



(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)



1-0025274

(51)⁷ C12N 7/01; A61P 31/04

(13) B

(21) 1-2015-03523

(22) 24/02/2014

(86) PCT/KR2014/001476 24/02/2014

(87) WO/2014/133289 04/09/2014

(30) 10-2013-0021498 27/02/2013 KR

(45) 25/08/2020 389

(43) 25/02/2016 335A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

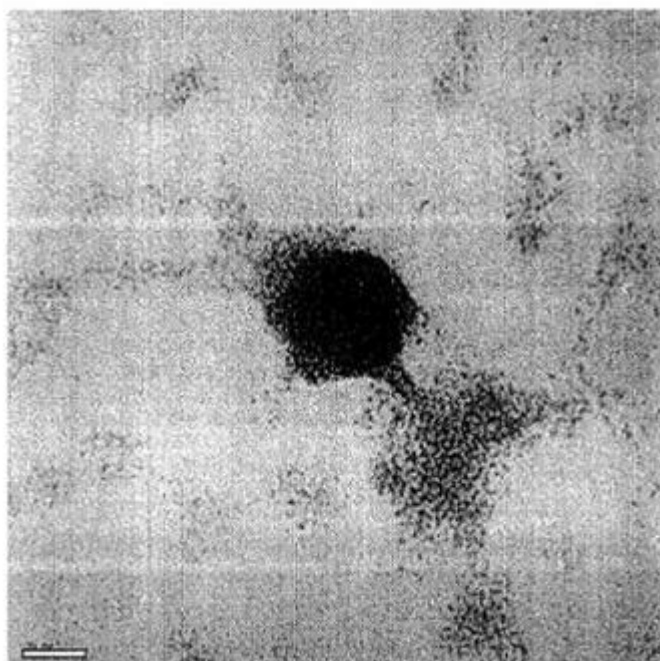
CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 100-400, Korea

(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, CHẾ PHẨM KHÁNG KHUẨN, CHẤT KHÁNG SINH,
CHẤT PHỤ GIA, CHẤT LÀM SẠCH CHỨA THỂ THỰC KHUẨN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P). Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến chế phẩm kháng khuẩn chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) làm thành phần hoạt tính.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến thể thực khuẩn mới có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (ETEC) và chế phẩm kháng khuẩn chứa thể thực khuẩn này. Ngoài ra, sáng chế còn mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh cho động vật sử dụng thể thực khuẩn hoặc chế phẩm kháng khuẩn chứa thể thực khuẩn này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

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

Ví dụ về *E. coli* bao gồm *E. coli* sinh độc tố ruột (ETEC), *E. coli* gây bệnh đường ruột (EPEC), *E. coli* xuất huyết ruột (EHEC), *E. coli* gây kết dính ruột (EAEC), *E. coli* xâm nhập ruột (EIEC), *E. coli* sinh độc tố gây hoại tử (NTEC) và các loại tương tự. Đã biết rằng trong số các vi khuẩn này, cụ thể là ETEC gây ra bệnh nhiễm khuẩn đi kèm với *E. coli* ở lợn.

Gần đây, khi một số lượng lớn lợn được nhân giống tập trung trong ngành công nghiệp chăn nuôi lợn thì bệnh tiêu chảy do *E. coli* gây ra ở lợn trở thành bệnh phổ biến và gây nhiều ra nhiều vấn đề nhất (Tài liệu phi sáng chế 1). Hiện nay, sự xuất hiện của bệnh tiêu chảy do *E. coli* gây ra ở lợn đã gia tăng ở Hàn Quốc, làm cho lợn chậm phát triển và gây chết ở lợn con do tiêu chảy, dẫn đến các tổn thất nặng nề về kinh tế cho nông dân (Tài liệu phi sáng chế 2).

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tiêu chảy do *E. coli* gây ra ở lợn, nhiều chất kháng sinh đã được dùng cho lợn trong các giải pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhưng khi các chất kháng sinh này được sử dụng không đúng cách hoặc quá mức thì chúng gây ra hiện tượng kháng thuốc và bị lưu lại trong cơ thể lợn. Do đó, hiện nay việc sử dụng chất kháng sinh đã bị hạn chế trên toàn thế giới (Tài liệu phi sáng chế 3).

Trong khi đó, thể thực khuẩn là một loại virus đặc biệt, chúng chỉ gây nhiễm và phá hủy vi khuẩn và chỉ có thể tự sao chép chỉ bên trong vi khuẩn chủ. Thể thực khuẩn có tính đặc hiệu vật chủ cao hơn so với các chất kháng sinh, và gần đây, việc xuất hiện các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh đã trở thành vấn đề nghiêm trọng, vì vậy việc sử dụng thể thực khuẩn trong thực tế ngày càng thu hút sự chú ý (Tài liệu phi sáng chế 4 và 5).

Do đó, các nghiên cứu về thể thực khuẩn đã được thực hiện một cách 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 này.

Như được nêu trong các tài liệu kỹ thuật đã biết về thể thực khuẩn, 7 loại thể thực khuẩn dùng để kiểm soát *E. coli* 0157:H đã được bộc lộ trong tài liệu sáng chế 1 và thể thực khuẩn có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với *Staphylococcus aureus* đã được bộc lộ trong tài liệu sáng chế 2. Ngoài ra, protein ly giải từ thể thực khuẩn sẽ phá hủy đặc hiệu cấu trúc peptidoglycan của màng tế bào vi khuẩn và ly giải vi khuẩn bằng protein ly giải đã được mô tả trong tài liệu sáng chế 3.

Tuy nhiên, mặc dù đã có các giải pháp kỹ thuật như nêu trong các tài liệu dưới đây, nhưng công nghệ sử dụng thể thực khuẩn để ngăn ngừa và/hoặc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra vẫn là một vấn đề quan trọng trong ngành công nghiệp chăn nuôi, bao gồm ngành chăn nuôi lợn, vẫn chưa đầy đủ, do đó thể thực khuẩn và kỹ thuật sử dụng thể thực khuẩn cần được phát triển.

Tài liệu thể hiện tình trạng kỹ thuật

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Bằng sáng chế Mỹ số 6,485,902

Tài liệu sáng chế 2: Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0910961 B1

Tài liệu sáng chế 3: Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2009-0021475 A

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Young II Park, Swine production science, Sunjin Publishing group, 353-359, 1998.

Tài liệu phi sáng chế 2: Eu Chul Hong, Luận văn thạc sĩ, Dankook University, Addition Effect of Egg Yolk in Early Weaned Piglets, 2001.

Tài liệu phi sáng chế 3: Mason HS et al., Trends in Biotech, 13:388-392, 1995.

Tài liệu phi sáng chế 4: Cislo M, et al., Arch. Immunol. Ther. Exp. 2:175-183, 1987 Arch Immunol. Ther. Exp. 2:175-183, 1987.

Tài liệu phi sáng chế 5: Sung Hun Kim et al., Bacteriophage, novel alternative antibiotics, Bio Wave Vol.7 No. 15, 2005, BRIC .

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu để giải quyết các vấn đề như vi khuẩn kháng thuốc xuất hiện khi sử dụng chất kháng sinh, việc tồn dư chất kháng sinh trong thịt và các vấn đề tương tự, phòng ngừa và điều trị hiệu quả các bệnh nhiễm khuẩn do *E.coli* gây bệnh gây ra, và kết quả là, các tác giả sáng chế đã phân lập được một thể thực khuẩn mới từ thiên nhiên có tên ΦCJ20 (KCCM11362P) có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với ETEC.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng đã xác định được các đặc tính về hình thái học, sinh hóa và di truyền của thể thực khuẩn mới này và khẳng định rằng thể thực khuẩn này có khả năng chịu axit, chịu nhiệt và các đặc tính tương tự khác rất tốt, do đó, các tác giả sáng chế đã phát triển chất kháng sinh, chất tẩy rửa, chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi, và các dạng chế phẩm khác sử dụng thể thực khuẩn mới này. Ngoài ra, sáng chế cũng phát triển chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do *E.coli* gây ra và phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh sử dụng chế phẩm này.

Sáng chế đề xuất thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) mới có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với ETEC.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất chế phẩm để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) làm thành phần hoạt tính.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chất kháng sinh, chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi, chất phụ gia pha vào nước uống, chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) làm thành phần hoạt tính.

Ngoài ra, sáng chế mô tả phương pháp ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra ở động vật trừ người bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) làm thành phần hoạt tính.

Giải pháp kỹ thuật

Theo một phương án ví dụ, sáng chế đề xuất thể thực khuẩn mới ΦCJ20 (KCCM11362P) có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (ETEC).

Theo một phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra, chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) như được mô tả ở trên làm thành phần hoạt tính.

Theo một phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất chất kháng sinh, chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi, chất phụ gia pha vào nước uống, chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) như được mô tả ở trên làm thành phần hoạt tính.

Theo một phương án ví dụ khác, sáng chế mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra, bao gồm cho động vật, trừ người, sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 như được mô tả ở trên làm thành phần hoạt tính.

Hiệu quả của sáng chế

Thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo sáng chế có hiệu quả tiêu diệt đặc hiệu *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (ETEC).

Ngoài ra, thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo sáng chế có khả năng chịu axit, và chịu nhiệt rất tốt, do đó, thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) có thể được sử dụng làm vật liệu dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra trong khoảng nhiệt độ và pH rộng, và được sử dụng làm chất kháng sinh, chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi, chất phụ gia pha vào nước uống, chất tẩy rửa, chất làm sạch hoặc các dạng chế phẩm tương tự.

Ngoài ra, theo sáng chế, các bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra có thể được ngăn ngừa hoặc điều trị bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) hoặc

chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) cho động vật trừ người.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện hình ảnh được chụp bằng kính hiển vi điện tử của thể thực khuẩn mới ΦCJ20 (KCCM11362P, sau đây gọi là “ΦCJ20”).

Fig.2 thể hiện kết quả điện di trên gel trong trường xung điện (pulsed field gel electrophoresis - PFGE) của thể thực khuẩn mới ΦCJ20.

Fig.3 thể hiện kết quả điện di trên gel natridodexylsulfat-polyacrylamit (sodiumdodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis : SDS-PAGE) của thể thực khuẩn mới ΦCJ20.

Fig.4 là đồ thị thể hiện kết quả của thử nghiệm về khả năng chịu axit của thể thực khuẩn mới ΦCJ20.

Fig.5 là đồ thị thể hiện kết quả của thử nghiệm về khả năng chịu nhiệt của thể thực khuẩn mới ΦCJ20.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết. Do các nội dung không được mô tả trong sáng chế nhưng có thể được hiểu và suy ra bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực này hoặc lĩnh vực tương tự nên phần mô tả các nội dung này sẽ được loại bỏ khỏi sáng chế.

Cụ thể, theo một khía cạnh tổng quát, sáng chế đề xuất thể thực khuẩn mới ΦCJ20 (KCCM11362P) có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (ETEC).

ETEC, là vi khuẩn dạng que Gram-âm, là vi khuẩn hiếu khí hoặc hiếu khí tùy ý, phân hủy lactoza hoặc fructoza để tạo ra axit và khí. ETEC sinh trưởng tốt trong môi trường thông thường và có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ nằm trong khoảng từ 7 đến 48°C và nhiệt độ sinh trưởng tối ưu nằm trong khoảng từ 35 đến 37°C. Ngoài ra, ETEC có thể sinh trưởng trong khoảng pH nằm trong khoảng từ 4,5 đến 9.

Do ETEC tạo ra độc tố trong ruột tương tự với *Vibrio cholera* nên khi nhiễm ETEC, các triệu chứng bệnh sẽ tương tự như các triệu chứng của bệnh tả. Các độc tố được tạo ra được chia làm 2 loại là loại độc tố ruột không bền với nhiệt (LT) và loại bền

với nhiệt (ST). Loại độc tố ruột không bền với nhiệt là loại độc tố ruột bị mất hoạt tính khi gia nhiệt ở 60°C trong 10 phút và loại độc tố ruột bền nhiệt là loại không mất hoạt tính mà còn có khả năng chịu được ngay cả khi gia nhiệt đến 100°C trong 30 phút.

Trong trường hợp nồng độ của ETEC đạt đến mức từ 10^7 cfu (đơn vị tạo khuẩn lạc) đến 10^8 cfu trong một đơn vị thể tích (1 ml) dịch huyết thanh khi ETEC tăng sinh ở phần phía trên của ruột thì ETEC gây ra bệnh nhiễm khuẩn do E.coli gây ra như bệnh tiêu chảy do E.coli gây ra.

Thể thực khuẩn là một 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 này và chỉ một dạng virus có vật liệu di truyền là axit deoxyribonucleic (ADN) sợi đơn hoặc sợi kép hoặc axit ribonucleic (ARN).

Thể thực khuẩn ΦCJ20 theo sáng chế là loài thể thực khuẩn gây nhiễm chọn lọc cho ETEC, có vỏ có kích thước đồng đều và không quan sát thấy đuôi (Fig.1) và về mặt hình thái học nó thuộc Poveridae.

Thể thực khuẩn ΦCJ20, là thể thực khuẩn mới được phân lập bởi các tác giả sáng chế, được lưu giữ ở trung tâm giống vi sinh vật Hàn Quốc (361-221, Hongjedong, Seodamun-gu, Seoul, Korea) với số lưu giữ là KCCM11362P ngày 30/1/2013.

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 làm thành phần hoạt tính.

Do thể thực khuẩn ΦCJ20 có hoạt tính kháng khuẩn, có khả năng tiêu diệt đặc hiệu ETEC nên thể thực khuẩn ΦCJ20 này có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh sinh ra do nhiễm ETEC gây ra. Một ví dụ về bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra có thể bao gồm tốt hơn là bệnh nhiễm trùng đường tiêu hóa, tốt hơn nữa là nhiễm trùng đường tiêu hóa ở lợn, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở bệnh này.

Thuật ngữ "bệnh nhiễm trùng đường tiêu hóa" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ bệnh xuất hiện do động vật bị nhiễm E. coli gây bệnh và có các triệu chứng như nhiễm khuẩn huyết, tiêu chảy (tiêu chảy ở động vật mới sinh và tiêu chảy ở động vật sau khi cai sữa), nhiễm độc huyết (phù và bệnh mạch máu não) hoặc triệu chứng tương tự. Trong số chúng, nhiễm khuẩn huyết là tình trạng nhiễm khuẩn toàn thân cấp tính thường

xảy ra vào thời điểm từ 2 đến 3 ngày sau khi sinh và gây ra tỷ lệ tử vong cao. Tiêu chảy là triệu chứng thường thấy nhất khi bị nhiễm khuẩn đường dạ dày-ruột xuất hiện ở thời kỳ còn bú trong khoảng thời gian từ 1 đến 2 tuần sau khi sinh và thời điểm ngay sau khi cai sữa, và gây ra tử vong hoặc chậm lớn. Nhiễm độc huyết chủ yếu xuất hiện vào thời điểm khi lợn con đạt từ 8 đến 12 tuần tuổi sau khi cai sữa và thường đi kèm với chứng phù và các dấu hiệu thần kinh, sau đó tử vong đột ngột.

Thuật ngữ "ngăn ngừa" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ tất cả các hành động để cung cấp thể thực khuẩn ΦCJ20 và/hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 cho động vật trừ người để ức chế bệnh tương ứng hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh.

Thuật ngữ "điều trị" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ tất cả các hành động để cung cấp thể thực khuẩn ΦCJ20 và/hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 cho động vật trừ người, nhờ đó triệu chứng của bệnh tương ứng do nhiễm khuẩn gây ra có tiến triển tốt hơn hoặc giảm bớt.

Chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra theo sáng chế có thể chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 với hàm lượng tốt hơn là từ 5×10^2 đến 5×10^{12} pfu/ml, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1×10^6 đến 1×10^{10} pfu/ml.

Chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra theo sáng chế có thể chứa thêm chất mang được dụng và được phối chế cùng với chất mang này để thành phẩm thu được ở dạng thực phẩm, thuốc, chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi, chất phụ gia pha vào nước uống và các dạng chế phẩm tương tự. Thuật ngữ "chất mang được dụng" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ chất mang hoặc chất pha loãng không gây kích ứng cho cơ thể sống hoặc ức chế hoạt tính sinh học và các đặc tính của hợp chất được sử dụng.

Loại chất mang có thể sử dụng trong sáng chế không bị hạn chế cụ thể và chất mang bất kỳ có thể được sử dụng miễn là chúng thường được sử dụng trong lĩnh vực này và được dụng. Một ví dụ không mang tính giới hạn về chất mang là nước muối thông thường, nước vô trùng, nước muối được đệm, dung dịch Ringer, dung dịch tiêm albumin, dung dịch dextroza, dung dịch maltodextrin, glyxerol, etanol và các dung dịch tương tự. Có thể sử dụng một chất mang hoặc hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất mang nêu trên.

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

Phương pháp sử dụng chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra không bị hạn chế ở một phương pháp cụ thể, mà phương pháp bất kỳ thường được sử dụng trong lĩnh vực này có thể được sử dụng. Ví dụ không mang tính giới hạn về phương pháp sử dụng là chế phẩm có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa.

Ví dụ không mang tính giới hạn về chế phẩm để sử dụng qua đường miệng là dạng viên thuốc ngậm, viên thuốc hình thoi, viên nén, hỗn dịch chứa nước, hỗn dịch chứa dầu, bột đã chuẩn bị, dạng cốm, 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 chế phẩm như dạng viên nén, viên nang hoặc các dạng tương tự, chế phẩm có thể chứa thêm chất liên kết như lactoza, sacaroza, sorbitol, manitol, tinh bột, amylopectin, xenluloza, gelatin; tá dược như dicanxi phosphat hoặc các chất tương tự; chất gây rắn như tinh bột ngô, tinh bột khoai lang hoặc các chất tương tự; chất làm trơn như magie stearat, canxi stearat, natri stearyl fumarat, sáp polyetylen glycol hoặc các chất tương tự. Trong trường hợp ở dạng viên nang, chế phẩm có thể chứa thêm chất mang lỏng như dầu béo ngoài những chất nêu trên.

Khi sử dụng ngoài đường tiêu hóa, có thể sử dụng phương pháp dùng trong tĩnh mạch, trong màng bụng, trong cơ, dưới da, tại chỗ và các phương pháp sử dụng tương tự. Ngoài ra, có thể bôi hoặc xịt chế phẩm vào vị trí bị bệnh, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương pháp sử dụng này.

Một ví dụ về dạng bào chế để sử dụng ngoài đường tiêu hóa là chế phẩm để tiêm dưới da, tiêm trong tĩnh mạch, tiêm bắp hoặc các dạng tương tự; chế phẩm ở dạng thuốc đạn, thuốc phun như chế phẩm dạng khí dung có thể hít vào qua hệ hô hấp hoặc các dạng

thuốc tương tự, 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 đệm trong nước, theo đó tạo ra dung dịch hoặc hỗn dịch, và sau đó, dung dịch hoặc hỗn dịch thu được có thể được bào chế thành dạng liều đơn vị cho vào ống tiêm hoặc lọ. Để bào chế chế phẩm thành dạng thuốc phun như chế phẩm dạng khí dung hoặc các dạng tương tự, chất đẩy, hoặc các chất tương tự, có thể được trộn cùng với chất phụ gia sao cho dịch cô đặc phân tán được trong nước hoặc bột ẩm được phân tán.

Cách sử dụng thích hợp, phun hoặc liều sử dụng chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra có thể được xác định theo nhiều cách khác nhau phụ thuộc vào các yếu tố như tuổi tác, cân nặng, giới tính, mức độ trầm trọng của triệu chứng bệnh, loại thực phẩm, tốc độ bài tiết của động vật đích 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. Nói chung, bác sĩ thú y có kỹ năng thông thường trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định và kê đơn liều hiệu quả cho việc điều trị mong muốn.

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế đề xuất chất kháng sinh chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 làm thành phần hoạt tính.

Thuật ngữ "chất kháng sinh" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ chất có khả năng sử dụng cho động vật bao gồm cả người ở dạng thuốc, theo đó tiêu diệt vi khuẩn và là khái niệm chung chỉ chất bảo quản, chất tẩy rửa, và chất kháng khuẩn.

Chất kháng sinh chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 theo sáng chế làm thành phần hoạt tính có tính đặc hiệu cao với ETEC so với chất kháng sinh đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, do đó không tiêu diệt vi khuẩn có lợi mà chỉ tiêu diệt một vi khuẩn gây bệnh cụ thể và không gây kháng thuốc, do đó chất kháng sinh theo sáng chế có thể được cung cấp dưới dạng chất kháng sinh mới có vòng đời dài hơn so với kháng sinh đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế đề xuất chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi và chất phụ gia pha vào nước uống chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 làm thành phần hoạt tính.

Chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi và chất phụ gia pha vào nước uống theo sáng chế có thể được sử dụng theo cách trong đó thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa

thể thực khuẩn ΦCJ20 này được tạo ra riêng biệt ở dạng chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia pha vào nước uống và sau đó trộn vào thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống, hoặc theo cách trong đó thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 này được cho trực tiếp vào khi chuẩn bị thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống.

Thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 được sử dụng làm chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia pha vào nước uống theo sáng chế có thể ở dạng lỏng hoặc dạng khô, và tốt hơn là ở dạng bột khô.

Phương pháp làm khô chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi và chất phụ gia pha vào nước uống theo sáng chế thành dạng bột khô không bị giới hạn cụ thể, mà phương pháp bất kỳ thường được sử dụng trong lĩnh vực này có thể được sử dụng. Một ví dụ không mang tính giới hạn về phương pháp làm khô là phương pháp làm khô tự nhiên trong không khí, phương pháp làm khô tự nhiên, phương pháp sấy phun, phương pháp đông khô và các phương pháp tương tự. Một trong số các phương pháp này có thể được sử dụng một mình hoặc sử dụng đồng thời ít nhất hai phương pháp với nhau.

Vi sinh vật không gây bệnh khác có thể được bổ sung vào chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia pha vào nước uống. Một ví dụ không mang tính giới hạn về vi sinh vật có thể được bổ sung có thể được chọn từ nhóm bao gồm *bacillus* sp. có thể tạo ra enzym proteaza, lipaza, và/hoặc enzym chuyển hóa đường như *bacillus subtilis* hoặc các vi khuẩn tương tự; *Lactobacillus* sp. có hoạt tính sinh lý học và hoạt tính phân hủy chất hữu cơ trong các điều kiện kỵ khí như trong dạ dày bò; nấm mốc có tác dụng làm tăng cân vật nuôi và sản lượng sữa, và làm tăng khả năng tiêu hóa thức ăn chăn nuôi như *Aspergillus oryzae* hoặc các loại tương tự; và nấm men như *Saccharomyces cerevisiae* hoặc các loại tương tự. Có thể sử dụng một mình hoặc hỗn hợp của ít nhất hai vi sinh vật trong số các vi sinh vật này.

Chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia pha vào nước uống chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 theo sáng chế làm thành phần hoạt tính có thể chứa thêm các chất phụ gia khác, nếu cần. Một ví dụ không mang tính giới hạn 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 thêm vào giúp cho chất lượng của thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống không bị giảm sút; các axit amin, các vitamin, enzym, lợi khuẩn, chất tạo hương vị, các hợp chất chứa nito

không phải protein, các silicat, các chất đệm, chất tạo màu, các sản phẩm chiết, các oligosacarit và các chất tương tự, được thêm vào để làm tăng độ hữu dụng của thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống. Ngoài ra, chất phụ gia này có thể bao gồm chất trộn vào thức ăn chăn nuôi hoặc các chất tương tự. Có thể sử dụng một mình hoặc hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất phụ gia này.

Chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi có thể có mặt với hàm lượng từ 0,05 đến 10, tốt hơn là từ 0,1 đến 2 phần trọng lượng tính trên 100 phần trọng lượng của thức ăn chăn nuôi. Chất phụ gia pha vào nước uống có thể có mặt với hàm lượng từ 0,0001 đến 0,01, tốt hơn là từ 0,001 đến 0,005 phần trọng lượng tính trên 100 phần trọng lượng của nước uống. Hoạt động của thể thực khuẩn ΦCJ20 đối với ETEC có thể bộc lộ đầy đủ trong khoảng hàm lượng nêu trên.

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế đề xuất thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống được tạo ra bằng cách bổ sung chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia bổ sung vào nước uống chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 làm thành phần hoạt tính hoặc bổ sung trực tiếp thể thực khuẩn ΦCJ20 này.

Thức ăn chăn nuôi được sử dụng theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể mà bất kỳ loại thức ăn nào thường được sử dụng trong lĩnh vực này đều có thể được sử dụng. Một ví dụ không mang tính giới hạn về thức ăn chăn nuôi có thể bao gồm thức ăn chăn nuôi có nguồn gốc thực vật như hạt, rễ và quả, phụ phẩm trong quá trình chế biến thực phẩm, các loại tảo, chất xơ, phụ phẩm của ngành dược, các loại chất béo, các loại tinh bột, các loại bầu bí, các sản phẩm phụ từ hạt và các loại thức ăn chăn nuôi 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 thực phẩm. Có thể sử dụng một mình hoặc hỗn hợp của ít nhất hai trong số các thức ăn chăn nuôi nêu trên.

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

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế có thể đề xuất chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 làm thành phần hoạt tính. Dạng chế phẩm của chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch không bị giới hạn cụ thể mà chất tẩy rửa hoặc chất làm sạch có thể được phối chế thành dạng bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Chất tẩy rửa có thể được phun để loại bỏ ETEC ra khỏi khu vực mà động vật

sinh sống, lò mổ, vùng dịch bệnh, nơi nấu nướng hoặc thiết bị 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 bị phơi nhiễm hoặc có khả năng phơi nhiễm với ETEC, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các vị trí nêu trên.

Theo một khía cạnh tổng quát khác, sáng chế mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn bằng cách sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20.

Cụ thể, phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh nhiễm khuẩn theo sáng chế bao gồm việc sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 cho các đích bị nhiễm ETEC hoặc có nguy cơ nhiễm ETEC từ người với liều cho hiệu quả được lý. Người có kỹ năng trong lĩnh vực này sẽ biết rõ khi nào được phẩm này có thể sử dụng cho đối tượng bị bệnh, tổng liều thích hợp trong ngày có thể được quyết định bởi bác sĩ điều trị hoặc bác sĩ thú y tham gia điều trị dựa trên chẩn đoán y tế.

Liều cho hiệu quả được lý cụ thể của thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 cho một động vật cụ thể có thể được xác định bằng cách xem xét thời gian sử dụng và đường sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn ΦCJ20, tốc độ bài tiết chế phẩm, khoảng thời gian điều trị hoặc các yếu tố khác, bên cạnh loại và mức độ đáp ứng mong muốn, độ tuổi, cân nặng, tình trạng khỏe tổng thể, giới tính hoặc chế độ ăn của cá thể tương ứng. Ngoài ra, liều cho hiệu quả được lý có thể thay đổi nhiều phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như các thành phần của thuốc hoặc các chế phẩm khác được sử dụng đồng thời hoặc riêng biệt và các yếu tố tương tự đã biết trong lĩnh vực y học.

Thể thực khuẩn ΦCJ20 theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 có thể được sử dụng ở dạng dược phẩm (xịt mũi) cho động vật hoặc theo phương pháp bổ sung trực tiếp vào thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống cho động vật và sau đó cho động vật ăn thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống này. Ngoài ra, thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn này có thể được trộn vào thức ăn chăn nuôi hoặc nước uống ở dạng chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi hoặc chất phụ gia pha vào nước uống và sau đó sử dụng.

Đường sử dụng và phương pháp sử dụng thể thực khuẩn ΦCJ20 theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 không bị giới hạn mà có thể sử dụng bất kỳ đường sử dụng hoặc phương pháp sử dụng bất kỳ miễn là thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thể thực khuẩn này có thể đi vào mô đích tương ứng. Nghĩa là, thể thực khuẩn ΦCJ20 hoặc chế phẩm chứa thành phần hoạt tính là thể thực khuẩn ΦCJ20 này có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa khác nhau. Ví dụ không mang tính giới hạn về đường sử dụng là sử dụng qua đường miệng, đường trực tràng, tại chỗ, trong tĩnh mạch, trong màng bụng, trong cơ, trong động mạch, dưới da và sử dụng qua đường mũi, xông hít hoặc các đường khác có thể được thực hiện.

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 giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

[Ví dụ 1] - Phân lập thể thực khuẩn gây nhiễm ETEC

<Ví dụ 1-1> Sàng lọc thể thực khuẩn và phân lập thể thực khuẩn đơn

Sau khi lấy 50ml mẫu phân lợn và mẫu môi trường từ trang trại Samwhaw Gps. Breeding Agri, ở vùng Gwangcheon, Hong seong-gum, tỉnh Chungchong, được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút, dịch nổi được lọc bằng bộ lọc 0,45 μm để tạo ra dung dịch mẫu và sau đó thực hiện phương pháp phủ thạch mềm sử dụng dung dịch mẫu đã chuẩn bị nêu trên. Phương pháp phủ thạch mềm là phương pháp quan sát hoạt động ly giải của thể thực khuẩn bằng cách sử dụng các tế bào chủ sinh trưởng trên bề mặt thạch (gắn vào môi trường rắn sử dụng thạch 0,7%).

Cụ thể, 18ml dịch lọc mẫu được trộn với 150 μl dung dịch nuôi cấy lắc ($OD_{600} = 2$) chứa ETEC (SNU105) thu được từ trường khoa Thú y thuộc trường đại học quốc gia Seoul và 2ml 10 x môi trường Luria Bertani (LB) (trypton 10 g/l; dịch chiết nấm men 5 g/l, và NaCl 10 g/l) và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 18 giờ. 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 0,45 μm. Sau đó, sau khi dung dịch thu được bằng cách trộn 3 ml thạch thạch 0,7% (trọng lượng/thể tích) và 150 μl dung dịch nuôi cấy lắc ($OD_{600} = 2$) chứa ETEC (SNU105) được rót vào và để cho đặc lại trên đĩa môi trường LB, 1 μl dung dịch

mẫu được rót lên trên đó, sau đó nuôi cấy ở 30°C trong 18 giờ. Sau đó, đã xác nhận được rằng có vết tan được hình thành.

Đã biết rằng, mỗi loại thể thực khuẩn sẽ tạo ra một vết tan duy nhất nên các tác giả sáng chế đã cố gắng tách thể thực khuẩn đơn ra khỏi vết tan đã tạo thành. Cụ thể, vết tan này được bổ sung vào 400 µl dung dịch SM (NaCl (5,8g/l); MgSO₄·7H₂O (2g/l); Tris-Cl 1M (độ pH 7,5, 50 ml) và được để nguyên ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, theo đó thu được dung dịch chứa thể thực khuẩn này. Sau đó, 100 µl dung dịch chứa thể thực khuẩn được trộn với 5 ml thạch 0,7% (trọng lượng/thể tích) và 150 µl dung dịch nuôi cấy lắc (OD₆₀₀ = 2) chứa ETEC (SNU105), sau đó thực hiện phương pháp phủ thạch mềm sử dụng môi trường LB có đường kính 150mm. Thực hiện việc nuôi cấy đến khi ETEC được ly giải hoàn toàn. Sau khi kết thúc việc nuôi cấy, 5ml dung dịch SM được bổ sung vào đĩa môi trường LB và để nguyên ở nhiệt độ phòng trong thời gian 4 giờ, sau đó thu lấy dung dịch chứa thể thực khuẩn.

Sau khi thu hồi dung dịch này và bổ sung clorofom 1% (thể tích/thể tích) vào dung dịch này và hỗn hợp thu được này 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 0,45 µm, sau đó thu lấy 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 ETEC (SNU105), và sau đó thể thực khuẩn được tinh chế từ đó.

Cụ thể, sau khi ETEC (SNU105) được nuôi cấy lắc và một phân ước 1,5 x 10¹⁰ pfu được đem đi ly tâm ở tốc độ 400 vòng trong 10 phút và sau đó tái tạo huyền phù trong 4ml dung dịch SM. 1,5x10⁶ pfu thể thực khuẩn được chủng vào (tỷ lệ gây nhiễm: multiplicity of infection - MOI) là 0,0001 và để nguyên ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Sau đó, dung dịch này được chủng vào 150 µl môi trường LB và được nuôi cấy ở 30°C trong 5 giờ.

Sau đó khi việc nuôi cấy kết thúc, clorofom được bổ sung vào với lượng 1% (thể tích/thể tích) của thể tích cuối và khuấy trong 20 phút. Sau đó, các enzym giới hạn ANDaza I và ARNaza A được bổ sung vào sao cho nồng độ cuối cùng là 1 µg/ml một cách tương ứng và dung dịch này được để nguyên ở 30°C trong 30 phút. Sau đó, NaCl và polyetylen glycol (PEG) được bổ sung vào để thu được nồng độ cuối cùng lần lượt là 1M

và 10% (trọng lượng/thể tích) và được để tiếp ở 4°C trong 3 giờ, sau đó ly tâm ở nhiệt độ 4°C và với tốc độ 12000 vòng/phút trong 20 phút rồi thu lấy các kết tủa.

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

Các tác giả sáng chế đã đặt tên cho thể thực khuẩn thu được bằng cách tách chiết từ mẫu phân lợn và có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với ETEC là "Thể thực khuẩn ΦCJ20" 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 KCCM11362P ngày 30/1/2013.

<Ví dụ 2> Thử nghiệm gây nhiễm ΦCJ20 trên E.coli

Để khẳng định việc liệu thể thực khuẩn ΦCJ20 đã tinh chế trong Ví dụ 1 có hoạt tính ly giải đối với các loài E.coli không phải ETEC (SNU105) hay không, việc gây nhiễm khuẩn chéo với các loài E.coli khác được thực hiện.

Cụ thể, 2 loại thuộc chủng ETEC (SNUJG280 và SNU105) và 11 loại thuộc chủng E.coli không gây bệnh (MC4100, BL21(DE3), Rosetta(DE3), 2616, 281, 1917, DH5a, GM2929, Tuner(DE3), W3110 và K12G) được nuôi cấy, theo đó lần lượt thu các dung dịch nuôi cấy. Sau đó, mỗi dung dịch nuôi cấy này và ΦCJ20 đã tinh chế được sử dụng để thực hiện phương pháp phủ thạch mềm và xác định xem vết tan có được tạo thành hay không.

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây:

[Bảng 1]

Kiểu huyết thanh	Chủng	Hình thành vết tan
<i>E. coli</i> không gây bệnh	MC4100	o
	BL21(DE3)	o
	Rosetta(DE3)	o
	2616	x
	281	x

	1917	o
	DH5a	o
	GM2929	o
	Turner	o
	W3110	o
	K12G	o
ETEC	SNUJG280	o
	SNU105	o

Như nêu trong Bảng 1, có thể khẳng định là thể thực khuẩn ΦCJ20 được tinh chế trong Ví dụ 1 có hoạt tính ly giải đối với cả 9 loại thuộc chủng *E. coli* không gây bệnh (MC4100, BL21(DE3), Rosetta(DE3), 1917, DH5a, GM2929, Turner(DE3), W3110 và K12G) nhưng không có hoạt tính ly giải đối với 2 loại *E. coli* không gây bệnh còn lại (2616 và 281) trong số các chủng *E. coli* không gây bệnh.

<Ví dụ 3> Quan sát hình thái của ΦCJ20

Thể thực khuẩn ΦCJ20 đã tinh chế trong Ví dụ 1 được pha loãng trong dung dịch gelatin 0,01% và sau đó, được cố định bằng dung dịch glutaraldehyt 2,5%. Thể thực khuẩn sau khi cố định được nhỏ giọt xuống đĩa mica phủ cacbon (khoảng 2,5x2,5 mm), để thích ứng trong 10 phút và rửa bằng nước cất vô trùng. Màng cacbon được đặt lên lưới bằng đồng, nhuộm bằng uranyl axetat 2% trong thời gian từ 30 đến 60 giây, làm khô và kiểm tra bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (JEM-1011, 80 kV, độ phóng đại x 120000 đến x 200000) (Fig.1).

Fig.1 thể hiện hình ảnh thu được bằng kính hiển vi điện tử của thể thực khuẩn ΦCJ20. Có thể thấy rằng thể thực khuẩn ΦCJ20 này có vỏ có kích thước đồng đều nhưng không có đuôi nên về mặt hình thái, thể thực khuẩn này thuộc về Podoviridae.

<Ví dụ 4> Phân tích kích thước ADN hệ gen của ΦCJ20

ADN hệ gen được chiết từ thể thực khuẩn ΦCJ20 được tinh chế như trong Ví dụ 1.

Cụ thể, axit etylenđiaminetetraaxetic 20mM (EDTA), proteinaza K 50 µg/ml, và natri dodecyl sulfat (SDS) 0,5% (trọng lượng/thể tích) được bổ sung vào dung dịch nuôi cấy chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 đã tinh chế và để nguyên ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ. Một thể tích phenol (pH=8,0) tương đương được bổ sung vào và khuấy, sau đó ly tâm ở nhiệt độ trong phòng và ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, theo đó thu lấy dịch nổi.

Dịch nổi được trộn với một thể tích PC (phenol: clorofom =1:1) tương đương và ly tâm ở nhiệt độ phòng và ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, theo đó thu lấy dịch nổi. Dịch nổi này được trộn với một thể tích tương đương clorofom và ly tâm ở nhiệt độ phòng và ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút, theo đó thu lấy dịch nổi. Sau đó, dịch nổi thu được được trộn lần lượt với 10% (thể tích) dung dịch natri axetat 3M và thể tích gấp đôi dung dịch etanol lạnh 95%, tính trên tổng thể tích và để nguyên ở nhiệt độ -20°C trong 1 giờ. Sau đó, ly tâm ở nhiệt độ 0°C ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 10 phút và thu lấy các kết tủa bằng cách loại bỏ dịch nổi. Sau đó, 50 μl dung dịch đệm Tris-EDTA (TE) (pH=8,0) được bổ sung vào để hòa tan các kết tủa thu được. ADN đã chiết được pha loãng 10 lần và nồng độ được tính bằng phương pháp đo độ hấp phụ ở OD₂₆₀.

Tiếp đó, 1 μg ADN được nạp lên gel agarosa 1% dùng trong phương pháp điện di gel trong trường xung điện (pulse-field gel electrophoresis-PFGE), và thực hiện việc điện di ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ bằng cách sử dụng hệ thống BIORAD PFGE chương trình 7 (phạm vi kích thước: 25-100 kb; độ thay đổi thời gian chuyển đổi: 0,4 đến 2,0 giây, hình thẳng; điện áp xuôi: 180 V; điện áp ngược: 120 V) (Fig.2).

Fig.2 là hình ảnh điện di gel trong trường xung điện (pulsed field gel electrophoresis: PFGE) của ADN hệ gen của thể thực khuẩn ΦCJ20 , và có thể khẳng định được rằng ADN hệ gen của thể thực khuẩn ΦCJ20 có kích thước khoảng 40kb. Trên Fig.2, M là ADN mà trở thành chất chuẩn để tính trọng lượng phân tử.

<Ví dụ 5> Phân tích mẫu protein của ΦCJ20

15 μl dung dịch chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 tinh khiết ở độ chuẩn 10^{10} pfu/ml được trộn với 3 μl dung dịch mẫu 5xSDS và gia nhiệt trong 5 phút. Sau đó, thực hiện phép điện di trên SDS-PAGE 12% (Fig.3).

Fig.3 là hình ảnh điện di thể hiện kết quả của phép SDS-PAGE được thực hiện cho thể thực khuẩn ΦCJ20 và đã quan sát thấy các protein chính có kích thước khoảng 46,5 kDa, 43 kDa, 39,5 kDa, và 17,1 kDa.

<Ví dụ 6> Phân tích đặc tính di truyền của ΦCJ20

Để khẳng định các đặc tính di truyền của thể thực khuẩn ΦCJ20 được trình bày trong Ví dụ 1, ADN của thể thực khuẩn ΦCJ20 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 lắp ráp

ở MacroGen INC. bằng cách sử dụng phần mềm ghép gen GS và de novo (Roche). Việc phân tích trình tự của khung đọc mở được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm GeneMark.hmm, Glimmer v3.02 và FGENESB. Việc định danh khung đọc mở được thực hiện bằng cách sử dụng chương trình BLASTP và InterProScan.

Trình tự hệ gen của thể thực khuẩn này có rất nhiều điểm tương tự với hệ gen của thể thực khuẩn đã biết trước đó nhưng đã khẳng định được rằng không có thể thực khuẩn nào mà có tất cả các phần giống hoàn toàn (100%) với tất cả các phần của thể thực khuẩn theo sáng chế. Do đó, có thể khẳng định rằng thể thực khuẩn theo sáng chế là một thể thực khuẩn mới được phân lập.

Bảng 2 dưới đây thể hiện kết quả thu được khi so sánh các phân tương đồng của trình tự hệ gen của ΦCJ20 và trình tự hệ gen đã giải mã của các thể thực khuẩn khác, và trình tự hệ gen từng phần của ΦCJ20 được thể hiện dưới đây.

[Bảng 2]

Lệnh hỏi				Đối tượng	Điểm	Mức độ tương đồng	Pct
Tên	Chiều dài	Bắt đầu	Kết thúc	Mô tả	Giá trị E	Số lượng tương đồng/tổng số	(%)
contig00001_orf00002	354	1	351	protein giả định bảo toàn PseT.3 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM_VR7]	5E-42	110/117	94
contig00001_orf00004	489	7	486	protein giả định VR7_gp239 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM_VR7]	2E-82	152/160	95
contig00001_orf00038	933	1	930	Đệm bắt đầu ống đuôi đệm đáy [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-172	309/310	99
contig00001_orf00047	465	1	462	protein liên kết ADN sợi đơn và sửa chữa tái tổ hợp UvsY [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	1E-82	152/154	98
contig00001_orf00072	492	1	489	protein terminaza nhỏ [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM- VR7]	1E-77	162/163	99
contig00001_orf00074	801	1	798	Protein hoàn thiện và ổn định vỏ đuôi gp15 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM- VR7]	1E-142	264/266	99
contig00001_orf00066	261	1	135	Tiền chất protein lõi trên đầu cho các peptit bên trong [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	1E-16	45/45	100
contig00001_orf00076	939	1	936	protein vỏ gp1 3 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM- VR7]	3E-159	308/312	98
contig00001_orf00093	456	1	453	protein giả định bảo toàn 57B [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM- VR7]	3E-82	150/151	99

contig00001_orf00087	603	1	600	Dưới đơn vị ghép vào đệm gp53 [Thế thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	2E-112	192/200	96
contig00002_orf00005	456	1	453	lysozym [Thế thực khuẩn Enterobacteria T7]	4E-81	143/151	94
contig00002_orf00007	699	1	633	gp2.5 [Thế thực khuẩn Enterobacteria 13a]	4E-105	208/211	98
contig00002_orf00011	309	1	300	gp1.7 [Thế thực khuẩn Enterobacteria 285P]	1E-47	92/102	90
contig00002_orf00035	1032	1	996	gp10A [Thế thực khuẩn Enterobacteria 13a]	1E-137	313/333	93
contig00003_orf00016	363	1	360	protein giả định SP18gp253 [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	3E-62	117/120	97
contig00001_orf00056	1008	1	1005	ARN ligaza 2 [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	6E-172	321/335	95
contig00001_orf00101	390	10	387	protein thế thực khuẩn giả định [thế thực khuẩn Escherichia wV7]	6E-65	120/126	95
contig00001_orf00089	825	1	822	Protein bảo vệ phần kết thúc ADN gp2 [Thế thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	7E-147	273/274	99
contig00001_orf00019	348	1	345	Đầu lắp ráp kèm với GroEL [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	2E-51	115/115	100
contig00001_orf00008	906	1	903	polynucleotit 5'-kinaza và 3'-phosphataza [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	1E-170	287/301	95
contig000131_orf00006	321	1	318	protein giả định EpJS10_0215 [Thế thực khuẩn Enterobacteria JS101]	2E-50	102/106	96
contig00001_orf00020	324	1	321	protein gắn kèm ức chế ly giải kiểu hình ly giải nhanh [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	5E-53	105/107	98
contig00001_orf00017	582	1	579	deoxyxytidylat deaminaza [Thế thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	6E-111	191/193	98
contig00001_orf00081	870	1	867	sợi đuôi ghép đệm đáy [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	5E-161	286/289	98
contig00001_orf00013	360	1	357	protein giả định SP18gp231 [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	2E-47	113/119	94
contig00001_orf00037	324	1	321	protein giả định SP18gp210 [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	3E-51	104/107	97
contig00001_orf00079	666	1	663	dưới đơn vị đệm đáy và chóp đuôi [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	2E-118	215/221	97
contig00002_orf00043	903	1	900	exonucleaza [Thế thực khuẩn Enterobacteria T7]	6E-168	293/300	97
contig00003_orf00017	912	7	876	protein liên kết ADN sợi đơn [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	6E-145	287/290	98
contig00001_orf00063	819	1	816	Protein lõi trên đầu [Thế thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	5E-99	267/272	98
contig00001_orf00044	729	1	726	Chất xúc tác lắp ráp hub đệm đáy [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	2E-128	241/242	99
contig00001_orf00088	354	1	351	protein toàn bộ đầu [Thế thực khuẩn Shigella SP18]	2E-64	115/117	98

contig00001_orf00023	369	1	366	protein giả định SP18gp221 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-68	122/122	100
contig00001_orf00046	390	1	387	Dưới đơn vị ghép đệm đáy [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	5E-66	128/129	99
contig00001_orf00053	849	1	846	Protein vỏ ngoài đầu [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	3E-141	268/282	95
contig00001_orf00042	459	1	456	Dưới đơn vị ngoại biên hub đệm đáy gp28 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	3E-83	150/152	98
contig00001_orf00054	639	1	636	protein gấp nếp lõi trên đầu và proteaza [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-118	210/212	99
contig00001_orf00052	669	1	666	Chất ức chế proteaza gp21 trên đầu [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	2E-91	206/222	92
contig00001_orf00045	624	1	621	Dưới đơn vị hub đệm đáy [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-115	206/207	99
contig00001_orf00086	1788	1	1785	Dưới đơn vị hub đệm đáy và lysozym đuôi [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	0	588/595	98
contig00001_orf00094	366	1	363	protein giả định VR7_gpl56 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	2E-48	119/121	98
contig00001_orf00016	336	1	333	protein giả định SP18gp229 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	2E-54	108/111	97
contig00002_orf00001	408	1	405	protein 4.7 [Thể thực khuẩn Enterobacteria T7]	2E-54	123/135	91
contig00002_orf00013	1023	1	1020	ADN ligaza [Thể thực khuẩn Enterobacteria 77]	0	317/359	88
contig00002_orf00027	1500	1	975	gp17 [Thể thực khuẩn Enterobacteria 13a]	6E-120	268/330	81
contig00002_orf00033	591	1	588	Protein đuôi [Thể thực khuẩn Yersinia pestis phiA1122]	2E-99	194/196	98
contig00003_orf00003	411	1	408	endonucleaza II [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	5E-72	136/136	100
contig00003_orf00008	861	1	858	dTMP thymidylat synthaza [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	2E-146	245/286	85
contig00003_orf00019	669	1	648	Chất nạp gp41 ADN helicaza [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-118	211/216	97
contig00001_orf00110	306	1	303	protein giả định SP18gpl46 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	4E-50	99/101	98
contig00001_orf00058	1281	1	1278	protein định vỏ [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_coM-VR7]	0	411/426	96
contig00001_orf00041	1746	1	1743	Chất xác định chiều dài đuôi dưới đơn vị hub đệm đáy [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	0	570/581	98
contig00001_orf00084	1959	1	1956	Dưới đơn vị ghép đệm đáy [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	0	648/652	99
contig00001_orf00080	1785	1	1782	Dưới đơn vị ghép đệm đáy gp10 và chóp đuôi [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	0	583/594	98
contig00001_orf00040	1095	1	1092	Vỏ ống đuôi đệm đáy [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	0	362/364	99

contig00001_orf00090	600	1	597	Protein ổn định và hoàn thiện đuôi gp3 [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	2E-112	199/199	100
contig00001_orf00068	492	1	489	Protein ống đuôi [Shiaella thể thực khuẩn SP18]	2E-93	161/163	98
contig00001_orf00091	678	1	675	gp1 deoxynucleoside monophosphat kinaza [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	2E-127	222/225	98
contig00001_orf00032	717	1	714	protein giả định SP18gp215 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	3E-128	235/238	98
contig00001_orf00025	366	1	363	protein giả định SP18gp220 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	1E-66	120/121	99
contig00001_orf00001	405	1	402	Chất ức chế phiên mã ở vật chủ [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	2E-61	131/134	97
contig00001_orf00112	594	1	591	protein giả định SP18gp145 [Thể thực khuẩn Shigella SP18]	7E-100	193/197	97
contig00001_orf00075	786	1	753	Protein vỏ [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	1E-144	251/251	100
contig00002_orf00006	456	1	453	gp3 [Thể thực khuẩn Enterobacteria 13a]	1E-82	149/151	98
contig00002_orf00017	1080	1	1077	protein kinaza [Thể thực khuẩn Enterobacteria T7]	2E-163	325/359	90
contig00002_orf00024	360	1	357	gp18.5 [Thể thực khuẩn Enterobacteria 13a]	1E-57	112/119	94
contig00002_orf00030	591	1	588	protein virion bên trong [Thể thực khuẩn Yersinia pestis phiA1122]	1E-74	178/196	90
contig00003_orf00009	582	1	579	Frd dihydrofolat reductaza [Thể thực khuẩn Enterobacteria vB_EcoM-VR7]	6E-105	187/193	96
contig00003_orf00011	342	1	339	protein giả định SP18gp249 [Thể thực khuẩn Shioella SP18]	3E-59	111/113	98
contig00003_orf00014	366	1	363	protein giả định SP18gp252 [Thể thực khuẩn Shiaella SP18]	2E-60	113/121	93

Xem [Trình tự hệ gen từng phần của ΦCJ20] trong liệt kê trình tự đính kèm.

<Ví dụ 7> Thử nghiệm độ ổn định của ΦCJ20 phụ thuộc độ pH

Để xác định xem thể thực khuẩn ΦCJ20 có ổn định trong môi trường pH thấp của dạ dày hay không, thử nghiệm độ ổn định được thực hiện trong một khoảng pH rộng (pH= 3,0; 3,5; 4,0; 5,5; 6,4; 7,5; 8,3; 9,2 và 11,0).

Để thử nghiệm, các dung dịch có độ pH khác nhau (đệm natri axetat (độ pH=4,0, pH=5,5 và 6,4), đệm natri xitrat (pH=3,0 và pH 3,5), đệm natri phosphat (pH=6,9 và pH=7,4) và dung dịch Tris-HCl (độ pH=8,2; pH=9,0 và pH 9,8 và pH 11,0) được điều chế ở nồng độ là 0,2M một cách tương ứng.

Sau khi 180 µl mỗi dung dịch pH nêu trên được trộn với 20 µl dung dịch chứa thể thực khuẩn có độ chuẩn $2,1 \times 10^{10}$ pfu/ml sao cho nồng độ của từng dung dịch pH là

1M, và mỗi dung dịch pH này được để nguyên ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Ở nhóm đối chứng, 20 μ l dung dịch chứa thể thực khuẩn ($2,1 \times 10^{10}$ pfu/ml) được trộn với 180 μ l dung dịch SM và sau đó để nguyên ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau đó, dung dịch phản ứng được pha loãng từng bậc, 10 μ l dung dịch đã pha loãng ở mỗi bậc được nhỏ từng giọt và nuôi cấy ở 30°C trong 18 giờ bằng phương pháp phủ thạch mềm và độ chuẩn được đo dựa trên việc có hoặc không có hoạt động ly giải (Fig.4).

Fig.4 thể hiện kết quả của thử nghiệm khả năng chịu axit của thể thực khuẩn Φ CJ20. Như thể hiện trong Fig.4, có thể khẳng định rằng thể thực khuẩn Φ CJ20 không bị mất hoạt tính và ổn định trong phạm vi độ pH từ 5,0 đến 11,0 so với nhóm đối chứng.

<Ví dụ 8> Thử nghiệm về độ ổn định của Φ CJ20 phụ thuộc nhiệt độ

Phép thử dùng để khẳng định độ ổn định đối với nhiệt được tạo ra trong quá trình phối chế thể thực khuẩn trong trường hợp sử dụng thể thực khuẩn này làm chế phẩm phụ gia cho thức ăn chăn nuôi trong số các chế phẩm chứa thể thực khuẩn được thực hiện.

Cụ thể, 100 μ l dung dịch chứa thể thực khuẩn Φ CJ20 có nồng độ $2,0 \times 10^{10}$ pfu/ml được để ở 37°C, 42°C, 53°C và 60°C trong lần lượt là 0, 30, 60 và 120 phút. Sau đó, các dung dịch nêu trên được pha loãng từng bậc, 10 μ l dung dịch pha loãng ở mỗi bậc này được nhỏ giọt và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 18 giờ bằng phương pháp phủ thạch mềm và độ chuẩn được đo dựa trên sự có mặt hoặc không có mặt của hoạt động ly giải (Fig.5).

Fig.5 thể hiện kết quả của phép đo độ chịu nhiệt của thể thực khuẩn Φ CJ20. Như nêu trong Fig.5, thể thực khuẩn Φ CJ20 duy trì hoạt tính của nó ngay cả khi tiếp xúc với nhiệt độ 53°C trong 2 giờ, nhưng hoạt tính của nó bị giảm theo thời gian tiếp xúc khi tiếp xúc với nhiệt độ 60°C.

<Ví dụ 9> Sử dụng quang phổ để kiểm tra khả năng gây nhiễm của Φ CJ20 đối với các chủng ETEC kiểu đại

Việc xác định thể thực khuẩn Φ CJ20 có hoặc không có hoạt tính ly giải được thử nghiệm trên 15 chủng ETEC kiểu đại thu được từ khoa thú y trường đại học quốc gia Seoul và trường đại học Guelph ở Canada không phải chủng ETEC (SNU105) được sử dụng trong thử nghiệm này.

Cụ thể, 10 μ l dung dịch chứa thể thực khuẩn Φ CJ20 có độ chuẩn 10^9 pfu/ml và

được trộn với 150 µl dung dịch nuôi cấy lắ (OD₆₀₀ = 2) chứa từng chủng trong số các chủng nêu trên được nhỏ giọt và được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 18 giờ bằng phương pháp phủ thạch mềm. Sau đó, quan sát xem có hoặc không có vết tan được tạo thành.

Các kết quả được nêu trong Bảng 3 dưới đây.

Kiểu huyết thanh	Chủng	Hình thành vết tan
ETEC	SNU345	x
	SNU105	o
	SNU0122	x
	SNU0149	o
	SNUJG280	o
	SNUF4	o
	SNU162	o
	SNU160	o
	SNU107	o
	CANR08	o
	SNU2618	x
	SNU2617	x
	SNU193	x
	SNU274	o
	SNU3220	o

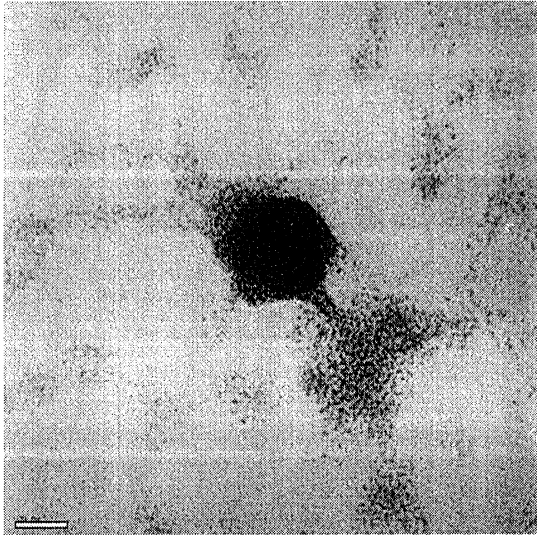
Như nêu trong Bảng 3, thể thực khuẩn này thể hiện khả năng lây nhiễm trên K88 kiểu huyết thanh F (SNU105, SNU107, SNU160, SNU162, SNUF4, SNU3220, CANR08 và SNUJG280) cũng như ETEC O - kiểu huyết thanh: 0149 (SNU107, SNUF4, SNUJG280, SNU3220, CANR08 và SNU0149) mà là nguyên nhân phổ biến nhất gây ra bệnh tiêu chảy ở lợn trong các nông trại thông thường. Do đó, có thể mong đợi rằng thể thực khuẩn này sẽ thể hiện hiệu quả tuyệt vời vào thời điểm thực tế sử dụng thể thực khuẩn này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

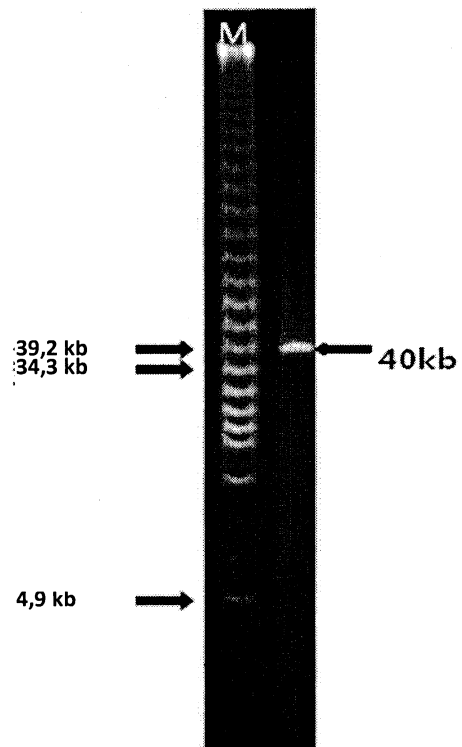
1. Thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) có hoạt tính diệt khuẩn đặc hiệu đối với *Escherichia coli* sinh độc tố ruột (ETEC).
2. Chế phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn do ETEC gây ra, chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
3. Chất kháng sinh chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
4. Chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
5. Chất tẩy rửa chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
6. Chất phụ gia pha vào nước uống chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
7. Chất làm sạch chứa thể thực khuẩn ΦCJ20 (KCCM11362P) theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.

CÁC HÌNH VẼ

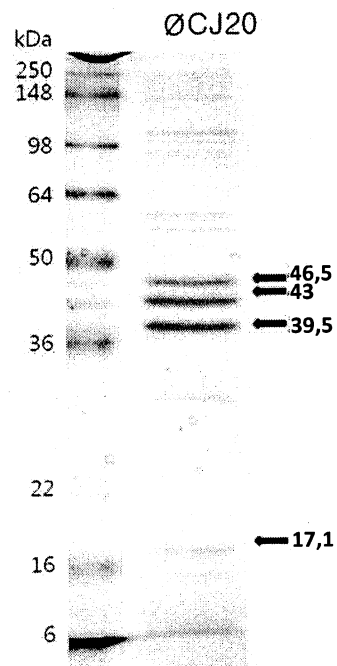
【Fig.1】



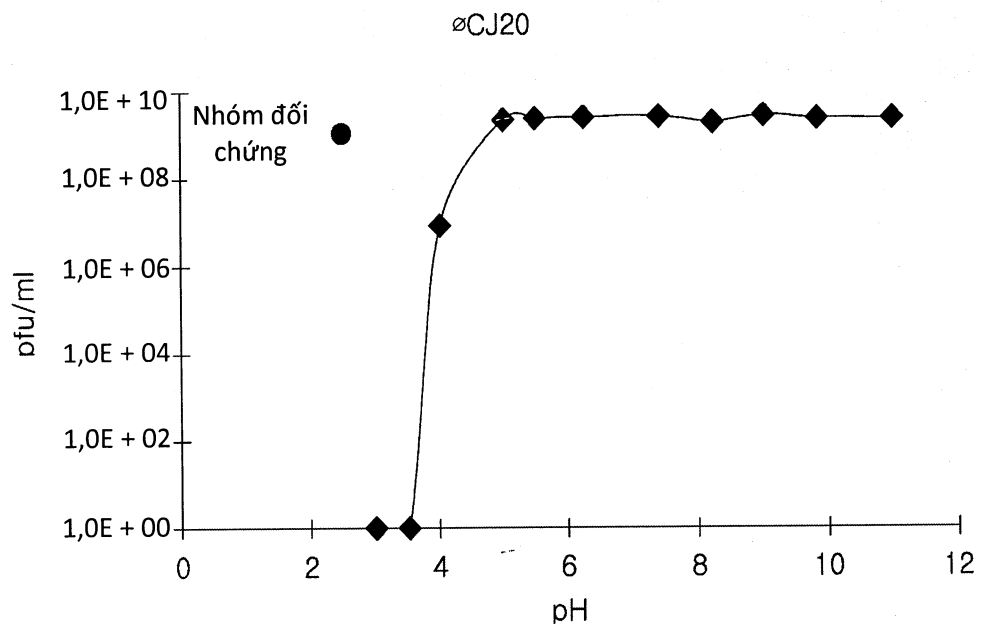
【Fig.2】



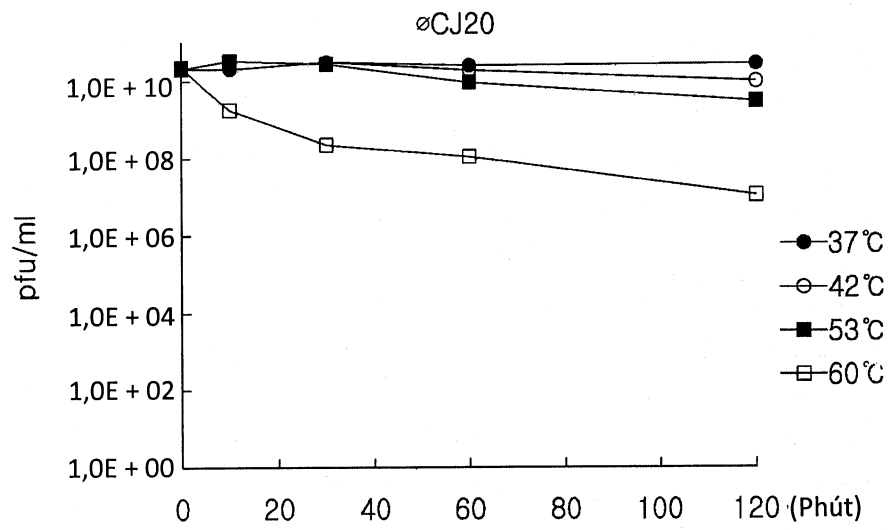
【Fig.3】



【Fig.4】



【Fig.5】



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110>	CJ CheilJedang Corporation	
<120>	Thế thực khuẩn và chế phẩm kháng khuẩn chứa thế thực khuẩn này	
<130>	P13-5115	
<150>	KR 13/021498	
<151>	2013-02-27	
<160>	3	
<170>	KopatentIn 2.0	
<210>	1	
<211>	35693	
<212>	ADN	
<213>	một phần của DNA của thế thực khuẩn CJ20 Contig00001	
<400>	1	
	gtgaccgtca tgacggaatt tatgtctata aaggggaccaa gaaaattggt ctcatgactg	60
	acttgcgga aaaaactcgcc tccaataaaa agtgaaggc gaaacaaaaa gaatatcgcg	120
	ataaaaaatc agaagagcgg aaagaagcac tgcatgaatc tgttctgaa atggttgact	180
	tcttaaagaa ccatttggtt aaatatgatg cagaagtgt catcaatcag acccaaccta	240
	atgtgcatat caatggatgt gtttggtatg ttgtggtga acccctgaca cttcaacacc	300
	gcctgggaat taaacaccca gtgtaaccc aggatgatat ggcggatgaa gttggaatc	360
	agtccgcat ttcagcatct gacagtacaa atcacatcct cctgaatggt ttatcccagg	420
	atgatattgt tgaggtaatc atcaagttat gcaaataagt aatctcactg cagggcttat	480
	gctcgccctg atagtaactg ctggtagtgg ttctatcta aaagcaaaag tggataatct	540
	caagacagcg gtggcggaag tcaccaaagt cgcagaagat aatgcgaaaa atctgcaatc	600
	agtaaaagac caggtaatc aaattaatct cctgaccaa cagcgccagg aatatgtga	660
	actcctgcag aaggaaaatg ataaactcg cgcagatgca aaacgtgcta aggttggtgc	720
	tgccaagcct aaattagttg aaaaacagat taatcagtca ttgataagt tcgccagga	780
	cttcaggag ctaccaaatt gatgaaatct atcatggcag tatgtttggc tattggactc	840
	gtttcatgcy cccagaagcc cgtgtggag cccacaatcc aagttcatcc taattgcct	900
	gttgcatgg ctgattacaa acagcaatgg gaagttaagg taattgatgg tcaagtctgg	960

gttggtatgc ctttgaagc atcgcaagaa ttcaggattt ggatgaatga tgtaaaaagg	1020
tatgtacatg accaaaaagg tatgttatgt tattatcggt ctgaactaaa agaggaacgt	1080
tgcaaatgat tgagtcttgt atcgatgggt cggatgtcat tctatttggc ttacatgct	1140
ttgttttgg aatcggtgctt agcatgtgta taaatggat ttttgaaag tagtttaca	1200
actctggga gcagagtata atgctctac ggattataaa atttgaggaa atgactatga	1260
cattacgtga taacagtttt gtggctaagc ctgaatacat ttcagggtgtt aaatcccctg	1320
cattacaaaa gctcttaaaa ttaggtcct gtgcaagtac accaattgaa aagaaggcaa	1380
cttttgattt tgcttgggt atggtggacg gtattgatgt agtaagacag gtaactttt	1440
atgctccggg cgctattaag ccttcgcaa ttattaatct ggatggaagt aattatatta	1500
ctattcagca ttggtatcgt atgatgacg ctgtttggga ataccggaa ttattgaag	1560
aatacaatga aaaagaacgt atcgtagc tagtaaaaag tttgaatac gcggctaaac	1620
gccatggtca aatgcaatct gccgctcac ttggtgatgt ttctgaaagt gcagcttatg	1680
aaactggtaa aatccttaaa acctgtcgcg aagaacttta taaggagctt ggcgtatgaa	1740
agagttatta gagaattaca tcaagtgtc agacaattat attgattcat gtcgcggcgc	1800
tgtatatttg gatttgacc gcggaatgg attgatgat gaagaccctg caaaagcctt	1860
agatgatgca ggcaaagctc tacgtaaagc ggcaaagct caaggcgtgg atatgggtga	1920
gctaaagaat catttaatta tgtcatctc tgcaaatact cgccgcaagt caagcaataa	1980
ggcagtagct gaattaaatg aagggcgtgt tgaattgcgt attcagctc ttaaaactct	2040
gttaggaatt aaatgatgaa gagaattatt ctgactgtg gttgtcctgg ttccggcaag	2100
agtacctgga cgcgtgaatt catcgctaag aacctgggt tcttaatat caaccgagat	2160
gattatcgtc aatcattat gggcatgaa gcccgtagt aatacaaata ctccaagaag	2220
aaagaaggca tcgttacctg tatgcagtt gatgcagcga agggatttt gtaggcggt	2280
gattctgtta aggggtgaat tatttcagac accaactga atcctgaacg ccgtttgatg	2340
tgggaaacct ttgctaaaga atacggctgg aaagtgaat ataaagtatt tgatgtcct	2400
tggactgaac tggtaaagc caacaatcgc cgtggtccaa aagcggtacc aattgatgtt	2460

ctgcgttcca tgtatggtca tatgcgtaca ttcttggtc ttctgttta taaaggaact	2520
cctggtcaac caaaagccat tatctttgac ctggacggaa cattggctt gcatgtggct	2580
cgtgggccat ttgagcttgc aaaactgtct actgatgcac caaacgaaat ggttgttcag	2640
tacctgaaaa tgcttcatca cgcagggtat agtattatca cagtatccgg gcgcgaatct	2700
ggtaccgaag aaaatccaac ggaatattat gaagccacca aagcctggat ggataagtat	2760
gaaattcctt gggaaactca tatccagcgc gagcaagggtg acgaccgtaa agatgatatt	2820
gtgaaggaag aaatcttctg gaacaaaatt gcaccacatt atgatgtgaa attagcagtt	2880
gacgaccgca gtcaagtctg tgagatgtgg cgtcatattg gtgttgaatg ctggcaagta	2940
gctcacgggtg acttttaatg aataatatcg aaaagatttt tegtacaatc gaagaaattg	3000
aaaaacgtaa atgcttttc ttccggagtat ggcctttaac tgatggacgt attggcctgg	3060
atgttatgga ctataaagat gaagacaagg tcatggttg ttttttaaa tccgctccag	3120
aactcttagc cttcttgga gaacattatg tataacaaac accatgaagt tgaagaagaa	3180
gcttataaag agcttcagaa actggtaggg cagaatatgt ctctgctct tatcaacaac	3240
ctggctgcac tgcgcaatga tatcaacgaa cgatacaagg gcgaatatta tgttgaattc	3300
gttccgctga ctgaagtcatt tgaccgattt atcggttaatg tcaagggtgca taccgtccat	3360
taacgcttta aaaattttat gttataatgg ggtctaggtc ctttgatac cccaataact	3420
aagcgagaaa agaaatgttt cctacatatt ctgaaattgt taaagtagtt tttagtcaga	3480
ttgtatctga ttatctatac gaaagcgtcg acgtgtcgac tgaactaaag gtgcattggtc	3540
gtttgtctgc tattctggaa atcatgttcc cggatgcagt tgatgcaatc actgttcaac	3600
tcacgcctgg cgcagcattt gcaattgttc catttaaaat tgataaccac attttggcta	3660
tttcatgcaa aatggacttc cagaaacaaa cggtagtgtt cgaagcaatt taagtgttta	3720
ctttcaccac ggatggtgta taatgaattt catcaacaca tgaggaaaac aaaatgagta	3780
atttcttga agaaggaaag ttttacaagt tgcattctga aaattgccaa aaaacagttt	3840
attgccggag gctgggcagc taattaccaa attgccaaat acatcggtat gactccgttt	3900
gaagtgaaaa ttgtacctga taccgcgaag cgggtgaaga aaagtttgtg agattcgttt	3960

gattgatgaa aagaattttg tggatttggc aaaaatatct ggtgcacaga acagggcatca	4020
tggagcaatg tttgtttctg ctggtccatt gtctgatgaa tttgattatt tcatccaagc	4080
ggaagttggt gttaagccag aagttgaacc tgtgccagt aaacttgcac cagtttgaa	4140
attgcttggt gttaaaaatg gcaagattga gattaactct cgtcatgtgt caaaagaata	4200
tgcggaaggc gaagcagagc gtctgttaa cctgtgtact gttgaagatt gctatattat	4260
caaaggcgat atcacaaaag cttctatcat taaacaagta aaacaggaga caatctgatg	4320
cttagcgaaa cccaattac tgtgaagag ttccacgaaa aagtgaaggc atttgctcaa	4380
gcatgatta atcgctatc agagcgattc cctgctgca cttgcaagt tattcaggaa	4440
tctgcacga gttttatgat tgtcattaat ccgaaaatta ctctaaaagg tggtagccaa	4500
ttgaccaac tgaaattggg ttctgacggt ctggttgaag cgcagcgagt gtatatcaa	4560
tgatgaattt aatggatatt ttcaaagaag cacttaaaaa tgatttaggt gaccatcgta	4620
agttggacc agaaacaact gcatttatca aagtaacgct tgcaaatgat gctctgtta	4680
aaagtattca cccaagtaat tatgatgcgg ttgtattac agaagctcct gtagaaattg	4740
gtgagcgaat gtttgggtg attttggcg ataagaaaaa acgcttcagc gacggtgata	4800
gtataattac aacacatgtt aagagcatta cttaaattgcg acatgaatta tatcgtgtg	4860
aaactattaa aaccaattat ctggtgtga tgtaaatgaa accaactact gttctgcaa	4920
tcgcatacct tgtatctcaa gaatcaaaat gttgctcctg gaaagtggga gctgtattg	4980
aaaagaatgg ccgcattatt tctacagggt ataatgggtc cctgcaggt ggggttaact	5040
gttgcgagca tgcggaagag caaggttggt tactgaataa acctaaacct gttctgtcc	5100
ctggacataa gccagaatgc gtgagattcg gtcagggtga ccgttttga ttggcgaaag	5160
ctcatcgga agaacattct gcatggtcaa agaacaacga aattcatgcc gagcttaatg	5220
cgattctgtt tgcagccaga atgggttcat caattgaagg cgctactatg tatgtgacgc	5280
tttctccttg cctgattgt gcaaaggcaa tttctcaatc aggaatcaag aaattggtt	5340
actgtgaaac gtatgataag aatattcctg gttgggatga tatcctgaag aatgcaggaa	5400
ttgaagtgt caatgtgcct aagcgtagtc tagacaaatt gaactgggaa aacattaacg	5460

aattttgtgg tgaataatga aatttcgtct agttaaattt tcagggctaa actcaaaagg	5520
cgaaagctta gtagcctatt cagtagaata caaaaagtac ttttctctc gctggaaatc	5580
gtactataaa tccgagtggg ttgcgcccga aacgaactat aaaacggtgc ctattctga	5640
aaattgtcac catctattgc gtgctctaaa agagcgtaat gcaaccacta ttaaaactgt	5700
tttgaataa ttatgatttt aactgaacaa gaaacaattc gtcttcgtga aaaagtcaag	5760
actatcttgt ctgttggtt tcatgaagtt ctgttgaaa aagcagatgg cagcgttcgt	5820
cgtatgactt gtactcgca cctggacctg ctccatata aagaaatcca gacctctgga	5880
ccagaagctc ataaagaacc agttagctat atccgggtat ttgataccaa gcttaatgaa	5940
tggcgttcat tctgtttcaa taaattgatt tccgtgaatg ggctacagac cgagactctg	6000
ctgtccttt aatgcttcaa acggtgcgtg ttattattaa tacatgacca aacaacatgg	6060
attaaatatg gaattaccaa ttaaagcagt aggtgaatat attattttgg tttctgagcc	6120
aaagcaagct ggtgatgaag aaactacggc atcaggtatc gttatcggaa aactccatca	6180
gggtgaaatc ccagagatgt gtgaagtatt ttcggttggc ccagatgttc ctgaaggttt	6240
ctgtgaagta ggtgattga ctctcttcc ggttggaag attgcaaacg ttccacatcc	6300
tctggttgc ctgggactta agcaggctaa agaagttaag cagaaatttg tgacctgcca	6360
ttataaagct gttccttgc ttataagta aaattagcgt tataaataat aatatggatt	6420
ggttgatgtc atacagagct ttgctggtgt atgggggttag ctaatcctaa acggtggact	6480
acaactgaga gacttgccgc aaggaagtga aattcagaag aacgtgtcca ccaaatttc	6540
acctcatatt gaggcttcta aaatgtcttt aaacaaacaa ttacaacacg ctctcgaact	6600
gcaacgcact gcatggaata acggtcacga aaactacggc gcatctattg atgttgaagc	6660
cgaagcactg gaaattctgc agtatttcaa acatcttaac ccggttcaaa ccgaccttcg	6720
cgcagtgtc gaagcaaaag atgaactgaa atttgctaag ccgctggcat ctgctgccg	6780
taaagctgtt cgccattttg tcgtaaccct gaagtaagct gtaggtgatt cgctacctta	6840
gtgcggctag aaaatcgagg agccgtcgaa ctgcctgatt aatgattcgc gaatcattat	6900
agttttaaga cccagcagt ttacgggtgt acctcttgaa tgtattttgt actatcacgc	6960

gtcagaaaaa gggtatctgt ctaagccgtg gttggtatga tgacgagggt tatggttatc	7020
ctgtcgtaa atatccgaaa cctaattgtc ccttcgaggg ctgctgcagg caacgtcaat	7080
aagtcctgca ttctatttta aagagaattt aatatggcta agaaagaagt taaagttgtt	7140
gatggctcct ccaaacgcgc tggttacaag cgtgcgtcca acaagcgaat caatcaggta	7200
actgataaac ttcaggctcg tgctcgtcgc gtattgcgtg ccgatgcagc ttgctttggt	7260
aagccgaaag cataagtca gggactcttc ggagtcctt tttattttc cataaagggg	7320
tttacaacag ggtttgacca gtgcataatg attccatact gagttacaca ataaaacact	7380
ggagaataaa atgaaaatca atcttaactc atacatcaaa ggtaaagacc acgacggta	7440
caaagccatt gaaactaaag aaatgcaatg gcacttgat aaagaacagt ttgaattcgt	7500
ttcttgatg actccagaag gtccttctga tgacttctcc tggaaaatta tgtaacaaa	7560
cttttttact ggtgatacct acgaactgaa aactttgatt ctggcaaga ttcgttgtaa	7620
gacctatgaa gatgaagaaa ctggttattc tgaagatgtt acatggatc aaaatggctg	7680
caccactgct gatgattga ttgaaaaat gaaagctaag ggtgaattaa atttagataa	7740
ttggattaaa gtcgcataaa acagtttact ttggtacagg ttatgatatt atagacctgt	7800
accaacaaat gaaaacaact ggagaataaa atgaactaca tcaactttga acgcaaatat	7860
gtttctaact gcatcccagg ttctctgaa gttattggc tgtggaaaca taaaaatggt	7920
tcagtgtgcg aaattgaaca gtatatgact cctaactacg ttatatgcg attgaaaat	7980
ggtatcactc ttcaatcac tatgaccggt tcaaccttta aaattgctt agatgatgat	8040
ttcctgaac gtgatttagg gactcctcct tgctggaatg gtgttaatcg caagccgtg	8100
gttaaaactt ggattcgtca tatcctgggt aacaaagcaa aacctgaaca cctggaagca	8160
atcttgatg tagttcttaa tgaattgat atctaactt aaacggggcg aaagcccctt	8220
gaggaaaata ctatgtttat gactacttac ttgatacac gtaaaaattt ctgtgaagt	8280
gtcttttcta aagcaagccc aggcgtacct gctgataagc aaccaactaa agaatccatt	8340
aaaaactatg cggatatagt ttgccaggt gaattcagga ctgttaatgg acgtgatact	8400
ctggcaatca ccaagcttag ccgcgacatt gatattgacc caattgcagc acgtgaagtc	8460

aattcgtctg atattaatgg cggtaatggt aaatcacacg gttccagat gaggttctaa	8520
tgaaactatt tctatcgcaa accgtccagt taaaaggcgt aggtattcct ggaatgattt	8580
ctaaggtctt gcctgctttt caattaggca atatttccat taaagaagca tatgcagtcc	8640
tgtgggttga cggaacagaa gacgttcgca tgggtggtga gttgtctgta atcaaagtgt	8700
taaagcgagg ataatatgtt taagaaactg attcagaaaa tttgggaac agaaatggtt	8760
gaagttactt atcgcgtaac tgacgtgagt ccatgggccc gaaatattga accatatact	8820
aaaacaatta aaatgctgaa atctgacggt ggattatcta ttaaagaccg tctacctggt	8880
tatggtcatt gggctgatgt agatattatc agcgtcaaag atatttaagg aaccttcagt	8940
attaagaaat tatttaaaaa gctgtttggc ttggaaatgg ttgaagttac ttatcgtgtt	9000
attgatttat cacctccata tgcttgatga gaagatgcta ttaagactgt tgtaatgcga	9060
aaaacatata gcgggcggtc aattaaatcc agattaccgg accacggtat gtggtatgca	9120
accaagatta tcagtgtaa agatgtctga gtagaaaac agaagcaatt tcccatggcc	9180
gtcatgtgca ttaagtaact ttgctaaacg gcctttgtt atggagggca tccagtttgg	9240
gggtcttgaa ggcttcctc aagggtgtaa ggtgaaaaat catgaacaac aaaaacgtat	9300
atttgggatg tccggcttgg ccgccagca aagtggaaga gcttatgcaa gagctgcgga	9360
ccgtgggacg ctttctggc ttggaattcc ctttcaaga tactctgcag catggaaaga	9420
gttgatatac aatgcatatt ttgaagcagc gctccaaaac agagggttc gcgatgcgtt	9480
acaatccaca aaaggcaaag ttttaaagca ttcatggcg agccacctta ctgttcata	9540
tacaatattg actgaacaag aatttattga catacttaac caattgagag atgcattatg	9600
aaaccggtta ttttaacaga tattgatggc gtatgtttgt catggcagtc aggcttgctt	9660
tatttcgccc aaaaatacaa ttacccttg gaacatatcc ttaagatgat tcaggatgaa	9720
aaatttgtga cccctggtaa actgttcaat tgtatgaag agttgggagc acagttgatt	9780
gagaaatata actgttcaga tttattcgc tatttgtctc ctacgcaga tgcgttaagg	9840
gttattaata acctcaaaga gcaatatgat ttgtggctg ttactgccct aggtgattcc	9900
attgacgccc gtctgaatcg tcaattcaac ctgaatgctt tgtccctgg tgcatttaaa	9960

gaagtgatga tgtgtggcca tacagcctct aaagaagagt tattccagaa agcgaagacc	10020
aaatataatg tcgtttgtta tattgatgac ctgacacacc attgcgacca tgcgagtga	10080
atccttgaag tcccggttta ttgatggcc cgtggcgaac gtgatgctat tcctaaaaca	10140
gcttcaaag ttttaattg ggacgatatt gctggacagc ttaaactgaa acacaaagat	10200
gaaccagtca aaccagaatt caccctgat gaactccgta aactggaaga gttgttcgt	10260
gaaactgcc gtctcaaca acaaatgcaa caaggctggc agccaggta accatggacc	10320
cctggatata atccagcata tccatatcaa tatggcccac gcgtaggtac tggcattgaa	10380
tattgttaca atcaaccgac tggggccaa gggggtaatt gatgtttgtc gttcatacta	10440
ttctgatta cggtcctact actaccatgg attatggcca tgtaaatcag ttattcgtc	10500
atgtgaatca tgattactcg ttgatatta acccagccaa agaccatccg gtttggcgtg	10560
aatgtgtga gcaaggggtt atctatgtc actttatgtc taagttaaa ccagatgggc	10620
gaatgagatt tgtgttact tatcaciaac gcctggattt gcttttgaa gatgtggcat	10680
ataatagagc caacgactaa gaggtgatta tgattttaga tttttaaat gaaattgctg	10740
caaccgattc cactaaagag aaacaagcta tcctggaatc atattctgac aatgaaaccc	10800
ttaaacgcgt gtatcgttg acatattcca aaggcatcca gttctatatt aagaaatggc	10860
caaaacctgg gacaacgact caaagcttg gtatgctgaa tatcgatgat atgcttgact	10920
ttatgaatt cacattagcc tctcgtaaata taacaggtaa tgctgcaatc gaggaattat	10980
ctggctatat tgctgatgtt aaaaaggctg atgttgaagt cctgcggcgt gttatgatgc	11040
gtgacctgga atgtggggca tccgtatcaa ttgcaaataa ggtttgaaa ggtttaattc	11100
ctgaacaacc gcagatgctc gcttcttct atgatgaagc cggatttggc aagaacatta	11160
agttccggc ctttgcgcaa ttgaaagccg acggcgctcg gtgtttgca gaagttcgtg	11220
gcgatgagtt ggatgatgtt cgattgttat cccgagctgg caacgaatac ctcaagcttg	11280
accttctaa aaaggaattg attgaagcta cccgtgaagc gcgtgagaga catcctgagg	11340
gcgtttgat tgacggtgag ttagtatatc atgaacagaa aatagctccc cagaatgacg	11400
gtttgggctt ccttttgac gattcagatg agattgcccc tgcacaagaa actgcggaat	11460

caagaacctt tcaaatggt ctggcaaaca aatcattgaa aggaactatt tcggcagcag	11520
aagcttcttg catgaaattc caggttggg attatgttcc gctgattgaa gtctattctg	11580
atgtaagat tctcaatccg ttgaaatacg atgtgcgttt tgctgtctg gaaaaaatga	11640
ttgcagataa cgtggtgctg catggtttg accgcatgat tctgattgaa aaccatgttg	11700
ttaacaatct cgatgaagcg aaggttatct ataagaaata tgtggatgaa ggtcttgaag	11760
gtattatcct taagaacatg gcatcgattt gggaaaacaa gcgctcaaag aactgtaca	11820
agttcaaaga agtaattgac attgcaatgg aatcattgg atattacgag cacgataaag	11880
accgggataa gattggcggg gttgtgcttc gttcttctg tggtaagatt acaaataact	11940
gtggttctgg gtttaaagac acaactcaag ttaaagataa gaaaaccaa aaatgggta	12000
ctattccgat tgaggagcgt catgaaatgg accgtgaagc ctgatgggt aaagctcgta	12060
aaggatgaatt ggttgaatg attgctgact gtgaatgtaa tggttggtg acttccgaaa	12120
ctcgtaaaga taatacgggt gcatgttcc tgccgattat caaagggttc cgtttcgata	12180
aagaccatgc agacacattc gaagatgtat ttggcgactg ggcaaagacc gggtaaaat	12240
aacaaagggc ttcggccctt ttagtataa atacatcata tttataagg aacctattat	12300
gtctgaacaa ttaaatgaac tcttgacaa atatatcgaa gccttcggt atctgtcat	12360
taatatgaac caaaaataca aggtcccaca ggtttggcaa ttcggtgttc ctgggaccaa	12420
ttctcttatg gctcgttga tgcaattcac gggcaaagaa acagttaaac agtataaacg	12480
cggatgatga attgccgagg tattcctgct ctccgggact tcacatggcc atgctgttcc	12540
tctgaagggt ggtctaggtg aaaaacctct tgatgcaatt aacctgattt ttgttacagt	12600
gtgggaaagc attaaactgg gcaaacctga ttagtcttg ttccgttcc catccaaaaa	12660
gatgaaagga caagaccaag ctgtattcg tattatgaat cgactgattc aaatgaaaac	12720
cagcgggcgt tatcatgttc ttccgaatgc ttctggcctc ggtaaaaaga acgcttatgt	12780
aattatgtac aaaaaggggtg ttgacctgct ttcggttgat ggtatgccac cagtcctga	12840
gaaatatcaa aaagttgaaa ctaaagttgg cgatgtattc accaataaag atacaggtgc	12900
tcaagtctcc aaacaagaaa tcgcagccga agttctgatt gacgcagcaa acaaaaagac	12960

cgacgtgct gttgccaga aaactaaaat cagtcgccga gctattgcac aagcccagta	13020
cgcaccaagt gattccgtgc cagaagggtg ggacgaaatt gatgcagaag ctgctaagtt	13080
tagtcgaccg gctacggcag aacttatcga tgattatgaa gaactggaaa ttttgttcg	13140
accttccgaa acgaatacta tggctcgtat gcgcgcagca gatgaggcta tgcgagcaaa	13200
tggtgtttgg aaagaagaaa ttcgtgttga agactctgac ccaattttta accgtatgca	13260
tcgtgaactt aaacgtgccc ctgttgccag tatgaagcag atgcagattt ttgccgaatc	13320
atgtgccgag attcttaacc ttcgcaaagc tgcattatc gaaagaaaaa tgaatgatgc	13380
tcctcctaac ctggatgcag ccacttatgc agcctcgtc tgggaaaaag aatacacaag	13440
cgccattcgt gttgcagtta aagactttgc cgaagaagca tcagaaaaca ctcttaattt	13500
cacagcaggg tatactgaca accgtttcca ttatggccag cgagaagcaa ttgcagatta	13560
tttggagca aactatgctg atattaataa ttattgatg ggcaaatatt atgaagaaga	13620
agctgaattc ctaaacttag acagagtgtg cgaacaatt aaggaattgg attcggcctt	13680
tgaaattgga cataagttgc cgcctaatac aactctttgg cgtggtcaat atttaaattg	13740
tcctacattt gataaaatta agcaatcgaa attattttat ttcaggaact atgtatcaac	13800
gtcgtttaaa ccgattatct ttggtggtg ggtggcgaac gttgctatgg ctgcagttca	13860
tcaggactat cgtgatggga catctttcca ggctgatgac gaaattgttt taccagatat	13920
gccggatgca cgccgcgacc acgtaatgat gcatgttggg tggaataatt ctggggcgga	13980
cttaattaac gtaattgttc ctggggaatt gtcaggcaac ccatccgagc aggaagtatt	14040
tcctccgct ggaactgtag ttaagattac caaaattact gatgcttcgt atcaaggaaa	14100
cgcgaacgct aaaatgctgg aagctgatat ccagactacg gaccaactgg atgaaaatgc	14160
agttatctat gatggtgatg tgtgatgga aactggtgag cttgtcgttt atcagggcaa	14220
ggaaacagaa gagccagcag aatctgttga cttgcatcg ttgcatcct ctggggtaac	14280
gaagaaagtc aatcaaggtc ttggtattct tgctagtgtt attaatgttg aagctattcc	14340
tcctaaattc ctttcgtagg gggttacaag cacaaggaag tgcgatacaa tgttcatatc	14400
aattgcacat gaggaaaata aaatgaaatc atcttttcgc tttaatgggc aggaactggt	14460

agttgagaat gttatcccg gttcagaaga gttgacagc gcggtgggta atgaactgcg	14520
gcgcggtgtt ggccaagata agaagttga ccttcgcct gttgaaaact ttgtaaattc	14580
tgaacaaaca gaaaatattt ttaatggtgt agtaactggg caacttgaat ctgaagcacc	14640
aattgcaatt acagtatttg ttaagaaaga agctgtcatg actgcaacag gtttcatttc	14700
attccgcaaa taaaaaagg g accttcgggt ccccttctt ttataatata cgtaacttc	14760
tcccagaacc agtaaacgta ttgtatagac ttgttaatcc agattgagca ccagacaagc	14820
gactcaatt ggcaacttct gcgttcaagt tgttatctga actaatacca gatacacctt	14880
taataacctt atcttcaac cattccaatg cagcagctct tcccaccgca ccagttgaca	14940
taacgcgata agcaaaaagt acatcaaatg tagctatctg attatccct tcatagctca	15000
attcaggcgc tgatacactt acaggaacac aaccgggtta cataacaacc gtatgtggta	15060
accattacg cgaatgaagg ttaacctgaa taccagcttc aacgtcttca ggcaaagccc	15120
ttagttgggt aactgggtcc tgtacagagt taaccaatc gttaaagtct ctgaagtcc	15180
ccgcctctga atccattcta aagctcaata ccaacggaga atattctctc cctgttatct	15240
tgatatttgg cgcattatgg ttaaggtcca ttctgtagt caatgtgtta tccggaagct	15300
taacagagtg aactaataga ccagccgttg gataagccat attaaagaaa tcaagcaggt	15360
aagtaaccaac ctcaaattcc cctaataatg attgcacaac acggttactc attgcaccga	15420
taagatattt gcttatccct gatttacgaa taagcttttg tgtccggca gtaacaagag	15480
ttgttatccc ttgagttaag tcacctgtg ttaatccgaa ccaatctgag ttaacaggaa	15540
ggttgctgaa taatgcgcca ccaaactggg ccagaagatt ctgagattta gaggaagggt	15600
cggtcgcgaa gaccacacta aaaagggtat tccttgcaa gtcgatatta atcgcttggt	15660
tttgaaattc ttgtaaagta aacattagaa acctccgca tataatgagc cacggttaag	15720
cgtaatgatt tcacggaaag tgatttcaag taaaaagtc gatggcaggt taggagcaat	15780
agccaatcca ccgaaatgac catctgggga ttatcgaat cttatgctct gaatctgaca	15840
cggcccaaatt agtccccgc gaccatcata cgagcttgta tcgccaaagt tcgggatata	15900
ccaaatggta gggtagaga ccaccagaac gtccgtagg aagcttgta tctctcacc	15960

gagcaacttg ccgtaaaagt tatcgattgc ttccttttg aaggtggatt tataccatgt	16020
atcgattttt tcttcagct cggaagcaaa cgaacttta ccagttccc cataggagta	16080
atagttaaaa atctcgata tcttcactat ctggattaag tctgggctg aacgtggtgt	16140
catttcccat gtgtaaactt ttgtcctgtt atccgggcca gcgtacatgc ttctgccgt	16200
tgtgtaaatc tgttcaccgt ggctggccat tacaccgttt gtaactgatt cgagtgcgcc	16260
gaaaactgca gtcgatgcaa tgttactaag aatgccagta gctgagccac caccttctgt	16320
aataagagac tcaccaacat cgttgaatcg atcgatacg gattctacat cagacttca	16380
acgaggcaac aggatatttg caacagcgtt cgaatcaaaa cttttacctg ttgaaccggc	16440
tccggttaat ttgatttag caaaagatgt taaacttta accggggtta atgaagcacc	16500
gttggaact tctttaatg aagtcaattg gcttgacctg tctgagcgta attccggaga	16560
tgttctgaa ctgaaattgt atgccgtgaa taacagacca ttttataaa ggtcattaac	16620
tcgcatatca tctgaagaat cattaccgga agctcgttct gctggatatt gcgccacaat	16680
agtagcttga gtctgggcag ctttgactg cccagcggag gtcttagaac ctccgttaa	16740
taaaccgcga atatcaatat cgagttctt tactttcatg ttattccta gtaattctc	16800
gtggcctgtc tcatgccagg ggcaggggtt gaactttgag gaggcatatt gtattgcgtc	16860
ctggaagtct tctgaatatt attgacctg ttaatttgct cctgagccgg tgcaccttg	16920
tatttattt cttggcctt catgccttcg tcaaccttcg cagcttggtg tgcacccga	16980
gaagtctaa catccggcgg ttaacttgc ggctcgtt tgaacttctc aagagactta	17040
tcaagtttt ccaacagggc gcgcatattc aggtcttcg gagctccacc tttgccata	17100
gcagggtcag ctaattgtt ttcaatgta gctctcatt ccagcgcatt cttttatcg	17160
gttgcgtctg gcttcattag attgtcggca gttgggtca aacgaataat atcagcctgt	17220
gctttgtcac gcttctgaa atagtccaga cgttcttct ccggaaggct tctgaagctt	17280
gtgtcaatac cgctgcgcg aagtgggtca gctgttct tgtaagatt accatattt	17340
tcggcttgat taattagttc aggttatcc ttatactct tattcatct ctctgcagct	17400
tccattgctt cagccgaacg ttgtcatga tatttgcta tottggttg gtcttcatca	17460

tcagagtg cccctgtatt ttctgataa gacatcaaag ccgaggcttc cacattatcg	17520
gctaaatcgc ccatcccagg gattttgctt aagatagctg aaatcagttt cgaaatccca	17580
agcataagaa gttgagccat gttcttcgtt aagttgacca tcccacggat aatagcttca	17640
gctaattcca accaattctt ttgactaaac atcgcttcgg cgttcttagc ccaggctcatt	17700
agtccttcga gcaacggggc ccattctttg aacttattat taaattcaac ccatcctttt	17760
tcgaattgct tcatgaaata ttggaagtaa actcgatcg catcgatacc gaataccaac	17820
aacaataatc caccaataag ctggctgctc tcggctgctg ccgtaattgt atattgaac	17880
agcatcccgg agattcggtc agctacagaa atcgatgcct taaatccttt ttcggttacc	17940
ttcgaaaggg tatcaagctt atcgccgaga gaccaagtg tagtctcttt acctctgca	18000
tcattctttg gctgctccgg ttccggtatg aagtctgcct ctggcttttg ttcttcaggc	18060
ggatgagcgc ccggaacgct cgctgtgggc ttattctctt caggctctgg taatgcatcc	18120
tcaacggggt taaggctttc agaaccagcc acaggagacg tgacgcctat ttaccgctt	18180
atcattgcgc tgagttgtc gagcttatct gagagaatat ccgtaagggt ttaatccct	18240
tgtagtgctt tctcggtggc ttccggccgc agtcgaccc cagcactgat atcctggaga	18300
actccattat tggtttgat attctctata atctgattac ccttatcctc aatagcttcc	18360
gatacaagtt cggtcgcagc ctgagtattt gtaagagtcg tattcagatt cgatagttca	18420
tcattctgtt cagcagagag ggcttcggcc ctctttgtg gtgctaattc ttcgataagc	18480
ttttattcgc gtccaccacg tctgaagctc gttgttcgg agttcttatt catttaggag	18540
ttccattatt ttcagtaacc ccttaacagg accattcggg cccgggattg ctaatgtgct	18600
tgtgatatcg tctgccact tagcaacaaa agcaggcata tccagaaagt ctggaacatc	18660
ttccccgaga taaagggctc ccaggagatt gtcaactggc ccgaattctt catacggttt	18720
attggagcgg aatttaaag tcttctctg ataagagaat tcaaggcgct gacagatata	18780
aacatcatcc agcttatatg taaatccatt aatctcgctt ttgtctttta gcttaccatt	18840
gaattccaga agatgtaaag atacaaagtc ggattcggct gctgtaagat tagggaatat	18900
cgattgcata atctttctta atgcaacata aggattaggt tcgtttttta tcagattgtg	18960

atgcttgagt ccaagcttgg gcacatgaat ctctttatca cccagctgta ttttcttctg	19020
cggcagaatc agttttaagt tcatttttaa ccttcggtgg ttctcaact tcgataggct	19080
taccattggt aaacatatag aggtttgtaa ttgatgtatt gttactcact tcatgaataa	19140
cttcgtctac gtaaaaaatca tatttgaatt ggttcttcgg gtcatagaaa tttatcttat	19200
cacccgggggt taattcaaag ttcccgtatg tttgcagtg cgcgtaacca tcatattgag	19260
acatggttat taatcgttgt gcttctcga aaccatttcg gtatgtgtaa tctgcatagc	19320
ccccggaacg agataccaga atgctgtttt gtccttcccc aaaagttatt ctggttcgct	19380
tcttatcaag gaatgaatgc gcgtacacgg ttgcgttttc atatggtttt ctgtatgtt	19440
ggtttgcttt tgtaacctat tcaaaatcga aggctaacgg agtctcgagg tttgtacaa	19500
actgaccaac caatcgaggt tcaccaccca caaaattaat cggctcttgt gtggtaacc	19560
attcataatc ctgaatactt atgccatcga tatcttccca tacaatatca aatttatcag	19620
actcaaccgc aagacctact tcccttatga attccatata ttggttcac gaatcacacc	19680
atggaacatt aggagcataa acgtttatgc cgtttatcgg aggagcaagt aatggtcgg	19740
cctgataaat taccocggtc atttctacta atgtttcttg tacactcggg taaaacatac	19800
gactaaattt cagggtctca atttcgtgaa taggcgccag ttgaaatgta attatgttat	19860
cacccttga atccacagaa actgcaaagt gtttgcttc atatattctg gattgagttc	19920
ggtcagagtt ggcattctta acggagacct gaataattg ttaccggtc attttgtat	19980
gtaagttctt tgtgtcgtag aattgcaaca gaccttcatt tcttccgtat agagaatcac	20040
gcatggatcat agttgtaaat gtcgcagcca gttctacaaa acggtgttcg agccaggcat	20100
cataatcttc gtaaaggcgt atgctgatat taggaaagcc ttcacgctgc atagatttag	20160
ctgtcatttc ttcaagtcct tctcaactaa cgataaagca atacctcgtt cgatgggaat	20220
catatgcatg atgctatcga gcgtatattg gttctttacc agcaagtgggt taatttgata	20280
aaatacaaag acttcatccg ggtaaggat aagcctaaag acatcaatca agtctgtata	20340
ttcggttttg tgtttttcgc agcaaccata tgtaaagga atataaactg aatgcatttt	20400
cttaaggagc tcttcgagac tctctatata aattgcatca ataacctgca tcttcgtttc	20460

ttcaggaagg tcttccaat tgtactttg ttctgagtct tcgacagtct ggatggtgtt	20520
tagaacaagc tccgacttat ctttatattc cacttcaggg aacttaaatt gtattttat	20580
ccctgcagtt tccattgtcg gatttatcaa tggaccttga ctcatattaa acaaagtctg	20640
ctttgtcttt ttacattttt gacattcgaa cgctaccggg acttttgtct taccgataga	20700
ggaagtgaat accttcagga atatataagg tctccatgct ttccgatact ctccaaaata	20760
atctccaac agttcgtcta ataattgttt ttgttctcg acggatttgt tgttcatgct	20820
gttccgcaca agcagtaaat cacggtaatc agcgactgta aacggtttga aacgatgaac	20880
tccgtctggc atttcacatc ttacgatatt ggccatagaa tcccctttta tctttattga	20940
tatttataaa tacagtaaag gagcaaatta tgacttatga atttattgtc caaattaaaa	21000
ataaaactat aaattgtagg gcttttacct tgcgcgaata caaagatttg cttcaggcaa	21060
aattagaaaa gcgtatggaa cctgcaataa ttgaactgct taataaatgc actgatgcta	21120
aagggttaaa caaacaggaa gctgaactgc ttcttattaa tctctgggca aatagtctcg	21180
gagctgttaa tgcgagcat acatgggtat gcgagtgtgg aaaggaacaa gatattcctg	21240
tgactataag tcgcgcaagc atcgaggatg agtctgaagt tattcgtgat ttcggggcgt	21300
ttaaaattaa attccgttat cctggactgt ttgaagatgg cgataaagga aaaatgattg	21360
cttgtgtat cgaatatatt atcacggaag gcggcgagcg catcgttgtt gatgacttaa	21420
atgaagccga aatcgaggac ctgtacaatg caattaccct cgatgatata aatgcactaa	21480
cggaagaact tcctaagcca cagggtccaa tggctattcc tatctctgc gagtgtggag	21540
cgcatctgt ccatgtaatt aaggggctta aagaattctt taagtttatg taaatgaata	21600
taaacaaaat gtatagcgat gtatctcctg acttgtcaat gagggtggat aaagacgttg	21660
ctaaagtaac tggcgcaagg tccgttaaga acagccttct gggaataatc accacaagaa	21720
aagggtcaag gccttttatg cctgaatttg gatgtgatat aagtaatcag ctttttgaga	21780
atatcactcc attaatcaca gataccatta aacgcaacat cgtctccgcg gtgcggaact	21840
tcgaaccgag gataagcaat ctacaggttg cagttgtccc tatgtatgat gataactcca	21900
ttatcgtaac gggtcagttc agcattgttg atgaccctga taccctcgaa caaatcagga	21960

ttcagctaag tcaaaacggt taatgcttta attttatggc tgtataatgg ttctagacct	22020
ttacattgga tacattatga aaacagagat tgaatataag ttggaagtat ttcaggacga	22080
gtagatgca gatttaaaaa ttgatgttac acaactcaa tatgaaacac aaaacaacgt	22140
ttgttgcat agcaaattgt tgagattgta tactaactgc aagaaagaaa taatgcgtct	22200
tgagattcag aagaaaactg cactgaaaaa acgactagac cattatacag gaaggggtga	22260
cccaggggaa gaagtatgca tggatgtata cgagaagtca gaattgaaaa cagtcattgc	22320
cgcggttca agcgtgctga agattgatac ttcaattcaa tattgggcac tactccagga	22380
cttctgtac gctgcattag atgggtttaa gtcacgaagt ttcgcactta aacatatgtt	22440
agaaataaga caattcgagg caggtaaattg atgaaacaga atattagtaa gattctcgac	22500
gagatggta tctctgaaa ctgaataact gaaattgta atgagatgaa agctcgtgct	22560
gctattatga agagtactaa atagatatgt aagttaact gaggagacaa tcatgtcaga	22620
taagattgt gttgtctgta aaactccaat cgattctgcg ttggtgtgg atacagacca	22680
aggtcggtg catccgggcg cttgttataa ttatgttcag agtttgccag ttacggaaaa	22740
tacagaagag caactgaacg agaccaact tttaatttag ctagtgtgt taaccatttt	22800
ggttttgcc cttcttttg gttggggcct ttttatttag aaatcttctg cttcttcac	22860
gtccatatcc tcaagctcgg cacgtttacc ggcaagagcg tcacgaacac tgatatcatc	22920
ggaatcttc aattcagctt cttgctgcg cttttataa taaccttcca gctccttcag	22980
accgtccatg gtctgacaag aacctatctt agacatgaag ctttcaattg ccgcttcata	23040
cataattct tcaaatgact tcattatatt tccacctgtt taatgatata attgaatttt	23100
tcgtctgcat accgtgaat acgttctaatt gcgtgtttca gtgcaaagtt aatatgaaca	23160
tattctttt tagcgtttgc tgattgggt ttgaccccca tatcatccac gatgtccac	23220
acgttgccg tcgatttga ttcatgttt cgaagtacac gaccaattgt ctggagtaca	23280
attaccttg actgaccgg gtgagcgaaa ataatatgat ggaggtttt aacggaaatc	23340
cccgttgaga atacaccgta tgaagtaca acaataattc ctttccatt ctctgccatg	23400
acctcagag cattacgggt ttcggtatca acttccccgg aaacataata cacatttca	23460

tgaccggctt ccttaagcat tcaaacatc gatttaccgt gctcgatatt cttaaacatc	23520
aaaaagacgt ttcatcttt ttagcaagc ttaagtcaa ggttgttac ccattattt	23580
ctacgcgtag cttcgtaat taccttgatt tcacctgat aagttttacc ttcatctta	23640
acggtgaatt catcaggata tcgaaggaaa atactattta tcttaaggtc agtaactgt	23700
ccttcatcca ttaattggga tgtggatact ggtttaaaga taccacaaa cagaccata	23760
tattgcataa ggttgcttt gccgtcacgg agagaaccag agagacaaa tttaacata	23820
caattagta ggccttcgat aacggtcgaa atggatttac cagtagccat atggcattca	23880
tcattcataa actgaccgaa ctgtgaaaac cattctttag gttgttttac tgccgtctga	23940
taagtagaca cataaatcat tgcacccgaa tcacgtttag ttccggaacg gataccgaga	24000
caagcttctc gagggaacaa tctataatca acaaagtcac taatcatctg gtcaacgagc	24060
gcagttgtag gtacaaggat aagaacctg ccttcatagt tctcgagata atatcgcgcc	24120
agaagcgctt ggatgaggct ttacctgca gatgtaggta agttcaatat tttcttctg	24180
ttgaccgac cgtcgatac gccgtctgtt tggtaacaa ggggagtaat cttggtatgg	24240
cctgaataga tttctttga ctcgacccat ttgtcgaatt cttcgcgaga gatttctct	24300
ttctcggta ttgcgggtc aatccaaaat gaataaccaa actggtcagc gaattttta	24360
atctggtaa ctaagccgta cgtaattta cggttataat ccaggagacg gatacgtccg	24420
tccaaactc ccgctttgaa ttaggggta aaccgatagt ttccggcttc aaaactgaaa	24480
tagtcacgga gttcatagaa gatgctatct tcacattcaa catgtacatg actaaaattt	24540
aaaaagttga tttgatatc catgatgatt ccaaggtaat aaatatatct atatttatac	24600
aataaccgag gttcattatg attgataaga actatattga ggaaattcgt gtcctcgaga	24660
aaaaagaagc caaagaaaaa ttagccaaat atgcagcatc acttggtgtt gatgtaaga	24720
aaacaaaaac ctttgataat atgttgactg acctggaagc aggactaaa gcatttgctg	24780
acatgcctat gcctgatgat aatgaaggcc tgagcatcac tgacctatc gatgccgatg	24840
atgaattgtc aggtgctaaa ttgatggcg atgagtcagc taaagaagaa gctaaactct	24900
tattgatgc tccaaccgaa gcaaagggtg aagttgtga aatcgaagaa ccaacagttg	24960

ttgtggtga agaagacgtt cctttgtcg aagaaaagtt cgaagctgct gttgctaagg	25020
ttatcgaatc tgaaaaacct gtatttgctc tgccaaaaaa cttagtcca aatcttatgc	25080
ttattggcaa gaacctgga ttctgtactg ttcatggtg gatttatcag tggattgccg	25140
agactccaga ttgaaagaa cgtccaactg cttcccaca tcccaccgcg caccaaactc	25200
tatttagttt gatttattac atcaatcgta atgggtctgt tctagtacga gaaactcgta	25260
actcatcttt tgcacttta aaataagggt ttattatggc ttataccgta actattgctc	25320
ctttggcggc tacggccgtt attggagcaa caaccaattt cactgcgacc ggttccggtg	25380
ctgcagctga aggtaccgaa tcatttgtct ggaccgttga tggcgctcct caatcttctg	25440
tgactgctgc aatggattat gttgctgttg gtccagcagg cagtaagact attaaagttg	25500
ttgcaacaac tacaccagcg gacggcggac cagaaacagc tgaagccgaa acaactttaa	25560
ctatccagaa taaaacaatg tctgggtttt ctgtgacatt aaccccagct tcgattaatg	25620
ttccggaaga caccatagct tcatttaaag cagatgtagt tggcgcaccg agtggagcta	25680
ctttgccta ttcttgaag aaagacggtt ctctgtagt tggcaccacg gatactttag	25740
caatcgatac aagcgccgaa ggttcccagt taattgaagt ttctgttgtt gtatctgcta	25800
cagattataa tctgtttaca gttacaaaaa ccgtaatgt aactatcaca gccaaagtgc	25860
cgccagttcc agagggtgaa ctaccttacg ttatccgct gccagttcgt aattcagctt	25920
atatctggtg tgggtggtgg gttatggacg aaattcagaa aatgactctt gctgggcaag	25980
actggaaaac tgatgctcca gatagcccgt attatttgca ccgatatacc cttcaaaaaa	26040
tgattaccga ctatccagag gttgatgtac aggaatctcg taatggtcga attattcatc	26100
gcaccgcttt agaagctggt attatatacg attacgttta ttaattaaaa agggaccttc	26160
gggtcccttt gttttatgg tactgtacaa acgttgctg gcataaaaac cctgtttaca	26220
agttaaaaat tccatgttaa gatagcttca ctaactcaac atgagaatca ttatggataa	26280
ggttaaagta cattttctgc atgaatctgg tatgacattt attgaaatcg ccaaggtatt	26340
aggcgggact gctaaagaga tggcaaaagc ctgggttgat gtagaacaag ctaaagctaa	26400
atttaaagcg aaagaaaaga ttgttatcg taaacgtttg aataacaaaa aggtgaagaa	26460

atgacatttg cagaagaact acgccaaata gccaaagagt cacaagataa agttgcaa	26520
gactttattg ctatatctcg caaagtggtc attgccgctg ccgagaatgg caaagatgct	26580
gttaatatgg cagtttctga aaaagagtat gaagaaggaa accgtgcaaa gatatctgaa	26640
ttctgcggg cagaaaaatt tacatcattt acctggaatt atgactggca agaagccaag	26700
cccatgctgt atgtaaaatt ctgaccttt ttgctcaaa taaaaatgcg gtataatgt	26760
tctagacct ttgtgactat taattcctt cagagaaaga aagtatagtg ggtctaatt	26820
ataatgatat ttataacatc aaagtggag attatgtta aaaaatacaa cagccttgaa	26880
aactactata acaacaagtt cattgaaaag attcgtctac aaggctcac cagcggtgaa	26940
tgggtagctc gtgaaaagat tcattggtacc aattttcat taattattga acaagacaat	27000
gtgacatgcg cgaaacgcac tggacctatc ctacccgcag aagatttcta tggttatgaa	27060
attgtattaa agaactacgc agattctatt aaatctgtgc agaaacttt gcaggatatt	27120
aattaccagg ctaccagat ttatggcgag ttgcccggg caggtatcca gaagaatgtg	27180
gattacggtg ataaagattt ctatgtgtt gatatccgcg ttactaagga agatggctct	27240
gaatccgtcc tgactgacac acttatggaa gcctctgca ttattcataa gtttaaagtt	27300
gtcccgcgc tggctaccgg aagctttgaa gaccttatta aactccctaa tgacctggat	27360
tctgtggtcc ctgattacaa ttctacagt gataacgcag gattgactac agcaaatacc	27420
actgattttg atgcaaaggt ggaaggtaaa gtattcactg ctgaaggatt tgtattaaaa	27480
cctgatgttc ctgcctggtt acctaacggc gagcgtgtag cgattaaatg taagaactct	27540
aaattcagtg aaaagaaaaa gtctgataaa cctattaagg ctgctgtgt gttgtcccag	27600
gaagacctgg atattttatg gaagttcact gattatgtga ctgttaaccg tattaataat	27660
gttatcagta agattggtga agtatctccg aaagacttg gaaaggtaat gggtttgact	27720
gtccaggata tcctggaaga agctggtcgt gaaggcctg aattgacca gtcagaaaa	27780
cctgttgaag ttaaaaagca acttatcaca aatgtaagag aaacattaag acatgtttgg	27840
attgcattaa ttagtgaata aaaaaagggc cgcaaggccc ttattcttt tccagtgggtg	27900
gaagtttaac accaagataa gaactcaatt ggctttggtt agccatctta tccatatcag	27960

ccccatcaat aaggcgggct tctttatcat ctttagcaac ggtgtagggg ttagctgtca	28020
aagcataacg agctaacagt gcaaccgtag gctgtaagct ttcagggtca acaataacct	28080
tgaattcccc aaccgatgta tcacctcat catcaacttc gctaagccct tccgtataag	28140
gcgcataata caaagatgcg accgtctgac cctcgcccat atccgcattt acgccaacaa	28200
taacataatc gcatggacta ttcatatctg cataaagagg caaaccgttc ttcagaacac	28260
cataggccaa ttcatacttg tcttctttt totcaacca gccagaagcg gctaaaatag	28320
ctgcacaacg ggaagaagca accgcatatg taccagcaaa cgaagtctga cgttgaactg	28380
cagaattcat ttcacacata taataatata ggggtcgtgc gcggtcctgt gcgttatcat	28440
atttcgggtc agtgagattc aacacacctt ttcagaaac acctgtacc tgaagcgag	28500
aactaacagt aataaggat tgcaatacat ccttattaat ttcctctgcc attgaatgc	28560
cgagaatatt atcgatgaag tctgttgc atgaaaccgtt tgcttcagg tctgagcaa	28620
gctcgacagt taaagaagtt ttaactttc tggatttaac ttcagtctgc cattatcga	28680
tacggaaaacc agcttcagca atttcaggat gcccctttc aaatttatca gtgaaagcag	28740
catctgacat cattctata tgtccagcag caatggcttc agaaataact tcacctaat	28800
cagtttcgag tgtccggca aagggggaag ctccagaac ttgaataca acgcttcaa	28860
actgaaacat atcgccgact gcataagctt cgtctttgtt cgtaaattct gggatattct	28920
tacgctcgaa cataccaatc tggcccgca atgctgctcc accaagatat gtcatttat	28980
catctggggt cagaacacga acaccataca acgctgcaac aggctgggta gtttctgtt	29040
cggcaacgag tgctttaaaa attcgtttat tctggcctg ggtataagaa agcaaattag	29100
gacgggagac ctggttgcc gccgttaatg ttgattctg aattagtgc ttaatcttt	29160
gcatttacgc ctcataaatg attggcggaa gtttaacacc gagcagataa gacatattgc	29220
tctggccggc cattaaatcc atattagtg catcgataat acgagcttct ttgtcgtctt	29280
tagcaacggt gtaagggtta gctgaaagt catatcgaa catcaggag atagatggct	29340
gcaaactgc tgggtccaca atgacctaa acgcacctac gtgttctca tcatctaagt	29400
ccaggccttc ggtataagga gcatagaaga ttgagcctac gacttcgttt ccaccgtaat	29460

tttctttaac gccaacggtt acataatcca atggactggtt aacatcacag aatacaggaa	29520
gaccattaat caaataaccg tacgctgttt caggaagcca ttgctcgtct tcaggtttat	29580
gcttcagcca gccagaacca gccaacatag cagcaacacg gctagaggca acaacaaagg	29640
taccggaata agatgtagtt ttctgaattt cggagttcat ttcgcaaacc agttcgtaca	29700
gtttacgtgc acctctgga gctgcatcat atgttaaact gatggtgcca ttgcagaaa	29760
cgccagttac ttataacgc ttgaaacgg taataagaga ctgaagaaca tcttgtaa	29820
ttcatctgc cataatagtg gcaagcaggt ctccaagaa agcaggagcg ttaaacccat	29880
ttgcttccat atctgagca agttcaacag ttagtgcagt ttcaattta cgtgtttta	29940
ccggagcatt ccatttatta acctggaata cagcattact aatctcaaca tcaccggctt	30000
caaatttctc ggtgtgtgcc gcacagga ccaaacgaat ggtaatgca ataagacct	30060
cttcagaaac atcagataac actgtttctt tggcgtatgc aaatggatta tcaaccagag	30120
ctttataaac ggtatttga tattttacat attcaccttt agctacaggc tgagtggctg	30180
tagttaattc tggaaatagtt gtacggtctt tagaaccgac ttgccacca taagtagcac	30240
cagtctggaa actgaattca ttatcaggag taagatattt aacaccgtac agagccgcaa	30300
ctggctggtt agtacgttgt tcagcgataa tatcgcggtta aatcaatttg gttgtagcac	30360
gggtcaaagc aacaagattc gggcgggcca aggagttgct ggtagtggta gttgactcgc	30420
gcagtaattt gtaaatcttt gccatttgcg ctttccttt gtgatatact ttattataa	30480
aagttgttta caaccgatt aagataagac ataatgattt catactgagt taccaaaca	30540
tggagtctaa aatgaacaaa gtatctttcc ttcggaatac ctttaaaaat ctggaaattg	30600
aagttgttgc attggtcaac aaatacccaa atgggtgtta tggtaatgct ctgaacaaac	30660
tagttaaaaa atatgaaaac ttagcatatg atactgattt ttggtggaat ggtaattatt	30720
ctactcacac caaagacaaa tcaggtaact ggttgaaact tcaagagaac agtgtaatt	30780
tcagagacct catcaagcgc cgggtagaag ttcatthaaa tggatggta tgaaaacaag	30840
aaagggacct caagggtccc ttttattta acttaatcta agattaaatt cccttaacat	30900
atacacgtct aaagtaaccg ttcaagccga ggctgttaac gatgtccggc ataccgtttt	30960

gaatacgctt ggtcggagcc tgagctccg ggtcagcgaa cgggttaata ccgataccgt	31020
aacgggtttt gaagcccata accggctgga agttttcgg gtcagagcca cgcagcggg	31080
tcagtgaac atatggtcg tagtagatac cagcatccat ttcgttagcg cctttgtaac	31140
cgatggtgaa gtaatctcg cgagcatact ggtcgatgta gacacggtat ttgccacca	31200
gaacaccagc gaacacagct ttagtggtgt caacgttgaa acctttacc agaccctgag	31260
cagcataaga tacggaggta tcaactgcag ccagtacgtt aactacgtta cgggaagcga	31320
tgatgaagtt acctgcacca cgaccggtct gacgagcgat ttcagcggct tctttatcaa	31380
tctggaacag taaagctttg aagctttcac cagcccaacg agcaccacgg atatcaatcg	31440
ggtcctggaa gtcaaacaca ccagcttag cgccaacggt gttggtcata ccagatttac	31500
caacctgagc ggagtagtta atccaatcga taacttcag gttgattcc agcataattt	31560
cggtagccag aataccactc aattcggcat cagcatccat accatgaaca gcgcgcaggt	31620
cctgtgccag ttcgatggag tagcttgctt tcagctgacg ggatttagct tcgataactt	31680
gtttatcgat acggaagccc atttcgtcc acgggttacc agtagaacg ttaaagcctt	31740
cctgcaattc ggcatagaa gtagccatac cttcagcgat ttctgccaac ttaccagctt	31800
cgagcagttt ggtaacttca gcgtcaagtt tagcagcatc agtagcacca gcatcaacgg	31860
ttacagcttc aacagcctgg tagtgtcag aaccggttc ttcgaagaag tgagaataaa	31920
ttttaccaac agtaagcagt ttgcctgcag ccagtgttc gaaagttta gcagcgcct	31980
gaccagagaa catagcgttc ggagcataca tcgggtggaa agcttcttta gcaccagatg	32040
caacagggtc ttaccgtaa actgcacgca gggcaaatac ctggccagtt gggttgttca	32100
gaggctgtac gccacaaata tcaaacgcaa tcagatgcgg gatagcacga cgaaccatac	32160
ccataactgc cggcccaatc tgagttactg caccagaggt ctggccagca gcgatattgg	32220
tagcatcata accatggtca ccaccgattt cagcttcagt caggaaagaa ccaaatgctt	32280
cggagatttt ttcgtcacgg tattcaggag cggtcaggat atctgttcc tggtttcaa	32340
agattttagc gatgatagct tgtttagaag caccaacgat ttcaggaaga gcttcgtttt	32400
ccagcagagc ggaccatttt tgaactaatg cattctttt catgtgtgt ataaccttat	32460

taaattaaga aattcgtgat gctgcgagag cagacaagtc cgcgaaggac agggtaggct	32520
tggcgccttt ttctcaact gctctgaga tgtaattcag tgccgcagca tcgtctacag	32580
aattatttat agctgcttcg gtgatagggt ttccggcggt gtctacctga cctttaacca	32640
tttcaacgat agcgccaatt ttgtaccga acgcatcgga ataatacata ccttctacca	32700
gagaaccaac ttttcttc tgagattcgg tcaggctctt ggtcgcttca gtcaacgcaa	32760
cttcacgttg gacataattg atataagcat cacgcttagc aacttcttcg aacagattag	32820
cggtttcttc ttctgttca gccagttctt cctgcatttc tgcaacaaca tcaacagatt	32880
cttctggaac aacaacgttg tgctcaacga acagttcttt catgccagta aacatggatt	32940
cgaacaggtc agcttaattg ccacggtcga cagccagttt gtttcagca agccattctt	33000
tagcaacgtg gtccaggaat ttagctgcag attcttcag tttttctct gcttttcgt	33060
cggattcttc ttattcttt tcgactctt ctcagcttt ttcagcaatt ttctgaatgt	33120
gagattctgc cagtttgatg gcgtgtgct tgacggtagc ttcgaataca gtgccgaagg	33180
tagctttcgc ttccggggac aaattaactg attcgaaaat actatcgaga gcaacggaag	33240
catcgatgtt ttgagcttca gaaatgagtt gttctttaag catttttag tctgttgtt	33300
aagatataca ttatttata acgtctttaa agcctctgcg agagccataa aggcgtcatc	33360
ggcactggta tcggcttcg ccgtttgtga ttctgtaac tgctttgggt tgaccaagc	33420
gtccggagca ctggccccc atactgcgc tactccaacc gtcaatttaa aaccttcatt	33480
aacgatgcta taaccttttg ctgatttagt cagggaaacca agtcacgac tagatacgcc	33540
aggaatccaa cctgctctta tattcgagc aagtttatca cctggacat ggtcgcttc	33600
gataatacgc gcgcggccat atacatcatt cctttccac cacatttct cgataataat	33660
tgctgcctgc atagggtaaa cgtttgcgc aggtggatgg ttaattctc caagagactg	33720
cttggtttca acctgttcg cgatatagtc cgcaacggct tttccaaaa tatgtttagg	33780
ataaagtcgt ttattacggt taacaacttc agctttagg aaaatacct caatataaag	33840
tcctggcttt aaaccgctgc tggaaccatc atgagattcc aacatcgga caccatctt	33900
aattcgccc ggttgacccc agtgttcgat tagtaactct ggtttctgtt ccattaatca	33960

agtccgaatg ctttacgctt agctcgagct ttttgcgct tgcgctctgc tctgatttg	34020
gtagatgggt ttgctctttt cgtttagta gccagacggg caatttgacg acgttagct	34080
ttagaaagac cagttgtttg gaaagcatta cgcttacgag tagctcggtc tttgtgcgg	34140
gttaactcac cgcgagacga tacatgttta acgataaatt cgtaagctg aacaccttca	34200
ttcagagcgc cgataaccgt tgcttttctg tattcaccgg ctgcaaacaat gttttctaca	34260
ataatattta tatcgtcttt ttctaaggct tcagataatg aatcaaattg tccctgagct	34320
tcttcggaaa cactttcgat gtttcaaga gtaattcgt aatcatcagg gataataaac	34380
attattcatc gtctcatca tcatcatcgt cgccttcgtc agcgtcatca gattctttt	34440
tgtctttctt ttctgcttta ccgtcgtcct tgccttcac tcatcttct ttaggctctt	34500
cgccttcaat catgatggaa cgtgcaattt caatcttacg ttcttcaatc aaactaccgc	34560
atactgggcc aatgttttca gcaaaatatt tgcgaacggc tacgaggtcg ttgatttaa	34620
tggctcaaaa taaatcatcc attagaaaac ctcttctct tcttcagggt ttggaaaacg	34680
agcctctttg gactccaatt caatttgctt agcttctga ttaattctt catcagacat	34740
ctggaggaaa tcttcatag ccgtttgatg cgaaatata ttaccgataa acggttcagc	34800
catcgtagc atattgattc tgcgttccat gatttctga tcttcattt cggtgaaata	34860
gctatcacgg ttgaacgtaa cttaaatatt atttagttcc ttgtccatt cctctctga	34920
aataactttt ttcaggataa ggtttgttt aagcgggtcg aggaaaactt ctcaaattt	34980
attctgtagc tgcctaatcc atttagcgaa attcaattca tcacgagtaa ttgcgcgcc	35040
tgcacaaac ataacgccac tgttttggtc attagggata cgagataatg gaattcggag	35100
agcctgatat aggttgttct taaaccaacg aacatcgtcc atatccgaca tgccttgtc	35160
acccgggagt gtatcaactt cagtactgc ttaccatca cgacgttgca accaatagtc	35220
ttctgtcatt gacatgtgt gctgttggtt ttgatttta cccgtgggtg catcatatac	35280
gacacggttt ttcatcgtgt tcataatatg ttgcatatgt gctgctgct tacgagacgg	35340
catattcccg gtatcgatat aaaagactcg gcggtctgga gcacgagtta tacgataaat	35400
gactaaagca tcttctaata gtttaattg gttgcagggt ttaattgctc gttgcaagta	35460

tccgatgata ttcttgccac aacaatcgag taatccagaa tgcgcatata caatcgccgc	35520
gcgaggaatt tttattttag tacctgcttc atatatagca ccatcggcac aataactttc	35580
atggccagta tcgtatacaa aatattctct gtaaccgtcg acaattttg taccattttc	35640
catgcgtgta acgatttcac ggatgaactg gatttgtctt gggtaaggc gac	35693
<210> 2	
<211> 16184	
<212> DNA	
<213> một phần của ADN của thể thực khuẩn CJ20 Contig00002	
<400> 2	
gttccagtgg tctccaaccc agcgcatcgc ttctgggcg gtctcaatga ccacctgagc	60
aatctcttcg gtacggcaac ctacttggat ttogtcatgt acccagcca tgtacgaaa	120
gtcccatcc caaccatgct tcaagccttt ctctacgagc atctcttcgg tcttgataat	180
ccacagtttg cagattagag caccagcaga ttgcagtagg gtattcaggg cagcgtgagg	240
actacgaacg tgtaccttac gaccatccag accttaatc cagcggcgtt tccactgac	300
ttgttgctca ccagctaccc actgagagga ctgcacaagt gtctgttga tagactcgcg	360
gagtgtgca atcgctgggg tgttctcaag gaattcttc ttgagttcct taccagttc	420
tttaccagca cctacaatct gccagtcctt ctcatcgcca gcacataga ggaaccata	480
gataaacgtc ttagcgttat ctgcattag gtcgtgttcc ttattatgct tatcacgggc	540
aacgtttggt gctaagtcgg cagcaattgc gttcttcag tgaatgtcac cattgagaat	600
ctcgtgagca tactcaccgt tgtcaaagcg agccatgaag tgtgccaagc atctcagctc	660
caaaccagag gcgtctatac cagcttgaac ccaaggctta cctgtaagtc cgtctaggtg	720
atgttcagcg ccaaagcag agcggcaccg atcaccataa ggagagcgga caccgggtat	780
ctgtgcgagg ttagggaaag cgtgagtagc gcgccagta acagcaccat tggggttaac	840
agaaccatga atttacat cctcagcaac gtaacgaagc catgccttgt ctccctcagc	900
agactgtccg attctcttct gaatcatcaa gtattcttta ataaggcga tagcggcttg	960
cttctcaggg tcatccactt ttactccctc taggacttca tcgtccacca caggagaacc	1020

ttgtctgtg tacttagtcg ggacccatcc agcctctga agtttctct gaatgtggtc	1080
acgggacgaa gggtaaaca ctacgtgctc taccggagta tatggggcac cagcaacgta	1140
ctcacgggta tccagttcac aaggctctcg gccttctcg tgtgccttgt tcttaggctt	1200
cttaaagata ccaccaactt taggtgtctt aatgcgaggg tatttaggca gtggcttacc	1260
agtctcgga tggcagaaca ttcggtgcc accttaggc tgataccacg agccgaacgt	1320
ttcggtcagc ttacgcagca actctgagcg acgagcagct aactctacgt acaactcttc	1380
gattgcttc gtgtcaaacg ggaatccgtt acgctctgc ttagcgagca gccatgcagc	1440
acgatgttca acgtcaacgg cctcaaggga ttctgaccag aacgtagtgt atcctacgtc	1500
cgtaaagtca atctcaggag ggaagtaatg ttgtcagag agtagcttct caaggagagc	1560
tttagtgacc acaacgtcct gaacgttata gtccatcatc tcttcgttga agttccacca	1620
ctccattcct tcaacgtatt cttcacctg ctctcaagc atacgcttaa agtcgtctt	1680
gtattcacc ttcatctcg ctaagcgata accccacgcc tccaaagcgt gagacccaaa	1740
gcgtttaccg ggcaacttac cggaacgcag aagaccata tcggtgtctt tcaggtaga	1800
gtgaatcaag cgtgacaaca caagtgtgtc aatacagttc tcacggggta ggtggaactc	1860
acggttaagc tgtaacttag ccagtttgg caatgcggga acgtcatact tgtgaccgtt	1920
gtggaacaca ataagaccgc ctctgtcaac ctcggttcc agcgcacca gatacgacc	1980
gaagtcactc ggtcggtagc ttacgtactc atcggtggag tagtcgtaga taaccccgca	2040
gtggaactta gtgacgtct ctaagagggc gtagcttcg atgcagaaa cgatcatatt	2100
gatttctct attgattatc gtgacttaac aatctcttca tacgaaacaa ctgtcaagaa	2160
gcctgtgtta atcgggatga tcttatcagt aacgattgca cctcgtggag ttacaccact	2220
aatgtaggac acttgtcat acttatcact aactgagcga acatacccat atccacaaac	2280
acctccccg ccaaccttaa ccaatcacc agccttgatg tgggtcatag tgccttacc	2340
gaacacctg tggctcagct tggaacttc tggttcttc catccagtct gtcgtgtcca	2400
agtcagcct aagttcttca agatgtggac agcggagcga ttcttagctt catgatattt	2460
aacgtcctca agttcagctt ccagtttagc gatttctgct tggataact tagggtcacg	2520

catgataata tctcctatag tgagtcgaat agtattcatg aaggccacca cttggcgac	2580
cttgagtata ccactottag ctatcaatct tgcgaggat agccatagct tcatctacgc	2640
gaccagcttc atggattgct gtcacggcag cttggtaag cgcattgacc agacgcagt	2700
cttgctcatc tgtcaacgtc atacgctgag tgtgattctt agaggactta gagtccttc	2760
aacggtaaac catagtagcc ttccggttac gaacgttgat gtgaactcgg cggttccatt	2820
ggtcggcggt atcggataga cggatagttt cagctacttg tgacatggta gtttctctg	2880
tttaattact caaagaattt ggaaagttgt tgagcttgat tagctacacg agctgcctcg	2940
gtaactttat tggatgcact gtcagccagt tcgtttgagc ggatagccag agcacgggac	3000
tgtgtggcct cattacgggc ctctcggttc aggcgcttag cttctacgtt gtacaaacga	3060
accagcagtt tgccaaactt cttaatcaat ttgaacatgg tatgtgtctc ctttagtgag	3120
tcgtattaaa atcatcaaga atcctgtcag aagtcagtgt cgtttgacca gtctgtgac	3180
tccgagtgtg actcttcttc cctgtgtaa ctgcacggtt cgagccaccc tgttccttg	3240
ttgtactcca tgtagccagc aataccagta tcgccagtaa agcggcactt gagaatacga	3300
acgaggacaa ggtaggcat atcaccttgc tggttacgct caagggcaat aatagtatca	3360
gatagtggc gaagtgcgcc agaaccacgt aggtcagtaa tagaaacagg acgaccttc	3420
tcatgtgctt taccttctc tgggttctta aggtgacata taacgaccag caccacacca	3480
gttgacttag cgaaccctt gagcttggtc atcaggttgt caatcatctt gcgctcatcg	3540
gattcaccag aagcggacac tacgattgag atgtggtcaa ggataattac gtcgcaacct	3600
aagcctgagc gcatataggc cagcttagcg agaagcctat cggctcagc ctacgcgaat	3660
gagtcataaa gatggaacgt gtcgttaccg aatagttcat cgaaccattg gtcgaactta	3720
ccgttctcaa tgatctctct ctttagtgag tcggattgac gcaggcgtag atggtgtgc	3780
agacctataa ggtcctcagc ggttctctca acggactcct caagcatcgc caagcctacc	3840
ttcttgccca tcgctgtgcc ccattgtaga gcttgctgac gaacgaacgt tgacttacc	3900
ataccggagc cggaagttac cataatgact tcaccaccac gggcaccaag tgtcttatcg	3960
ttgataccac tacagccact gaaaagtaga cctacggatt cctctgacga taagtgtca	4020

cggattcgtt ctcgtaacga aagagccgat accactccat caggaatcca cgggccagca	4080
ttccagactt gtcctatgat ttcacggctg tgaccattaa ggtgacactc attggcatcc	4140
ttacacggaa ggactgccac tcgtacctta ccagcaggta gaacctgtgc ggcctcttcg	4200
actgccttgc gtccagcttc gtccatgtcg aacatcaaga taatctgttc gaactgtca	4260
aagtattcgt agttggcagc gcatgtcttc ttagcggcag gggcaccgtg acccaacgac	4320
actacaggat acttgcagtc ttgaagtcc atcacggtaa gcatgtcgat ttcaccttct	4380
gtgacaacaa tcttcttacc gccattccac aagtgtctcc cgaacagggc atcactcttg	4440
tgactaccag ttgtcttaaa gttcttatct ttatcgcgaa ccttctggct cacaatgttg	4500
ccgttctggt cacgatagtc agccacttgg tacatcacac cgtctacttt ggcaatccag	4560
tagccagcct tctgacaggt ttccttagag atgccacggg cagttaacgc ggagtaacgc	4620
ccattggatt ccccaaagtt ccatacgttg taagtcattg gtttacctcc accgactata	4680
cgtcttcttg atgatagctc ctgtttacgt tcttctgagg ctggaaccct gtgctcacat	4740
acaaagcaaa attgatggcc gtcagaatac acagagttac catcagaaga cccacagttc	4800
tcgcaaggag cgtgatatag gaaaatacta tcttgctcta attccatatg gttattcctt	4860
aatcaacatt gcgaacaaag ggaaaccgtt gtggtctccc tttagttagt tcagttaatt	4920
atccacggtc agaagtgacc agttggttag ttcccacca acgctaagg tcgaacgatg	4980
ggcaagcctt cggtgctaca tcgtgatgtg cgcaagaac agcgccctta tacttagcca	5040
gtagtgtgac aagcagttag cggagggatt gcattgggc tggcgtaaag ttagcatcga	5100
acttaccttt atcgtcaatg ccacctaca ggcagacacc aatagagttg tggttgtgac	5160
ccttagcgtg ggaacctata gccatctcgt ctcgaccttc ctccacagta ccatcgcggt	5220
tgatgataaa gtgatatccc acatccagcc agccctgctc ttatgccac tggcgaatct	5280
cacggacacc tacgttctgg ttaggtttag tcgtgagca gtgaacaaag attgcgtcag	5340
tagattcacg ttgtttaaac tgtacacgag ccattatttc ttctctcct tcgattgttt	5400
cagcttgta aatggcacct ccttttggg ttctttgagc cattccacag gaattaattt	5460
gtcagcaaac agaataccgt gcttctcaca ccattcgccg taactggtcg gagacccttt	5520

atacagcttg gtacgtgagc ttgaaaatac cagacggatg tccagttcgg gaaactgttc	5580
gcgaatcagt aagtgtttct ttcggtcgtc actctcccat aaacctttgg tttcaataaa	5640
gattccgtta ggcagcagga agtctggagt gtagacatgg ttactcgcag ggacaacgta	5700
agggatttct cacagttcat agtagaactt aatgccctta ccctctagct gcttagagac	5760
cttatcttct aggccggaac ggaatgtccc gacctttctg ataccacgcg cagcgtatgc	5820
gccagccact tagaagtctc cgtcttcgtc ttcttcgtag gactcactgt cgtcttcgtc	5880
ccagctttct tcgtcgcgtg gtttgctcgc ttggttagaa ccagaggcaa catagccgtt	5940
ctttcaact tcgtcagccc aatcgtcttc gccgccacca aaggaagcca gttcgacaag	6000
cattacggat tccagttgca gcttaacgct tgcacctaca gcggtgttcc actgttacgg	6060
aaccagagag tacttgactt tcagcttaga gccaccaccg ataatcggtta cgtcttccat	6120
cttctgccc ttggagtcaa ccacaaccag attgatgtgc ttggtctctt tggctctt	6180
gtcttgaaa gacgcgtagc attgaactt aaaggtagtc gtaccgtcac cgttatcgaa	6240
gaacggcatg tcgccctcat acggtttcag cggtttctta ccacgagcta cggctggcgg	6300
gttggcctca tattctcaa cggcagcagc ataagcctct tcgtgacact tcacgatttc	6360
atcgaccata cgttgacaac gagggctttt gttaggaatg gtcaggtaaa cttatatac	6420
accacgaggg ttcccaaagc cagctcttc gttgccgtag tctggcttgg cgatgtaagc	6480
gtaagggtca gcaataccca gcgcagaggt gaaaatcttc ttagccataa tgtaatctc	6540
ctttcgggtt cgtttagttt ctacagagga gtcttctccc aatagttagt cgtattactt	6600
cgggtctaca catggacgca cagcagtaac ctcaaagcca gccggaacgt attgccattc	6660
ggctaactcc agagcttcgt ctagggtctc agcgtagatt ggcacctcaa aggaatgctc	6720
agaggactct acggtagccc aaaacttctt attgtccaca ctaagtgaac ctgtatttac	6780
gtttgacata tcagtaacct ctcatagacc attggttgta aagttccatg tagtgaccag	6840
cagattcctc gtcaccacgt tctatacatt ctgtccacat tctgtggcac cattcacttg	6900
gcttttccat attccacctc tatggcccaa tacattaagc gaagtaacgc tcccactcca	6960
gcgcaaatta atccgaagta cagaacatcg ttaagcgtca tagcacttat ccttatgttt	7020

ctcgtacagt tcacataga atccagcttt cgccatgtct ttctctaagt aagccagttc	7080
ggacttttta ccagcacgta gtctgtactt taagatgttc ccgaagcaat aacctttgaa	7140
ctgctcacga gtcattgaac gagcaatcac ttcatagacc tcaatgtcgt caaacagcat	7200
gtagtgggaa ggcttagtga caccctcgat tggtttagct acaggttgac acgtatgtgg	7260
ataacggta tcttttcta agcacgctat gcacaccatc agaacacctc cttgattcgt	7320
ttgagtaaca gacggacgaa cgggaagcgg gtcactacca cactaagaac cggacgtttc	7380
ttgtctattg cttttcaaa gtcaccacgg gtgataatga tgtggacgct tggcgccaaa	7440
ggaactgtgt caccaataag aggttaacta gctcggcgct cgctgcaca tatgattgaa	7500
cggtcagcac ggccaatcgt gaaattctta atgtcttgt tgtaatgaag tcgaaacata	7560
tagtgtctcc ttagtgagt cgtattaagc gtgaccatct ggcatatcgt catcgtcgt	7620
acagtgtagc gcaaggcatc ctatgatgat aattagcaat ggcattacgt acatcatgat	7680
gtgtacctcc ttagtgagt cgtattaaac gcagaaaggc ccaccataag gtgagccagt	7740
gtggttacat ttctcttga ggggtgtcct cggcgccacg gaacattacg aacgatgggt	7800
gacgcagaga gccgtcaggt gtttctcca tgtacgcaat ctggcaagcg tgcccgttgt	7860
agtaggtttc acctcaatg ttaactgtgt tggtaaattc atccattaag gtgcgagaga	7920
tgttgtggc gtaactaca cgaccactct caagaagcac ctcaaatccg attactttac	7980
cttcattcgc taaaccttcg gttccccaca caagacctg aatgatacca tcagcctcgt	8040
tctctggctt gagttccac cagccggact tctaccgcg cttatagata cacatcgggt	8100
ctttcacgat gagacctca tgcccttctt ctcgttctt ctcgtacagt tgctgtagct	8160
ccaccatgtc gtagacctcg taagactcag ccgcttgcca ttcaattca gggaagtatt	8220
cctgtagcag aggcagcatg ttcttaacgt gttctgcat gagcaacgac attacatcac	8280
aatcttctcc agactctacg atgtgcagcg ggaggatagc gtacagtttg acgtgaaggt	8340
gtccagtgtg caactgaat ggaaccttat ctttcttacg gattggttca acgaataact	8400
cttcgtggaa ctcttggtc ttggtgtcgg tccacttggc acgcagtagg ccggacctg	8460
tgtaaagtc cagcctttg accatgagtt ccccatcaag cataaatcca tctctgtaga	8520

agcagcggtc atcgctcagt agacgcttcc agcgaacatc aaatccgttt aagtgtcca	8580
gtgccggaat cgttttagat acacgagaga gccagcaact gttagcggta ttgtctacgc	8640
agatattccc acgtacacca tcgtacttga tgtcagcgat aagataccca gcgttatcca	8700
gagctttctt aatggaagac tctacgaaag acacggcttt aaacggggtt gtcttaatgt	8760
tcatcataat gtttatctcc tattggtaa atgactaagg ccaactcaatg agcgacctta	8820
agcattatcc ctatactgag tcgtattact tccagtgcct caaatcgcta tgtacctgc	8880
gcagccactc agtctgtgca ttacatcgga catcttcgtc tgactgttcg aaactcttg	8940
ctgtcagtac caagccatta cgcaggacaa ttccaagagt ctctccagat accaatcggc	9000
gtagtgcgta gttctcatag cgataagtct cagtgaccac atcaacatcg tggcttctc	9060
tgagtcgctc gatagcatct ttgtatgctg ccagattacc gctgtataaa cgacccatct	9120
tattgacctt cccagcagcg ttatgcgca cgggtgcgta atggcttatt aaacttacga	9180
cctttgggtg cctcgaagtc atgagcgta cgggtagaac gtttggcat ctttcgaag	9240
ttacgcatac ttaaagtcct ctattagtaa ttcttaatt taaatctta attaacactt	9300
aagggtctta aagttaaacc ttaaggttct cctatagtga gtcgtattaa ccggaagaag	9360
gtcaatcata aaggccactc ttgcgaatgg ccttgagttt gtccctctat agtgagtcgt	9420
attaatttga cgttatgca acgcgaagtc tgacttaagg atgtcctgta ggttcaagtt	9480
acctttagcc ggaagtgcg gcattttatc caattgagac tcatgcaact ggtcggcgaa	9540
ctgctcatag aagtcagcca gtacatcaca agactcatag gtgtcaacca tagtttcg	9600
tacagcttgg aacaggttgg cagcgtcagc cggaatggtc ccgaaggagt cgtgaatcag	9660
tgcaaacgat tcgattccgt acttctcatg tgcccacact acagtcttac gcaggtggct	9720
accatcttgg ctatgcacaa agttaggagc tatgccggac tcctgcttgt gagcatcaat	9780
ctcgctatcc ttgtttgtgt taatggtagg ctgtagacgg aactgaccga ggaaaatcag	9840
gttcaagcga gtctggatag gcttcttcta ttctgccac acaggaatc catcaggagt	9900
taccaatgt acagcgcaac gcttgcaag aatctctcca gtctcttat cttgacctc	9960
agcagccagc agcttagcag cagacttaag ccagttcata gttcaaccg cagccaccac	10020

cgtagcgcta acagcttccc aaatcagttt agccatgtaa ccagcagcct gattcggttg	10080
agtgaacatc agacctttac cggaatcaat agctggctga atggtatott ccagcacttg	10140
ttgacggaag ccgaactott tggacccgta agccagcgtc atgactgaac gcttagtcac	10200
gctgcgagta acaccgtaag ccagccattg accagccagc gccttagtgc ccagtttgac	10260
tttctcagag atttcgccag tgttctcatc tgtcacggta actacttctg tgcgggtccc	10320
gtttattacg tcttcttgca gaatcacgtt gactttctta gcgacaatcc cgtagatgtc	10380
ctgaacggta ggactaggca gcaggttaac agccataccg ccaacctcat ccaagagcat	10440
cgctgagaag tgctgaatgc cagagcaaga cccatogaac gccagcggaa gagagcagtt	10500
gtagcttaat ccgtggtgct gtaccccgag gtactcaaag cagaacgcga ggaagcagaa	10560
cggagaatct tgctcagccc accaagtgtt ttccagtga gacttggcgc aagccatgat	10620
gttctcgtgg ttgtctcaa tgaacttgat gcgctcaggg aacggaacct tatcgacacc	10680
agcgcagttt gcaccgtgga tttcagcca gtagtaacc tctttaccga ttggtttacc	10740
tttagccagc gtcagcagac ccttggtcat gtcgttacct tgcgggttga acatagacac	10800
agcgtaaaca cgaccgcgcc agtccatgtt gtaagggaac cagatggcct tatggttagc	10860
gaacttgta gcttgctcaa tcatgaactc taagctgata cggcgagact tgcgagcctt	10920
gtccttgca tacacagcag cagcagcacg ttccatgcg gtgagagcct caggattcgt	10980
gtcgatgtct tccggtttca tggggagttc ttacgctca atcgctggga tgtcctctac	11040
agggcagtc ttccacttg tgattacgtt ggcgaccgct aggactttct tgttgatttt	11100
ccatgcggtg ttttgcgcaa tgtaatcgc ctgttacacc tcaggcatgt aaacatcttc	11160
gtagcgcac agtgctttct tgctgtgagt acgcaccagt gccagaggac ggcgaccgtt	11220
agcccaatag ccaccgccag taataccagt ccacggctta ggaggaacta cgcaaggttg	11280
gaacatcggg gagatgccag ccagcgcacc tgcacgggtt gcgatagcct cagcgtattc	11340
cggcgtgagt tcgatagtct cagagtcttg acccactacg ccagcgtttt ggcgatgtaa	11400
gctaaccatt ccggttgact caatgagcat ctcaatgcag cgcaccctta cgtgaatgga	11460
gtcttcttg tgccacgaag accacgcctc gccaccaagt agacccttag agagcatgtc	11520

agcctcgaca actgcataa atgctttctt gtagacgtga cctacgcgct tgtaagctg	11580
ttcctcaacg cgcttcttga agtgcttagc ttcaaggta cggatgcgac caaagcgagc	11640
ctcatcctcg atagctcgac cgattgcact ggctacagcc tgaacggttg tattgtctac	11700
gctcgftagg caagccagcg ttgtctaat ggtgatgtac gctacggctt cgggcttgat	11760
ttcttgagg aattggaaag ctgttgagc ctgcccagc ttagcttgta cctcctcaa	11820
ccactcgttg atgcgtgcaa tcatctggg tagcagggtg gcaattagag gctttgcagc	11880
agcggtatca gcaacctcac ccgccttaag ctgacgtca aacatcttc ggaagcgtgc	11940
ttcaccatc tcgtaagact catgctcaag ggccaactgt tcgagagcca aacgctcacc	12000
gtaatggtca gccagagtgt tgaacgggat agcagccagt tcgatgtcag agaagtcgtt	12060
cttagcgatg ttaattgtgt tcatttagtg cctctccag ttagtaaact gtatctattc	12120
agggcacct aagtcagatg acctgaaga taagactatc agcccattag cattgcgtaa	12180
agttgtttgt cgatgttgag cggaagaccg ttagcgatag ccattcggtc agcttgaaac	12240
cagtgcgctg cgactcgttc ctaagcgcc ttaaagtccc cagagaacat gttgaccag	12300
agcatagcgt tattggttct tctagtaca tccacagcta cctcatggtt acgccgttct	12360
tgacgttcag cccatcgcca cgcagcaagc attcttcgc gcttagcttt gtgtgctta	12420
cgtgccttc ggttcgacg ttgaatctg cgtaactcca agcgagctac atgacgttct	12480
ttacggtact tagcgcggtc gattgcttc tggcgcgca ctctctcgac ttccttgatg	12540
agttcctcag ggtcaatgct gaatgcgcca ccgtcttct tctgtgagaa tgataccggg	12600
tcggttatta ctggaacatc actatcatc aacattatgt tccactatg catatcgaac	12660
gatgcgattc catcaaagaa ctgacggatt aacttgcaag tctctacaaa ctaccgtcc	12720
caccccgta ggtagtata atccttagag ttactctaa taacagcact tgcaatatca	12780
gcgtactgt catgctctc gttatcacac ggctcacact cattcagggc atcaagcacc	12840
accgtatagc acccagcatg acgctgtacg tcgtagacgt tagggatacc agcgcggccc	12900
tgatacatgc ggcagaatgc ggtatacgca gcacctgagt cctcttctt aaagcccacc	12960
ttaatcactc tgttaggcag cagcgggtga ctataagcag ccgagaagtg accattaccg	13020

agcatcttga aacctgcac agccgtgaga cacttcaagg tagtccacca atcttggtgc 13080
 tcaagtgcct gatttagttc tgtaattcc ccatcgcatg tctcgctatt gaccatctcg 13140
 accagtaagt cgatgagcat accttggcgc ttgtcaagtt cacagattgg tagcgctttg 13200
 attgcgtcga tagcgttcat gatgtcgggt atgttcattg tagtgtgtcc tgtatgttcg 13260
 ttatgagata gcgttcagtg tgttgattag tgcctgttca agtgctgcac gtttcttggc 13320
 tttactttt tctttcgcc tgtgccatgc cgccctttct tgctccttgc ggcgttcgag 13380
 gttgttctct cgccaagttc tgactattcg cctatttgca gcgtatagtg tgccattggg 13440
 catatagcct ttcttaagc catcagtga ttctatcata acgcagtgtc ctttatagtt 13500
 taccagttaa ataattgaaa gcgttgcgca atagttcagg tgagtcttta agcaggccta 13560
 ttctctgtt gcagttttag cacagaagtc cccttacgtc tcccgtaatg tgtgaatggt 13620
 caacacacag ttgcctgcct tcaatgcttt caggttggtt gcatatggcg cagaccccat 13680
 gttgtgcttc atacatcttg cggtaactg attcatctat accgtagtgt atttttagat 13740
 ggttgttgcg cctacgcttg gcgtccttga ttgccttacc agttggtgca ccagcagctt 13800
 ttgcctttgc tcttcgttcc ttttgcgtcc ttgccttga ttctttacac gtaccgatgt 13860
 gaccatctcg tgacgttgcg ttttagtgt acatattgag cggttttacc tcaccacatg 13920
 ctatacatat ttggaacaa tgaagcataa agttccctc agttgcaaga acattcagcc 13980
 caattgaaga cgcttgcggt tgatgcgcag ttacgctta aggcgctcga tacgttggtt 14040
 cattgcgaac ccatcagggt tgcatacgtt tgccccgttg gaagtatgga tgggcataac 14100
 gtagtgcttc ataccatatt gtttcatcat ttgcgcagtg ctcccgtgat aatacaagcg 14160
 accaagtaag cgcccacagc tacacccaaa gactcccaa aggatgcgcc tacagctaga 14220
 cctagagcgg tgagtagacc gatagtaaac atatgcatta ctcccattaa agtaaagtga 14280
 taatcataaa ggccactcat caggagcgac cttgggttta ccacttgga gactgaagg 14340
 ctgttgtcaa tcgttcaac ctgcacatgt tgcttggtgc atcacacagg cttgatactc 14400
 ctcttgcgct aaaatcgggt ttaccaatg tttgacctgt ttgccgtagc gcacaacgta 14460
 ggtgcatccc attgaccggt gatagtactc acgcagcgtt acagtgcatt ggcctttgat 14520

tttagatgtt gccagaagtt tactcatggt gttagtccta ttgcatgttg aatgataatc	14580
atgaaggcca ctgcatgga gcgacctga gcctatcact cagcagactc caaggctatt	14640
gccttggtgt ttctgtacag ttcttaagg tgtccattg cgagcgacca gtcgaagcca	14700
catcgacca tgcgctata gaatagtaca gtttgagcgg tcagaccgta ttgcgtggtg	14760
ttgttagcca ttactctcg cctcttcgt agtcttctc ttctcgact tcctcaaggt	14820
actcgttcag taagtctca gcgtctccc agaggtaaat cgtgagttgc tcatagatac	14880
gtgcttcag aatacgaatc acgtccttg tgcggcat caggccagag tcttgaact	14940
caaggctgat accctcgct gccattacgc taaagatgc agcgtagtaa atcggtacgg	15000
cgctatcggc tgcctcatgg attgcatcat gcaggtaatt agtgtcacgg atgtcagcat	15060
aacgaatgtt ttcttcagc atttcatagg cgtggtcgaa aacgttgta taagtcatgt	15120
tagacatagc cattttgtgt taccctgtg tgtatggta gtagtgata tcataaagg	15180
cacctgcga taccctgag ttatccgta gtcatgcacc caagagctat ttaccagatt	15240
gttaaagagc atgtcggta ggttcgtta gacctagcg cgttcagtg ttgcgcctca	15300
ctgtcgttc atgtggtaca tcttacagct tttaaaggag gctgtcaacc tgtattctt	15360
ttgtcgatg agtgaccgaa ttgactcat ggctagtgc ttatccttg cgggtcgcg	15420
gcaggttct cggttctat cctacacc ttactgatg tggatcatg taccgtgtt	15480
acttcatgt gtcaaccagt ttgttact ttgtgtccg tgggtcgctt aagtcaccta	15540
gaagacaccg tgcgtccgtg tggcgctgct agtgtacct agcgattgt atcttactac	15600
atgttactgc gtgtgtcaa tgcctgttt tcgtatgact taccaggctg tctactatc	15660
cgggtgacc cggtatctca gggagtgtt ttgaccgt gtcccggtga cgagatgaat	15720
agtaacctca taggacact taagtcaata ctcttttta aattatttta atttctctt	15780
tttaagtcct cttaagtag tctctctt tagtgagtcg tattaagac gatggctgaa	15840
gattatctt ttataggtaa caacaaggcg tctttagga taggcttag gatggcttt	15900
aggatggtct ttagaattat cttaagatg gggattgact gaatgggtct ttaagggtat	15960
tctttagtg ttggcttgat gaatgactt aggaggatac tttaggagga tactttagga	16020

ggatacttta ggaggctgaa cagatagggg cacagagaga cactcccact aacccttagg 16080
 accctccctc ggtccacctc aaggcccaact ttaaggccac ctcaaggctc gcactccaaa 16140
 ggagtgcatt tagggacccc tatgggggga accttaggtg ctta 16184

<210> 3
 <211> 16799
 <212> ADN
 <213> một phần của ADN của thể thực khuẩn CJ20 Contig00003

<400> 3
 cataatcatt gacaatcatt tcatttgaaa tcagttgcat atccataata tttctcat 60
 tagtagcggg tgtaaccccg gggaccaaaa gagttggcac ccaggcgttc atctttctt 120
 ttggctcttg ctctaaaccc agaatacct gtttgagctt tcagttcttt taacaattg 180
 gccttcaggc cagtaatgaa accaatccgg cggctccct ttagacata gattccgtca 240
 ttactgtcac catatgcctg tgtaactctt tcatttgtaa ttaagtttaa catgttttag 300
 tctcatcag tagttgatgg aaccattatg tatagaaagg aggggcttgc acacccttt 360
 tttattatc aggaaggatt actccgctt ggtagtcga cggaatgtaa agtttatgat 420
 ttttaaggaa aactttattg attgagcaa tcgtttgttc ggttctctgc gggcgttgat 480
 atgtgttcat taatacggag aacaatcccg ggtatggttt acacaactct tgaccttaa 540
 tcgcaaactc gcgacggtct tttctgcta actgtttctg ggcatcaagc aacaatcca 600
 gcgtattaga cagataatcc agatgtacaa tggtaaaggc attaactttt tcgcgagcat 660
 aatcatcacc agtaaacaatg gcaataacat catctgcgc gccggcaaca acaactcaa 720
 acaggcgctc attattatta atggagtctt tagtatggg cagagcacia taccattctg 780
 tttcagctt gaacttctga ccacttgcca gctcgtagac gaaaccttca atcttttca 840
 taccacgaac attctcaatg ctaccaggc catatgctc aaccaggaaa ggacggagtg 900
 cagcatcttt gaacagctca ggataaggaa tatattcgcc agtttcatta tgacgaacgt 960
 tcagtaaaat caggtcacgt tcttggaag gcaaaacaat gcggttggtt ggtgcaacat 1020
 attccatatt gcatgtataa ccagcttcag tgatttcagt cacacgagcc ctgaacgctt 1080
 cacggtgcgg ttgtttaaac acctgcagag attcagcagc ttgggagctt ttaattgacc 1140

ctttggattt aaaagcaata ttggtctggt ccatataagt agaaaccaag ctaccatcag	1200
cttttgcagt aaccaggaca acttcatcaa ggtaaggct catggtcatt gggttctcac	1260
ccagattaaa gaattttcc ataggacggg cagcaatgcg aactggacca ttgtcatcca	1320
ttcaaacat aatgccacga cactccagt catcatcaag aagccaatca ctataggaag	1380
catagtata gctgaagatg cggaacttag ttcaaattg agaaacaaaa tccgtataga	1440
aaaacttacc ttatcggat tcggcgcaaa gttcattaa gttatcatat aattcaatca	1500
tttttcacc ttatgttgg aattccacgg gggattaaaa agcttgatga acatcggctc	1560
ttccagagac atcgtttga ctgacattgt gccaagtca ttggtcattg acagattgaa	1620
acattgtcgt gcatagaata ccacctttt accttctgt aaagcttcat gtatcatccg	1680
ggatttgtt gaatcactcg tctggtcgat tcggtaatc gcagtccgg aatagttgat	1740
acgcttcta aggtgttcg tcttaccat atacactagt tcatcatcaa ctgaaatagc	1800
atagataaca ttttctgt ttgcgagagt aaggataggg atttaccat cgactaactc	1860
taactccg cg tatttataa aactgtattc atcagcgatt tgttcatgg gcaaaaagg	1920
ccgaagccct ttcctatag atatttacgg aaaccagcaa gaacattctc atcgacgtca	1980
ttgtcaatct gggctaccag gtaagcagac aactcaact ctgtggtgc agattgcaca	2040
ttatcagagt taagatattc gcgaatccat ggaatcgggt gcttagtaga ttctaacacg	2100
attcacacg ggagaccaca ttgctcata cgagaaaccg tcaggtaatc gatgaaccgg	2160
ttaagaatct cgacgctcag cccggggagt ccaccatct taaacagatg tacagccat	2220
tccttttct ggcgattgac ttcatgaaa atagctgcgg cttctgctc acattcgtga	2280
gcaattttaa cccattcgtc accgtcaaca ccagtctgca gctgacgaag aatatattgg	2340
gtccccttaa gatggagctg tcatcacgg gcgatgaact tcattatct cgcgttacct	2400
tcctgattt ccatgttct atggaagttg aaagtacatg caaaagatac ataaaaacga	2460
atagctcca gcgcgttaat aacatgcagg cagagataaa gagacttcat caatactcgt	2520
ttggcgatag cttctgtt gatagctcgt tcaaacgtt cgtccgctc gggagtttct	2580
ttggccagtt caacaaaagc aatctggtt tgccattgac gagtttatt cagaacatca	2640

tcataagtaat gaccaatgga ttctgcacgc ttcattgattg catcatctaa caggatttcg	2700
tcgaataacct tcgccggggtc cgtatagaga ttctgcatta tgtgcgtata agaacgagag	2760
tgaattgtct cgctgaatgt ccaggctcga atccatgtat caagactcgg gtcagaaact	2820
aatgcggcta atgctgcagc tggagcacga cctgaatac tatccagaag tgattggtat	2880
ttcagggtgt tggtaaaaat atttgttga tgttcaggaa gcttattaaa ttgggtcca	2940
tccatcatca gggttacttc ctccaggctgc cagaagaatg ataattgctt ttctgtaat	3000
tcttcgaaaa ctttatggcg ctggatatca taacgggcaa tcccaatcc tgaacaaaa	3060
aacatcggct cagctaaaac atccactgga gtggtattaa aaactgtact cattttattt	3120
cctcaatagc tcatccatga gcataattat atcaaagttt acaggcggag cagtctctg	3180
ctttaggagc ttcgatttcg taatcgtctg ttccggaacc atctcgagtg ttatgataat	3240
aaagggtttt tccacaaaaa taccagaagt acatcaggtc gtcaagcata actgacatcg	3300
gaacttttcc ttccggataa ttctgcgggt cataatatgt attggctgat gctgactgac	3360
aaatccattt caacataatc gcgacttggt tcagataagg ttgtttacct tgcttagcta	3420
gcacccatgc gtaatcgtac aatcctttat tgtgtcaat attgggcacg acttgattaa	3480
aggaaccctc tttagactct ttaatagaga ctggtccacg cggagggtcg ataccgtttg	3540
tactgttaga aacttgggaa gatgactcac aaggcataag tgctgataat gtgctattac	3600
ggatgccatg cgcaaccagg tcttcccgca actgcgcca gtcacaaacg tagtttgag	3660
ctgcgatttg gtcaatcttt ttattgtacc agtcgatagg taattcgctt cgagcccaac	3720
gagtgtctga ataatttcg caaggctctt ttctttggc gagtttgatt gatgcacgga	3780
taaggccata ttgtaatctc tcgaacagtt catgcgttaa atcgtttgca tcagttagg	3840
aagcgaaatt gcttgccaac catgcagcat agttagtaac cccaacaccc aggttgcggc	3900
gtttttggc ttccagagct tctttaaccg gataaccctg gtagtccaac agattatcaa	3960
gagcacgaac ttgaacttcg gctagctcgt taatcttacc ttggtcctgc cagtcaaaac	4020
tatccagaac aaatgcagag aggggtgcaca atccgatttc agcgtcttcg ctgttcacat	4080
cagtagtcgg gattgcaatt tcgcagcaaa ggtttgattg acgaatcgga gccttatcgc	4140

ggatgaacgg agttagtca ttcacgttat cgacgaactg cggataaacc ctggctgtac	4200
cggaacgttc ggtcatgaat aattcaaata catcttttgc ttgatacgt ttcttacgaa	4260
ctgtcgggtc ttttctaag gcttcatata actcacggaa ttatccggg ttatcaaaat	4320
atgaataata caattcaccg ccagcttcgt gtggactaaa cagagtgatg taatcattct	4380
tggccagtcg ttccatcatc aggttattca actggacacc atagtccata tgctgatac	4440
ggttttcttc aacgccttg ttgttttca gaacgagtaa attttcaact tccaaatgcc	4500
aaataggata ataagcagta gcagcgccgc cacggattcc acctgtgaa caggatttaa	4560
cagccgttg gaaatgttc cagaacggaa taacaccagt atgcttgact tcaccatac	4620
cgattttoga acctcggca cgaatcatc caacgttgat gccgataccc gcacgcttac	4680
tgatatattc gatgattgaa ttggcagtct tattgattga cttcagggag tcagcagctt	4740
cgataaccac gcaggaactg aactgcctgg taggtgttct ggcgcccgcc atgatatgtg	4800
taggcaacga aacctgtcga gtggatactg catcataaaa acggcaaacg tgcttcagac	4860
ggtccgttg ttcacctcg tgacgtgcca ttccgatagc catgatagcg aattgtggag	4920
tctogtagat ttcccagtg gtttatctt taaccaggta ttctctttc aactgcatcg	4980
cgcctgcata agtcaggta aaatcgctt cgtgcttgat acgagattcc agataagtaa	5040
tctcttcagc cgagtagctt gacaacagct ccgggtcata ttgccttca ttaacacaat	5100
aagaaatctg gtcaataaaa gaacgtggct caaactggcc ataaacatct ttacgcagag	5160
caaacatcgt agccttcgct gcaacgtatt ggtaatctgg ttcttcaacc gagataagcc	5220
cagcagacac ttgatgata accgtctgaa tatcacgagt agtcatacca tcgcgcatg	5280
gtggtttgat tgttctgtat aattcatac ggtcgatatt ggttcttca catgaccagg	5340
aaagaacttt aataatttc tggccatcaa aatcttgaga tacgccacta ctttttgta	5400
cttgcattgt ttctctgtt ataaaatggg gtcattgcta tactaacaca tgacccttg	5460
agcggaatcg tatttataga aggaagttaa gtctgacct tacgaccaa aataaaatgc	5520
cagcaattg aatttcatt agaccgcat cggcgccga atcgttgat gtgggtcgta	5580
acctgcaga acaaaatcat ccgggtcat gtgtgagtt acccagtaaa gctgcatctc	5640

ggtatcgaac tgactaaaac cattcgggaa attaatcgat agtttcggca gctgcttcgg	5700
ttcacgttct aagacttctt tacattggtc aatgtgggtc atgtagatat gcgtgttacc	5760
acccatgaat accaactcac ccggaaccag ttcacacatt tcggcgacga tatgtaatag	5820
agtaccataa gaaccaatat caaatggcaa acccaggaat acgtcaacgg aacgctgata	5880
ccacaacaag tccagaatac cattatgcac gttgaactga taaagcaagt gacaaggagg	5940
cagagccatt ttatccagtt cagccgggtt ccatgcggat acaatctgac gacggctatg	6000
tggaacagtt ttaattttgt taataacatc tttcagctgg tcaacaccac cgaaatcacg	6060
ccattgttta ccatacacag gacccagttc gccatcaaca taacctaatg cacgaccttg	6120
tgcttcaaag ttctgggtccc agatgggtctt ttatcagag tcagggccat gcgtaatttc	6180
acgaagacgt tcaacgttcg tagaaccttc caggaaccac aaaagctcac caacaactgc	6240
acgatatgcc agacgtttaa cagtcgttgc cgggaagcca tcagccatgt cccaacgaac	6300
tttggtgcca aatgtcgcga tagtaccagt ccagtgcggt tcgtcagtct gatagccaat	6360
gtcaaataca gtttgaatca agtcttgata attttcatt tatatacagt ctctgtaata	6420
tgggttactt catctatctt ataccaatgg gcttcaagca tttcacgttt gcttatatcg	6480
tacaggaagt cactatccaa ctgtactgtt gagtttacgc gatgctttt ataaatttg	6540
gtcatgacaa ttcatccgc ataagggtga gcggcttcta acaatgattt accaccaata	6600
acacagatat aattttctga agaaataaac atttgagcag gagaatctgg cgcggagata	6660
gaaactttt caccagaaat caattcaaa taattagccc acgtgatata accacccgcc	6720
aactcaccag ctttgtaac tggatacggg cgcgtgggt cagccacaac gacgtgaaag	6780
cgccctttta atatagacgg taggctttca aagggttttg ctcccatgag cacgatagag	6840
tttttgtgc gagccttgaa gttctgcagg tccttttga tatgaccca tggcagacca	6900
tcatcaagtc caaatgcatt ttatcacga ccatcaactg ttttagttgg agcataagcg	6960
aatactaatt taatcataat tttcccacc atgcaatagc ttcatttgtg tcatagaaaa	7020
tgtctgcatc tattttaaca ccactttta aaagtgtcac tgctgcttta aataattcat	7080
agttgttcac agacatatca gctgcatcat taaaggcctt tcaaattca ccagcatcag	7140

ggtcatttaa tgcagtgaag agtgtccagc tatcactatc atgatattca aatactacaa	7200
tcattttaat tccttaactg tcttttaat ggcagtaaaa totttgcgaa tatcgagaat	7260
caatttgtaa agatgtttaa ttgtatctgt atcaaaatat gataccgcgc aacgtgattg	7320
gcgaatatct tctaataaat atttgcttc actgtacca tatccaatga taccactaat	7380
gcactgtca ttaagcgtat atttctgtgg accatcaata ttatttttag gatagatgta	7440
aaggctcaa tcaaattttt gttcaagagt attaacctta acttcaagaa tcagttcagg	7500
atgtgcatca tctttagcaa aacaagtgt ttcagcaagc attatattt cctcacgctt	7560
tcttagcaac ttccagtc gctttaaatt ggtcaacatc agagtgggtga atccagaaac	7620
cagacgagct gccatcttca taaagaggac aaccatcaca ctcatcttc caaccattt	7680
cacacaaagc ttgttcagct ttccagag ctctggatt gttaccctgg attgtgaagt	7740
accatttacc ttaacttct gaatcttga tgctctcag ttgtaatttc attttattct	7800
ccagttattt ggtaactcag tatgggacca ttatgtcata gcccatttg gttgtacact	7860
acttttaaa tttatcaag ccatttgcca agtttaatca tttccttggg ggcttttcc	7920
atacttctga acttaactaa taaaggatga gtatcaacc ccataacaag attggttgca	7980
agactgtgtt caccaacaag ccacaatgag tatgtttgaa catcgaggcc ataatttctg	8040
tctttatgaa ctctacacc cattacttca aattgttcgc ttgcttttc tactgcatcc	8100
aggaaatcat cttagtcat attagacccc aaaagttgct ttaatcagt caatgacttc	8160
tgcggcattt ttatgattta cctgcacatg aatggttgg gtatcaacat aaggagcatc	8220
gccatcaact tccaggaagt gacagaattc ccattcagcg agttcaaagt actcatcaga	8280
atccccata ctattcagga tggtgccatc ttcatcttca acttttcaa caaaataatc	8340
gccatcaata aagcacatat ccaggacttt gaaggaactg ccatgctgtt ccatcagctt	8400
gactatgcac gaattatcat caggactacc agcgatgaat tgttttttag cagcagggtc	8460
taatacgtaa aatttaccag ttccatcat ttaatttcc tcatttcagt tgggaacata	8520
ttagcatgtt cccgttgggt tgatactaa gcttcaatca aattcatata aaatttagcg	8580
tcttccgggt gcatcccttc gcaatattca tttgcataa agcgggtaag gtcttcaaga	8640

ggaccctgga cttcaatttg aacactaaag aattgggtat ctttaatgta agtcatacac	8700
aaagaaggat aacgattgcg gataacttcg taagtgtatt caaatcaac gatatcaata	8760
ttaactttag ccattttatt ttctcatgt agttgatagg cctatagtat ctcaaccata	8820
gacccgttgt aaactgttat ttgaaagctt ttgtagaag ttcaatgatt tggtcgacgt	8880
tattagcatc cacaacacaa ttaatagaaa ccgcccctga aggtgtttt gcataactgg	8940
agtattcgcg gaagcaataa aactcttct cactaagttc aaaataatca tcacccatgc	9000
catcatcatt atagattgca ccattagcac aaatgatttc ggttacataa tcatagccgt	9060
ctgcacttga tattgattta acttcaaacc aaccgccatt ttcttgatg atgtcgacca	9120
tactagcatt cgatgaacta atatcaatga aagatttaac acgatgtgga ttgaactcat	9180
atttttgcc gatttccatt ttatttctt cagttgttat cagtagttga tggaatcatt	9240
atgccttagc tcaaaggact tgtacactac ttttgaaaa taaaaaaggg acccgaaggt	9300
ccccttatat taaaggccag ccagaaggtc gtcaagacca tcatcagaag gctctggagt	9360
gcttgagca gtcgcagcgc gttcagactt agcaggtttg ctggaagtga agtcttccat	9420
atctttatca aaatcgtcca ggtcagcgcc cagtttatcg gcttgcgag cagctttaga	9480
agcagcacca ccgagagcag ctgtacccat tactttagag aatttcttct gattctcttc	9540
aagagattta aataccagca attcattcag gtcagacatg tcgtccaaa gtttttctg	9600
gaatgcttca tcattgatgc cggcgatttc agactggttc atgaatttgg aatcatcgta	9660
gtttttataa ccggaaacca gtttagattt cagtacgaag ttgcacactt caaaaggaca	9720
agttacatca atagctgttt cgccatgtc aacatcgact tcaacctctt ggttgatttt	9780
gtccatgatt ttcttaccaa agcgatattt gaatacttga ccttcgtag acggaacagc	9840
agggctttha atgaccagga tgtagccca gtaagaagta ttacgcttca gtttacgata	9900
ttcggattcg ttgtattgt acaggtcatt cttattcatg tacgcacaca caggacagtt	9960
ttcataatcg ccgtgagtag aagtacagtt ttcaatatac cattgaccag cattttaaa	10020
gccgtggtha acgagcttga tgaatggaga tggattttct tcattcttag aaggcaggaa	10080
acgaataacc gcagagccga cgccatcagt atcttcagt ttccattctt tttatcgtc	10140

agaagagaaa ccagaaccac cttaagagc gtaagggaa gcagccaggt cagcagggtt 10200
 ttacgttta aacatagaca tatgatttc ctagattat ttgatttta gcagtggtt 10260
 tgattacgta ttaattatac ttcaaagtgt ttgaagcgtt atttgacagt tttaacggt 10320
 ctcatgaac aatttacgag ctcaagaga atctatattt aagattttct tataggcatt 10380
 tagtttggtt gaatactttt cccaaccaa gtcgttagtc tgtcatcat gttatttat 10440
 aatacctaaa aatgaatcaa gcaaacaaaa cgttcaaag gagataacat tcgattggag 10500
 aagttgaaa atataacttg tattcacttt agtattatac tcgaaaatct ctggagcga 10560
 ttgacttcg actttcttac tgaagtaata gatgttcttt atatcatctt cgtatactg 10620
 tctaattctt ttaagtctgc caatgtattc tctgtaaaat atcagagcat cggcatcact 10680
 tatatcgctt atccatgcat cctgggtcgc aaccagggtt gacatgaata ttaacgttaa 10740
 ttcttaaga gtgtacttat cgctaagctt ttcgaaaaaa tacttatcgc gacgttttg 10800
 ataagcacta tcggagattc gcatggtcca gttatatttg ataatatcat aacgaccgga 10860
 aaaatgctgt ttgatggata agtacagttg gtatactgat ttaccattta tatatcggtt 10920
 gttatttga ggcatgcgaa tcgtaatcat aacaaaaagt ccagcgtatt agttttctgt 10980
 gtacgagaca tactcggacg aagcagggtta tcatcatatg ctcatcat aatcttatcg 11040
 acgattcccg caggatata tcgcgcaaaa ttgcctcag gaattccacg ttctccaac 11100
 caggcagttg tagcttcag ataagacatt tcagttgact cgacctggc ttcaatatca 11160
 agcccgttt gctgcttact aatcgcccca gaaggcgatt cagttttctg tgtatcaaaa 11220
 ttaactaaag aggacatcat agagctccac agcttcggtt tttcatctt caaacgctc 11280
 acgagtgcct ttatgataca ggccgagctg tgtattgaac atcttaccgt caacgcctaa 11340
 ttcagttttt gccttatctt taaggctttt aatttcgtct gcatatgctt ccatttttaa 11400
 ttggatatcg gaagcagctt taatcagctt ggccagttca gcacctgag tatcaggaca 11460
 aaattcaact ttcacttttt tctctttcat aatatacctt aataaaattc agcaatgtt 11520
 gcagttagtt tagacagacc agacttaaca aagtaaggat aaactttact ttggctggg 11580
 ataacgtagt tattatatcg ttctaagatt gaagcggata ttccgttg gataaagtc 11640

atatcaatca acaattggtt ttacagaaat ctattatatt gctcttctgt taaaagcgtt	11700
ttcagcacgt catggctgta atagttgagc gcaatttgtt caagctcggc tgcacgtgtc	11760
ggtggagtgc gttcaccttc ttctgagtg taataaaaat caccacgaac ctgatgctc	11820
gacacgttat ctttttgc accttaaca accttgtca cgcaatccat aagggcatcg	11880
cctgatttag tttagacata tttttctgc atcggggacc attgtttcac cccagggaat	11940
ttatgcaact gggtaaagtc accatctgaa gaaacaacca taaccggatg accgagacca	12000
gtgagcaatt ttgtaatac tgcaatatgg tcatcagcct cgactttatc tatattcatc	12060
acgatgtaag gcatatgttt ttccatttca tcgatgatga tgtgcatggc agcatgtaga	12120
ccttcccaat cgaattgaga ctcttcgca gctttcgac gggttttctt ataataataa	12180
gatttcgttc gacgccaata accattcttc gagttatcaa cacaaataat tggaatcgta	12240
taaccgagct tctgaactg cacgatattt ttccgatag agttcagcac caagtggcgg	12300
gtcattgcag ttgttacctt cggaaagcct gcgtcttgc cgaattcctg gaaggctgca	12360
gccatgatga gctgactaaa atcgagtaac tgaaaacat cttttgacg gtcttcttca	12420
gggagtaaaa aatctaaatt catatgaacc tctgttcaat tagttgactc gattatatta	12480
gcataaaatt tttaaagcaa tataaataca cgtataccaa tcaataagga taaagcacat	12540
ggccgatatt ttaaaccag cattcagagc aacatccggt ctgatgctg ctggtgagaa	12600
agtcattaat gtcgctaaag ctgattactc agttttgtca gacggcgta acgtagattt	12660
ctttatagaa gaaaacacag ttcaacaata tgatgcaacg cgtggataca aaaagaactt	12720
cgcagttatc tatgataacc gtatttgggt ttccaacgc gaaatcgag aaccagctgg	12780
ctcatttgtt cagcaatatt ggactgcaac ccgtactgac ccgaaatggg aaactgttgc	12840
atctccgact cgtcagctta attccgggga atttatcgcg gtcgactcag ctgcaagctt	12900
taccacattt acattacccc cgaacccgac tgatggatgat accatcgta ttaaagatat	12960
cgggtgtaat accggttata atgaaatcaa agttcaatcg agcaacgtac ctggtcaagg	13020
taacccaaaag attgttcgtt ttggtaatca gtattcagaa gttttaatta caaaaccgtt	13080
ctcttataac atgcttatct ttcaaaccg ctatggcag ttttggaag ccggtaacga	13140

agaacgcgga ataagaattg aaccaagctc tggtaaataat cgaactcaag catcagattt	13200
tattatgcgt cattatacga ctgcagaaaa aattacattt gttcttccta agtatgctaa	13260
ccaaggtgat attgtcaaat cggtagacat agatggatta gggccattat atcacctgga	13320
tgttgaaacg ttgacgagt caagctctct gggtaaacag ggtcagcaca gtatggaatt	13380
ccgtacaact ggtgatggct tcttcgttta taatgccact gaaaaactgt gggtgacttg	13440
ggatggtgat aacaaaactc gcctgcgct aatccgtgac agtgtgaaat tgctgtcaaa	13500
cgaaagtatt atcgtgttcg gtaatgataa caacacctcg cagacaatta acatcgacct	13560
tccgacgggt gttcgtccag gggacgtagt taagattgct ctgaactatc ttcgaaggc	13620
acagactgtt aatattaaag cttcggctac tgataaaatc gcgtcttctg ttcagctgct	13680
ccagttcccg aaacgttcgg aatatccacc ggatactgaa tgggtattgg ttgactcttt	13740
gactttcaat ggtaacataa gttatacgcc agttatcgaa ttaagttatc ttgaagatac	13800
ggttaagaac attaaactatt ggggtgtgac gcaaaacgtt ccgactgtag aacgagttga	13860
ctcgaaggat gatttgacct gtgctcgtct ggggtgttatt gcattggcta accaggcaca	13920
ggccaacgtt gaccatgaaa ataaccctga aaaagaatta gcaattactc cgcagacttt	13980
ggctaaccgt gtggctactg aatcacgtcg tggattgca cgaattgcta aactgctca	14040
ggtaaccag gatacgactt ttgctttcca ggatgatatt atcgtttctc cgaaaaagtt	14100
aaacgaacgt acagctacag aaacaagacg tgggctcgca gaaatcgcca cacagcaaga	14160
aactgatgca ggtatagatg atactacaat catcactcca cgcaagctac aagctcgtca	14220
gggtccgaa agcttatctg gtatcgttaa gtatgttcct actactggga ctactccagc	14280
agcaagccgt ataactgttg ggacaaacgt ttataataaa aatacaacca ctctggtaat	14340
ttctccgaaa gctttggacc aatataaagc tgaccagaat aaccaagtg ctgtatatct	14400
ggctactcag tcagaagtta acgcccgggc aacaaataca ggattcagta actcggtcgt	14460
gactccggaa acattagggt cacgcagagc aacagattca aacctgggtt taatcgagat	14520
tgcaactcag gctgaaacta atgccggaac cgattatacc agagctgtga ctctaaaac	14580
gttgaatgac cgtaaagcaa cagaatcatt atccggcata gccgagattg ctacgcaatc	14640

agaattgat actggcactg atgatactcg tatcgcaacg ccattaaaaa taaaactag	14700
acttaataat actgctcgta cttctgttat tgcagcaagt ggtttagtag aaacagggac	14760
gctctgggac cattatacgc tgaatattct tgaagcaaat gagactcaac gtggcactgc	14820
aagactggct actcaacttg aagttaatac tggactgac gataaaacaa tcgttactcc	14880
gcttaagttg atgtcgaaaa aagccacaga aggcaccgaa ggtattgttc gcatcgctac	14940
tcgcgagaa actatcgag gaacaagttc agttctggct gtttccgg ttagtctgaa	15000
atggattgcg cagtccgaac caacatgggc agcaaccacg acgacccgcg gctttgctaa	15060
gatgtctgaa ggtgcaatta ctttgtcgg taatgcaact gcaggttcga cccaggctct	15120
tgacctgtac gagaaaaata gctatgctat ctctccgtat gagttaaca aaacccttg	15180
taacttcctg ccgcgttag ctaaagccgc agactcggat aaactggata acctggatag	15240
cacgcagttc attcgtcgtg atattgacca aatcgttgaa ggtacattaa cccttagaaa	15300
gaacataaga gttgatggtc agctggcgac tgggtgtacc ggtgaatttg gtggctcgtt	15360
ggctgctaac tccacattta ctatacgtaa cacaggaact ccgacccgta tcgtttcga	15420
aaaaggctct gcatccggtg caaaccgggt tcagtcaatg agcatccgtg tgtggggtaa	15480
ccagtatggt ggcgggtcgg atacgactcg ttctaccgtg ttgaagttg gtgatgaaac	15540
atctaatac tttattcgc aacggaataa tcttggaat attacttta gtatcaacgg	15600
cacagttcaa ccgattaacg ttaatgcatc cggaacattg aatgctaag gtgcggcaac	15660
atttgacgt tcggtgactg cacaaggtga atttataacc tatagtcaa acgcatttag	15720
agctattaat ggacagtacg ggttctttat tcgtaatgat aactcgaaca tctattcat	15780
gcttacaat gcaaatgacc agactggtgg cttaacgga ttaagaccat tagctattag	15840
taatacatct ggccaagtaa cgattggtga aagcttaatc attgccaaag gtgctactat	15900
aaatttgggt ggtttaactg ttaactcgag aattcgttct caggttacta aacctgcgga	15960
cctttattct agaaaaccta atgcagataa taccggttcc tggccgttg acgttaatga	16020
cgaagccact tataagcaat tccctgggta ttcaaaatg gttgaaaaga ctaacgaagt	16080
aactggtctg ccttatttgg agcgtggtga agaagttaa tcacctggta cattgactca	16140

gtttggcaac acgctgaatt cactctatca agactggatt acttatccga atactgctaa	16200
tgcaagcacc actcgttga ctcgtacatg gcagcagaac aaaaacgcat ggtctggtt	16260
tggtcaggtc ttgatggcg gtaaccacc tcagccgtcg gatattggtg cattgcctgc	16320
tgataacgct tcgatgagta acctgactat cagggttgg ttaagaatcg gtaacgtacg	16380
tattgtccg gaccagtaa ctaaaccgt taaattcgaa tggattgata caccataaga	16440
ggattatgg aaagatttat ggctgaattt ggacagggat atgtccaagt tccgtgctt	16500
tctgaaaata acgcagtaag atataaattg tcgattgctg ggactgtac caaatcgcca	16560
aactatccct acgttaagtt tcaagatgag gccttcgggc ctgagaactt ccaaatgga	16620
ttaaacctta ttgagattga ccagtaaca aatacaatca ctgcaaccaa aaactatgt	16680
ttcacaaaag actatgatgt catttcacag gcctttgtga cttatattaa ttccattcca	16740
gcgggtagga ttgtttgtt gatatcgag gggaaattga atgcttcca aactttaat	16799