14820
aaaataaaca aataggggtt ccgcgcacat tccccgaaa agtgccacct gac	14873

[0006]

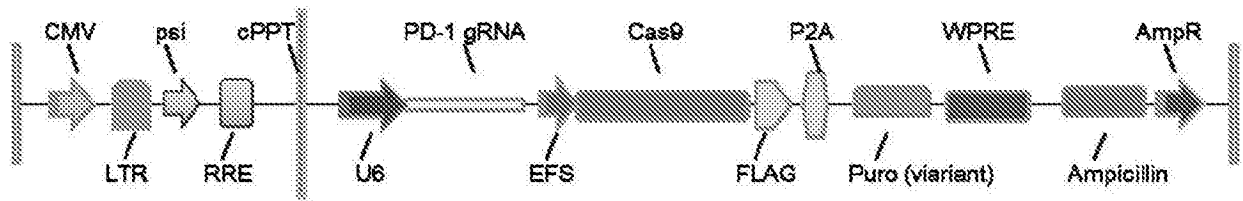


图1

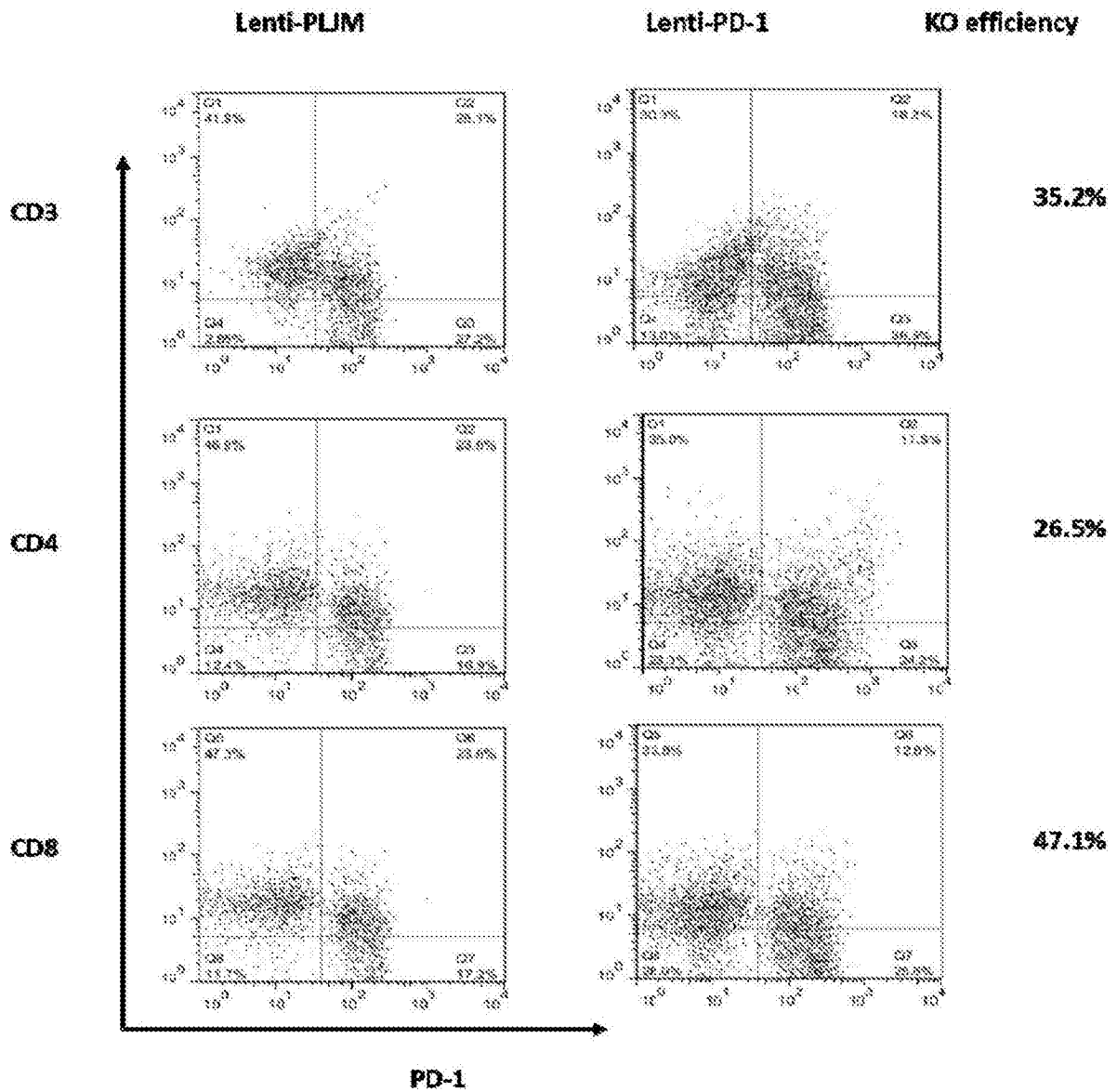


图2

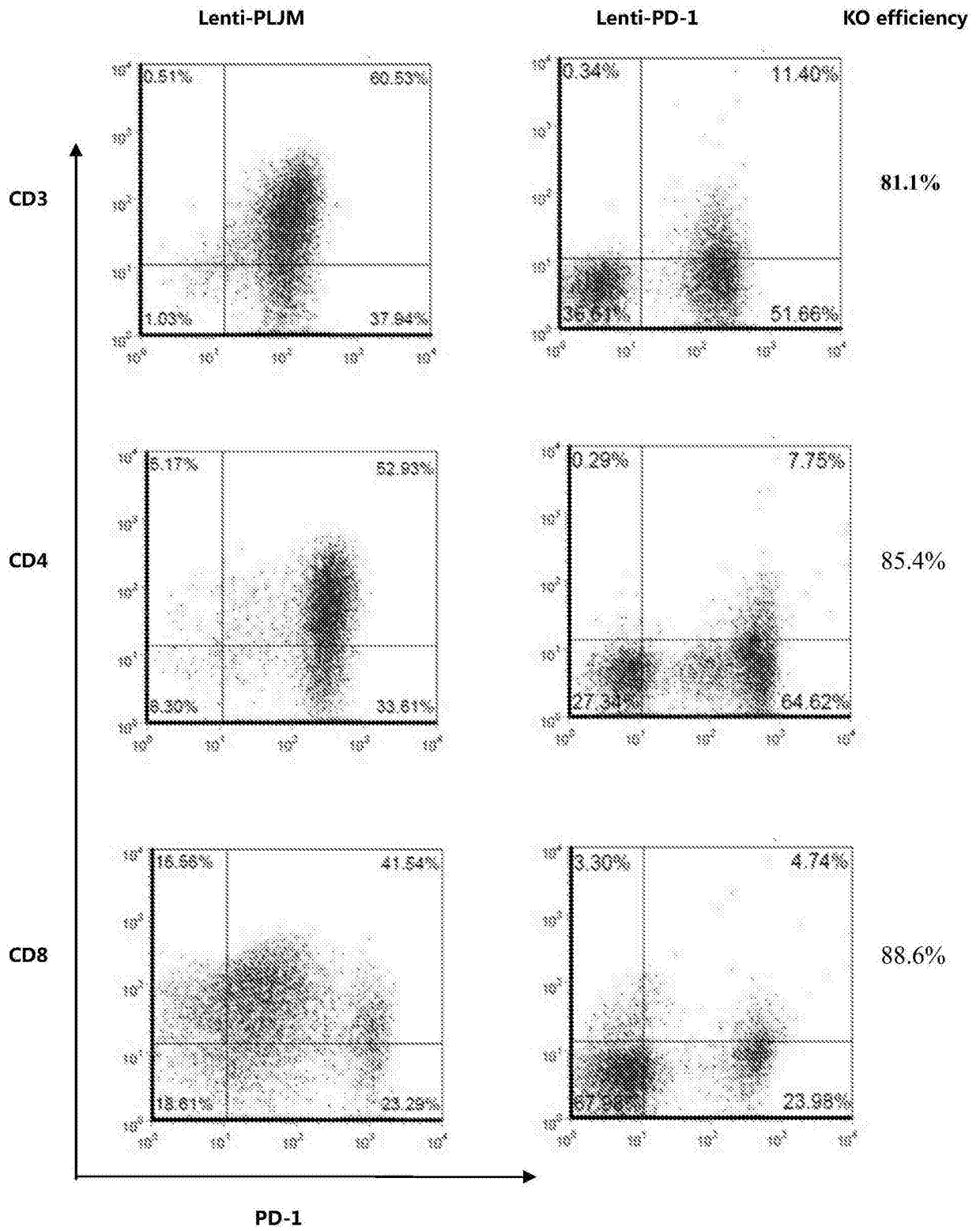


图3