



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0030514

(51)⁷ C12N 7/01; A61P 31/04; A23K 1/17; (13) B
A61K 35/76

(21) 1-2016-04324

(22) 14/04/2015

(86) PCT/KR2015/003703 14/04/2015

(87) WO/2015/160164 22/10/2015

(30) 10-2014-0044994 15/04/2014 KR

(45) 25/12/2021 405

(43) 27/03/2017 348A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

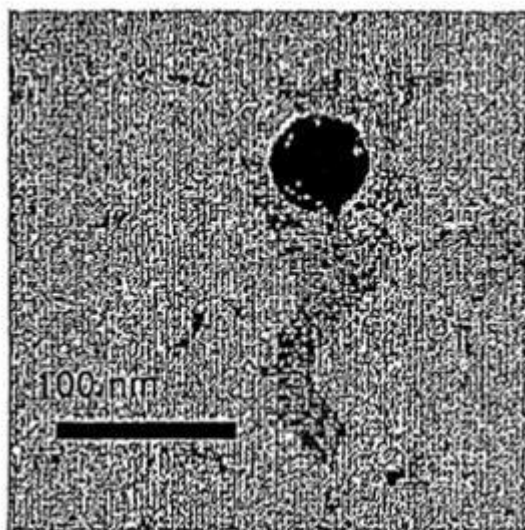
CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 100-400, Korea

(72) SHIN, Eun Mi (KR); BAE, Gi Duk (KR); KIM, Jae Won (KR).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) THỂ THỰC KHUẨN ΦCJ24 CÓ HOẠT TÍNH DIỆT KHUẨN KHÁNG
ESCHERICHIA COLI GÂY BỆNH CHO CHIM VÀ CHẾ PHẨM CHỨA THỂ
THỰC KHUẨN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) và chế phẩm chứa thể thực khuẩn này làm thành phần hoạt tính. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất chế phẩm diệt khuẩn chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) làm hoạt chất.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thể thực khuẩn có hoạt tính diệt khuẩn kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (APEC) và chế phẩm diệt khuẩn chứa thể thực khuẩn này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Escherichia coli (sau đây gọi là '*E. coli*') là vi khuẩn gram âm, dạng que ngắn thuộc giống *Escherichia* và thuộc họ *Enterobacteriaceae*, và là một trong số các vi khuẩn kỵ aerob thông thường tồn tại trong ruột của các loài động vật khác nhau bao gồm cả động vật có vú. Đã biết là hầu hết các chủng *E. coli* không gây bệnh và có thể các bệnh nhiễm trùng cơ hội, nhưng các chủng có khả năng gây bệnh cao lại gây ra các bệnh đường ruột và nhiễm độc ở động vật bao gồm cả người.

Đã biết là trong số các chủng *Escherichia coli*, *E. coli* gây bệnh cho chim (APEC) gây nhiễm qua đường hô hấp của chim, ví dụ, gà, vịt, gà tây hoặc các loại tương tự, xâm nhiễm vào cơ thể qua màng nhầy của đường hô hấp. *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra các bệnh khác nhau chủ yếu là ở gia cầm liên quan đến các bệnh đường hô hấp của chim, dẫn đến các tổn thất kinh tế nặng nề cho ngành chăn nuôi gia cầm.

Thể thực khuẩn là một loại virus đặc biệt ngăn chặn và ức chế sự phát triển của vi khuẩn bị nhiễm thể thực khuẩn đặc hiệu. Do thể thực khuẩn có tính đặc hiệu vật chủ cao so với các chất kháng sinh, và do gần đây, việc vi khuẩn kháng kháng sinh nổi lên trở thành vấn đề rất nghiêm trọng, nên nhu cầu sử dụng thể thực khuẩn tăng lên rất cao.

Do đó, nghiên cứu về thể thực khuẩn được thực hiện chủ động ở các nước khác nhau trên thế giới, và ngoài những đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền cho thể thực khuẩn thì ngày càng có nhiều đơn yêu cầu Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm (Food and Drug Administration -FDA) phê duyệt các chế phẩm chứa thể thực khuẩn.

Tuy nhiên, lĩnh vực kỹ thuật liên quan đến thể thực khuẩn để phòng tránh và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim, là một vấn đề quan trọng trong ngành công nghiệp chăn nuôi chim, vẫn chưa được giải quyết, do đó thể thực khuẩn và kỹ thuật liên quan đến thể thực khuẩn cần được phát triển.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo kết quả của các nghiên cứu gần đây với mục đích giải quyết các vấn đề như việc kháng khuẩn khi sử dụng kháng sinh, việc kháng sinh tồn dư ở động vật và phòng ngừa hiệu quả và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra, các tác giả sáng chế phân lập một loại thể thực khuẩn mới ΦCJ24 (KCCM11462P) từ tự nhiên có hoạt tính diệt khuẩn kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra bệnh đường hô hấp cho gia cầm.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng đã xác định các đặc tính hình thái học, sinh hóa và di truyền của thể thực khuẩn mới và khẳng định là thể thực khuẩn này có khả năng kháng axit vô cùng tốt, kháng nhiệt và chịu sấy khô và các tác giả sáng chế đã phát triển chế phẩm kháng sinh, chế phẩm phụ gia cho thức ăn gia súc, chế phẩm tẩy rửa và các chế phẩm khác sử dụng thể thực khuẩn mới này. Ngoài ra, sáng chế cũng phát triển một chế phẩm ngăn ngừa và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn ở chim và phương pháp ngăn ngừa và điều trị bệnh sử dụng được phẩm này.

Sáng chế đề cập đến thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) mới có hoạt tính diệt khuẩn kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh ở chim.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến chế phẩm để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) làm hoạt chất.

Hơn nữa, sáng chế đề cập đến chất kháng sinh, chất phụ gia thức ăn cho động vật, chất phụ gia cho vào nước uống của động vật hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) làm hoạt chất.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) làm hoạt chất.

Giải pháp kỹ thuật

Theo một phương án, sáng chế đề xuất thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) mới có hoạt tính diệt khuẩn kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh ở chim.

Theo một phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra, chế phẩm chứa thể thực

khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) nêu trên làm hoạt chất.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất kháng sinh, chất phụ gia thức ăn cho động vật, chất phụ gia cho vào nước uống cho động vật, chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) mô tả ở trên làm hoạt chất.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương án ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra, bao gồm cho chim sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) như mô tả ở trên làm hoạt chất.

Hiệu quả của sáng chế

Thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo sáng chế có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu diệt *Escherichia coli* gây bệnh cho chim.

Ngoài ra, do thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo sáng chế có khả năng kháng axit rất tốt, kháng nhiệt và chịu sấy khô nên thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) không chỉ được sử dụng làm nguyên liệu tạo ra chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra trong phạm vi pH và nhiệt độ rộng và điều kiện sấy khô cao mà còn được đưa vào chất kháng sinh, chất phụ gia thức ăn cho động vật, chất phụ gia cho vào nước uống, chế phẩm tẩy rửa, chế phẩm làm sạch hoặc các chế phẩm tương tự để làm hoạt chất.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất thể thực khuẩn các bệnh nhiễm khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) hoặc kháng sinh chứa thể thực khuẩn này làm hoạt chất, và kháng sinh này có tác dụng đặc hiệu đối với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim so với các kháng sinh đã biết và do đó diệt chọn lọc đặc hiệu vi khuẩn gây bệnh mà không diệt vi khuẩn có lợi; và kháng sinh này không gây ra việc kháng kháng sinh, dẫn đến làm kéo dài thời gian tác dụng của sản phẩm so với các kháng sinh đã biết.

Ngoài ra, sáng chế có tác dụng ngăn ngừa và điều trị bệnh do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn chứa hoạt chất ΦCJ24 (KCCM11462P) cho chim.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 là hình ảnh dưới kính hiển vi điện tử của thể thực khuẩn ΦCJ24 mới (KCCM11462P, sau đây gọi là 'ΦCJ24').

FIG. 2 là kết quả điện di trong trường xung điện (pulsed field gel electrophoresis - PFGE) của thể thực khuẩn Φ CJ24.

FIG.3 thể hiện kết quả điện di gel natridodecylsulfat-polyacrylamit (sodiumdodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis : SDS-PAGE) của thể thực khuẩn Φ CJ24.

FIG. 4 là hình thể hiện kết quả của thử nghiệm kháng axit của thể thực khuẩn Φ CJ24.

FIG. 5 là hình thể hiện kết quả của thử nghiệm kháng nhiệt của thể thực khuẩn Φ CJ24.

FIG. 6 là hình thể hiện kết quả của thử nghiệm chịu sấy khô của thể thực khuẩn Φ CJ24.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết. Những phần nội dung trong sáng chế có thể được hiểu và đề cập đầy đủ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc lĩnh vực tương tự thì sẽ được loại bỏ không mô tả trong sáng chế.

Theo một phương án tổng quát, sáng chế đề xuất thể thực khuẩn Φ CJ24 (KCCM11462P) mới (sau đây gọi là “ Φ CJ24”) có hoạt tính diệt khuẩn kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (APEC).

Escherichia coli gây bệnh cho chim dùng để chỉ *Escherichia coli* được truyền qua đường hô hấp của các loại chim như gà, ngỗng, gà tây và các loại tương tự, và có thể gây nhiễm khuẩn cho các loại chim này, đặc biệt là các bệnh do *E.coli* gây ra ở chim. Cụ thể là, *Escherichia coli* gây bệnh cho chim thâm nhập vào cơ thể chim qua màng nhầy của đường tiêu hóa và gây ra các bệnh khác nhau như nhiễm trùng, u hạt, bệnh viêm túi khí, viêm vôi trứng, viêm khớp và các bệnh tương tự. *Escherichia coli* gây bệnh cho chim là vi khuẩn gram âm giống như *Escherichia coli* thông thường, có roi để chuyển động và là vi khuẩn ưa khí hoặc kỵ khí không bắt buộc phân giải lactoza và fructoza để tạo thành axit và khí.

Escherichia coli gây bệnh cho chim sinh trưởng tốt trên môi trường thông thường và có thể phát triển ở nhiệt độ từ 7 đến 48°C và có nhiệt độ sinh trưởng tối ưu là từ 35 đến 37°C. Cụ thể là, các yếu tố gây độc gây độc cao nhất ở khoảng 42°C, gần với nhiệt độ cơ thể của chim. Ngoài ra, *Escherichia coli* có thể sinh trưởng ở độ pH từ 4,5 đến 9,0.

Thể thực khuẩn là virus đặc hiệu vi khuẩn gây nhiễm cho một loại vi khuẩn cụ thể

để ức chế và ngăn ngừa sự phát triển của vi khuẩn và là dạng virus có vật liệu di truyền là axit deoxyribonucleic (ADN) sợi đơn hoặc sợi kép hoặc axit ribonucleic (ARN).

Cụ thể là, thể thực khuẩn ΦCJ24 theo một phương án của sáng chế là thể thực khuẩn có tính đặc hiệu gây nhiễm chọn lọc đối với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim và về mặt hình thái là thuộc loại B1 *Siphoviridae*, là thể thực khuẩn có vỏ đa diện 20 mặt và đuôi không co lại được (FIG. 1). Mức độ tương đồng của trình tự hệ gen trình tự nucleotit của thể thực khuẩn ΦCJ24 và các trình tự nucleotit đã được giải mã của các thể thực khuẩn khác được so sánh và kết quả được thể hiện trong Bảng 1. Thể thực khuẩn ΦCJ24 thể hiện là ổn định trong khoảng pH từ 3,5 đến pH=11,0 mà không bị mất hoạt tính (FIG.4) và khi xét đến khả năng kháng nhiệt, thể thực khuẩn ΦCJ24 thể hiện là hoạt tính bị giảm khoảng 1 log hoặc ít hơn khi đưa đến nhiệt độ 50°C hoặc cao hơn trong hai giờ (FIG 5). Khi xét về khả năng chịu sấy khô, thể thực khuẩn ΦCJ24 thể hiện là giảm hoạt tính khoảng 1 log khi làm khô ở 60°C trong hai giờ (Fig.6). Một phần trình tự nucleotit ADN của thể thực khuẩn ΦCJ24 được nêu trong SEQ ID NO: 1 và 2 của Danh mục trình tự.

Thể thực khuẩn ΦCJ24, là thể thực khuẩn mới được phân lập bởi các tác giả sáng chế, lưu giữ ở trung tâm Giống vi sinh vật Hàn Quốc (361-221, Hongjedong, Seodamun-gu, Seoul, Korea) với số lưu giữ là KCCM11462P ngày 25/10/2013.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh ở chim gây ra chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 làm hoạt chất.

Do thể thực khuẩn ΦCJ24 có hoạt tính diệt khuẩn diệt đặc hiệu *Escherichia coli* gây bệnh cho chim nên thể thực khuẩn ΦCJ24 có thể được sử dụng để ngăn ngừa và điều trị bệnh do lây nhiễm *Escherichia coli* gây bệnh cho chim. Một ví dụ về bệnh lây nhiễm do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra là bệnh nhiễm khuẩn do *E.coli*, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở bệnh này.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “nhiễm khuẩn do *E.coli* ở chim” dùng để chỉ các bệnh xảy ra ở đường hô hấp của chim do nhiễm *Escherichia coli* gây bệnh cho chim, và các triệu chứng bao gồm viêm túi khí, viêm quanh gan, viêm màng bụng, viêm màng bao tim, viêm vòi trứng, viêm túi noãn hoàng, viêm tủy xương hoặc nhiễm trùng máu, do đó làm cho chim bị nhiễm chậm phát triển và gây tử vong.

Thuật ngữ "ngăn ngừa" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ tất cả các hành động để ức chế hoặc làm chậm các bệnh tương ứng hoặc làm chậm diễn tiến của bệnh bằng cách

sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 và/hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn ΦCJ24 cho động vật. Thuật ngữ "điều trị" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ tất cả các hành động để bệnh có tiến triển tốt hơn hoặc các triệu chứng của bệnh được giảm nhẹ bằng cách cung cấp thể thực khuẩn ΦCJ24 và/hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn ΦCJ24 cho động vật.

Chế phẩm để ngăn ngừa và điều trị bệnh lây nhiễm do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim theo phương án này có thể chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 với hàm lượng từ 5×10^2 pfu/ml đến 5×10^{12} pfu/ml, cụ thể là, từ 1×10^6 đến 1×10^{10} pfu/ml.

Chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra theo phương án này có thể chứa thêm chất mang được dụng và được bào chế cùng với chất mang để thành phẩm ở dạng thức ăn, thuốc, chất phụ gia thức ăn cho động vật, chất phụ gia cho vào nước uống cho động vật và các chế phẩm tương tự. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chất mang được dụng" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ chất mang hoặc chất pha loãng không gây kích thích cho cơ thể sống và không ức chế hoạt tính sinh học và các đặc tính của chế phẩm được sử dụng.

Chất mang hữu dụng theo phương án này không bị hạn chế cụ thể và chất mang bất kỳ có thể được sử dụng miễn là nó được sử dụng thông thường trong lĩnh vực này và được chấp nhận trong lĩnh vực dược phẩm. Các ví dụ không làm hạn chế về chất mang là muối thông thường, nước cất, muối được đệm, dung dịch Ringer, muối được đệm, dung dịch tiêm albumin, dung dịch dextroza, dung dịch maltodextrin, glyxerol, etanol và không giới hạn ở các chất này. Có thể sử dụng riêng biệt hoặc hỗn hợp của các chất mang này.

Ngoài ra, nếu cần, chất phụ gia thông thường khác như chất chống oxy hóa, chất đệm, và/hoặc chất kìm hãm vi khuẩn có thể được bổ sung thêm vào và chất pha loãng, chất phân tán, chất hoạt động bề mặt, chất liên kết, chất làm trơn cũng có thể được bổ sung thêm vào chế phẩm theo sáng chế để bào chế thành các dạng chế phẩm tiêm được như dung dịch trong nước, hỗn dịch, nhũ tương và viên thuốc dẹt và tròn, viên nang, thuốc dạng hạt, viên nén.

Phương pháp sử dụng chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra theo sáng chế không bị hạn chế mà là phương pháp bất kỳ được sử dụng trong lĩnh vực này. Ví dụ về phương pháp này nhưng không làm giới hạn là sử dụng qua đường miệng hoặc sử dụng ngoài đường tiêu hóa.

Ví dụ không làm giới hạn về chế phẩm sử dụng qua đường miệng là viên ngậm,

viên thuốc hình thoi, viên nén, hỗn dịch trong nước, hỗn dịch trong dầu, dạng bột, dạng hạt, nhũ tương, viên nang cứng, viên nang mềm, si rô, cồn ngọt hoặc các dạng tương tự.

Để bào chế chế phẩm theo sáng chế thành các dạng liều như dạng viên nén hoặc viên nang, chế phẩm có thể chứa chất liên kết như lactoza, sacaroza, sorbitol, mannitol, tinh bột, amylopectin, xenluloza, gelatin; tá dược như dicanxi phosphat; chất làm phân rã như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây; chất làm trơn như mage stearat, canxi stearat, natri stearyl fumarat, sáp polyetylen glycol và trong trường hợp là viên nang, chế phẩm có thể chứa chất mang lỏng như dầu béo ngoài những chất nêu trên.

Các phương pháp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa theo phương án này bao gồm, ví dụ, sử dụng đường trong tĩnh mạch, trong màng bụng, tiêm bắp hoặc dưới da, phương pháp sử dụng tại chỗ và có thể bôi hoặc xịt chế phẩm ở vị trí bị bệnh, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các cách sử dụng này.

Để bào chế dạng sử dụng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ chế phẩm theo phương án này được bào chế ở dạng để tiêm dưới da, truyền tĩnh mạch, tiêm bắp; thuốc đạn, thuốc dạng xịt như chế phẩm phun mù có thể hít vào qua đường hô hấp, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các dạng thuốc này. Để bào chế chế phẩm thành dạng thuốc tiêm, chế phẩm theo sáng chế có thể được trộn với chất làm ổn định hoặc được đệm trong nước để điều chế dung dịch hoặc huyền phù, và sau đó, dung dịch hoặc huyền phù đã được điều chế có thể được bào chế thành dạng liều đơn vị cho vào ống tiêm hoặc lọ. Để bào chế chế phẩm thành dạng thuốc xịt như thuốc phun mù, có thể bổ sung chất đẩy, hoặc các chất tương tự, trộn cùng với chất phụ gia sao cho chất đặc phân tán được trong nước bột ẩm được phân tán.

Cách sử dụng thích hợp, xịt hoặc liều sử dụng chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra có thể thay đổi phụ thuộc vào các yếu tố như tuổi tác, thể trọng, giới tính, mức độ triệu chứng bệnh, loại thực phẩm, tốc độ bài tiết của động vật sử dụng chế phẩm hoặc các yếu tố khác, cũng như phương pháp bào chế chế phẩm, phương pháp sử dụng chế phẩm, thời gian và/hoặc đường dùng và bác sĩ thú y có kỹ năng thông thường trong lĩnh vực này có thể dễ dàng quyết định và kê đơn liều hiệu quả để đạt hiệu quả mong muốn.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất kháng sinh chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 làm hoạt chất.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng sinh" dùng để chỉ chất có khả năng sử dụng cho động vật bao gồm cả người ở dạng thuốc có hiệu quả diệt vi khuẩn được sử dụng

với các mục đích để làm chất khử trùng, chất sát trùng và chất kháng khuẩn.

Kháng sinh chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 theo sáng chế làm hoạt chất có tính đặc hiệu cao với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim so với chất kháng sinh thông thường, do đó không diệt vi khuẩn có lợi mà chỉ diệt vi khuẩn gây bệnh và không gây kháng thuốc, do đó kháng sinh theo sáng chế có thể là chất kháng sinh mới có vòng đời dài hơn so với kháng sinh thông thường.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất phụ gia thức ăn cho động vật và chất phụ gia cho vào nước uống cho chim, cụ thể là gia cầm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 làm hoạt chất.

Chim là đối tượng để sử dụng chất phụ gia cho đồ ăn hoặc nước uống, đối tượng này không bị giới hạn nhưng trong phương án cụ thể này thì là gia cầm.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “gia cầm” là tên chung để chỉ các động vật thuộc loài chim trong số các động vật nuôi. Gia cầm bao gồm, nhưng không chỉ hạn chế ở, ít nhất một động vật được chọn từ nhóm bao gồm gà, vịt, gà tây.

Chất phụ gia cho thức ăn và chất phụ gia cho vào nước uống theo sáng chế có thể được sử dụng theo cách mà thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 được tạo ra riêng biệt ở dạng chất phụ gia thức ăn cho động vật hoặc chất phụ gia cho vào nước uống và sau đó trộn vào thức ăn hoặc nước uống cho động vật, hoặc thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 được cho trực tiếp vào khi chuẩn bị thức ăn hoặc nước uống cho động vật.

Thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 được sử dụng làm chất phụ gia cho thức ăn hoặc chất phụ gia cho vào nước uống theo sáng chế có thể ở dạng lỏng hoặc dạng khô, và tốt hơn là, ở dạng bột khô.

Ví dụ, thể thực khuẩn ΦCJ24 theo sáng chế có thể được trộn ở dạng bột với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% theo trọng lượng đến 10 theo trọng lượng, cụ thể là từ 0,1 theo trọng lượng đến 2 theo trọng lượng, dựa trên trọng lượng của chất phụ gia cho thức ăn.

Phương pháp làm khô chất phụ gia cho thức ăn và chất phụ gia cho vào nước uống theo sáng chế thành dạng bột khô không bị hạn chế, mà là phương pháp bất kỳ được sử dụng thông thường trong lĩnh vực này. Một ví dụ không làm hạn chế về phương pháp làm khô là phương pháp làm khô tự nhiên trong không khí, phương pháp phun khô, phương pháp đông khô và các phương pháp tương tự. Các phương pháp này có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp với nhau.

Chất phụ gia cho thức ăn hoặc chất phụ gia cho vào nước uống có thể chứa thêm vi sinh vật không gây bệnh khác. Các vi sinh vật như vậy có thể được chọn từ nhóm bao gồm *Bacillus* sp. như *Bacillus subtilis* có thể tạo ra proteaza, lipaza, và/hoặc glycosyltransferaza; vi khuẩn axit lactic như *Lactobacillus* sp. có hoạt tính sinh lý học và hoạt tính làm thoái biến chất hữu cơ ở các điều kiện kỵ khí như dạ dày bò; vi khuẩn dạng sợi như *Aspergillus oryzae* có tác dụng làm tăng trọng lượng vật nuôi, tăng sản lượng sữa, làm tăng khả năng tiêu hóa thức ăn cho động vật; và nấm men như *Saccharomyces cerevisiae* hoặc các loại tương tự. Các sinh vật này có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp với nhau.

Chất phụ gia cho thức ăn hoặc chất phụ gia cho vào nước uống chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 theo sáng chế làm hoạt chất có thể chứa thêm các chất phụ gia khác, nếu cần. Một ví dụ không làm hạn chế phạm vi của sáng chế về chất phụ gia có thể sử dụng được là chất liên kết, chất nhũ hóa, chất bảo quản và các chất tương tự, được cho vào để tránh chất lượng của thức ăn hoặc nước uống bị giảm; các axit amin, các vitamin, enzym, probiotic, chất tạo mùi vị, các hợp chất nitơ không protein, các silicat, các chất đệm, chất tạo màu, các loại dịch chiết, các oligosacarit và các chất tương tự, được cho vào để làm tăng độ hữu dụng của thức ăn hoặc đồ uống. Ngoài ra, chất phụ gia có thể có thêm chất trộn vào thức ăn hoặc các chất tương tự. Các chất phụ gia này có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp với nhau.

Chất phụ gia cho thức ăn chiếm hàm lượng từ 0,05 đến 10, tốt hơn là từ 0,1 đến 2 phần trọng lượng của thức ăn cho động vật. Chất phụ gia cho vào nước uống có thể có hàm lượng từ 0,0001 đến 0,01, tốt hơn là từ 0,001 đến 0,005 phần trọng lượng so với 100 phần trọng lượng của nước uống cho động vật. Hoạt tính của thể thực khuẩn ΦCJ24 kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh cho chim có thể có đủ tác dụng với lượng nêu trên.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất thức ăn hoặc nước uống cho động vật được chế biến bằng cách bổ sung chất phụ gia chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 làm hoạt chất vào thức ăn cho động vật hoặc chất phụ gia cho vào nước uống cho động vật hoặc bổ sung trực tiếp thể thực khuẩn ΦCJ24.

Thức ăn cho động vật được sử dụng theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể mà có thể sử dụng bất kỳ loại thức ăn nào được sử dụng thông thường trong lĩnh vực này. Một ví dụ không làm hạn chế phạm vi của sáng chế về thức ăn cho động vật có thể bao gồm thức ăn có nguồn gốc thực vật như hạt, rễ và quả, sản phẩm phụ trong quá trình chế biến thực phẩm, các loại tảo, sợi, sản phẩm phụ của ngành dược, các loại chất béo, các loại tinh bột, các loại bầu bí, các sản phẩm phụ dạng hạt và các loại thức ăn có nguồn gốc động vật như protein,

các nguyên liệu vô cơ, các loại chất béo, chất khoáng, các loại protein đơn bào, động vật phù du hoặc các loại thức ăn. Có thể sử dụng một hoặc hỗn hợp ít nhất hai trong số các thức ăn này.

Nước uống cho động vật được sử dụng theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể mà có thể sử dụng nước uống cho động vật bất kỳ được sử dụng trong lĩnh vực này.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 làm hoạt chất. Chế phẩm tẩy rửa hoặc chất làm sạch không bị giới hạn cụ thể mà có thể được tạo ra theo dạng chế phẩm bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Chất tẩy rửa có thể được phun để loại bỏ *Escherichia coli* gây bệnh cho chim ra khỏi vùng mà động vật sinh sống, lò mổ, vùng dịch bệnh, thiết bị nấu nướng hoặc nơi nấu nướng hoặc các địa điểm tương tự, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các địa điểm này.

Chất làm sạch có thể được sử dụng để làm sạch bề mặt da hoặc các vị trí trên cơ thể động vật, phơi nhiễm hoặc sắp phơi nhiễm với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các động vật này.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn ΦCJ24.

Cụ thể là, phương pháp ngăn ngừa và điều trị bệnh lây nhiễm theo sáng chế bao gồm việc sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn ΦCJ24 cho chim bị nhiễm *Escherichia coli* gây bệnh cho chim hoặc có nguy cơ nhiễm *Escherichia coli* gây bệnh cho chim với liều có hiệu quả điều trị. Tổng liều thích hợp trong ngày của thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn này có thể được quyết định bởi bác sĩ điều trị hoặc bác sĩ thú y, là rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Liều chính xác hiệu quả đặc hiệu của thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn ΦCJ24 cho chim có thể được xác định bằng cách xem xét mức độ phản ứng thu được, độ tuổi, thể trọng, tình trạng khỏe tổng quát, giới tính hoặc chế độ ăn của từng cá thể, thời gian sử dụng và đường sử dụng của thể thực khuẩn ΦCJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ24, tốc độ bài tiết chế phẩm, khoảng thời gian điều trị hoặc các yếu tố khác và có thể thay đổi nhiều phụ thuộc vào nhiều yếu tố như các thành phần của thuốc hoặc các chế phẩm khác sử dụng đồng thời hoặc riêng biệt và các yếu tố tương tự đã

biết trong lĩnh vực y học.

Thể thực khuẩn Φ CJ24 theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn Φ CJ24 có thể được sử dụng ở dạng được phẩm cho chim bằng cách xịt vào mũi hoặc sử dụng theo cách cho trực tiếp vào thức ăn hoặc nước uống của chim và sau đó cho động vật ăn thức ăn hoặc nước uống này hoặc có thể trộn vào thức ăn hoặc nước uống cho chim ở dạng chất phụ gia thức ăn cho động vật hoặc chất phụ gia cho vào nước uống và cho chim sử dụng.

Đường sử dụng và phương pháp sử dụng thể thực khuẩn Φ CJ24 theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn Φ CJ24 không bị giới hạn mà có thể sử dụng bất kỳ đường sử dụng hoặc phương pháp sử dụng nào miễn là thể thực khuẩn Φ CJ24 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn này có thể đi vào mô đích. Có nghĩa là, thể thực khuẩn Φ CJ24 hoặc chế phẩm chứa hoạt chất là thể thực khuẩn Φ CJ24 có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Các ví dụ về đường sử dụng nhưng không làm hạn chế phạm vi của sáng chế là sử dụng qua đường miệng, đường trực tràng, tại chỗ, trong tĩnh mạch, trong màng bụng, tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch, dưới da và sử dụng qua đường mũi, xông hít hoặc các đường khác.

Sau đây, sáng chế sẽ mô tả chi tiết thông qua phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Tuy nhiên, các ví dụ chỉ mang tính minh họa sáng chế mà không làm hạn chế phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Phân lập thể thực khuẩn gây nhiễm cho *Escherichia coli* gây bệnh cho chim

Ví dụ 1-1

Sàng lọc thể thực khuẩn và phân lập thể thực khuẩn đơn

Sau khi 50ml mẫu thu được từ phân gà thu được từ các điểm trong trang trại nuôi gia cầm ở Chengwon-gun, tỉnh Chungcheong được cho vào ống ly tâm và được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút, dịch nổi được lọc bằng bộ lọc 0,45ml để tạo ra dung dịch mẫu và sau đó thực hiện phương pháp phủ thạch mềm sử dụng dung dịch mẫu đã được chuẩn bị. Phương pháp phủ thạch mềm là phương pháp quan sát phản ứng ly giải của thể thực khuẩn bằng cách sử dụng các tế bào chủ sinh trưởng trên bề mặt thạch (gắn vào giá thể rắn sử dụng 0,7% thạch).

Cụ thể là, 150ml dung dịch nuôi cấy lắc ($OD_{600} = 2$) chứa *Escherichia coli* gây

bệnh cho chim, (E10-4) thu được từ khoa Thú y Trường đại học Kunkuk và 2ml 10x môi trường LB (10 g/l of tryptophan; 5 g/l of dịch chiết nấm men; 10 g/l NaCl) được trộn với 18ml dịch mẫu đã được lọc và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 18 giờ và sau đó, dung dịch nuôi cấy được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút và dịch nổi được lọc bằng cách sử dụng bộ lọc cỡ 0,45µm. Sau đó, sau khi dung dịch chứa 3ml thạch 0,7% (trọng lượng/thể tích) và 150ml dung dịch nuôi cấy lắc ($OD_{600} = 2$) chứa *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (E10-4) được rót vào và để cho đặc lại trên đĩa LB, 10ml dung dịch lọc của môi trường mẫu được cho từng giọt vào, sau đó nuôi cấy ở 37°C trong 18 giờ và xác nhận sự hình thành các vết tan.

Đã biết rằng, mỗi loại thể thực khuẩn sẽ tạo ra một vết tan đơn nên các tác giả sáng chế dự định tách thể thực khuẩn đơn từ vết tan tạo thành. Cụ thể là, vết tan được cho vào 400µl dung dịch SM (NaCl (5,8g/l); $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (2g/l); 50ml Tris-Cl 1M (pH 7,5); H_2O , và để ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, sau đó thu được dung dịch thể thực khuẩn.

Sau đó, 100ml dung dịch chứa thể thực khuẩn được trộn với 12ml thạch 0,7% (trọng lượng/thể tích) và 50ml dung dịch nuôi cấy lắc ($OD_{600} = 2$) chứa *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (E10-4) được sử dụng để thực hiện phương pháp phủ thạch mềm sử dụng đĩa môi trường LB có đường kính 150mm, trong đó việc nuôi cấy được thực hiện đến khi thể thực khuẩn được ly giải hoàn toàn. Sau khi kết thúc nuôi cấy, 15ml dung dịch SM được cho vào đĩa LB và để ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 giờ, sau đó thu lấy dung dịch chứa thể thực khuẩn.

Cloroform với lượng 1% (thể tích) được cho vào dung dịch thu được và hỗn hợp được trộn trong 10 phút, sau đó ly tâm ở 4000 vòng/phút trong 10 phút rồi thu lấy dịch nổi. Dịch nổi thu được được lọc qua bộ lọc 0,45µm, sau đó thu được mẫu cuối cùng.

Ví dụ 1-2

Nuôi cấy và tinh chế thể thực khuẩn trên quy mô lớn

Thể thực khuẩn thu được từ ví dụ 1-1 được nuôi cấy trên quy mô lớn bằng cách sử dụng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (E10-4), và sau đó thể thực khuẩn được tinh chế từ đó.

Cụ thể là, sau khi *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (E10-4) được nuôi cấy lắc và khi đến nồng độ $1,0 \times 10^{10}$ cfu được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng trong 10 phút và sau đó tái tạo huyền phù trong 4ml dung dịch SM. Thể thực khuẩn $1,0 \times 10^6$ pfu được đưa vào dung dịch này (hệ số nhiễm:multiplicity of infection-MOI) là 0,0001 và để ở nhiệt độ phòng trong 20 phút.

Sau đó, 150 ml dung dịch LB này được cho vào và nuôi cấy ở 30°C trong 6 giờ. Sau khi hoàn thành việc nuôi cấy, chloroform được cho vào với lượng 1% (thể tích) của dung dịch cuối và khuấy trong 20 phút. Sau đó, các enzyme cắt giới hạn ANDaza I và ARNaza A được lần lượt cho vào đến nồng độ cuối cùng là 1µg/ML và dung dịch được để ở 30°C trong 30 phút. Sau đó, NaCl và polyetylen glycol được cho vào đến nồng độ cuối cùng lần lượt là 1µg/ML và 10% (trọng lượng/thể tích) và được để ở 4°C trong 3 giờ, sau đó ly tâm ở nhiệt độ 4°C với tốc độ 12000 vòng/phút trong 20 phút rồi thu lấy chất lắng.

Chất lắng thu được được tái tạo huyền phù trong 5ml dung dịch SM và để ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút, sau đó, 4ml chloroform được cho vào và khuấy, sau đó ly tâm ở nhiệt độ 4°C với vận tốc 4000 vòng/phút trong 20 phút, sau đó thu lấy dịch nổi. Dịch nổi được lọc bằng bộ lọc 0,45µm và thực hiện siêu ly tâm (35000 vòng/phút trong 1 giờ ở 4°C) bằng cách sử dụng phương pháp gradient nồng độ glyxerol (nồng độ glyxerol: 40%, 5%), sau đó tinh chế thể thực khuẩn này.

Các tác giả sáng chế đặt tên cho thể thực khuẩn thu được bằng cách chiết mẫu từ phân gà trong trang trại có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu kháng lại *Escherichia coli* gây bệnh cho chim là "Thể thực khuẩn ΦCJ24" và lưu giữ thể thực khuẩn này tại Trung tâm giống vi sinh vật Hàn Quốc (Korean Culture Center of Microorganisms (361-221, Hongjedong, Seodamun-gu, Seoul, Korea) với số lưu trữ là KCCM11462P ngày 30/1/2013.

Ví dụ 2

Quan sát hình thái của ΦCJ24

Thể thực khuẩn ΦCJ24 được tinh chế trong Ví dụ 1 được pha loãng trong dung dịch gelatin 0,01% và sau đó được cố định bằng dung dịch 2,5% glutaraldehyt. Thể thực khuẩn thu được được cho từng giọt vào đĩa mica phủ cacbon (xấp xỉ 2,5x2,5 mm), giữ nguyên trong 10 phút và rửa bằng nước cất vô trùng.

Sau đó, màng cacbon được đặt lên lưới bằng đồng, nhuộm bằng uranyl axetat 4% trong thời gian 60 giây, làm khô và kiểm tra bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử chuyển đổi (JEM-1011, 80 kv, độ phóng đại 200,000) (FIG. 1).

FIG. 1 thể hiện hình ảnh kính hiển vi điện tử chuyển đổi của thể thực khuẩn ΦCJ24 và do thể thực khuẩn ΦCJ24 này có hình dạng đa diện 20 mặt và có đuôi không co rút được, cho thấy hình thái thể thực khuẩn thuộc loại B1 *Siphoviridae*.

Ví dụ 3

Phân tích kích thước ADN hệ gen của ΦCJ24

ADN hệ gen được chiết từ thể thực khuẩn Φ CJ24 được tinh chế như trong Ví dụ 1.

Cụ thể là, axit etylenđiaminetetraaxetic 20mM (EDTA), proteinaza K 50 μ g/ml, và natri dodecyl sulfat 0,5% (SDS) được cho vào dung dịch nuôi cấy chứa thể thực khuẩn Φ CJ24 tinh khiết và để ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ, tiếp đó bổ sung một thể tích phenol (pH=8,0) tương đương vào và khuấy, sau đó ly tâm ở nhiệt độ phòng với tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó thu lấy dịch nổi.

Dịch nổi được trộn với một thể tích PC (phenol: cloroform = 1:1) tương đương, sau đó ly tâm ở nhiệt độ phòng và tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó thu lấy dịch nổi. Dịch nổi được trộn với một thể tích tương đương cloroform và ly tâm ở nhiệt độ phòng với tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó thu lấy dịch nổi. Sau đó dịch nổi thu được được trộn với dung dịch natri axetat 3M với thể tích bằng 10% tổng thể tích và bổ sung dung dịch etanol lạnh 95% với thể tích gấp đôi, trộn và để ở nhiệt độ -20°C trong 1 giờ.

Sau đó, dịch thu được được ly tâm ở nhiệt độ 0°C ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút và thu lấy chất lắng bằng cách loại bỏ dịch nổi. Sau đó, hòa tan chất lắng thu được bằng 50 μ l dung dịch đệm TE (Tris-EDTA; pH=8,0). ADN được chiết được pha loãng 10 lần và nồng độ ADN được tính bằng phương pháp đo hấp phụ ở bước sóng OD₂₆₀.

Tiếp đó, lug ADN được nạp lên gel agarose 1% điện di trong trường xung điện (pulse-field gel electrophoresis-PFGE) và phát triển bằng cách sử dụng hệ BIORAD PFGE chương trình 7 (mức độ kích thước: 25-100 kb; mức độ thời gian thay đổi: 0,4 đến 2,0 giây, hình tuyến tính; điện áp hướng tới: 180 V; điện áp ngược: 120 V) ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ (FIG. 2).

FIG. 2 hình điện di trong trường xung điện (pulsed field gel electrophoresis: PFGE) của ADN hệ gen của thể thực khuẩn Φ CJ24, và có thể xác nhận là ADN hệ gen của thể thực khuẩn Φ CJ24 có kích thước khoảng 53kb.

Ví dụ 4

Phân tích mẫu protein của Φ CJ24

15ml dung dịch thể thực khuẩn Φ CJ24 tinh khiết (chuẩn độ 10¹¹ pfu/ml) được trộn với 3ml dung dịch mẫu 5xSDS và đun sôi trong 5 phút để thực hiện phép điện di SDS-PAGE 12% (FIG. 3).

FIG. 3 là hình điện di thể hiện kết quả của phép SDS-PAGE thực hiện cho thể thực khuẩn Φ CJ24 và có thể thấy rằng các protein chủ yếu có kích thước khoảng 10,3kDa, khoảng 12,5kDa, khoảng 15,1kDa, khoảng 43kDa, khoảng 49,3kDa, khoảng 60,4kDa và

khoảng 94,9kDa.

Ví dụ 5

Phân tích đặc tính di truyền của ΦCJ24

Để xác định các đặc tính di truyền của thể thực khuẩn ΦCJ24 được trình bày trong Ví dụ 1, ADN của thể thực khuẩn ΦCJ24 được phân tích bằng cách sử dụng máy phân tích trình tự FLX titan (Roche), là một thiết bị phân tích gen. Các gen được ghép lại bằng cách sử dụng phần mềm lắp ráp GS trên máy Macrogen INC. Trình tự khung đọc mở được xác định bằng cách thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm GeneMark.hmm, Glimmer v3.02 và FGENESB. Việc phân tích khung đọc mở được thực hiện bằng cách sử dụng chương trình BLASTP và InterProScan.

Trình tự nucleotit của thể thực khuẩn ΦCJ24 có rất nhiều điểm giống với trình tự nucleotit của các thể thực khuẩn đã biết (thể thực khuẩn *Escherichia* phiEB49, thể thực khuẩn *Escherichia* KBN21) nhưng không có thể thực khuẩn nào giống hoàn toàn (100%) tất cả các phần với thể thực khuẩn theo sáng chế. Do đó, có thể khẳng định rằng thể thực khuẩn theo sáng chế là thể thực khuẩn mới phân lập.

Bảng 1 dưới đây thể hiện kết quả thu được khi so sánh các trình tự nucleotit của thể thực khuẩn ΦCJ24 và trình tự nucleotit đã được giải mã đã biết.

Bảng 1

Câu lệnh				Đối tượng	Điểm		Mức độ tương đồng	
Tên	Chiều dài	Bắt đầu	Kết thúc	Mô tả	Bit	Giá trị E	Tương đồng/ Tổng số	Pct. (%)
SEQ ID NO: 1	50547	25529	27458	Thể thực khuẩn <i>Escherichia</i> phiEB49, hệ gen đầy đủ	1283	0	1638/1959	83
SEQ ID NO: 2	8358	4	8358	Thể thực khuẩn <i>Escherichia</i> KBNP21, hệ gen đầy đủ	16360	0	8330/8355	99

ADN của thể thực khuẩn ΦCJ24 đã được chuẩn bị được phân tích bằng cách sử dụng máy đọc trình tự ADN và kết quả từng phần của trình tự nucleotit được phân tích được nêu trong SEQ ID NO: 1.

Ví dụ 6

Độ ổn định pH của ΦCJ24

Để xác định xem thể thực khuẩn ΦCJ24 có ổn định trong môi trường pH thấp của dạ dày hay không, thử nghiệm về độ ổn định được thực hiện trong một khoảng pH rộng (pH= 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 5,5; 6,5; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0 và 11,0).

Để thử nghiệm, các dung dịch có độ pH khác nhau (dung dịch đệm natri axetat (pH=4,0; pH=4,5; pH=5,0 và pH=5,5) và các dung dịch đệm natri xitrat (pH=2,5; pH=3 và pH=3,5) được điều chế ở nồng độ 0,2M.

180μl mỗi dung dịch pH được trộn với 20μl dung dịch thể thực khuẩn được chuẩn độ $2,0 \times 10^{11}$ PFU/ml để mỗi dung dịch pH có nồng độ 1M, và sau đó dung dịch thu được được để ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Đối với nhóm đối chứng, 20μl dung dịch thể thực khuẩn được chuẩn độ $2,0 \times 10^{11}$ PFU/ml được trộn với 180μl dung dịch SM theo phương pháp tương tự và dung dịch thu được được để ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Sau đó, các dung dịch được pha loãng hàng loạt, và 10μl mỗi dung dịch của từng bước pha loãng được nuôi cấy bằng phương pháp dùng lớp thạch mềm ở 30°C trong 18 giờ để xác định chuẩn độ thể thực khuẩn dựa trên việc thể thực khuẩn có bị ly giải hay không (Fig. 4).

Fig. 4 thể hiện kết quả thử nghiệm về khả năng kháng axit của thể thực khuẩn ΦCJ24. Trong Fig. 4, có thể thấy rằng thể thực khuẩn ΦCJ24 không bị mất hoạt tính của nó và độ ổn định được duy trì trong khoảng pH từ pH=3,5 đến pH=11, so với nhóm đối chứng.

Ví dụ 7

Độ ổn định của ΦCJ24 phụ thuộc vào nhiệt độ

Nếu thể thực khuẩn được đưa vào chất phụ gia cho thức ăn cho gia súc ở các dạng liều khác nhau của thể thực khuẩn, nhiệt có thể được tạo ra trong quá trình bào chế và do đó, các thử nghiệm dưới đây được thực hiện để xác định độ ổn nhiệt của các thể thực khuẩn này.

Cụ thể là, 100μl dung dịch chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 có nồng độ $1,65 \times 10^{10}$ pfu/ml được để ở các nhiệt độ 37°C, 45°C, 53°C và 60°C lần lượt trong 10 phút, 30 phút, 60 phút và 120 phút. Sau đó, dung dịch nêu trên được pha loãng hàng loạt, 10μl mỗi dung dịch pha loãng được nhỏ giọt và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 18 giờ để xác định chuẩn độ thể thực khuẩn dựa trên thể thực khuẩn bị ly giải (FIG. 5).

FIG. 5 thể hiện kết quả thử nghiệm về khả năng kháng nhiệt của thể thực khuẩn ΦCJ24. Như nêu trong FIG. 5, có thể thấy là thể thực khuẩn ΦCJ24 giảm hoạt tính khoảng 1 log hoặc thấp hơn khi thể thực khuẩn ΦCJ24 được đưa tới 53°C trong 120 phút, và hoạt

tính giảm tiếp khi thể thực khuẩn ΦCJ24 được đưa đến nhiệt độ 60°C.

Ví dụ 8

Độ ổn định trong điều kiện sấy khô của thể thực khuẩn ΦCJ24

Nếu thể thực khuẩn được đưa vào chất phụ gia cho thức ăn cho gia súc ở các dạng liều khác nhau của thể thực khuẩn, thể thực khuẩn có thể bị làm khô trong quá trình bảo chế và do đó, các thử nghiệm dưới đây được thực hiện để xác định độ ổn định của các thể thực khuẩn này chịu được các điều kiện sấy khô.

Dựa trên các thử nghiệm về khả năng kháng nhiệt, thử nghiệm sấy khi được thực hiện bằng cách sử dụng máy cô SpeedVac. 200μl dung dịch thể thực khuẩn ΦCJ24 với nồng độ $2,5 \times 10^{10}$ PFU/ml được làm khô ở 60°C trong chân không trong 2 giờ, và các viên tròn thu được được đưa vào 200μl dung dịch SM, sau đó tái tạo huyền phù hoàn toàn ở 4°C trong một ngày, từ đó đo các mức chuẩn độ (Fig. 6).

Như được nêu trong Fig. 6, có thể thấy là sau khi sấy khô, khi so sánh với các mức chuẩn độ đầu tiên và các mức độ ổn định liên quan, thể thực khuẩn ΦCJ24 bị mất hoạt tính khoảng 1 log khi thể thực khuẩn ΦCJ24 được làm khô ở 60°C trong 2 giờ.

Ví dụ 9

Thử nghiệm mức độ nhiễm của thể thực khuẩn ΦCJ24 so với các chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim kiểu đại

Ngoài *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (E10-4) được sử dụng trong thử nghiệm này, hoạt tính phân giải của thể thực khuẩn ΦCJ24 được thử nghiệm trên 46 chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim kiểu đại được phân lập bởi khoa thuốc thú y trường Đại học Konkuk (KU), 10 chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim được phân lập bởi Trung tâm kiểm dịch động thực vật Hàn Quốc (KAPQA), 7 chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim được phân lập bởi khoa thuốc thú y, Đại học quốc gia Chonbuk (CNU), và 26 chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim đã được chẩn đoán bệnh được phân lập bởi nông trại Komipharm đều được thử nghiệm.

Cụ thể là, 150μl dung dịch nuôi cấy lác chứa mỗi chủng ($OD_{600} = 2$) được trộn, và 10μl dung dịch chứa thể thực khuẩn ΦCJ24 có mức chuẩn độ 10^9 pfu/ml được cho vào từng giọt và nuôi cấy bằng phương pháp dùng lớp thạch mềm ở 30°C trong 18 giờ, và sau đó việc hình thành vết tan được xác định (bảng 2).

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2

Số	Các chủng KU	Kiểu huyết thanh	ΦCJ24	Số	Các chủng KAPQA	Kiểu huyết thanh	ΦCJ24
1	E09-1			48	O6Q-035	O-78	0
2	E09-2			49	O6D-044	O-78	0
3	E09-3		0	50	O6Q-140	O-78	0
4	E09-4			51	O7D-001	O-78	0
5	E09-5			52	O7D-022	O-78	0
6	E09-6	O-78	0	53	O7Q-039	O-78	0
7	E09-7			54	KWU-02	O-78	0
8	E09-8	O-78	0	55	KWU-32	O-78	0
9	E09-9	O-78	0	56	KWU-33	O-78	0
10	E09-10			57	KWU-43	O-78	0
11	E09-11	O-78	0	Số	Các chủng CNU	Kiểu huyết thanh	ΦCJ24
12	E09-12	O-125					
13	E09-13			58	A12-MRA-076-①		
14	E09-14			59	A10-LSf-005		
15	E09-15		0	60	AI 1-LSF-043		
16	E09-16			61	A12-MRA-076-②		
17	E09-17			62	D12-JW-058		
18	E09-18			63	A12-LSF-083	O-78	0
19	E09-19			64	A12-MRA-076-③		
20	E09-20			Số	Các chủng KF	Kiểu huyết thanh	ΦCJ24
21	E09-21						
22	E09-22			65	12-001-3		
23	E09-23		0	66	12-053		
24	E09-24			67	12-055		
25	E09-25			68	12-086-1	O-78	0
26	E09-26			69	12-086-2	O-78	0
27	E09-27		0	70	12-096-3		
28	E09-28			71	12-175		
29	E09-29			72	12-187	O-78	0
30	E09-30		0	73	12-211-5		
31	E09-31			74	12-220-4		
32	E09-32		0	75	12-220-6		
33	E09-33			76	12-248		
34	E09-34		0	77	12-261-1		
35	E09-35(297)	O-78	0	78	12-266		
36	E09-36(343)			79	12-274-1		
37	E09-37(343)			80	12-275-2	O-78	0
38	E09-38(343)			81	12-286-2		
39	E09-39(353)			82	12-300	O-78	0
40	E09-40(353)			83	12-303-2	O-78	0
41	E09-41(376)			84	12-304-3		
42	E09-42(376)			85	12-299-1	O-78	0

43	E10-2	O-1	0	86	12-299-2	O-78	0
44	E10-3	O-78	0	87	12-299-3	O-78	0
45	E10-4	O -78	0	88	12-324	O-78	0
46	E10-5	O -78	0	89	12-338-1	O-78	0
47	E10-6			90	12-338-4	O-78	0

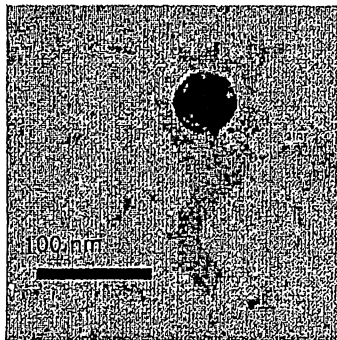
Như thể hiện trong bảng 2, thể thực khuẩn ΦCJ24 thể hiện khả năng gây nhiễm đối với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim (bao gồm các typ 0-1, 0-78) là nguyên nhân chính gây bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây ra cho chim ở các nông trại gia cầm.

Đã biết là thông thường typ huyết thanh 0-78 là chủng nổi trội nhất trong số các chủng *Escherichia coli* gây bệnh cho chim được phân lập từ các nông trại gia cầm.

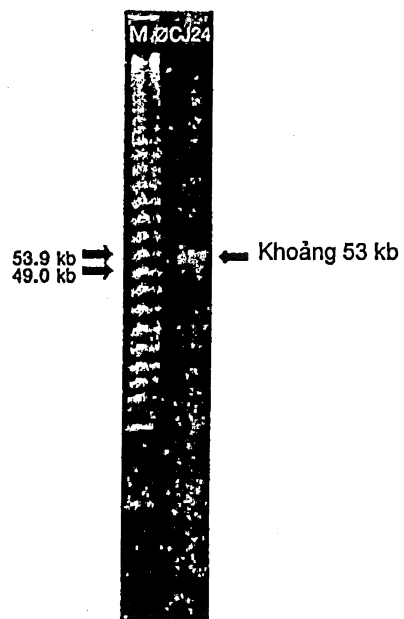
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) có khả năng tiêu diệt đặc hiệu đối với *Escherichia coli* gây bệnh cho chim.
2. Chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra, chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.
3. Chế phẩm ngăn ngừa và điều trị bệnh nhiễm khuẩn do *Escherichia coli* gây bệnh cho chim gây ra theo điểm 2, trong đó bệnh nhiễm khuẩn là bệnh tiêu chảy do E.coli gây ra ở chim.
4. Kháng sinh chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.
5. Chất phụ gia cho thức ăn dành cho chim chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.
6. Thức ăn dành cho chim chứa chất phụ gia cho thức ăn dành cho chim theo điểm 5.
7. Chất phụ gia cho vào nước uống cho chim chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.
8. Nước uống cho chim chứa chất phụ gia cho vào nước uống cho chim theo điểm 7.
9. Chất khử trùng chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.
10. Chất tẩy rửa chứa thử thực khuẩn ΦCJ24 (KCCM11462P) theo điểm 1 làm hoạt chất.

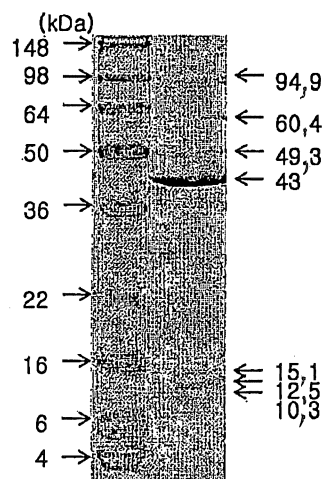
【Fig.1】



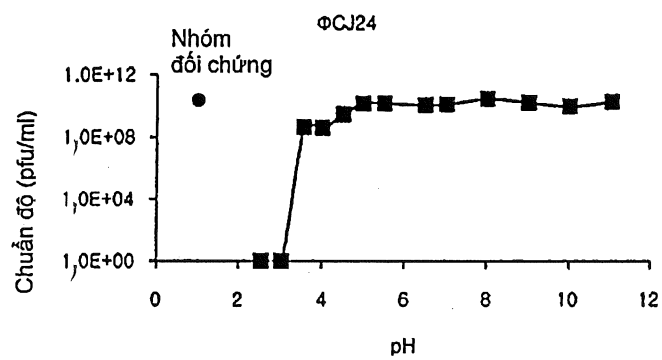
【Fig.2】



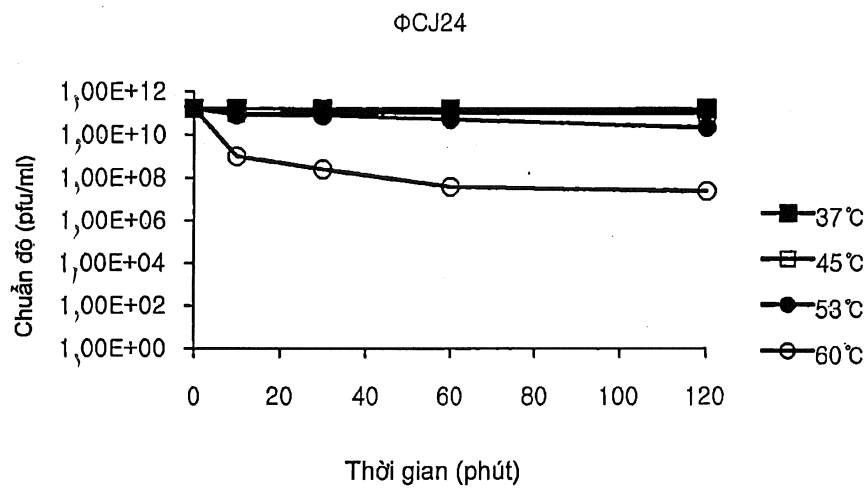
【Fig.3】



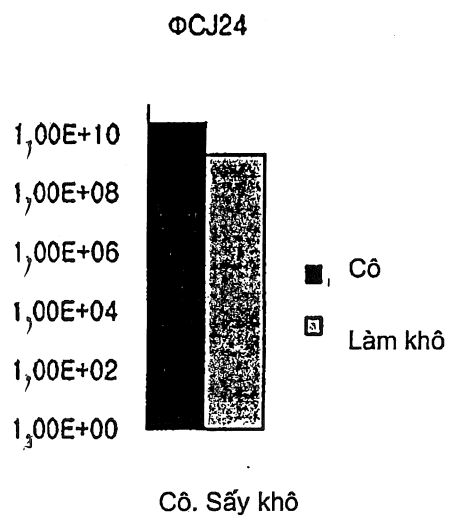
【Fig.4】



【Fig.5】



【Fig.6】



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CJ CHEILJEDANG CORPORATION

<120> THẺ THỰC KHUẨN ~~ΦCJ24~~ CÓ HOẠT TÍNH ĐẶC HIỆU DIỆT ESCHERICHIA COLI GÂY BỆNH CHO CHIM VÀ CHẾ PHẨM CHỨA THẺ THỰC KHUẨN NÀY

<130> P14-5113

<150> KR 10-2014-0044994

<151> 2014-04-15

<160> 2

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 50547

<212> ADN

<213> một phần ADN của thẻ thực khuẩn CJ 24

<400> 1
ctcgtacact cggattgatt caagctgcgc accttccttg attggtgatg tcaggagtcg
60
gttgctcacgg acgacggcga cgatggcgga accaccataa agccgctccc atgagaacgc
120
ctcgacgatac tgcttattca gtttcatgcc atcccaaagt gatttgaatg ctttctcatc
180
cttcacgccg tcaaggccga atccaggga aaccatttct tctggaatca catcgacaat
240
tttcttagcc ataggatcat caatgtaaaa ctgcgtcacg tacatctgat cgtatagcga
300
tgcaagcgcg ccgcctgccg taccttcacc cttaaactgc ttgttgtaag agtctgtctt
360
aacgcttttt ttactcatct gtttttctcc caataaaaaa ggctagggttg ttagcctagc
420
cattatacat tatttgactt ccgacttacc atgattttca tgatagccca aagcgaactc
480
cgcagacttc cttgcgcaaa ctgcatcgaa ccaatcagag tagtatccca atgacttcct
540
ctctcctttc cctgagttac ctatgaaagc ccaccacttg gatcttgaat cataccagta
600

aacacctaca caccgcgttt tattccttac tgacttcttt gtgtttctac cgttatcctt
660

atgggtaaca acccttaaat tctccctcct attgtcgttc cttatgtgat ttttgtgatc
720

tatctgcatc ccatcagga tatctccatt atcgaattcc catgcgaatc tgtgagcaag
780

aagcgatacg ccacctatcg ttatcctcac ataaccatca gcatcaagtg ttcccgtat
840

gtcaccaggg tagaatttac tctttttaat cttgatcatc cacctaacat aaactccatc
900

atacgttaga taattcttgg ctatgtcata aatatcgctt cttgcattct gcattacacc
960

cccctactta atccggctaa acgtttcatt ctagacactg gatcatccag catgttcac
1020

tcaaagttaa cagcatcaaa tacgttatcg caaatgtcat catgaggaga tgaatcatca
1080

aacgtaaagt acaccaattc aatctccatg tcagaaagca tctcatgaga ttcagggat
1140

acacaacgcc cagccttcat gattgggtgct gcgtccattg cgcgagttac cttatccgta
1200

tttcgctgaa ctggcgtgat gtcaatcggg agcttcttgt tgattgactg gatcaggcca
1260

gtgccgctcg ccttgtcttc aatgtaaacc ttgcgcagtg aagtcttggt ctccttcgcc
1320

cacttgaagc agttgctgta aaaattaaga gccatctttt caagttccgg cgcttccac
1380

ttaccgcgaa tgccgtcgat gaaatatacg cgatccttat acttgcccca caaaacaaag
1440

acgctgtagt cgtgtatttc ctctgctttc tgcgctgtat ccgcagtggg gaacaggtat
1500

tcgaagcgat ccggttttgg catgtcggct ttttcgccgt ctccgtaata ctggaaccag
1560

tccgatttaa acgcgttgcc gccaaagcgc atgggcttct gctgatactg agattcaaac
1620

gtatacaggt cagcttcgcg caatgccagt aggctttctg cgctctcctt cgcgggccag
1680

aaagaaaagt gttcaacgcc gtcaatcatt accgatgggg aggatagcac gtctctgtca
1740

aattcctctt tcaaccagtc aggaagcgtg tctctgtatt cctcggttac cagcgccggg
1800

atgattacct gctcaaactg catccccacc ataccgccat tcatcaggaa ccacgtcgca
1860

tcgtttacgt gtagtcgctg ctgaacaaca acgcatgggt tcttgtcatt cattcttcgc
1920

gatcgaacgg tgttctttaa cagcgtgtga ccagccttcc tctttactgc tgagtatagg
1980

tctttcgggt tctcagggtc atcaagcgtc agcattccgg tgaagccatc atccatataa
2040

ccgccacgct taccagttac ctgaccaccg atcgcacgtg aagtttagagt taaccatgcc
2100

ttttcctttg agtttagagc ggtaatgtca ccacctgaag cctttgctag tttgcagggc
2160

caaagctcct ggaactcatc agacccgata atctcacgcg tcttgatccc gttatcctta
2220

acgagactat cagagaatga gaggttaaga ttccttatct tctcgctcct gaacatgcaa
2280

tacactggca tgtgaatgga gaagatctca gtcttgccag agcctggggg aatgttgaat
2340

atgatgtttt gtatctcacc gttgattatc tgctcaacct tccagcaaag gtagttgaag
2400

tgccaattag acctaaactt ttgagcctgt atcaaagcga accatatgcg cataaaatca
2460

ctaaaagacc tttcgctcat caccttcaact accgacttct ctttctcggt tagattttcc
2520

catattaaaa tgtctttact tgccattgtg cacatactcc acgtgaacta gctaaagggt
2580

tatcaaattt tatcaagaac gcttttcaca gcatcctcaa tcgtctgagt atcattcact
2640

acattactta cgttgacctc ggcgggcttg tcgattccaa tctccttgcc taaaaccca
2700

gcattgatga tattggctgc agcaagctga tatttttgct catggattac agagtcaacg
2760

aacccccatta cctccgcgaa tccaggtgat gcgcgccagc tctgaattga gcttgctgta
2820

actccgcagt acaggcagaa tccgttttaa gtgaaaatgc gaggcttatg cactaagttc
2880

tctgtgacaa caccctggaa gctcgccggt tcgattgcct tgatcgccctg gtcctcggcc
2940

catgagaaat atttaaccgc aagggttgaat acagtctcag gcgtcattgg gtgacgatgg
3000

ttcaggttgg caatgtcgcc atacttttta ttgtatagct ctttgaagtt accgattcga
3060

accttctcgt ttgcgtgact ggtgaagttt tcgtctttca tagttgtttc cccttggtga
3120

ataggaatga attataccag attgcaggca taaaaaaagc accccgaagg atgcttaa
3180

taatcaatca acgtatttga tggccccagg cttccgcccc gatcgaatat cgcaaagctc
3240

attagcaaca accatgaact tgccggatac gcgccattgc tttttcttct catcatatcg
3300

cgcttgagcg aattgtccgc gcttgattag cttagtaacc catgcgcagg aaagcgaaat
3360

gatcaggacg gaagcgaaaa taaaaccata aataaacgtc agcatgaaat accccttaca
3420

taattaacta aaaatttatg agtcgttgta tcgactccgc tcatttcctt cacctttgaa
3480

acggcttctt cggcgctact ggcctcaacc tttgcttcaa agctttgctt acaagatgcg
3540

catgtgcgcc ccattagcaa aatagttagc ttgacctcaa acatatcaaa cctcattggt
3600

aggctccggtt acggagtccg gcaggctttc acaatgcctc gatttttttg cgacttacac
3660

tttgcttttg gcgatgcgct atttcaattt gcggcttacg aaccgctcgt tgccacttgg
3720

tggcctcgtc tgtttacgag attaaagata ccagtcagtg agatggctgt caatcaactt
3780

ttttaaaagt tccatacgtc gggcaaacag ggtagtcgat cgctaccttg ttcccctcgt
3840

cactgtagac gtaaacgaat ccctgggaat caactttttc cactgtgtac tcgcagccag
3900

taaagaactc ataaccgcgc ggcgcgatac acttgatcac gtcacccttc ttgatcttac
3960

tcatagatac tttctccggtt ttcacgtttg ccaaccagac ccttaagata accagcaatc
4020

cacacaaatt tgtcacgcga tataatggtc gctacggcat catgggtgctt ggtaataatt
4080

gatgcgacca gcttatcatc tttgcgatct ttcttgctca gatcggcata cgctgcgttt
4140

aattgcttgg cctttgcctt tactgcgttc atttgcggtat cagttaatcc aaacattatt
4200

tgtacacccc atcaatgatt tcgctgatct tggtcattgt gtcaaccttg gcgcaatccc
4260

attccggtga gcctggttct tcccatggtc cgccagggcc gtgacacgtc atgttgctga
4320

taagttccga cacttcgctt tccagcacat tgcgcatgtg ctcaatctgc cagcattcaa
4380

cagagtcttc cgcgtcgcgg taagccttga actcaccgcc gagaactttt tgagcagctt
4440

cggctgattc cttcgtttcg tgaacgggtc ggtgaatctc tttaccgaac ttgccgacct
4500

cgtatgtgtg aatgtaaadc atttctcgat caccttatat tcattttcgc taatgctgat
4560

ttcgttgcca acatgcacga actctgtttc acggatagct tggattgaaa ggtcgcgcgc
4620

cttgatatta cctgacactt cgattacgtc gccgacttta aatccgcaat cttccagagt
4680

aagggcatcg tcactctgtca catagttaac gtcgataatt tcaattttca tttctgcttc
4740

ctcgttcggt tcgatggggg aactatacag ccaccccgat tctgagtttt aacaaaaagt
4800

gctatcgctg gtgattgcgt gcattctttt tcattgccgc gaaggcgata aagcagaaca
4860

tcccaggctc agtgaatcgt aacttgccat actggcgaca catacggcgg aatttacgct
4920

tgtcattgaa cacgttagtt acacgttttt ccgtcactac taatcggcgc ggacccttta
4980

ctaccacgaa agtgactgct gggccgcttg cgagattcag gttaaaactta ctgcctttct
5040

ggatggcgta ccaggtaagg ccgttatcga catcaataac atcagccacg ttgaggtgac
5100

gatttggcct gcgttttagct tcgtacacat gaccaacctg aaagtgatct tcgaacagcg
5160

gcgctaacct tggatgtatt ttaacgcaac gtaatttcat ggttattccc cttcgttttc
5220

gtcgaattgt tgattattga tctgagtgcg aacctctttg accatctcag agaactcatc
5280

ggctgtgcac ttcatagtct gagtagccag cagttgctta aggatggtgg cttgcttgtc
5340

tgacaggttg atagtaatca tcttggtttc ctctcgcttg gtgtgaacta actataacaa
5400

aaccgcgcgg agcgggttta gcaattcgtg ctatttacca gggaaatatca tcggcccaat
5460

catcatccat tgaaggacta accaagcaag cgcgaactac tttaaggacg ccatcatcaa
5520

catcaccatt taccagatgc acatcatgct cgttatattt cttgtaatca gggaagtgcg
5580

attccttgat gcggatgtaa tcacggctat ctccgcgaa agtcctttcca tccatgaaca
5640

agcggaccag ggtaacatcg tgaccatctt caactagtcg aatcacttca tcggggaatc
5700

cgccatcagt gcaaacaaag cagaggcctt catcacacag cttgatatgt tcgctcatca
5760

gtttgccgaa ctgctggttg ccaaaaagcg gcttgaccac tgtttcgcta atccagatca
5820

tgaactcacg gcaggctctg ccaccgagaa agctctgagg ctgttctttc tgatcgcggt
5880

cgtcgtatgc tgtgatgaac tttgaaaaag ccctggcccc aaggatggat gctgcaatct
5940

caaacatcgg gcgtttgaag ctggtaggga tgcagttgta atctgctgca agcgcgttgc
6000

cgatcgtgtc cttaccacaca ccagccggac catttagaat gataatTTTT gacattttga
6060

tattcctgag tagtgggCGC gatgtgcgcc cgTTaaggTT ttattattta ccgcttacga
6120

gattgcattt cgtgcactgg cgaactccat gtggaggtag cggatcgcta aattcgtgct
6180

cgcaaacttt ttctacgccg tgagacttaa tgccggagtg cacgttatcg ccatagtcac
6240

acacctgata ggtagtgatg ccgaggcttc ggaagtgcgc gataacgcta ggactatcat
6300

caaaggccgc agtgatgcgg tgcaatccaa tgtagcgcaa aaattcttcc ttgataatcg
6360

tatccttgcg gttgtcgtca gcctggcgca taaccatgac gttgtattta gcgccagcat
6420

catacagcca ttgcgttgat tcctcaacca ctgcatcaga tcgaccagtg agaacgatga
6480

tgaaagcgcc ggaagcgaac aggctattca ttacgtcaat cgtttcttgg aatggctgat
6540

cgaacttgct caatgagtta aattcaagcc atgactcagt gatgtgcaag tcctttgtcg
6600

gtagcttgTg caggcggtgc gaaccgtccg acagagtacc atcgaaatca aatatgtaaa
6660

ctttcttgTt tactgcttcc gtttgaaggT gatgcttaat cattgtgtaa agctggTtca
6720

tttttaactt cctttcgtgt ggttgatgtg gggattacac cagtcaggat gaatcccctt
6780

ttaacaaaac gtgctatttg atatagaact gagccactaa gctgccatca ggatttatga
6840

ttgcgtatgc atcgccaaga tcttttccat caatgttagc ctttccaaac ttaacagcat
6900

cccagcggtA atcacctttt aaatcatgga agaatgcacT ttgtgcgata tggataaagc
6960

gcggctcaca accttgcttg cattcatcaa cttcatactc gtactcgcac ccgttgataa
7020

acatattgcc gttaacatga tggcaaactg ccaccttgcg atcgcgTgct gattcacatt
7080

cacccgtcgc ccatgcgtga cgatcgctat aaccgtaacc gccgcttcgt ggttccattt
7140

tcgcggttga catggtgaagc gccttgcctt caccgaaatt gctaccgaaa gtgaacttgg
7200

catctttcgt caggtaatca aactttgcgc catcatctac gacggttttc cctgggccag
7260

ccgcaagctc attcacgaat gcacgcacag tgctgtgaca cggatcgcca ttgtacttag
7320

gcaaatacctt gagcaattgc tcacatgctt cgtgcaccag cttacctaca gcttctttga
7380

ttgcctgctc aacatggtca gcgataatcg acggtgcaga aatttgatgt ttttgagtcg
7440

attctaaggc ctttaaacgt gcctgtaatg actcgatttc ttttttatgc attgcgtagg
7500

atacccatgc tccatcgtcg caggattgca ttccgacgca gtgaatattg acgctggttg
7560

gcactgacac agggatataa cggttgatgc tgttcatatg tgattcctca gttggtttgt
7620

gttcacttga caggagacac tatagctaata gtctccgaga aagttttaac aaaaagtgt
7680

attggataaa tccgtactta accgcgttgg cgagggtaac atactgctta gccgtcagcg
7740

ttgagtgata ggtgattagt ccagccttaa ttgcttttac caactgttcc tgtgtgacgc
7800

gtgagatttt aacaacccca aaatcgccac cagtacgcag gacaacatcg ccgaccgcac
7860

aaaactcaac ggctttactg ttagtgtaga cctgcatgat tattgctcct tcaacttttg
7920

gtagatgcct ttaactatcc cgaatgaaat agccaggggc cagatagcgg caacgattac
7980

catgtcgtac cacttggtat caatattgct aacgtctttt gcaattgcat aaaccggaag
8040

tcgcgccagg atgtaaagca cgatgcataa aataatcata agtaaccctt ccctacagtt
8100

tcgccaaactt cgcgtgatgc ctttaatttg ttccagaaat cgaacggccc tactggctcc
8160

catgatttcg gtttgccttc ttcgttccac caaccaagaa cagccgcaact accgtaacat
8220

gagttcattg gacgcccac gctgaaatag ctcttgaata cgcgatccag ctcatcacgc
8280

ctaaccttga ttgatctatc ctcaaattca gtacatcaa agaaaccttc cacaacgac
8340

gggtaagaac caggatcgcg tgggttagtc tcttttgggt ggagcttgaa gtattcaagt
8400

tcggcataga tgctagggtt aagtaaactg actttcattt catgtgatcc gatttaagt
8460

ttgctggtgt tacgccgtaa tgctcgatta agtgccacat gcgatcgag gtcttgcggc
8520

ctaccgcttc gatgaacttt ggcatctcaa gacggctgtt tatgcgatcc atctggctcg
8580

cgctgcctga catattgacc aggcggaaaa actgctcaaa ctctttttca gtaaactct
8640

gcaattcctc tgattggttg ttttgcttca ataaggccac tctatcaaat ggccttgcgg
8700

aaggtttaac aaaaagtgc attcgaattt ttcgttggtg tgaatgacct catccacgta
8760

aatctttctc aagaaccact cctgcgttcc agtggaagta atcttggtgca tcttcatac
8820

ctggtgccat ggcagatact caatatcctc agccagtgcc gtgaacgctt tgccgcagt
8880

agtgtaaatc gtggtgtagt tagtcatttc gtatctccct tgttggtatg aaagaagtat
8940

accagtcagg gagaatatcg ttttagcaat tcgtgctatt ccacaacaac caggaagatt
9000

atcaccagga acagaagcac ccaggataat tcaacacaca gcaattgcag cacgtcaact
9060

aatttgaact tcataacacc tccacctcat cctcgctaaa tggccagtcg cctggtgcc
9120

ttcctttctt gctgagcgcc ggaaggaagt cagtgtcaac catgtacagc gtccccgcat
9180

cgctttcgta tttccaggcc atagccacga ctggcagctt gcttttatcg acaccgagat
9240

aaggtgactt gatgatgcg atcttaatca tttcttcatt gttcataaaa cccattctc
9300

agctcgggtga gctgcttcca tcagatacgc tgctaactgg cgagcctggg ctggcgtgta
9360

caacatgaaa atgttcggat cgcagtagtc gttaggattg aagttcaagg acaccttgaa
9420

tctgtaaccc ttctcgggtg tgctgcctg aatcctcaca gcctcaatct cggcctgctc
9480

gttgtagtca tctgcatgc gtaccttggg actcataatt taccattgg ttgattgttt
9540

cacttcaatg agtgactat agcaaagca ctcacggaag ttttaacaaa aagtgcctatc
9600

gttcatttta tctggagcat cccttgccgc aacctggcg accaacttcc acgatccga
9660

caccgcttaa gccgatgat tctgaccag tgccttatc ggtgatgacg tatatcgctc
9720

tgacgttctc atatgcaagt tcattccctga actcctgaat cttcacaacc tggacgcat
9780

cgttgacatt cactggcatc ttctgccgag cctctgaatc tacacgggtg cttccgaaat
9840

cacatccagc cagagccagt gctgctaata aaattagttt cttcattcga taatcctcac
9900

tactttctct ttgcgatgcg gtgcgccgga cttatgcagc cagtagcgag cctgggaaag
9960

ctggcttgta tgggccactg taaccacca gaacaaagcc acccgttttt ggacggcata
10020

ccacttgacc ggatgaccga aggcagtggg cgtgtcaatc aatagatcc tgaatttact
10080

tatcaccttc ttctgcctcc acttctcag ccgccaggat taatgccgcc gccagcttgc
10140

gtgcttgctc tgggtgtgta tgagccatag tggagctata gccacggtct tcggtgtcag
10200

tgtcaatgct cacgatgccg tcgtaatata cggatgttga cacctcagtg ctgtcacctg
10260

caaaatcttc gataattaca gctttcatct tcatttcctc tttgttggtg atgaggtaat
10320

catagctgac taccggattt attgttttagc aattcgtgct atttcgaacg atttcgaatt
10380

tagccattat gacgccaagg ctttttatca taagagcttc acctatcgtc ttcactatgt
10440

actcattgcc atcaaccttg atgtagtatg agccattaaa gcgagggatt ggctttgccg
10500

agtatatccc accatttaca actgaaaggt tgtggtgatt agcttgcctt acatacacgc
10560

attttataag cattaatatt caccattcag gatagatttc gctttccggt agaactggat
10620

ggcctttctcc acctcatcgg catcatagcc atgaatcaga tctgagttga gctgcgcttt
10680

gctctgatat tttcgctcaa ccgcgctcca tgcgtcgcaa aaattatgga tgtctcgctt
10740

atccatccca accaggaatg ggtgtgcata aatcttatca cctattaggc aagcaattcc
10800

ggcgccctgt agtgatggta ggatgttgct aatcagggtca ttcatgactc cattgcgccc
10860

gacgaacggc tggacctttc tgattgcctc atatgttgag cgaactccca caacgccttt
10920

tccatttata gcttgattcc agatcttttc aaccacgacg cattgttcac gacttaggtt
10980

tgcgcgacgc atgacttcta cttcgcacca gtacttttgt gactgtcggt atccgtagc
11040

attgattgca actcgtagtg gtggaagccc atcttccgta gcaatcttca taatctgctc
11100

atctgtcagc ttatcttcgt taaaatcaaa catccccatt atttcgtctc cctaattcatt
11160

tcctggtaca ttttgattgc cttgatggct cctgtaatct catcgccctc aaagttagtc
11220

acggatggca tcagcttgag tattttgacc ttaaagtcgc tcacggcctt ctctgcaatc
11280

tggccgtttg ccttcaactcg ctttcctgctc tggattgcgc catcaaccaa agacagataa
11340

gcacaccgca cctcgacgctc atcaccgaaa tcaccatcct taattgaaag ttttgcacga
11400

acgtttgccc cctgcatctc tggcatcctg gctaccgtat tggcgacata tgacgccttc
11460

agctttgaca tgctgtactt gccacctaca tccagatcct cagcacttat gcctcctata
11520

tcactagatg tgaggccgta aacctggcga gctattagat ggattgggac atggaagggt
11580

cggtcgtcgg ccttaagagc ctgctcagcc atgtagcgga taacgtcacc gaggcttact
11640

gcttctttgt gctctgacat actcattact cctgattggg tggctctcgc taagatgatt
11700

ccatagtatc acacatctac gtgttatcaa gtgttatcgg tgcaaatttt ctgattagtt
11760

acatatttcc accaatcgcc ccagatatag ctcaatgtaa agtctgcgta tagttttag
11820

ataaggattt ttagtaaatt ggcccctata tgccttttta ttcctacaat gtcgtcatat
11880

tcctacaagt gtaggaagat atcatagaaa tctatcgcaa tatcacatat ccactatcta
11940

cattatctac atatatatgt attaataata ataatataga taaatgggta ttatataagg
12000

atattttaat gtaaccatgg cgtaattcat cgtgatatgc gtacatgatt cctgcggagt
12060

gctgggtgtg ctacatggca taacatgcat aacgcgtatg cgctagaaac gtgtggcggg
12120

aaaatcctac caggcgatca ggggatcaga tctcaccaca tcattccccc atcaatgaat
12180

cattgctcaa ttcgcaacaa tcgaaaacat cattgcaata gatgcaatat tgctacctgt
12240

gcaatagtga agtgaatcat tgcaatagct gcaacaatcc ataaatcgaa cgaatagcac
12300

tttttgctaa tgaccgatca ggtgtgattc gctattatta cctcatcgaa acgacacgca
12360

ctaaaggaaa tcatcatggc taagcgcac aacaagaact caccagttac catcgaaaac
12420

attattgccc tgctgggtcca ggagggttat aaccctgaga gcgccaaggc actgggttag
12480

aagatgttcg cggtagtcgt gaaggctcat ccagaagaca acatccgtga aatcgctttc
12540

tacctgaaac acatgtaagg ggtaattgat aatggctaac aaaattgttt tgaagcacia
12600

gaacgatgtg aaggttggcg acactatcat ccatacggga tcaattcggga ccatgggtaa
12660

ggagagcttc actaacgata agttcatggg ccgattaatc cttggtgaca gctaccgcct
12720

tggatacggg atgggtccagg tagtcgagaa agttaaattc tgaaatagca cgaattgcta
12780

aacgaagcct cacggattga ggcataatca ttatcatgaa acgaagtaca caagaggaag
12840

taaaaatgtc agttaaagtt cagaacgtag tagcacacat cgaagcaaaa ggccgtgcaa
12900

tcgtcaagct ggaccgcgcc gcaggcgtaa gccaaatcac catcacgcgc cgtgagttcg
12960

accgctacgt tgttggtaca catccaggct caatcatccg aagccttacc cgtgctgaga
13020

tgttcaatct gttaaagcat aactcacttt acatcaactc ctggagctaa cagtgcata
13080

agataatttc tggagccgcc accgcgcggc acttgaagcc ggactcaatg aagagtgtgc
13140

gctcaaggtt gcttatggat gcatcgaact cgatgacgca ctgggcgtca tggatatgga
13200

tctggaaagc gaaagcaacc agtcagtaga cggaatcggg gatgacttcg actaccgctt
13260

aaaatatgac gacggaatac cgttctaagg cgagatcatg aaagtaaagt gcacaaactg
13320

catcaccagc accgacaaaa aagttttaac accattcgtt aaaggctctg tatacgacgc
13380

tgaggcgcta atcattaacg gtaagacaat cccgaacgaa tgggttatta atggcgctga
13440

gcgaccgcac aagcacgatt ctggctggat tgctatcgca ggatggaagg tcggaatgtt
13500

tatccctgga attgcaacgt ttgatgaggt gaaataatgc tcaagccatc cgatttgaac
13560

tactacgaca acgacacgat cgcgaaagctc tcagggtcaag gatggtatcc atggagcacc
13620

agcgctcagg ttgaagactt gcaaagcagt tatgaaatca cacagaaagc aattgagaag
13680

gcaaagaaga aatgaataga aaaagaagtc cagacggaaa attttctggt gatccgctac
13740

tacctggagg ttttcataat tgcaactcat gcggaattaa aaaggaggct gacgataaaa
13800

actttagaac aataaataaa ggaaaaacat gcgagagcct aagcaaaact tgcagaaaat
13860

gcgagtatca aaaaggaaag gataaacacg caaggaacat gaaaaaccct gaatttgcag
13920

atgctagaag ggaaaagtgc aggaactgga ggagcaacaa cagaagtaag gtggcgctta
13980

aaaattatca agcaatagat aaaaagaaag gacttacatg caccatgaca attgatgatg
14040

ttgatgagtt gcagtcaatg ccatgctact attgcggaga tacggagcgg gttggtgctg
14100

acaggattga caactcactt gctcacacgc gcaaaaactg ccttccatgt tgccctgatt
14160

gtaatatctg taggagtaac actttttcag ttgatgagat gatggtgata ggcaaagcga
14220

taagactcgt aaagaaatca agaaatagca ctaattgcta aagcccttcg gggcttttcc
14280

tgtatattca tctcatcgaa acgaaacacg caaaggaaat caaatgaca gcaacaacta
14340

aaaacttcgt tagcaacgaa aacgtattat acaaagctcg tgttaaagac ggtgtagagc
14400

aatcaagaa agatggtaaa tgggttaacc tggaagaaag cggttaagtat atcaagacaa
14460

aaactcttta ctgcacgaag gttaatcaca ggtcagcagt taaaaaagac ttcaaagaag
14520

gtaagcgcta tcaggtaaatt attcatgctg gccttggcca atctgccggt tacatttacg
14580

atgaggatgg taatgcttgg cagctttacc gaaacgaaga ggttggcttc atgagcctat
14640

gcggtacgta caagtggcag gcggcgtaga aataagtagc attttctggc aagcgggttt
14700

accataggtg cgттаacatt agcgcaccaa ctaaggagtt ttttaatgtt tgattttaac
14760

gaagataaat tgtccatcga tcaggtaatg gctgtagccg ctgccgacaa tctgccgcct
14820

ttgcgcgttg ccatcaatgc taacgggtac aggcaaagcc agtcgttctg gaaagcacca
14880

acagaaatcg actcaggcgg tgacaaatat ccggttatct cacttggtaa cgattatgat
14940

gtcgttggtg agctgtcaag caatgccgct cgttcagttc agttccccga gtcgtccgct
15000

tacatgcatt tcctcggatg catatcagcc gccatgctgg gccgatttac ggttgagtat
15060

cacggaacac aacagccgac cgctctttac gtcgtaacca gtcagccgcc atcgacgggt
15120

aatcagcca ttaactcact ttcgctggcc ccgatgatcg cagagactga acgactaaac
15180

gagatccgaa agcgcgaccg caagaagatt atggctaagc tctccgctct atccaaggag
15240

atgaagcagg agaaatcacc atctgatatg gcggctctgt ttgaggagaa agaggagctt
15300

gaagaaaaac ttgaacgact ctgtgacatc gttttccccg tatccgacac cacgccggaa
15360

ggtcttgccg gaatcaacaa ccgccagggc aactttgcag ttatctcgga tgaagcaacg
15420

agcgtgaact cactgttagg catgacctat ggtgacggct caaagaaaac gaacagcgag
15480

cttgtgctta aggcgtggga tgctggtaac gtatctatcg cccgtgcgaa cgcagacaat
15540

aacatgagct tcattgcgat gggctgtata tctgtaattg cacaggatga aacaatcaac
15600

gcgatcatga atgctgggtgc gcgtggtatc ggtgtgtcag aacgtttctt gcttgtgcgt
15660

gagaagtcac tccttggcga gcgtgtattc gttgacgaaa aaggcgaatc aacatacgag
15720

cctattgatg gcggactcaa ggcggaactac ttccgtctgg tccatgagat catgagcgaa
15780

cacgaagtca acctgacagt gagcacgtcg gcgatgaaat atctcaaccg tgcgcgtcag
15840

gatatggaac ctcaccttgc ggacggcggg aagtattcac acacaatgct tcgcggcgcg
15900

ctgggtaagt ttgataagca ggccatcagg atcgcggcgg ttcttcacac tgtgcgtaac
15960

tggttcaatc ccaatggcgg aagtccgcag aagtcaaggg agattgagct tgacaccatg
16020

caagaagctg taatcatggt ccaggaactc agtaaaactt atctgtcatc tgccaatgct
16080

gctggtcacg ctggcgacca tgcggagatg aacaagctga ttgacatcct gatcaagcag
16140

ggcaagaacg ggaagggcgt tgtaggtgtc agatccctat atgaagcggc tcgtaagggt
16200

aagccttttg aggggcaaag tgggtgtgatg actcgcatca aagaccacct aatccctatg
16260

ctggatgaga aaaactatac gtgcctgatt ggtgataaaa ttacattaa tccgagattg
16320

ctggggtaaa caatgttcct gctcgacgtg taccggtttt gtgaaggata tgaaaagttc
16380

aatcgtcagc acctggcggg gttcatatac aagcacaggg agtgtgagcg actggcgaag
16440

gctgccggag ttacgcctcg ctacttcgca tcatcagcat caaaggagtt catcgcaaga
16500

tgcatgggcg aaggatacct tgacggcgtg aacaactggt actggtccaa aggggcgcaa
16560

aaaaggccgt ttgaatttca tttcagggtg tatggcgggtg agaattgatcg ctatacatgg
16620

gagatgatga acatagagaa tatgagcgat aatgagttat tcggaaagcc aggtcgtaat
16680

cgacgcgata atcagatgca gttctgagaa tggcatcagt gaggatgggc ttaaccaagc
16740

ccttctttca atgcttaact catccatgcg cgccggacga cgtgatgagc atactctatg
16800

caataatgaa ggtgaattat tgcttctggt gcaaagattt ggataaaaaa agggagcctt
16860

tcggctcctt ttatTTTTTg cgtcgttcca gccatagata gaaaattacc atcagaatac
16920

cgatgaacag gaataccagc ccagcaatca gattaccttt tgagtcattc ctgatctcaa
16980

tcttatcagc gataatggtg tcagctttga tgcttgatgt gctgacagac ttaccgtttg
17040

acgtatcaac cttgccaaacc ttggaatcct taatcgtggt gtcggttagt tttgacttat
17100

ccacctttcc ggtaacgcct accgtttgct tcacgttttc tgccccagcc tgcgcgctga
17160

tttctggctt actgccaatt aaaccagtca gggcagatgt tgctgaacac cccgttagca
17220

taattacaga gcataatagc atTTTTTgca aaaacataaa ttaccacctt tgatatgatt
17280

gaagtgaaaa ctacatagga gattatacat gaattggtca gattacttca catatgatgg
17340

cttaaattctt tggagaaaaa ggaacgagag caggagtgcg aattacaact caaggaatga
17400

gggattactt tgcggcacga gcgacaaaag aggttacttg cttgttagtc tggatggtaa
17460

aagatacaag gcccataggg tggatatgga aatgcacaac ggaccaatac ctgaaggat
17520

ggagatagac cacataaacc atgtgaagta tgataacagg attgataacc taaggctggc
17580

gtctagatca gatcaatcta tgaatatgcc aaagtcagta gcaaacaagt caggagtgtg
17640

tggtgtctgt ttttaataagg ccagaggtaa gtggttctca cagataaaat tcaatggtgt
17700

aaacgagaag ctgtactatg gagactcttt cgaggatgct gtaaaggcaa gaaaagaagc
17760

tgagataaga ctcggttttc acgagaatca cggggcctaa aggccctttt tcatttccat
17820

ctcaccttca atacatagct taatctcaat attcctcctg tttaccagtc ccttaacgac
17880

aatcttcttt ccattctttg ttattttatt ccacataccc aaagctttac accccttgat
17940

aacctcacct cgattaatta acctgatggc tgtggagtta cgcattggcac taccgccgac
18000

attgtaacta aaactaataa gagcagcttt tgtcttgctg tgtatatcgt acctcaccgc
18060

ctgctcaaca tacttactat gaattgctac atgtttttca agtagagccc tacactctga
18120

tttgctatat gttttcccaa taactacgtc tggcccggta ataccactgc aaattgtcca
18180

caccccgaca atgtcaatgt aaggctctgtt ctccacaccc tcaacaagct caataagcgg
18240

cgctgcgatg tatattgccg cagctgtcgc cgcactaatt aacagcttct gttcattta
18300

cttgctcctt atcttgattg ctgtttttta gtctcctgac tcaagagctc gccgaatcgc
18360

ctggctatcc ttaaaacttcc agtaagcccc ccaagcccca aaaattatta gagcgataag
18420

gctgattatt gctatagtca tttggccagt tgcgggtcca gtaaccgcag cacctccggt
18480

tgatgccgta ggggcgttaa ttacttcctt catgcgatcc acctttatgt atttgtcaat
18540

gtttaagtta gtaaaaacat aatacattag aacggtatga aaaagaagca caaaaaaagg
18600

gagcctaaag gctccccgtg cgtaacgtta tgtttttatt gcgctagtca gcgataataa
18660

attcaaccag cgcaccatca agcggagcaa aaatccatgt catatcgtcg ccgtaaactt
18720

tgtagttact gtcgccctgg tattcggcgc tgtacggatt gttaacagtg aaaggcaggg
18780

ttttagatgt gttcttaacg caaaataatt taaccatgat tgaaatcctc tgtgagtgag
18840

atatgaatat agcgccatat aggcgctatg ttttaacaaa aagtgcatt tacataccag
18900

ggcgataaat gtgtcgacca acctctccga actccttggtg gtaaacaatt gcagccgctt
18960

ggcggtatga tcgccaccct ccgcgagcgg catatgcac cttgctagcc agcgtggat
19020

gaacctcgtc aatcccaaga gtgcactctg taacagttgc atgatggaaa tggccggagt
19080

ggcagtaaac aaactcacat tcaccaaagt ctttgcggtg gtcggtcgcc attgctgcga
19140

gtcgaccctc agctttcttc atcgtgtgac cgtgcgtgta accaagtagt gttgaaccaa
19200

atcttgTTTT gtgcatgatt gccggactgg tatcaacaaa cactcgactc tcgtcttcat
19260

aaaatgcagc cattgccgcg cgaagccaaa tcataccact ttgggtcatga tttccctcta
19320

taatctgaat ctcgacattt ttatgctttt taagcatctt ctctactgca ccacgaattg
19380

agcgaatcgc aacataaact aacttagcat atcggctatc ctgatcaagg cagtgtccgc
19440

ttgctggagt taccgcctcc aaccatcag agtggaggaa gtctccacca actaaaatca
19500

cggctttctc tgaggctggg gatacagaga ttgcgtgggc aaaatatgac cccattaatt
19560

tctctgccgt tttagtgtca taattctcac cagattcatg gcgatgtgcc atcatgccga
19620

tatggatatc gaaaataggg taaagagtca ttaattcaga cttgacctca ttgcctgagt
19680

ggattaccac atctgccttc ggcaactccg aacaaaaagc ctcacgcgcc tgttccatca
19740

gaacctcaag gcgctcatta tcaattgagg tcttaacca ccgatcttc tcgttacctt
19800

ccgcatcaat catggttgac gtgcctttta cagcgaatcc atcaggaaca tatttagcaa
19860

cagctttggt accgtgtccg tgacctttct tggccagggt gcttgagcgt tgctcaacag
19920

ttctaattgt catcccatat tcctgggcga tctgacgcag tgttttacca gcttcgcgct
19980

cggcaatgaa ttgttcgtca ctgatttttt gaatagccat ttttgtaa ccttatcgtg
20040

ttagcaagta gatgataata aaaccaatta tcggcggtaa taatacagga attaggcagc
20100

gcatcaaata tttttcaacc atgttgtaa agtatatggc tcaaccgctt cacctgccgt
20160

ctctgattcg ctggggacca tcataccagt tgacgggcta aaatacatca ggcgatagcc
20220

gccaccgcgc gaacatggca catcttcgaa gtcagaaggc aaccagtcag caaaagggat
20280

gatcggaac gtctcattgt tgttgctgca ggtcggatat ttgtcagcgt caaaatcaag
20340

tcctggtaa ttcatttata tcttctcgct gcgtctttcg ttgcttgaat gaaggctttg
20400

tagtcaatct tcaccggagt tgccggaact ctgatcagct tacgtggcct ttcgtgtata
20460

tacgtcattt tcccgttgaa gatgacacat atgtctttaa tatctaagta cttagctata
20520

agcgcaatgt catcacttat tcctgcttcc ttgcagtgat tccaaacagc ctgacggcct
20580

acatcaacag ttaccataaa tatcaaagct ccccgacatg gcctgataat ctgcgatagg
20640

caaatgacca taagcgccct tgagataagt aacagcaata acctcatcca gtccgccatc
20700

cttgccaagc gccagcgctt cacttgcgca atcattagcc aggcaagca ggtgcggcag
20760

taaaatatat ttacggtatg cttgctggtt gtaagtgcta aaagggttgct tcttcatggt
20820

gattcctcgt ctggttggtg tgaaagaagt ataccgcgtc ggcggggggt atgttttagca
20880

attagtgcta ttgtgcgaaa tcttcggggc actcgcgctt atagtcttcc atatcttttc
20940

gtattgcagc gcgcatgat gatactgact gatctttcaa ctcatcaaat gacatatcaa
21000

gatcacctga gaataaccac gcatcacctt tgaaccctga acttggttaac tcatcgcaaa
21060

cgatcgcacg aaataaatga aattgatcat tgtcgggttaa attgattttt aactactca
21120

tcttaaacac tcccggtgatt tgtatagtta ccacaaacta aattttctcat ttcaactatt
21180

gccaaccttg ctttttcaat atcatgaaag tagccagcaa gataaacaac accaccaacc
21240

gtaaccatag ccttcagca attcattggc ttgcaccagc ttacaccctt gaccccgat
21300

ttgttatttg atttcatagg catattttgc tgattctgac ttctcgttac aagccttagg
21360

ttttcaatcc tattggttacg cttgtcatta tcaatgtgat ctatctcacc tttaaattca
21420

ccataaaca attcatacgc aagcctatga gcaagggtgct tcctcctacc aacagatact
21480

gttatatacc cagcattatg atctgtactt gaaatcctgt tgaatctcaa gttaatgaaa
21540

gcgccagtat cagtatcgta gccaatcct gggacttac cattctttat tatcactaaa
21600

cgctcctttt ccttgctttt cttgatttaa ttgatggaca aatctcagtc gatgaaacat
21660

atgtcgtttt ttgaacctcg ccaacaccta gctttctcat tataaatatt acagaaccct
21720

tattattacc agttacaggc tttccggta gtccagagat gaatgccaac cgccccgtcc
21780

ggcaatattc ctgactgtca atctctgtga tgtcagcctc aatccagatg atttcagccg
21840

cgttgcgacg ggcctcggca aaccatgccg tagagttatc accaggaagc aacatatcaa
21900

tctgattggt gtgctccatt tgetcaatcg ctttcttcac gaaaggatct ggatgcgagt
21960

acggcggatt aagccagatg tgcttattgc taccacacca gatcttaagg cagttcacat
22020

gctcactata gaacttttcg caaactgcat tgtagcact tgcggcggcg tcgatgtcat
22080

atttgccata acgcgattcc atccatgaaa tcagctccct gtctgtagcc caaagatctc
22140

gaactgcgtc aggagtcttg cttccggcat atctgtttcc agttacctta tagaagggtg
22200

ccggcttaac cgactgataa tgaccgttac caggaacaag ctcattggta acaaagtttt
22260

cacgctcgat ctgctcaaag ctaacgaatg cgtcatgagt atctttgtcg cttgagtcga
22320

tcattcttatt taacctcggc aactttgcag ttattcacag cgacgaaccc gccgacgcta
22380

actttgacct gactttcagt cacgttgtaa attgcctttc ctaagaaagt ttgcagctcg
22440

tagtgatcgc cttcacgctc aattacaaca cccttgctcg aaacaatctg tgacttggtt
22500

actgtgaagg attcattgcc gcaatcgtaa aacttggtat cttctgcaca acctgccatt
22560

gccacaactg ccagtagagc gatgattgac tttttcattt tgatttcctt ggttggttac
22620

ttcgtatcga tgagggtgata atacaccacc tcacggattc gtcttttagca attcgtgcta
22680

ttcagcatat ctgcaacggc tttcttatat tcctcctggc cgtatgccac cgccgcgaac
22740

ccgccacgct cccggacacg ccggaggaaac tctttctgct ccttgctgac tggatgatgct
22800

ttgcctttcc cgcttttatt gactcgcttc aattctatgg ccccgaaagg atatttgccg
22860

aacagaccta gaaggaatac gaagtcacta acccccttca ataatccact ctgagcatcc
22920

tttaatgctg tatggatgtg cttcttggtc tcattaacgg cgtgccagaa cagcaaataca
22980

ccatgcctaa ccttcgtcca agtcacacaa tctacttggt gcttactttc cgtccatgtg
23040

tcagatttgt ctggtgtgta atattccagg tagtcgcctt tatcttttat agccattttt
23100

gccaccgtga ttgtcgtgaa agttatatatt aacgtttgcc tcagttcttg catctatagc
23160

taaatcaata tcgctaaagt aacctagcga tatcttcttg ccgtttactt gtatctgagc
23220

tttccacttt ttacttggtg agcaccagct aacgccagta aatccgctac tattcgactt
23280

tcttattgat gtatTTTTca tgttgTcgga tctgcttact agtcttaagt ttgaaattct
23340

attatcatcc ctttctgat ttatgtgatc aacctccatc ctttctggta tttcaccatt
23400

atgtatatac catatcacc cgtgctcctt taggtgagcg cttcgaact tgaacaccct
23460

gtagccttca cgatttacgt gacctaccct tgatccaatg ctaactctag cccttgacc
23520

tgatggtttc gtccagtata gccctccatc cttgtattca acaaagttta taatcataag
23580

ttacctcca gtccaaaatc cttacgtgat ataatatctt caccttttgc attcttgcg
23640

tgagttaccc tcaccggatg cgctatgtgg tgagcattgt ttaaaatcat tttcgactc
23700

ctgtaagccg ccattaattt tgcgacctta ctgtcatgca catgaggcaa taccctttt
23760

tgtttccata tcgtgtgaca tacctgtgcc gttgactgag ggaaaaactt ctcatacgcg
23820

atgaagttaa ctccactga gtccgtcagg tcgtaccgat aaagaatgcc agtctgatta
23880

cgcgtcagcg ttacttcaaa gctgttaact gtgcaccagt cgttcttggt gtaagcctta
23940

ccagtcagat tatcattggg atctttcaaa ctaacgtcac agcagcggca tattctcgct
24000

actacgtcat tctcagtgcc acatccctta gcaataactt cgccagtgcg atcatcaatc
24060

tggctcttgc atatacgaga tttccagaaa tactcacaac gatttccggt ttctgtctctg
24120

tgaatgcagc ggcgagcgta aaagctgttc tcggttccgc acagtcaca tttcttaggc
24180

tccttcttgc catcaaagcg gcgctggtac tgtgattctt caagtattgg gtcaaagtat
24240

aactgaccca gctcgtccat gcaacccgca aaatcccaca ccaggtgatc ttcttcacc
24300

attcccatct ctttttgcca cggcttaagc aatctcatac ctgaccaag caactggatc
24360

agcagagtaa gtgaaccgat tttgcgaagg attaccgaaa aatcccaaaa cggaacgtta
24420

acgccagtgg ttagcgccat cacctggaat atgtatttaa tctctccacg gtagcggcc
24480

tccagtatcg cttgtcgctt tttagtattc gtcttctccg tgatgatctc ataggtagcg
24540

tcaggtggca gatagcttgc cgcttcctta caatgtcgct gacctgcgca cgtaatcagt
24600

actccgtttc gtttcttagc ttcctctacg accatcccca tgattcgctt ggtcatgctg
24660

gcgttgtcat ggattttctt ctccatcgcc ttcatttctt tctgactgaa gtcagacgtt
24720

ccatcctgac tggacgcctt aaactcatcc agatcatatc cagcgtcacc gacacttccg
24780

aaaatggttg ggacaacaga gccgaactca atcaggtagc tgggtgctgat gttagtaacc
24840

tgctcgcgcc agaatccagg tagcttaggg ttatcaacaa cgatcggggc cgttcctctg
24900

aactcggaac cagtcatgcc gaagatgcgt aattccttcc cgttcttctc tttgcagcgg
24960

cgcataatt cagtgataat gatcgtgtac tggcttcggt tggttccaag aacaggctcg
25020

ccagtcttcc ggcttatcag caattgctta tccatcacct gaacgccaac ctctacgcca
25080

tcaaggtatc cattgatata gccttcgctg tttttcgggt agtcaacgaa tacacgctca
25140

tccttttcag tgagcatcat ttcaatcgtc tcttcggtgt cgatagcggc ggcaaggctt
25200

tcccaatcca cctggtgaca ctcatcaatc ccaagcacca tgggtgtaaa gtcaccaagc
25260

gccttaaaca gaccatttgc aacagaacct tccgaacctc caacgatagg aaagtaagct
25320

gatttcgtgt tcaggccagc gcaataaact gagttaggaa cgccgaagtt tgagatctct
25380

tcactatcct gagcaacaat gtcgccctgg cgtgcaagaa tcatcatcga caatcccatc
25440

tctttgacgc gcgatgcat catggcaaag ccgattgttt tacctgccga caccgacgcc
25500

ttaacgatga atggatgctt atagcgagca atgcgctttc cgatctcgtc atacattacg
25560

cactgatatt cataaggaac catgtcaccg aacgtgaatt tatcctgaat ctctttaatt
25620

ttctgcgggc cgagttcttc tatctgtttt ttaatggatt taatgcgcat agccatagta
25680

ttaaattgcct ttcattgttcg ttcgattgac gttataataa caaccatcga aaccaatgtt
25740

taacaaaaag tgctattgag gtgataaaat gaatgcaact gataagcgta ctcttaacgg
25800

taacaacgga actatccgca cagaagataa gaagcagcgt aagcgaccgt caggttacta
25860

tgttctcaag gatgaagtaa aggccggatt aagagcgcg cttgatattg tatttgagtt
25920

ctacggcagc aaggcgaaca tggctaagca attaaagggt actcgacagg ccgttgaaga
25980

atggtttaag cgtggaatga tgtcggcgcg cggcgctcaa ctggcgacaca accgatataa
26040

gcgaactggc gaaggcttcc gcgctacatt ctgccgacca gatttgcagt ttgacggcaa
26100

cgggaagccg cttactctgc ggtgcaaaaa gcgtcacatg ctgcgcgtgg tcaactgaggc
26160

tgaactagcc acaaagccag agtgtcgatc gtggcgaaaa attaaagcag caaacgaagc
26220

agcacgaaaa gctaaagaat gacaatcaag gttgtgccat aattggtgca acctttttta
26280

ttggagtaaa tacagtgaac gacgaaatga tgtaccaaaa agaagaagtg ctgccataca
26340

tgaagggact ttggaaggag gcgctacagt caatctgtgg tcttaatgac tcatacttta
26400

gtaagcgcca tgggccatgc ccgcactgcg ctggaaaaga ccgctttcgt tggactgaca
26460

atatcaacca ccctggtgac ggtggtgccg tatgcaacca gtgcggtaac gactctggct
26520

gcggatggat gatgaagctg actggtgagc cttacagtga ggttattaac attctcggtc
26580

gattccttgg taaagtgcc aaggattaca aggctaaggc ttaccgcagg gcgtcgcgcg
26640

taccggaaaa aggacttggc aagatggcag atcatgagtc gtgcgttgct gtaatggagc
26700

gcacggagaa acgcgatagc accgatttaa gtgtgtatga gtgcctaacc gaagattcgt
26760

atgatgttgg cgtaaaagtg cgtcagaatg gactgagga gctaatacac gactgccgt
26820

gctacatggt ccaccctgac ggaattgatg aggatatgtg taacgtcatg tttgcttatg
26880

ataatggcga atacactttc cttgcgcgtg attattctcg cggttcagtg gttaagctag
26940

ggagtggcga ggatgatgcg gcaatatata tggcaagcga cttattgat ggttatcgcg
27000

tgaagatggc aaccagtcag gaagtgtggg tgactttctc ccctgagaat cttgagattg
27060

ttgcttatcg gtatcgtggc gatagagagt tgagagtggc gtgtccagct gatgatttgc
27120

gaacgcttta catggctgat gagcgtgatt taaaagttgt agtgcctaac ggtggcaact
27180

tcaagatggg cttgagcga aagctatata caccgcagga tctgatagat aagtattcat
27240

aaaaattacc cgctactgcg ggttttttta tgcctgaaag atggataact gcatttagca
27300

aatcgtgcta tcaaattaaa ttaaggattt acaattatgg cgatctatga tgcaggaaca
27360

gcctctctag cggcagatgg tacagttact ggaattggaa ctacatggag gcagccacta
27420

acgctaatacc gtgttggtgc gactatgatt ttcaatacca cgccagcgag cattgttacc
27480

attgctgaaa ttatcagcga tacagagatt cgggttttta acgataaagg gtttactgcg
27540

ccagctggaa ctcagtactc aatacttgcc catgatggta tcacagttca aggactagct
27600

caggatgtgg ctgaaacatt gcgttactac caatcacgtg aaactgaagt tgccgcagct
27660

gttgatgctt ttaatcagtt tgatgcggat gcctttcagc aaagcgtgac taacgttaac
27720

aatcaaagcc atcaagttgc caccgatgcg gcccaggttt catctgataa ggccgacgtt
27780

tctgctgata aggccgacgt ttctgcttat aaggatgcgg cagcaggaag cgcggaagc
27840

gcacaaaaat cagcgcgaga ggctgcatca agtgcttctt ctgtatctgg agcattagtt
27900

ggctcatttc agggtggtat tacaatccag tcaagtagtc aacagattat agatttaagg
27960

aatgggactg cgaaatctta cctttgggct ggagatttac caaaagttgt accagaatca
28020

tcaactccag agtcaactgg tggatatatcc tcttctgcat ggatcccact agcatcatca
28080

tcatacagcaa ggtcagttgc tgacttgtca tcattggctg gatcgattgg tagttcagtt
28140

taccttgatt cttatatattga aggccttgct gtcggtggcg gaagggtgac agctgttgat
28200

gaatcaacaa tcgttgataa cgtttcaacc tttaatggta acggtgtggt ttggaaaagg
28260

gataaaaaca ccagatcttt taccgtgtca gaagctgggt acacagatgg tttagatatt
28320

gctattttta ttaataggat taactcatct ggatttgatt gcattgtaaa taaaacgga
28380

accgtgtttt cttctgtgga gattgacata tcaaaaggcg cactaattgg aagtggaaag
28440

tgcatcttga aggagggagc tggagctaca ggtgattact tcttaagggt attcaattct
28500

aattcagatt acacggatag agatccatta aattcaactt cattaattga gggggttgct
28560

ttcgttgac taggtgcaag gcgcattgct tttgggtggg ctggtagcgg agaagttgca
28620

gaggttttta tatcaagggtg cggttcata tccactggag gcattgaatt tcttgataac
28680

tcttacaggt tgctatattga taagtgtaca gtatcaagaa gcttcaataa tacggttgta
28740

tttaactctc cacagaactc tggatgaagta atgaagttcc atcactgctg ggtagttgat
28800

aatggaggac cattaacatt taacaacggt caatttatat ttgattcctg ctccatgcct
28860

gccgggcaaa aggatgggta tcctcaacct actgttatatt taaatgataa tgctaccaca
28920

gtattctcta acggaaacat tgagtatcaa ccaggtcaga gttttgttgg attctcagta
28980

aatggaagct caaggcttag cgtaaaagat actactgtag ttgtctatga tggattctca
29040

agtgttcctt ttgtttccaa tggtgactcg gttgtttcat tgtcaaactg ctctttacca
29100

ttgtatggag ttagcacaat agccacagga ttcccaacaa ggcagattgt tggaggagat
29160

tcaagtaaag tatctagcta cggatgttac cctaggtctg gatttatact ttcaaattgg
29220

aatctgggaa gtattgttag cccttacata aatagcgtgg caaataactc tgcacagaac
29280

ggagtcgggt caggatgggc ttttaatacc ttaaatggaa cgccgtctgt atccgttaac
29340

aatgatgtac ctcaagcggc aatgtttggt tcatcttttg ttatcagcat tccagactca
29400

gtctcttcat cgaactttgt tcaaaatgta tatcgatgcg agcctggtag gtactttcag
29460

tttggatttt gggctaaaaa cacaaccaga acgtagctt ctataagggt tttatcaagc
29520

ggaggtcagc aagttggcga ttcgattggc tattatatac ctcaagatgg aaagtttgat
29580

ttttatgcgg ttgtttctga tgtgccgcca ggggctgaaa gggccgagat taacttcaac
29640

tgctcagacg ttgcaggtag acttggtatt cacaatgtaa tttatggatt aatttgataa
29700

aaaagccccg aaaggggctt tatctttaac atcagaatgg aatatcatca tcgaactgat
29760

tttgctgctg cggttgctgc tgcggttggt gctggcggtg ttgctgctga ggctgctgcc
29820

gttggtgctg ctgaccttg cctgctgtg ctggctcacg ctggctgaat tgcaactgag
29880

gtcggatcat ttcggcggtc acatacacag taccgtcatt tccatggcgc gacgctaagt
29940

gaagcgtgtc tgcggaaatt gatacaacct taccttcctg gaacgcttca tcataccact
30000

gcatgacgtt ttcttttgcg aagaacgtag cgcggtagtt gctgtaaacc gtttcacct
30060

cgcctgctg attgcgaatc ttcatacgt ctgacagttc gacggcgtag attttcagc
30120

gaccattatt gttactgcct tcttggtga atggtgcttt gcggatctgt ccagtgatta
30180

cgtgtggcat tttattttcc ttttggtg gggccgaagc cccgttaatt agaattgctc
30240

gatggattca gattgtacag gctcggacgg tgcatttgca acctgtctt caacctttg
30300

cgcactgcc ttttttgctg gctggaaacc gcgagcgcta catatactca attcagcctt
30360

acgcttctgc aagtggctt ctgcaatctt ccattccgcc gcgccaagtg aacctttgc
30420

gctcttataa atcacttga gatcttcag cttttcacia ttggtgatca gttttttgta
30480

gtccgctgcc gtgcgcttcg cgatttctgc gtcgtcatcg ctctgagtga ttccaagcgc
30540

tgcgcacaat gcgtaacggc gaccgtatga agttgtcgat ccgtaagcct gggcgcta
30600

cttctcgatc ggcatgttgt actggaacgc aagccactcg ccggaactgt gcaggatgag
30660

tgtttcaatg tgcataacct ttcggttga cgtgtctata ttgactgga taaccataag
30720

gtcatgttct ttcagtgtg gctctaccgc ctccaaaacg tccgtcaggt ttgagtagtg
30780

ggtttttagg tgagcgttat agcctgattt ttttgcgatg gcaaactgct ttttagctgc
30840

aattagagcg gatgaaacat tcgaaaactt ttctgatgta cgcattatat atacctttgt
30900

ttgattcggt tgattttacgg tgattatagc aaatcacccg gttcgtgttt agcaaaaagt
30960

gctacgcttc cagaatgtgc ttgaactgct ttttaatcca atcaggagtt tcaagctcaa
31020

tctcaggttc gccgttattg tatgaaggcc atacgtcgtt ggcttcacac attgagaagg
31080

tgtgtataac gctcatatac tgcgcgcgcc caatcttaag ctgatctccg ctcattccgt
31140

acgccatcgg caagtatggt tctttcttct cctgtgccag caagcgcaca acaactggac
31200

gcgtttcttc aaagcattta acgaacaagt cacgctgcaa tgccatcttg aggtagtatc
31260

catgattgaa cgccaggcgc gggaactcag tcggattggc gctcattgtc gtcttgtaat
31320

cagtgataac gacaacctca gggatgaatct cagggtcgta tcccattcgg cggatggctt
31380

ctggatcatt aatgatgtca acgtgggtcaa gtctaactt gactttcaca ccgcaaatca
31440

cgccaaacaa cgaataactca cgaaatgctg ttctcgtgtt catgcaagca ttatgctcag
31500

gaatcatctc aagaacctga cgcatactta cgcaagcatc gtagtcttcc gccttaacca
31560

gttccacgcc atcggcccac gcctgacatt gtgcgatcat atcaatcagc cacatgacgt
31620

tgaggcttct gccgcaatca accatcatct tgatcagttc tggatattgc ttaccgcttg
31680

taccagtcag gccaaatgat ttttaatttcg ttgccaatgc tgcctgacta gtgatcacgt
31740

tttcaatctc gctttctttc ggtgcgcggc gatactgacg ctcaaacagt gctttgctct
31800

caaagttggt atgcgactgc gtaccgaaga ccagtgcctt agtcgtcgag ttcatttcaa
31860

acttccaggc tgccggacaa gtgctatgga tcttactgag tgatgagcct gatacatact
31920

ctgatgtcca ctcacatctttg ctgtggtaaa agtcggttgct catttcttct gacgtgaagt
31980

attgaaacag tggccttggtc atctatttaa tcctctttcg tttttgatgt ggctaactat
32040

acgcgcttgg ttgagttagt caagtggta cgtgtagata gttgtaatcg tgtgtatgca
32100

atggagctag ttacataaaa tgtacatacg acccagctat agctagatgt aaatagcgtg
32160

tatatcgtgt ataccacttt tcgcggatgg tgcattagtg tatgcgtgat tagatactgt
32220

atgaatatac atattagaaa tttataagcg gaatactcta tagaagtagt tacacgatat
32280

acacagtaat atatataata ataataatta tagtagaagg ttgatatata tagatatattt
32340

aatgtaacta tcgcgtaact aggcgtaact gcgcgtatat cattttccgc ggacgagatt
32400

gtatacaccg agttacagcg gttacgcgta tacaatagca cgaatagcta aagactcggg
32460

cgctagtgtc atgtatagtt actacatcga aacgaaacgc acttaatgag gaattagaaa
32520

tgactaactt aatcaaactt tcaatcatcg cagcagcagc aatcatgatg gtaggttggt
32580

cttctggtcc tcgcccagat ggttggtgtg caacgcaagc aaacggcgtg tgcgtagcaa
32640

aatggaaagg tggcgtagta gttccggctg gtgaagttga tgtgcgctac gatggaatta
32700

aggccactgg cggcggttac ggtgggtcag ttaaagacca cggaagcaag gagtggaaat
32760

aatgcctcaa ggtatcctta tagacttgaa tgacggaaga cctccgatgc agataacggc
32820

tggattaaga gcgccagctg tatctggagc gattcaggct gacgggtttg attctgctaa
32880

ctcaacatgg gacttcggat tgtcaatgac acctggttca acagcttttt gcctaccaag
32940

ccaggctgtc tatgttgatg attttgatgt tgttcagag gtctatttcc tcaatagctt
33000

ctcaaagggtt agcgattctg tggggcggtat tgggatcgga aatttcaatg gttcgaatgg
33060

tagactatta agattctacg gtagttgttt tgagatacta cctgctacag ctggaaatca
33120

ggggttgctt gtagaaaact caactaactt tgcagccata ccaaacaacg cgagattgat
33180

gagtgcggcg tatgtaggtg gcttgcaggt taatggcgca gcaagccttc cagtatctgg
33240

gatacctttt ggtatgtggg ataaccctaaa cgtatcattg gagtctgatg ggtcaacaat
33300

atggtgtaga gacataacat acggcggaac tgatgacgtg accgcaagca cacatgttaa
33360

tcttgttata ttttaacaata caccgccacc gccaggccca ggcattacaa tgagcaatcc
33420

cgccgggcag atagtgttct caagtgtgag gaggccattt gtacttggtg ggttcattca
33480

gatcaataac aactggcaat atgtgggtgg gttcttcctt atacttagat gtggagcaac
33540

aacaagagtg actggtggtt acaacaacct taggtacaaa ggtgtctgta tgtcaggtgg
33600

caatgttaga gcagctccag gtactgtaat tggttaactac tcaacgcaat caggtgctca
33660

atttccattt gatacaaaca tatcaatggc acttcctttt accccaaaca tgtattaaaa
33720

gaaaagcccc aattaagggg ctttatctat taccatactc caactacaac ccttcctccg
33780

ttcggtaggt taactgtaat tccgttattg ttaatctgaa ccgtgttatt agtgccgtta
33840

aaagcaaaat taccattggt agcgtacaga cttccgcgaa cagttgcgtt actcaactca
33900

gcaaaaccag atttatcaat agcccacccc tgacttcctt gaacgtagtt gttagattgg
33960

atcctgttac caatcttcgc gttcgtgatt gaaccgtcct tgatcacagc gctctggatg
34020

aacacctggt tgctctcaac aacaaaaggc aatgcccact gaccggaacc agaaccaata
34080

ccgttactta tagcgaatct gtttgcgta aaaataaatt gactgcgaac attgtcacca
34140

cttccaacta actccatact catccctgcg ctatactcaa ctccattgta ttttaagacct
34200

aacttaacgc cgtactgagc gccagcggat tccgcatcta cccatgagtc aagtttttca
34260

tttagtgctg cctgcgtatc gccaaagctga gcgctcaaag ccgtgtcggc agtagtcctt
34320

gcttcagttt cgtttgctag tgccgtctga acttcagtta tggaggctac gacctcatca
34380

tcaatctgcg ctttaagctg cgtgagagcc tctacgcgag cctgagtttc atcagcgata
34440

aggttcaccg cctgaacata ttcagcctta cgcttgccgt tttccttggc cattcgctgc
34500

acgtcagtat cgtttgcaag ggcgttttca agaattgatt ccgcttgccg ctgaatagct
34560

ccgtttgact caatggcatt ctgctgtaga tacttaaacc cctcggagtt ctcgatatca
34620

accttaattt caccaatgat cgattcaacg tcatcgctgg ccattcctcg aacaatgtca
34680

gaccagtcag agacgttccc aatcctgtcc accaatctcg ctctgtacca gttcacatat
34740

cctgctggca gtgtcgagtg ccagtactcg tactgtgggt atggaatcat tgtaacaga
34800

cttgcatctt cctcaccagt gtgacctca gcaccattat ctggtatctg ctgcaactcc
34860

gtgtatgcag tatcaccaga tccttcaggg aatccccatt taaccctaata cccaaacacc
34920

tgatcgtcag atgctgttac tactgttggc ttatctgggt tcccaatctt acccgtcaat
34980

cctacactga caacgacga ccatggagac gcgtttccac cgcttgagat actccttacg
35040

cgtacgtgat aattacctgc ataaatccct tctacctcaa cctctgagct tgctgtacgc
35100

ggtacattca tccaattacc gttatccttg cgccactgca cgtcgtactt gcttgcgtaa
35160

ttaactttat cccaacctat caccattggt tctacgtca tcccttgtag aatgcgcgag
35220

tatgatgaaa cgacgatggt tttaggtggc agcatgttgt caggatcaac aatacttggt
35280

ggtcggtcat caatatttac gccgtagtct atctcgtcgt acttattggg atcgtactca
35340

accgctgtga tactgtatgt aaactcatca tctccgtctc ccttcgtgat tccagtcaca
35400

acgtattgct gcaaagctat gtcagttcgg tcgattgcga atacagtgtt gggttgaaca
35460

tcaaagccga agccaacggt aatctcaatc gtcttgccat ctgccgacac cttcgaaatg
35520

gtccggcgaa ccggattacc gtcaggcttg ttgacgataa tgaagtcacc agcgcgagca
35580

tcaaccttaa agtgagtga cacttgcagg ccagagactt ccatgacgcg acctgataat
35640

gaaagcgtca gggttactga ccagaagtta tcagcgattg ctaccacgtc gccaatcatc
35700

gggatcatat cctcaagacc agttgcaaaa ctcaccgtcg tgctgcgaag gtttgtttta
35760

agaaccacgc ggctcgtcg gttcgctcg cttcgtcgag tacatccgat cgcggtgatg
35820

cttgtagggt tgtgcccga ccgtaacgat gcgttaaggt cgaatacgcc ctcaatatcc
35880

tggctgtaca tgttttgctc atcgtcaa atgtgacgttg aagtagtgta catgcttttt
35940

tcacttgca acgtataggc aaatgagccg tcaacgacgt tgtcgtagt gaaaatataa
36000

gacgactctc gcggtcggtc gatgacaatt gaaaggctct cgccgttcca gaagctcatc
36060

cctcgggaata ttgagcaaat atctcgaacc agattgtaag cctcaacctg agactggatt
36120

accacgtcgc aaaggtagcg aggtccaaa cctccgtgac cgtcaggaac tttctgatcg
36180

cagtattgac cagcatcata tagcgaccac ttatcgaccg cgatccctag ttctcgttgg
36240

tcgagtccat atctctgatt ggtgatcaaa tcataaagca cccacgcggg gttatttgac
36300

catgcttttt taaaactccc atcccatgtg ccgctatatt cacgtagctc tgggttgtag
36360

ttgctcggaa cgttaatcaa cttccatttc ttttttgtgc taatgcttgg gatctgcggg
36420

aaaagctcac tgttaaactc gacgtaaaca agaccagtca gaggataacg gaactttgca
36480

tcaataacct cggcatatga ctgaatgttt atcgtgtcaa cgacgcgcga attagttgaa
36540

tcaggagtaa cccgccgaac acgcagaagg acttgactat taaacgctcg caagtcaata
36600

cgcttcgttt tgtcatatcc gcttagtggt ttaccgtcga ttgtgtcaga tagaacctcc
36660

tgataactac cgccatcaac cgccatatct accgcccact tcacgaccac gcctaccata
36720

tcgccgtttt ctttcgtggt aacgccgcga ggcattcagga tttttactcg aacggctgat
36780

agctgcttat tcggtaccga gatcacgtaa ggcgtagttg ttttcaattc acggcctaca
36840

gtgaactcag ctgccgtgtc gttaaatcct ttgatgtagt cctgtgtttg cgtgcctggg
36900

cggaactcag ccttaacgcc ttcatagtta acctctccag aagggtgcaat tacaggaacg
36960

tcattaagat ataaatcctt taatgaaaaa ctctcatcaa cttcacgcgc actaactgcg
37020

agcaaaacct taatcttggt gattgaaatc aggttatcct ccatctcctg tggggtatga
37080

ggcttactgc ttccaccctt tctgcctgtc actacactat ttttaatcat gatgttttagc
37140

ctttcgtgcg atttatagaa gattcattat acaggcgtaa aaaaaccgcg gcaaggcggg
37200

ccttaagtta tgccatatct tcggcgacgc tataggcgga aaaggctgcc ccgcctaccg
37260

tcctgtaccc atacgggacc gggatcgggt ttccagctgc cgttgtgtta actgcgccac
37320

cgaaagcgta tgaaggcttg tttttgctgc tctgaacctc catctttgat cctccttgct
37380

gtggtgaaat catctgcatc acaccgcaa ggaccattgc gccgcccatc ataaatgctg
37440

atgttgcgaa tgtaccata agagccagt acgcgccacc agtgtagaat gctgctacca
37500

tcatcactgc accgacaaca atctggaaca taccaccatt tttgaaccg gtagggatcg
37560

gtataattct cacctccttc gcgcagctga atgccgattc atcatgtggc ccaacatttt
37620

taccatcaac gaaaacagcg aagttcatc gagagccgac ctgcctttgc atgaactcct
37680

tgaatcctgc aacctgagat gacaacgctc tgatcgcttc tgggtatgat tcaacatcat
37740

atttgtggaa aacgccgaac ctgcggcca gcgatcctga tagcttgatt gtctttaaca
37800

tttctccaac tccttatgcc taaaacat tactgtgtgt tcctggaacc agcctgagta
37860

aatgtctgtc ttgacagct taccaaagc gtgatgtagg agttgattat tgccaaggta
37920

aatccccgca tggttccata catcagcttg taatttcattg ataatcatgt caccaggctc
37980

aggatctttt ccggttttaa caaagccctc tttaatgtag ttgtcctggg agagggtctc
38040

accatattca ggcttcacc actcgtaagg ctttcggaag tcattcagga ttactccgtg
38100

ctctttgtgc catgccataa ccagtccca gcaatcgaaa gagccaagcg accaaggccg
38160

accaatcaga ggcatagctt caggatgaac aattctcata tcgccttcg gcaggcttac
38220

aataacccat ggcaactcca tctcggtcaa tacgcacagg tcgtgagcgc ttggtaacgt
38280

ggtggccccg tctccagtgt ggctatgaac aatggcaatc gtggttaggt ccgcgttatc
38340

ctcaatgctg gcgtattgca cggggtaag ctggaatcct tttccggtt cagagtgaac
38400

gttgtcaact ggccagaatt tctgaacccg ccccttttga gtgaccactc cgcaacattc
38460

attgggggat actgatttcg catgttcgaa gattgccatc ttaattttgc cgttaatcat
38520

tggtttttcc tgtcaagtga tgcgaccgca cagccgccga aatctaattc gtttttgtcg
38580

ccaaatcgta atttgcaggc cgttaccgtt cccgcgcata cgtcctgtga tggattattt
38640

actggattgt tgtctttgtc aaacatccgg ctaccattat aaccgcaacc gcgtccgctc
38700

cgataccatc cacgctgcgc ccaaaagcaa aactctgag taactcgcgg tgggatcatg
38760

atgccatcca tatcgtacgg tgatgtcagg tcgaatctcg caaggttctg atccacaaag
38820

ttcggtcgct caacgtagta aacgtatttt cggaagtcgc cagccgcaac gtttcctgta
38880

ctgccaaagca tttcgcgtga gggtatccag atagtcacct tcgcctgcat catgccgttg
38940

taggaccgga taagcgccga tacgcgacta tcaaggtttg atagcgataa ctgaggcttt
39000

ccggccttgc catttccatt taagtcaatg ccagagatgc cgaaaggacg tgcgccatat
39060

tcatttccct gaaaggtaat tgtttttggc tttaggctcc cgctgggctg agttgctgcg
39120

agaatttcct ccggcgtgaa ctgaatgttc tcgttggtga atcggtagac ctgcgcgccg
39180

aatttcgttc cgtcaacgtc gattagcgtc atgatctcac cagggaatag cccctgcaat
39240

acgttttcaa acttaggtgt catgggatta cctccaataa aaaagcccc gttaggaggc
39300

tttattctac accgctgtga aggcttctac aatgggtgcat ttacaacaa gaagaccacg
39360

accgattggc tgagtattca gcgtgtccgg cttcaatagg aagacgccga tcttgtctc
39420

cggtggggta aaggcaaagg ctttcagtct atgcgatcgc aaaaactcgc gcacttcttt
39480

ccagtccttg ccaacgtaac tgattgcgta ctctcgtcgc tcagtgttat agccagacga
39540

tgcaacctgg cggaatccat tgccaaactg cacctgcctg tcattgttag tgacgggtcat
39600

tacaccgcca ccatacctgaa cctgtacgca ccacttgaac acgtctaggg ccatttatta
39660

cgctcctgct tttccgttga tgtaattgta aacttcgcca ccctgggaac atgattcctg
39720

aatcatttgc ttgaaaatca ttttcacgcc ttgctccata cccttcggat cgctaccgtt
39780

attgatgcta acagggatgc ttccaattgt cacgccgcca gccatgattg caccgctgcc
39840

gccaccgctt gaagttccac caaccatccc gccattcgca taacctcgca tcattcgata
39900

aaggttatcg acgccaattc gcttggtagc ttccttggtc atgacaaatt cacctttatg
39960

aactgtgccc gctgggtcat actttccgcc gtctccggtat tatccgccag tggcgaacca
40020

tcctgagtta gcgaatgaga accccttacc gctgccaccg cccatcatatc ctgacagtga
40080

gttaaagatt accatctgcg tgatcatctt aataatctgg ctgataatac tctttgcaaa
40140

gtcggcaaag ttggcctggc ccgtcatcaa gaactcagtc atcatgtcag acaaaccgtt
40200

cagggcggtta gctgcgatgt tgcctacgtt ggtgtacata tccgttgcg cttcgccgta
40260

gtcttcaaat gcacgttgcg cgcttgcaag ccagtctccg cgtttctcat cctcgttggc
40320

gtaatactcg ttctgcttgt caatcatttt cttgagagct tcatacctt gaccgccgcc
40380

cttagacatg taatccgctc ggatcttctc aagctgaatc tggcgttctg cctcaagtgt
40440

acccatggcg cgcgtggcgt taaggctttt gctcgtgcg tcaatttgca tgatgaactt
40500

cattgattcg tcattcagtt tgttgatctg ctctgctta acaatctgat caccaagctc
40560

tgctttctcc ttcgctaacg aaagcacctt ttgctgactg gctagcaatg ctttttctc
40620

gttggtcagc ttgcgcttac tctgtgcac ctggaggatt gaaatctgag cctctgtagc
40680

ccacaaagca cggcgctgtg ttgagatctt gtcgttaatc gacttgtgat cttctaaaac
40740

tttaagctga gctttgagaa cgtaaagttc tttatcaagc tgttccgtag cgcccttgg
40800

tactgcgccg ctgctcttag ttttcttctt gttctgctct tcaatggctt tcgcttcctt
40860

ctctacagcc tcctttgtct ccttgctgta ttgcttctcc atatcgcgtc ggttcttgag
40920

agcgttgatg taaccattt cgcccttttc tactcgcgcg ttaatcacgt ccagatctt
40980

tgcgaggctg tcataggtgt ctttgaggtt cttaacgata gtctgctggt cgttgagaat
41040

atccttaccg aaatcactca taccaggcag gctttgcgtt gccttgattg ctgaggcaat
41100

aaagttagaa atgtactcgt cacctttggc gagaatcatt tttacctgaa tcaccgtacc
41160

gctaaccacg tcaattatga ggttagagc accaagcgta tgatcgccaa cccaccccca
41220

ggcgtcggat gaccatttct taatgtcggc ccacattttc tcaagcggcg ttgcagtacc
41280

tgcaatcttg ctcatgcgtt cttccatggc gtcagcaaac agctttgtcg cctccgtcac
41340

ggcttcggtt tcgcccttgg ttttaacaat cccgttgata taggtcagtt ggcctttctc
41400

caggaagttg tattgctcat tcagcttcgc aagccctttt accggatcat ctgcaatctt
41460

gccaaagtca ctgatgatgt cgctcgtagc tcggcccgtt gcggctgacc attcagcgg
41520

ggcgcggtg atattcctga tttggctctg agtgtactta ccgctttttg caagctcagt
41580

ggcaatttct cgcacagatc cgatagtcgc gttgctgggt tctgcaattt tgtttgcat
41640

cgcgtaagg tcctcagccg tagccgctgc aaatccacca gtttcaatca aggcgttttg
41700

catatcagta atgtaacggt aggagtcata accagctttt gccaggccag caagagcaat
41760

acccatcgca gtcattccaa cggtaactgg attcaggtat gaaagaagaa ccttgaacgt
41820

gttgcttacg ccgccgaatg aatccttgat ctgcccaccc tgctgaacag ccaccaacca
41880

cacaggcata cctgacgcaa gagaagtaac cacgtcagtt atctgagctg gtagcatacg
41940

cattgcgttt ttgtactcac caacagaaag cccagcgacg tttgtagcct ttgcctgctt
42000

attcattgcg gcgataaatg gagcggcctg agtcgatacg ccaagctgtg ctgccttcaa
42060

ttcgagaagc tcggtcttgg tcattgtcgc ggcgttagct tggtcttgca gtgatttaag
42120

gaatctgtca gcgtcctttg ttgccgcctc tttggccttt gagttagcta gcgccgcacg
42180

accttcttcg gtcagcgcca tcttgagcgc gttaagtga ttgatctgag tttcaatcat
42240

gcttgacaga ttgaagaact cggcgtctgg aactaggcct ttgctccata gggtatccag
42300

gtcaacgctc gccttctgca aatggcgcac ttttccgatt gtaggatcga tagctttctc
42360

tacgtcggca aactctttct tctggcgctt cacctcgtta ttgaactctt tcattttctg
42420

ctttgcgact tgctcggcat caatgaaatt gtcaaagctc tttccggctg tgttgtttgc
42480

cctggataag tcatccagag atttaacagc cgcgtaacc tgggatacgt caacccaag
42540

cgatagccct gcaaatttat ctgtcataaa acccccatat gaaaaaagcg cccgtaggcg
42600

ctattatttt ttgtgcattt gcttaagcgc ttccgcttcc atcacacgca catcatttaa
42660

ggccattttct tcacaatcta ttttatagat tcgaaatagc ataggcaaga cattataatc
42720

aagcccgtaa gctccggctc cggcagacct ccattgagtt tgcattgcgg tgaatacttc
42780

ccatgactgg taagtttcct cgtcgaactg caatatctct ggatcttcgt tgtcgtagtc
42840

ctcacggggtt aatccgtatg cctcaagttc tgcgtcgggtg ggcgttcgcc tgaatagtag
42900

ctcgaccgcc cgttttagtt ttttactcgg tagccagcca gcgcttgagt gtaagttgag
42960

atcaggccgc caacaacggc agggtaacta tcaacaagct tattgatggt ttcattcattg
43020

aactcgtcct caagttccca cccactagcc agggatttta caaactgagc tccagtctgt
43080

ttttctgcat ttttcagcgt ggcgttaagc tcggatgacg ttagcgcctt gacagtgaat
43140

gcaaattgtag cttcaacgcc gttcggcaat acgaatttaa ccggaagtgg gaagtccggc
43200

aggcgttcag ataggggttac tttaaagctc atagtgtttt cctctttggt tgaattgggtg
43260

atattaaatc acaaatagaa aaagggggca atagccccct tgaattacgc agattctttc
43320

atgtgcgtgt atttgccatc aagtgagatg gtcaggatgg tcgtttcatc ttcgttcac
43380

actgtgttag ggatgtcatc gaaagatggc gtaccagaga aggtgcggat cggatagctt
43440

gccttttgga cgaacattcg cattgcgcgg gttttgccgt cttcgtcgta accaatcaga
43500

agctgagtga ttgggttgga gtagtcgaag tcgaacgtat acgcgatgga cgtcgcagat
43560

ttaaaggtcg ggatctgctt ctctcgggtca tctgaaagac actgcttggt atagaactgc
43620

tgctcgccgc cagattttgc aatgtcgctc acgcatggaa tctcaatcca gctttcgatc
43680

ttaacgaagg tggaagcgcc gccagcgggg aacttggttaa ggtcagccgt ggaagtgttc
43740

ttgtcgcctt caagcgtgat tgatgcgtcc agggttactt ctttcaactcg cattacgcga
43800

tttttaaagt cagcccatat gctttccage accaggacgt aatcgctttt cacaatgcca
43860

gtggttgacg caacagtcgc caccggattt tccgcgttac tcaactgcggg tgcttcgatt
43920

tcggtggctg ctcggtctg ctcaataaag atttggaac cgtaggaag tgccatagtt
43980

aatgctcctt tattcgctgt attgtactgt gaagcggatt ggaattaacc agcctctttg
44040

tgatttctga acgggctttt ggctcgcgcc ttcaaaaata aaacctacag aaaggatttt
44100

accatcttcg aagaaattag caatttcttt tgccagtttg cgcgcgtcgt ccatgccagt
44160

atcaggagaa aaaacaatac caatctggac aaggccacga atcctgacac acttcgggt
44220

caaagatttg tacgtcttct ctgccggaat gtaatcaaac ttcaaccacg tagagccatc
44280

attaggctct ttgaatggca cgttctcata catgatcggg aatcgactac caaactcacc
44340

atgcagcgcc ttacgcgcg cgaccgctag gtcataatcg tcataaacca tttttattcc
44400

ttgattcaat aattgccgct gatatgtaag aacgcaaccg gatagccacc aggccaaagca
44460

caccagcggg cgcttgctgt gaatgtccgt actccagagc atttgcatag atcagcatgt
44520

tagaaaaata gatggtagtt accgccccgc cagggcctaa cggcaatgcg ttagcagttc
44580

gtacacctgc ggctatggtt ttacttctg acttatcata ctattcage gcgtacattg
44640

gaatgtgatt ataggttatc tgccagttag ctctaaatcg accgatatca actggtgagc
44700

ctttgactaa atcggcgtgt acagccttga cgaactcacg aataacgtca tcaaggccag
44760

attttacctg cttaatccac ttctctatat cgccctggaa tttctgacg atatagttag
44820

ccatgcgccg ctaccttacg caaaatagga cggtatgcga taacgtgaga ttgagtcggg
44880

ttaactggtc gattgtcaac gacgcgccag tgctggccct caaggatgat aatcatcccg
44940

ttctcgatcg gtgtaacggt agagaagaat gcccgccttg cgccagctt gatagattcg
45000

ccatcaatca tgtgatagct gatcgctcgc acagcgccga acactttacc gcgaacctcc
45060

ggcactttca cttcttcgcc gtcaaccatt tggacgccgc caccagtgat gataatgtcg
45120

aacccgacct catcggttacc agaaaaggca ttgattccct gatcggttaag cctttggatt
45180

tcattataat caatcatcgc acgcaccccc gcgtccgtat gccagagata aggccgaagc
45240

caccgccttt cttcttggtta agaacgtcga acatcttacc ccatgggggtt tgtgtaatct
45300

gacgcccgtc agtgttctga gttacagagc cgtagccagt ggaaaattca ccgctcaggg
45360

agaatgacgt tactcgccga gagtagttct ccagactttc attctcgccc ttcattgcac
45420

catccaaaaa cattaagtgc atggtgtaca gggatagcgc tttgtaatag tcagcaccga
45480

atttattctt gcacacgaag gactcagcca gcatcatcca cgcaaggaag gtgacgctat
45540

caacctttcg taacgctggg gccaaactggc acataaactc gaacgcctta atctgatctt
45600

cattcatagt agcttcctca tgttaaaaaa aaggagcgca tcagcgcccc tataggttat
45660

ttgtattcct tgccagtttc aagatcttca atatctttca cttctttttc cggcttaacc
45720

ttcgcggcct ttttgatttc ggcgatgtac tcacgcgtgc gtttcggatc gtcttcaaat
45780

tcaatgtctt tacgcaagaa caggatattc aacgcctggg atttgatttg ttcctctggt
45840

acttcagag tgtcatcagg ttttatatct tgcttttcga tacgaaccag acaagcgccg
45900

atgttcttaa tgacgttttt cttagccatg tttatttcct tttgattagt tttaacgagt
45960

gtattgccta ggtgttcaat gtaattgttt tgatgttgca tgtcaataaa aaaagcccct
46020

gacgttaatc aggagctttg tcttacttac ctacgccaac cagcatgata attgtcagag
46080

gacgatatac gatcaggcca gtggtcttgg aggtgcacgg gactttgaaa tgcaaactct
46140

tcgcctgcat cggcagcatg ttgaaagact caggaatctc gatgctcatg ttcacgggt
46200

ctttctcata cgccagtaca gctttcgtgc ctgctccgtc gatgtcttcc agttcagaga
46260

tggaagagat ggtgatgcca ccgttctgag acttgaacca gtccagataa ctcatcgtgg
46320

tttccggcat acgcttagcg agcaatttac gctgggacgg cgggataacg atgtcgggtga
46380

ttttgtgctg accattggtc agggtttcca tcttctcgat caggtcggtc agttcttcgc
46440

ttgctttctc tgcgtcagcc catgcgccag tggcagaggt tacacgggtg atgttcggat
46500

ggtcgaaaac agagatgatt ttgtgaggct tggagccttt gaaaaccaac tggttaacca
46560

gagtttcgtg accttcacgc gccagtgtcg ctttacgac cgacaggctt gaaccaatg
46620

ctgcaccagt cttgatttcg tcgatagaaa tcaaccacgc gttaccgagt cgggtgaactc
46680

gaccagattc caggctgtga gttgcgtcaa cagtcggcag gtcgtcgggtg tagtcagcga
46740

taatcttcgc catggtcacg ccgtcaaact tgagatattc gaacagggtta gcggtcgggc
46800

taatctcagt ggtgacaggg aacagggccca gagcggaagt ttcagggtta gccgcttcat
46860

actggcgctt aagtaactga gtcattctgct taacgggtcca gataccaagc tgatcggcct
46920

tgttgccact tacgccaagc tggcgcatat cgtagtaat catgttctgc tcgaaagcgt
46980

cgagtttcat agtcataatt tgttttcctt tgtttgtag aaagccgtga ttaagttcac
47040

ggctctataa tagcattttt tgttaaacgg tcaacagctt tttatgttaa gcgattatgt
47100

cgttctctgg caataaaaaa ggagcctttc ggctccctat tatggttcag atattaagct
47160

gccggacttg ccggaagctg gaattgagct tgagtaacct ggattttgat aatgtcgaag
47220

ttctcatcat cagtcttttag ccactcgccg gtgggtggtg aaacagtgcc aatgccagtt
47280

gccgccacag taccogaagt ggtcaagaat acctgcttat tgaactcttt gttcacttct
47340

ggcaggtctt tagcacacag tacccatgcg cgaccatttg tcagtacggt gattgcagaa
47400

ccttcgtcat aagcaccatc cggagagtat gcgtgagaca tgatggctac gccaccagg
47460

ttcggagttt ctgccgagat ggtgtcagtt acgactttgt gaccatcaac aacctttccg
47520

gtagggtcga gggcgactac cacgccagcc ttaatttctt tagccgctgc acaagcgcca
47580

tcaacgttgt agagagaagt gtcagccagc aggcctgcat atgcttttga acggttaacc
47640

gtataagatg ctttgattag tgccatgata tttttccttt ttcacttaga tactaagcgg
47700

ccttttagacc gccattttat tacttacgga agcgagcctg tggatcagga atcgcgctcat
47760

tatctttgtc gccctgagcg ccgtcggctt tgtcgccgtg cactttaatg cgttgagcag
47820

ccatcttatc agaatcgcg cgcatttcat aagactgatt gatgtatgcg tcggattttt
47880

cttttagcgtc aatgccgaga acttcgtcaa taactgccag cttgatagct ttctcatcca
47940

ggccgtcgca cttgatgcca aggccggaag cgaaagtgag aacagcgccc agcgcgtcag
48000

ctttttcttt tgcattctgcc agagcggctt caatctgtgc cggaatgccg tcaacctttg
48060

cttgacgcgc gtcgcgctca gcttgaggc catcgacttt agcgccagct tgttctgctg
48120

cgttttgcag tttgccgatg tggtcagcta cgtctttgga cacttccact tctgcggaat
48180

caattttgat ttttacggtc atgttacttt cctcattggt taattgaaca tgctcatcat
48240

atttaatttc ttctgagccg tcaaggttta atctggcaat acctgcgcgc cctttactca
48300

ctagcgctac gtgattaacc cttattttag tttgtaggac atcaaactca acccagtcac
48360

ctggaatggt tatgtcaggc tccatatacct ctttaagaat atattgacct gaaacattcg
48420

atccccaacc ctcttatga atctcaataa ccgtataacc tactgacaac tcccttgccct
48480

caccgctctc agctgcagca atcgcagcag agtccattat agtgatcggg cacatcacct
48540

tcccctcgt tctgtcagcg aaagcctctc cggagcagtt gccacaaca acatcttttg
48600

cattatctgg cgttaccggt acgtgaccaa gcgtgacagg ctttcctctg tagctagcca
48660

gtgaaacgaa atcaaaaact tcactttctg gcctaaattc cctctgaatt gcccgcgtag
48720

ctagcgtgta ctctgcaaa ccgacccttg caaccactgg tacgtcaaca agaaatccat
48780

tttcatcctt tttcgccttg aataataggt aatcaaactt ttgctttgcc ttcatacact
48840

aaccctctcc aaatccaggt aatttaaaca tccaattttt cctcattaat catgatattt
48900

ccccatttgc tgttgtgaag tccggaactg cccaacaacg gcatccgtaa gggtccccag
48960

ggaaagggtg atcacttgag atctcaatac gtttaccttc ccattttacg tgctgcaatc
49020

gctcgcgctc gtccagttta ccatgccaga aatagtgagt tactccagca tcatccaggc
49080

gctggcgcat cagtacgctg ttccatgtgg acacgattcc acgtgagcga ttcacggctc
49140

agccagtata caccttgtag cgctgcttta aaacttcac aatctgctga ctggttttat
49200

tgcgcacgtt ttcgacgcgt aggttttgcg accagtcaga gatgatgtcg ttcgatagct
49260

ttagaatact cacctcagcc gaaccgcgcc attgcgatga cttctcgcga taccatgact
49320

cattggtatt cgcccccaagc gcgccaagca agatcacaga ctgatttttt cgcgccaccag
49380

cctttttcgc cacgttgagg aattgccttg agttaaacctt gtagatagtc agagccagcg
49440

ccggaagtgt ggcaacaatc gccgcgataa gtcctgctgc gtattcctca agctcacttt
49500

ctgcatcatt gattttcttcg tccgaagcgt caaacctcat tcctcccgtg agcgatctgg
49560

ctttctttgc catctcgcct gcgaagggtg acaatgagcg gctaagctgc cgctcgcttg
49620

cttcgggata actccattga tttaaatgc cgttaacctt catgatcatt cctcgttgct
49680

cacctgcggg ttaattggtt cgacttcaag ctcaggcgct ggtccttgaa tcttgataaa
49740

gtctgcgatc gcctcaagtg tatcacgcgc ctcacgcgg tcaataatct gatccgcaat
49800

cagctttgag attgactcaa cgttattctt caaagtctcg gattgctctt tctcgcttgg
49860

cattgatagc ggctcaaagc ggattgacca ttcattcttc tgaataatca taggaaccag
49920

ccactcaaga agaggcctgt aatactcggt acgcttgca tcaatcatct tatagaaagt
49980

ctcaagcgcc gtattctggc tcgctgacac gcctcctacg ttcttattct tgaggataat
50040

ctcatgaatc tgtgagtagt tcacgatgcg gtccatcttc ttatcaagga aagcatcaac
50100

gccgccaatg tcagagttaa gaacgtcgta ttcttcgctg gttgcatcaa tgccgatcgt
50160

ccggcctacg ccgctattgt catcaacctg cgctaatacg agtcgcgcgc cgtaacgccc
50220

ttcgtcatcg tcgcacaaat ccgccagacc tttagctttc catacgcctt gctgcttacg
50280

gcgcaatagc tgagtcgcca gttcctcaca gtagttgtag tcaagaatgg catcaatcaa
50340

gcccttactc agtacagatg ctccccaatc gttattctgc gcgcgaagtg agccagggac
50400

acgctcgcct ccgtaaacad agattcgcgt gtagtgaacg tcgtattccg gtacgctgcc
50460

gccaggggta atgggtgtaaa tcttcggcat accatagcga gggttgcgtg cgttcttctc
50520

gcggtccttg atgcggatct gctcttt
50547

<210> 2

<211> 8358

<212> DNA

<213> a part of DNA of Novel Bacteriophage CJ 24

<400> 2

caccattggc agcgtatcta gaatagcact tccggcaact ggattttaac tcgttacacc
60

ccaaactctgg taggggcgtc cagcaagtct catctggtac ttacgccgtc gtatgggtac
120

gacttacccc cataatcttt ctaattcaaa gtagcactgc tccatgtttg gcctttgaac
180

tccgggatcg gattagtgc atgctacttt gaattgggta ccagtgaggg attcgaaccc
240

ccggttgag tctatagctt accgcagcag ctctccaatc tagcgggtgc aacttagtc
300

caaacttgaa catatcaagc catctcgtgc aactgataat tggttccggc gtctggactc
360

gaaccagaac acttatgccg tgcacgacac tagtacctac accggaatta attgccaggg
420

attccacctg gctccatctg ctttttatag tcaactcagat atcgtctgga ctgtaggcat
480

gggtgggaat cgaaccaca aaccattcag cactgtagcc tcacgtctta cctatttgag
540

ctatcacaca ccattgatta actccccgtt tctaatacac ggacgaggac actccatggt
600

cgtttgataa tcaggacgac tcaactccga ctgacgcttg gcttattagg ctgccatcag
660

aacaacatca tcgttttgcac ttatgtttatt gggttcgtttc taaaaaacccg cataatcgct
720

tacgaaaact atcaaagagt acactaagca caggtagcta ccctgccgtc ttctccacct
780

acaccagcta tagtgtaaac ctccgcacgt tagcttaatg tactcattga taggatgtca
840

gtaggtcggg ggctggattc gaaccagcga gagaagtagc gaccatctgc acatgcctac
900

gtgctacctc gaccattata ataggaggga ggggacgagt cctcccttta taccctatat
960

tgcatgtaag acctaacaat tcgatgctgt aggtagctat gctatccgac atttaacca
1020

gcccataatag gggcttatgt gattaaaatg ctcaacattg agaggttagt ttgataaggg
1080

atctgaagcc ttatcccaaa gatactaacc tttgggatat agcctatcat tcagaaatgg
1140

cccctatagg gagaggccat tgattaaccc gaatgttgct ttacattttc tgtgataacc
1200

cattcttaaa atagtctacc tgacggatgg gcataaaccc tagcgtcagt gccatacggc
1260

aaagattaag ataagaaagg ttatgatagg agttcctatc tcaaaggatt ctaacagaac
1320

ccttcacgat attaactact cttttttaat gcttctactt caccttcttt ataccaagca
1380

tacggtaacta agattttgca tccttccgat tcaatgtgaa atgctttctt tccttcaacg
1440

ggttctccac ccatgaaaga actaaccttt ccattgagcc agtgaatagt aaatttggtc
1500

atattagcct cagttgaacc aatgcacagg ggagagtatt cctgcacact ggttcggttg
1560

ttgttactct ggcggcttgt caccaccgtg tttaccactg catttccaca ggataatgac
1620

agtgatgata aaagctatgt atggagccga cacgtctata atcctgacca gtagtagcat
1680

caggactata aacactacca cacctagcag cagcttctga gccacctacc agattaacta
1740

cgtttaaggc cagcgaacag tgaaggetta gtagcagggt tctctgctgg ttcttcagcc
1800

ttagcctctt cctgcacaac ttcttcttgt gcttctgggt cagatactgc ttcttcttca
1860

ggttcggcg tagaactctc gttctgacca ccagtagagg tctgggtttc ttctaccttt
1920

acctcttcaa ctacttcttc cggctctggt tctaccggac gatgttttagc ttctgtggg
1980

ttcttacgag aacgacgagt tttcttctct actcccacgg gtggagtatc ttcatgaacc
2040

tcttcgttga taccaacgga agctgtaccg tctgcattga tgacaatatt gatgtcacca
2100

gcaagattga tttgatcatc gacataagcc tgtacagcag cttctacttc ggactgggtc
2160

agaatgattt gcatgttatg cctttattaa attaaggagg ttttggaag ctgggagatt
2220

tacaccagca tggattgcac cgattgcac agctaagtgc tcattcttat tcagaagttt
2280

gcccttctta tctgtgagcc agttggcttc aggatagatg gcatgagcag cacgaatcat
2340

cgtgtcctta gatgcagttt tatcaccgac cagtgcgaagt ttgttttcaa ttggggatac
2400

ttcaaagatt ggacaacca atgcacgaaa tgcacctatt aatcctacgc atacgccata
2460

ggatttcata ccgttagcag actgagagcc tactgggtact tctacgaata ctgcttttagc
2520

agaccgtaac cattcctcac aaccaagaaa caaatcgtga gcggcttgta tatctttgga
2580

gttggttcga acttgtttgt tgtggtcaac ttcagtttga accagtttaa gttcgacctg
2640

ctcgaagacg ccggactcaa tgtccagcat ccacagagct aaaaccccaa ttgcggagac
2700

taatgtctgc accgacaatt gggattttca ttaacgttta ccaaacagtg atttaccacc
2760

agcaggagca gtaccgctgc cagcacctgc acctgggttt aggaggcaag ccacctttac
2820

cattaccacc agcagaactc ttagtcttgt cacgagtttt gcctttgttc tttccagcc
2880

atgctgcata gaatacagcc agttctgggg ttagttcttt ttcagccttc tctgcttctt
2940

gagcctcgac gactgtgacc agcagttccg ggtgaaacac tttctgaatc tcgtttactt
3000

cacgagtttc gtcagagtct acataaccgt tgtcgccttt aacctgcttg tttccagaa
3060

ctttttccag agcgaaggta acagtctggc ctaccaggtc aactggaacc atgacagatt
3120

tattaacttc tgcttttagcg tcgtagtcgt agactttaac aatcttctct tcgaagtctg
3180

cttcaggcag ttcagtagca gtagccatca gcatcatgtc gttaatgaca gtgtagccag
3240

gcaggaagta ctctttacca tttttctcgt aagtcggcctt gttgccttta gcattaccag
3300

aagtgaagta cacctgagca cggaactcgc cagcaggcac gccatcagag tttttcaggt
3360

cttcaataat taactgtatc cagtctgcac cagaatcagc tttgcctacg taagctactt
3420

ttacagtatc ggtgtagata tcggtttctt ttgcaccgaa gccaccgcca cccagagagt
3480

cttttagcagc ttcaacgttt ttggtttttt ctttcagatt actgaacaat gacatatgat
3540

tttcctaata agtgattaac aaccagacaa acgcttaagc gtagtattca gccagggtgg
3600

ctaagagttt ctgggcatcg ttatcaatgt aagtctcgga cttatcgaac ataccatag
3660

gagaacgaag tcgtttacca acagacttct tggttggacg ggtctggaat acatgtttat
3720

agcctaaatc acgttcttcc tccgtaattt caagcatctt gtttccatac ttctccagtt
3780

ctttaatgtc tacacgttct gcgtaaacca ctgtagagaa gtaggcttca agcccgttat
3840

tcttcagaga gcctttcact gggatgaacg ttttcatcac accagcagct tcatccagtt
3900

cgtcttttagc atgagcagta atgattactg gcttaccaaa cttaacgact ttttgttgca
3960

gcagtatctt aaagaactgt gcaaaatccc cccatgcctt ttgcgtgttt gcagaaggca
4020

gaacatactg ggattccagc atatccatca taaaagttgc tgagtcaatg atgataccat
4080

caacatcatc tgccatttct ccaccagaag atgcaacatc aaatgcttcc cagatttggt
4140

atgggtcttc gatgttgtag gtattgaact tgttacggaa aggtagacgt ttacctgcct
4200

cagtgttcag atagagccag cgttcctggt tcctgatgtt acgcagtgat gctgatttac
4260

cactcgtga gaatcctgca atcaggatta gctgagtgtt catatcattg ggaattactt
4320

cggacattat ttttcctcat ttaatttagg agtccttcaa accaaagaaa gactcctgtt
4380

tgcttatttg ccagcgaagc gtttagccac ggtgaccatt acggttgcat tcaattcatc
4440

atctggtaat ggattagcca gtttcttatt gaatgagtgg acggcttgct gtacttgggc
4500

aaaatcccaa ccactgtcaa ccaatgccag tgcgtactta atcatttgat tattacgatt
4560

accggtagca atacgactag cgaaccaacg ctccagatta tccaacgact gtacttcctt
4620

catctgggtc tggaactgct cgttcttact agtacgagga ataaagtcac gcacgtccaa
4680

cagatttgct tcaagattgt aatgatagga accagtctca caggacatcc atttcttggc
4740

tcgctgggta gcagattcat ccgtttcgaa cggtagccaa gacataacgt tattcataaa
4800

ctctttgtat tcctcagtgt cgaggtgtaa ctcatagttc attggaataa tcagtcggaa
4860

gcggttctct tcatcagaat gacgtttagt ggtataggtc atgaacttat attccttcat
4920

cagttcatgg cacgtatgca gtgggtactcc accatcacag tcaataacaa tcatgttaaa
4980

tcctggaata acgttctctt cggaacgatg cccgttcttc atgtgatggg ttaccagtg
5040

cataccggga gcttgggtta atacatgcaa ctggtcgaac ggtacacgtt caccaatgta
5100

gtcataagca aagctatcac tataggccac tatcatctca ttgatgtcag tctctttcag
5160

agtctctcca cggaagaact caataccttc attaaaagtt ttcttaatga tgatgtgctg
5220

tttgatatccc catgctgtag caagagtcac catctcatta cgagctgcat tgccactctt
5280

atagaacggc aacgactcca gtaagtcagc atgagtcact tctttaccta cagaagcgat
5340

atacttagcc agcttcacat aggctttctc acgattgaga ataccctgga atgctgcccc
5400

ggattcttct acaagcaaga ttgcttgttt aagatgagac atttcaatga atgaactttg
5460

gtcaacaaat gccagtgtc cagccagctt aagagcttta aagtaacggg gggagatttc
5520

agccttacga atttcttcgt ggtcagccat agcttctgct tgtttctcac aatcgatctt
5580

gtaagtaatc agagcaatac ccacagcatc ttctacaacc atcttaaagc cgaacaagtt
5640

tggatcagcc agactgtgga agtgattagc ccacttacct agagactgta cgttatcctg
5700

cttaatcagg ttacggtaga tttcttctgg ggacattggt gcatgtgctc gtttatctaa
5760

atgcccaatg gcaaataagc aacgacgtgc ataccctgta tccagaaagt catagaactg
5820

gtcttcgggc tgaccacat ctagtagctt acttggcgtg ccaaacagca acagggttagc
5880

tggagtctta ccatccagtt cttcaccacg aacactttca gcagtgttct tggttaactt
5940

ctgtttaacc ttaccctggg catataattc caggaacaga gttaatacat ccgtgttagc
6000

caacaggttt gaaccaattt catcaatctg taggttgatt gaaccacacc cagccattaa
6060

cagcttatgt cgtagctggt taactgctgg tggagtacca gagtcaaacg taaacggata
6120

tgctccagca cgtttatact ctgcttcgac tttatcaaac tcatcattct ggtctgtacc
6180

ttgtcgagca gcacgttcgt tagcaatctt ccataaacgg tcatttgcaa tgacgggcat
6240

ggtgtcttcc ataaaacggt tacggaagcc agtcatgaag ccgtcttcaa taatatttac
6300

cgagtgcct ttaccgaagc cagacgttgc taatgccata gcgtaaatgt tgactggtaa
6360

gtcaccacgg tctttagtga caatggttgc acccatgcag gatgccattt tagccaggaa
6420

gtaggctact tcgacacgga agaatcctct gtcgttgttt tgtgtcttgt tacacagcac
6480

gtctacaatt tcttcaattg caggggtggtg agtgactccg gtcaggtcaa tactcatgat
6540

ggaaaatata tctctctttg ttgcaaatag gacgcgacag ggcagtatag acaacgctta
6600

acctgcccct ccacgacctt gatagcacc ttgccacctt tttcagccat gaagatacga
6660

gcagatgcca tatcgtcaaa ttttttggtg cttctggctc caggtacatc taccttagaa
6720

gcatcagaga agtatattgaa ctgtggctct gttcgccaca actcctcatc agtacattca
6780

ggaatttcct cttcaggtgc attccagtac ttttcaatga ggtgaatctt ctcttctacc
6840

caacgttcag ttttctcgac agatagcaac ggaatatcct tatgcataat acgattagca
6900

ggatagttcg gattgctatt agccatgtgt ttcattgaagt cagtgaagat gtagttaata
6960

cggattacat cttcggtaat gatgtcggtg tgaatccaac gatacaagct gccttgcac
7020

ttatgttcat catcacggga accagcaacc caggaatagg ttgaggtaga cttaaagtcc
7080

tgcaacagac cttctgttac gatgtcgaac ttaccaccga tagtccaacc cttaactatc
7140

ctggttccac gctgttcaac gtagattggg ataaggtcag ggtagcatc aaagtctgct
7200

ttggttgggt taatgactac tgcatacaatt actcgttgag gataacccaa ctttttcaat
7260

gcagtcttat gacccagctt ccaggccttc tcgatagaat catgtaaacc agtaccatt
7320

gatgtggaga cgaaatccat aacatcaatt gactggtcac taagatctac acgatgcttc
7380

atgactattt gcttaatggg ctttaagcaag gtagtaacag acagatactt aggattgtct
7440

acataatcat aatcatccgt tacaagccat acagctagtg caagactaac gtcgtgtttg
7500

ttggttaagtt tcataacagt cccaattgct tattagtttt agcaaactca ccataatgag
7560

ttatagcagc ttcatacatag agaacagcag cttctcttgg gtcatactgta aaacctaattg
7620

taattggttt actgttaacc caaatagttg ctctgtattt acctaaattc tttgaaaagg
7680

ataccccctt aaatccagat gtgtttgttt tagataaaac agcactctgg ttattctgct
7740

tgtgggtcgc ttctctgagg ttatctatcc agttgtgatg gcgaatattg tccttatggt
7800

caattctatc cgtaggccat acaccgtgca catagaacca tgcaaggata tgcccatagt
7860

acaacacact atccacacgg agttgaacgt aaccactctt cattaggtaa ccagatacct
7920

ttccggtatt cctacgagta aaaatcccgg aaatagggtc ataactaaca agctgtaaaa
7980

gcctgtcatg ggcaatcctc tgtttcataa ttagttactc gtcataatg agccatacag
8040

ccagagccag tgagacatca tgattgttg ttatcttcat tagtaagtaa tcctgtatct
8100

gtgaaccag ttccacttaa tttcacttag ctgattgaag ttatacgagc aaatttcatc
8160

tcgtttatct ttataaaca tctcaatgaa tgaaaattct ttagtgaaat gaggtttacc
8220

attgtttgta tggtgccaat aactaccaac ggtatttaca ttcgtagcag gatccggaaa
8280

taactcacta gctaacttct ccttagcaag aatacgatta gcataatgaa ccagcttctc
8340

tgcacgtaa acagcagt
8358