

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4340227号
(P4340227)

(45) 発行日 平成21年10月7日(2009.10.7)

(24) 登録日 平成21年7月10日(2009.7.10)

(51) Int.Cl.

F 1

C 1 2 N	9/88	(2006.01)	C 1 2 N	9/88	
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	

請求項の数 21 (全 102 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-506479 (P2004-506479)
 (86) (22) 出願日 平成15年5月16日(2003.5.16)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2003/006132
 (87) 国際公開番号 W02003/097821
 (87) 国際公開日 平成15年11月27日(2003.11.27)
 審査請求日 平成18年4月26日(2006.4.26)
 (31) 優先権主張番号 特願2002-142398 (P2002-142398)
 (32) 優先日 平成14年5月17日(2002.5.17)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 502176616
 有限会社バイオコントロール研究所
 三重県桑名市福島969-1 スペリア桑
 名1-1
 (74) 代理人 100114362
 弁理士 萩野 幹治
 (72) 発明者 太田 美智男
 愛知県春日井市石尾台5-10-11
 (72) 発明者 安形 則雄
 愛知県名古屋瑞穂区市丘町2-26
 審査官 松田 芳子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 セレウス菌が産生するセレウリドの合成酵素、それをコードする遺伝子、及びセレウリドの検出方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号1のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号1のアミノ酸配列において全アミノ酸の1パーセント以内に相当する数のアミノ酸が欠失、置換、付加、及び/又は挿入されてなる配列を含有し、かつセレウリド合成活性を有するポリペプチド。

【請求項2】

請求項1に記載されるいずれかのポリペプチドをコードする核酸。

【請求項3】

請求項2に記載の核酸を保有するベクター。

【請求項4】

請求項3に記載のベクターで形質転換された形質転換体(ヒトを除く)。

【請求項5】

配列番号6の塩基配列の中で配列番号7の配列からなる領域における連続する15bp以上の配列、又は前記領域における連続する15bp以上の塩基配列に相補的な配列を含有する核酸。

【請求項6】

配列番号7の塩基配列における連続する15bp以上、又は前記塩基配列に相補的な配列における連続する15bp以上を含有する核酸。

【請求項7】

配列番号8の塩基配列の中で配列番号9の配列からなる領域の塩基配列に相補的な配列

10

20

における連続する15bp以上を含有する核酸。

【請求項 8】

配列番号 9 の塩基配列に相補的な配列における連続する15bp以上を含有する核酸。

【請求項 9】

配列番号 7 の塩基配列からなるDNAを特異的に増幅するように設計された一組の核酸であって、配列番号 7 の塩基配列における連続する15bp以上の配列からなる核酸と、配列番号 7 の塩基配列に相補的な塩基配列における連続する15bp以上からなる核酸と、からなる一組の核酸。

【請求項 10】

請求項 7 に記載の核酸を不溶性支持体に固定してなる固相化核酸。

10

【請求項 11】

配列番号 1 のアミノ酸配列を含有するセレウリド合成酵素に特異的に結合する抗体。

【請求項 12】

配列番号 1 のアミノ酸配列を含有するポリペプチドに結合性を有し、かつ配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチドに結合性を有しない、ことを特徴とする抗体。

【請求項 13】

請求項 5 に記載の核酸を含むセレウリド検出用キット。

【請求項 14】

請求項 9 に記載の一組の核酸と、
DNA増幅用酵素と、及び
DNA合成試薬と、を含むセレウリド検出用キット。

20

【請求項 15】

請求項 11 に記載の抗体と、
抗原抗体反応試薬と、を含むセレウリド検出用キット。

【請求項 16】

検体中の(a)又は(b)の存在を調べる工程、を含むセレウリド検出方法、
(a)配列番号 1 のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号 1 のアミノ酸配列において全アミノ酸の 1 パーセント以内に相当する数のアミノ酸が欠失、置換、付加、及び/又は挿入されてなる配列を含有し、かつセレウリド合成活性を有するポリペプチド

30

、
(b)(a)のいずれかのポリペプチドをコードする核酸。

【請求項 17】

以下の工程を含むセレウリド検出方法、
(i)検体中のDNAを鋳型とし、請求項 9 に記載の一組の核酸を用いてDNA増幅反応を行う工程、
(ii)増幅されたDNAを検出する工程。

【請求項 18】

以下の工程を含むセレウリド検出方法、
(iii)検体中のmRNAを鋳型としてcDNAを調製する工程、
(iv)請求項 9 に記載の一組の核酸を用いてDNA増幅反応を行う工程、
(v)増幅されたDNAを検出する工程。

40

【請求項 19】

以下の工程を含むセレウリド検出方法、
(I)検体を請求項 11 に記載の抗体に接触させる工程、
(II)Iの工程の後、抗原抗体反応物を検出する工程。

【請求項 20】

前処理として以下の工程が行われる、請求項 16 に記載のセレウリド検出方法、
(A)検体をセレウス菌の増菌培地に播種して培養する工程。

【請求項 21】

前処理として以下の工程が行われる、請求項 16 に記載のセレウリド検出方法、

50

- (A)検体をセレウス菌の増菌培地に播種して培養する工程、
 (B)増殖したセレウス菌を溶菌ないし破碎する工程。

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明はセレウス菌 (*Bacillus cereus*) が産生する嘔吐毒 (セレウリド)、及びその検出方法に関する。臨床検査あるいは食品検査などにおけるセレウリドの検出に本発明を利用できる。

背景技術

食品に混入して食中毒の原因となる細菌毒素の中でも黄色ブドウ球菌下痢毒素とセレウス菌嘔吐毒素が熱耐性毒素として加熱処理が無効である事が知られている。食品衛生上極めて重要である黄色ブドウ球菌毒素については検出法が確立されている一方で、セレウス菌嘔吐毒素の検出については現在まで適当な方法が開発されていない。セレウス菌は100、30分の加熱に耐える耐熱性の芽胞を形成するため煮沸によって完全に死滅させるのは困難であり、非加熱食品は固より加熱食品においてもセレウス菌嘔吐毒素による汚染が問題となる。セレウス菌は世界的に食中毒菌として知られ、わが国においても本菌による食中毒が多数報告されている。1994年にはセレウス菌から本嘔吐毒 (セレウリドと命名される) が分離、精製され、その化学構造が決定された (Agata, N., et al FEMS Microbiol. Lett. 121, 31-34 (1994))。これに伴ってセレウリドをHEp-2細胞を利用して検出する方法が開発された (Agata, N., et al FEMS Microbiol. Lett. 121, 31-34 (1994))。

ここで、嘔吐毒素 (セレウリド) の食品及びその他検体中での有無を明らかにすることはHACCPによる食品製造管理上きわめて重要であり、その検出法の開発が世界的に求められてきた。しかしながら、これまでセレウス菌の検出ならびにセレウリド検出を簡便かつ迅速に行う方法は開発されるに至っていない。上記のHEp-2細胞を利用する方法であっても熟練した技術を必要とすることから、簡便かつ正確な検出、及び多数の検体の同時処理が困難なものであった。さらに、検体が患者の嘔吐物、糞便、食品または拭き取り試料の場合、セレウス菌の同定までには増菌培養、分離培養を経て純培養、確認培養に至る操作を行わなければならない。各培養段階に要する時間はそれぞれ18~24時間であり、総所要時間にすると約4日間もの長時間を要する。

本発明は以上の背景の下なされたものであって、セレウリドの検出に利用できるポリペプチド、核酸など、及びこれらを利用した簡便、かつ迅速なセレウリドの検出法を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明者らは上記目的に鑑み鋭意検討を行った。その結果、まずセレウリドの生合成に関与する酵素を見出し、併せてその同定に成功した。この酵素をコードする遺伝子の塩基配列と、セレウリドを産生しないセレウス菌が保有する対応遺伝子との比較を行ったところ、両者の間で相違する配列を見出し、この相違部分を利用してセレウリドの検出が行えるとの知見を得るに至った。本発明は以上の知見に基づきなされたものであって、以下の構成を提供する。

[1] 配列番号1のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号1のアミノ酸配列の一部が改変されてなる配列を含有し、かつセレウリド合成活性を有するポリペプチド。

[2] 配列番号3のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号3のアミノ酸配列の一部が改変されてなる配列を含有し、かつ前記ポリペプチドが有するセレウリド合成に関わる機能構造を保持するポリペプチド。

[3] [1]に記載されるいずれかのポリペプチドをコードする核酸。

[4] [2]に記載されるいずれかのポリペプチドをコードする核酸。

[5] [3]又は[4]に記載の核酸を保有するベクター。

[6] [5]に記載のベクターで形質転換された形質転換体。

[7] 配列番号 6 の塩基配列においてセレウリド合成活性に直接関与する領域の少なくとも一部の配列、又は前記領域の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸。

[8] 配列番号 7 の塩基配列の少なくとも一部、又は前記塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸。

[9] 配列番号 8 の塩基配列においてセレウリド合成活性に直接関与する領域の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸。

[10] 配列番号 9 の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸。

[11] セレウリド合成活性を有するポリペプチドをコードする DNA における、セレウリド合成活性に直接関与する領域の少なくとも一部を含む DNA 領域を特異的に増幅するように設計された一組の核酸。

10

[12] [7] ~ [10] のいずれかに記載の核酸を不溶性支持体に固定してなる固相化核酸。

[13] セレウリド合成酵素に特異的に結合する抗体。

[14] 配列番号 1 のアミノ酸配列を含有するポリペプチドに結合性を有し、かつ配列番号 2 のアミノ酸配列からなるポリペプチドに結合性を有しない、ことを特徴とする抗体。

[15] [7] ~ [10] のいずれかに記載の核酸、[11] に記載の一組の核酸、又は [12] に記載の固相化核酸を含むセレウリド検出用キット。

[16] [11] に記載の一組の核酸と、

20

DNA 増幅用酵素と、及び

DNA 合成試薬と、を含むセレウリド検出用キット。

[17] [13] 又は [14] に記載の抗体と、

抗原抗体反応用試薬と、を含むセレウリド検出用キット。

[18] 検体中の (a) 又は (b) の存在を調べる工程、を含むセレウリド検出方法、
(a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号 1 のアミノ酸配列の一部が改変されてなる配列を含有し、かつセレウリド合成活性を有するポリペプチド、

(b) (a) のいずれかのポリペプチドをコードする核酸。

[19] 以下の工程を含むセレウリド検出方法、

30

(i) 検体中の DNA を鋳型とし、[11] に記載の一組の核酸を用いて DNA 増幅反応を行う工程、

(i i) 増幅された DNA を検出する工程。

[20] 以下の工程を含むセレウリド検出方法、

(i i i) 検体中の mRNA を鋳型として cDNA を調製する工程、

(i v) [11] に記載の一組の核酸を用いて DNA 増幅反応を行う工程、

(v) 増幅された DNA を検出する工程。

[21] 以下の工程を含むセレウリド検出方法、

(I) 検体を [13] 又は [14] に記載の抗体に接触させる工程、

(I I) I の工程の後、抗原抗体反応物を検出する工程。

40

[22] 前処理として以下の工程が行われる、[18] ~ [21] のいずれかに記載のセレウリド検出方法、

(A) 検体をセレウス菌の増菌培地に播種して培養する工程。

[23] 前処理として以下の工程が行われる、[18] ~ [21] のいずれかに記載のセレウリド検出方法、

(A) 検体をセレウス菌の増菌培地に播種して培養する工程、

(B) 増殖したセレウス菌を溶菌ないし破碎する工程。

尚、本発明における DNA は 2 本鎖 DNA に限らず、それを構成する 1 本鎖 DNA (センス鎖及びアンチセンス鎖) を含む意味で用いられる。また、本発明の DNA にはコドンの縮重を考慮した任意の塩基配列を有する DNA が包含される。さらにはその形態も限定さ

50

れず、cDNA、ゲノムDNA、合成DNAが含有される。

また、本発明においてポリペプチドとは広義のポリペプチドを意味し、即ち複数のアミノ酸がペプチド結合をしたものを包括する表現として使用され、オリゴペプチド、狭義のポリペプチド、及びタンパク質を包含する。

本発明においては、セレウス菌が産生する嘔吐毒をセレウリドと称することとする。

発明を実施するための最良の形態

本発明の第1の局面はセレウリド合成活性を有するポリペプチド(以下、「セレウリド合成酵素」ともいう)に関する。本発明で提供されるセレウリド合成酵素は配列番号1のアミノ酸配列を含有する。この酵素は後述の実施例で示される様にセレウス菌のcDNAライブラリーを用いて同定された。セレウス合成酵素はセレウリドの合成に関与し、セレウリドを産生するセレウス菌においてのみ見いだされる。したがって、検体中における当該酵素の存在はセレウリド産生の有無を反映したものとなる。このようにセレウリド合成酵素はセレウリド検出の指標となる点で有用である。

一方、セレウリド合成酵素に特異的に結合する抗体が得られれば、これを利用して免疫学的方法により当該酵素の検出、即ちセレウリドの検出が可能となる。そこで、このような抗体を作製するための免疫源(抗原)として利用できる点においても本発明で提供されるポリペプチド(セレウリド合成酵素)は有用である。

ここで、配列番号1のアミノ酸配列の一部が改変されてなるアミノ酸配列を含有するポリペプチド(以下、「改変ポリペプチド」という)であってもセレウリド合成活性を有する限り、上記のポリペプチドと同様にセレウリドの検出などに利用することができる。このようなポリペプチドの例としては、配列番号1のアミノ酸配列を含有するポリペプチドにおいて、セレウリド合成活性に関与する立体構造が保存されているポリペプチドが挙げられる。

ここでの「アミノ酸配列の一部が改変されてなる」とは、アミノ酸配列において1又は複数のアミノ酸が欠失、置換、付加、及び/又は挿入されてなることを意味する。セレウリド合成活性を保持する限り、アミノ酸配列の改変(変異)位置は特に限定されず、また複数の位置で改変が生じていてもよい。改変にかかるアミノ酸数は、例えば全アミノ酸の10%以内に相当する数であり、好ましくは全アミノ酸の5%以内に相当する数である。さらに好ましくは全アミノ酸の1パーセント以内に相当する数である。以上のような改変ポリペプチドは公知の遺伝子工学的手法を用いて作製することができる。

後述の実施例で示されるように配列番号1のアミノ酸配列からなるポリペプチドは4つのドメインから構成されていると考えられる。本発明においてはこれらのドメインを便宜上N末端側から順にCRS1、CRS2、CRS3、及びCRS4と称する。本発明者らの検討した結果によればセレウリド産生菌に特徴的なのはCRS3(1805番目~2824番目のアミノ酸配列)及びCRS4(2825番目~3704番目のアミノ酸配列)であった。従って、これらのドメインがセレウリド生合成に直接関与していると考えられた。このことから、これらいずれか又は両者を含有するポリペプチドがセレウリド合成酵素に特異的な抗体を作製するために特に有効な抗原になるものと考えられる。そこで、本発明は配列番号3、配列番号4、又は配列番号5に記載されるアミノ酸配列を含有するポリペプチドをも提供するものである。尚、これらのポリペプチドにおいて、それが有するセレウリド生合成に関わる機能構造を保持する限り一部のアミノ酸が改変されていてもよい。

尚、特に限定しない限り、以下の説明において「セレウリド生合成に直接関与している領域」といった場合には配列番号1のアミノ酸配列において1805番目~3704番目の領域、即ちCRS3及びCRS4(DNAの場合にはCRS3及びCRS4をコードするDNA領域)を意味する。

本発明のポリペプチドの中で自然界に存在するものは抽出、精製等の操作を経ることにより、天然のポリペプチドとして調製することができる。例えば、セレウリドを産生するセレウス菌の菌体内から調製することができる。

また、本発明のポリペプチド(改変ポリペプチドを含む)は遺伝子工学的手法を用いて組

10

20

30

40

50

換えポリペプチドとして調製することもできる。即ち、本発明のポリペプチドをコードするDNAを適当な宿主細胞に形質転換し、形質転換体内で発現されたポリペプチドを回収することにより調製することができる。回収されたポリペプチドは目的に応じて適宜精製される。組換えポリペプチドとして調製する場合には種々の修飾が可能である。例えば、本発明のポリペプチドをコードするDNAと他の適当なDNAとを同時にベクターに挿入し、本発明のポリペプチドと当該他のDNAがコードするペプチドないしポリペプチドとが連結された組換えポリペプチドを得ることができる。このような修飾により、組換えポリペプチドの抽出、精製の簡便化、又は生物学的機能の付加が可能である。

本発明のポリペプチドは化学合成により調製することもできる。例えば、周知のペプチド合成方法である固相法等により合成することができる。

10

本発明の第2の局面は上記本発明のポリペプチドをコードする核酸を提供する。このような核酸の具体例としては、配列番号6又は配列番号7の塩基配列を有するDNA、或は配列番号8又は配列番号9のRNAを挙げることができる。またはこれらのDNA等において一部が改変されてなるDNA等を挙げることができる。ここでの「一部が改変されてなる」とはDNA又はRNAを構成する塩基の一部が欠失、置換、挿入若しくは付加されていることを意味する。改変にかかる塩基数は、例えば1~100個、好ましくは1~20個、更に好ましくは、1~10個である。

本発明の核酸はセレウリドを検出する際の試料として利用でき、即ちセレウリドの有無についての指標を与える点で有用である。また、上記本発明のポリペプチドに結合する抗体、即ちセレウリドの検出に利用できる抗体を作製するために抗原を調製する過程で利用できる点で有用である。

20

以上の核酸は、適当なゲノムDNAライブラリー又はcDNAライブラリー、或はセレウリド産生菌の菌体内抽出液から、セレウリド合成酵素をコードする遺伝子(配列番号6の塩基配列を有するDNA)に特異的にハイブリダイズ可能なプローブ、プライマーなどを適宜利用して調製することができる。また、セレウリド合成酵素をコードする遺伝子の少なくとも一部を鋳型とし、dNTP(dATP、dGTP、dCTP、dTTP)を原料としてPCR法などにより合成することもできる。

本発明のDNAを調製するために用いるゲノムDNAライブラリー又はcDNAライブラリーは、例えばセレウス菌NC7401株から常法に従って作製することができる。

本発明は上記本発明のDNA(改変DNAを含む)を保持するベクターも提供する。本発明のDNAを保持し得るものであれば、いかなるベクターを使用することも可能であるが、使用目的(クローニング、ポリペプチドの発現)に応じて、また宿主細胞の種類を考慮して適当なベクターを選択することが好ましい。本発明のDNAのベクターへの挿入は、例えば制限酵素及びDNAリガーゼを用いた周知の方法(Molecular Cloning, Third Edition, 1.84, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)により行うことができる。

30

本発明は更に上記本発明のDNA(改変DNAを含む)を保持する形質転換体を提供する。即ち、本発明のDNAで宿主細胞を形質転換して得られる形質転換体に関する。例えば、本発明のDNAをリン酸カルシウム法、エレクトロポレーション(Potter, H. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81, 7161-7165 (1984))、リポフェクション(Felgner, P. L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 7413-7417 (1984))、マイクロインジェクション(Graessmann, M. & Graessmann, A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 73, 366-370 (1976))等の公知の遺伝子導入方法により宿主細胞に導入して形質転換させることができる。また、上記本発明のベクターで宿主細胞を形質転換して本発明の形質転換体を得ることもできる。目的に応じて種々の宿主細胞を用いることが可能であり、例えば、大腸菌等の原核細胞、酵母等の真核細胞を用いることができる。大腸菌の系を利用する場合にはpET-3cやpET-8cなどのpETベクター(Novagen社)、pBADプラスミド(Invitrogen社)、pGEXプラスミド(Amersha

40

50

m P h a r m a c i a b i o t e c h社)などを発現ベクターとして使用できる。本発明の形質転換体を適当な条件で培養することにより、本発明のDNAの発現産物(ポリペプチド)を大量に生産することが可能であり、この発現産物は例えばセレウリド合成酵素の検出に利用可能な抗体の作製に利用できる。尚、数個のヒスチジンからなるHis - T a g、 - D - ガラクトシダーゼ、G S T (グルタチオンS - トランスフェラーゼ)、チオレドキシン、マルトース結合タンパク、M y c、X p r e s s、F L A G等のタグ分子との融合タンパク質(ペプチド)として発現させることにより、発現産物の精製を容易に行うことができる。

本発明の第3の局面はセレウリドの検出方法に関し、検体中における次の(a)又は(b)の存在を調べる工程を含むことを特徴とする。(a): 配列番号1のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、又は配列番号1のアミノ酸配列の一部が改変されてなる配列を含有し、かつセレウリド合成活性を有するポリペプチド、又は(b): (a)のいずれかのポリペプチドをコードする核酸である。尚、検体中におけるセレウリドの存在は、即ちセレウリドを産生するセレウス菌の存在を意味することから、本発明における「セレウリドの検出方法」は「セレウリドを産生するセレウス菌の検出方法」と同義なものとして使用される。

(a)の存在を調べる方法は特に限定されないが、検出対象のポリペプチドに特異的な抗体を利用した免疫学的方法を利用することができる。

同様に、(b)の存在を調べる方法も特に限定されず、例えば検出対象のポリペプチドをコードする核酸に特異的な核酸プライマー及び/又は核酸プローブを利用した方法や、セレウリド合成酵素に特異的な領域を特異的に増幅するように設計された一組のプライマー(核酸)を用いたPCR法(ポリメレースチェーンリアクション)及びその変法や応用方法(PCR - R F L P (r e s t r i c t i o n f r a g m e n t l e n g t h p o l y m o r p h i s m : 制限酵素断片長多型)法、RT - PCR (r e v e r s e t r a n s c r i p t a s e P C R) 法など)、サザンブロットハイブリダイゼーション法、ドットハイブリダイゼーション法(Southern, E., J. Mol. Biol. 98, 503 - 517 (1975))、ノーザンブロット法等を利用することができる。

本発明で提供されるセレウリド検出方法のより具体的な例を以下に示す。まず、PCR法等の核酸増幅反応を利用した例として、(i)検体中のDNAを鋳型とし、セレウリド合成活性を有するポリペプチドをコードするDNA(例えば配列番号6の塩基配列からなるDNA)における、セレウリド合成活性に直接関与する領域(例えば配列番号7の塩基配列からなるDNA領域)の少なくとも一部を含むDNA領域を特異的に増幅するように設計された一組の核酸を用いてDNA増幅反応を行う工程、及び(ii)増幅されたDNAを検出する工程を含む方法を挙げることができる。また、RT - PCR法を利用した方法として、(iii)検体中のmRNAを鋳型としてcDNAを調製する工程、(iv)セレウリド合成活性を有するポリペプチドをコードするDNAにおける、セレウリド合成活性に直接関与する領域の少なくとも一部を含むDNA領域を特異的に増幅するように設計された一組の核酸を用いてDNA増幅反応を行う工程、及び(v)増幅されたDNAを検出する工程を含む方法を挙げることができる。

一組のプライマーによって規定される増幅領域はPCR法等によって増幅され得る大きさである必要があるため、4,000bp程度以下であることが好ましい。一方、増幅領域が小さ過ぎる場合には増幅産物とプライマーのダイマーとを区別し難くなるため、50bp以上であることが好ましい。さらに、効率的に増幅させるためには増幅領域が100bp ~ 1,000bpの大きさであることが好ましい。

PCR法等における2本鎖核酸を熱変性させる際の温度としては例えば約90 ~ 約95であり、プライマーをハイブリダイズさせるアニーリング時の温度としては例えば約37 ~ 約65であり、重合反応時の温度としては例えば約50 ~ 80である。PCR法及びその変法などにおいてはこれら熱変性、アニーリング、重合を1サイクルとして増幅産物が検出可能な程度になるまで繰り返される。増幅産物の検出はアガロース電気泳

10

20

30

40

50

動を利用して行うことができる。即ち、酵素反応液をアガロース電気泳動にかけることにより増幅された核酸断片の存在及びその長さを確認することができる。この電気泳動の結果から検体中にプライマーが認識する配列を有する核酸が存在しているかどうかを判定することができる。これによってセレウリドの存在の有無、即ちセレウリドを産生するセレウス菌の存在の有無を判定することができる。増幅産物の検出にはアガロース電気泳動に限らず、その他の電気泳動や各種のクロマトグラフィーを利用することができる。

本発明のセレウリド検出方法において利用できる核酸（プライマー用又はプローブ用）としては、セレウリド合成酵素をコードする遺伝子の特異的に検出することに利用できるものであれば特に限定されず、例えば配列番号6の塩基配列においてセレウリド合成活性に直接関与する領域の少なくとも一部の配列を含有する核酸、又は前記領域の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸を挙げることができる。ここで「セレウリド合成活性に直接関与する領域」とは、上記のように具体的にはCRS3及びCRS4をコードする領域を意味し、即ち配列番号7の塩基配列を有する領域である。検体中のmRNAを検出対象として利用する場合においても同様に、配列番号8の塩基配列においてセレウリド合成活性に直接関与する領域の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸をセレウリド検出方法に利用することができる。より具体的には配列番号9の塩基配列に相補的な配列の少なくとも一部を含有する核酸を例示することができる。

プローブ、プライマーには、解析方法に応じて適宜DNA断片又はRNA断片が用いられる。プローブ、プライマーの塩基長はそれぞれの機能が発揮される長さであればよく、選択性や検出感度及び再現性を考慮すれば、プライマーの塩基長としては10bp以上、好ましくは15bp以上、具体的には10～30bp程度、好ましくは15～25bp程度である。

尚、プライマーの場合には増幅対象に特異的にハイブリダイズし、目的のDNAフラグメントを増幅することができる限り鑄型となる配列と多少のミスマッチがあってもよい。ミスマッチの程度としては、1～数个、好ましくは1～5個、更に好ましくは1～3個である。プローブの場合も同様に、検出に影響のない範囲で検出対象の配列に対して多少のミスマッチがあってもよい。

PCR法等の特定DNA領域の増幅を伴う方法を用いたセレウリド検出方法に利用できる核酸（プライマーセット）の具体例を以下に示す。

プライマーセット1

センス鎖用プライマー：5'-GGTGAATTGTGTCTGGGAGG-3'（配列番号10）

アンチセンス鎖用プライマー：5'-ATTTTTATTAAGAGGCAATG-3'（配列番号11）

プライマーセット2

センス鎖用プライマー：5'-GTCAAGATAAGAGGCTTCCGAATT-3'（配列番号12）

アンチセンス鎖用プライマー：5'-AATGGAATGACCACCAAGCT-3'（配列番号13）

プライマーセット3

センス鎖用プライマー：5'-AGGAAGTTCCGTTTGTGGAC-3'（配列番号14）

アンチセンス鎖用プライマー：5'-CACATAACCTTTTGCACCTC-3'（配列番号15）

プライマーセット4

センス鎖用プライマー：5'-GGCGAACTATGTGTTGGTGG-3'（配列番号16）

アンチセンス鎖用プライマー：5'-TAAAGAGTCACCACCATAAG-3'（配列番号17）

プライマーセット5

センス鎖用プライマー：5'-ACGTCAGGCAGTACTGGAAA-3'（配列番号18）

アンチセンス鎖用プライマー：5'-TTCGATGCGGAATCCACGAA-3'（配列番号19）

本発明における核酸（プライマー、プローブ）はホスホジエステル法など公知の方法によ

10

20

30

40

50

って合成することができる。また、プローブとして用いられる場合の標識物質、標識方式は公知のものを採用することができる。ここでの標識物質としては³²Pなどの放射性同位元素、フルオレセインイソチオシアネート、テトラメチルローダミンイソチオシアネートなどの蛍光物質を例示でき、標識方法としてはアルカリホスファターゼ及びT4ポリヌクレオチドキナーゼを用いた5'末端標識法、T4DNAポリメラーゼやKlenow断片を用いた3'末端標識法、ニックトランスレーション法、ランダムプライマー法(Molecular Cloning, Third Edition, Chapter 9, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York)などを例示できる。

次に、免疫学的方法を利用したセレウリドの検出方法について説明する。免疫学的方法を利用したセレウリドの検出方法としては、I) 検体をセレウリド合成酵素に特異的な抗体に接触させる工程、及びII) Iの工程の後、抗原抗体反応物を検出する工程(工程II)を含む方法を例示することができる。ここでの「セレウリド合成酵素に特異的な抗体」とは、セレウリド合成酵素に特異的な結合性を有する抗体を意味し、具体例としては配列番号1のアミノ酸配列を含有するポリペプチドに結合性を有し、かつ配列番号2のアミノ酸配列からなるポリペプチドに結合性を有しない抗体を挙げるることができる。使用できる抗体のクラスは特に限定されず、例えばIgGクラス、IgMクラス等に分類される抗体が用いられる。また、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、dsFv等の抗体断片を用いることもできる。

ここで、測定方法としては例えばELISA(酵素結合免疫吸着定量法)法、ラジオイムノアッセイ、FACS、免疫沈降法、イムノプロットング等の定性的又は定量的な方法が挙げられる。また、抗原抗体反応の種類としては、セレウリド合成酵素に特異的な抗体に対して検体中のセレウリド合成酵素と別途添加したセレウリド合成酵素とを競合的に反応させる方法(競合法)、及び競合的に反応させない方法(非競合法)のいずれを採用することもできる。

セレウリド合成酵素に特異的な抗体としてモノクローナル抗体を用いることが好ましい。モノクローナル抗体の特異性の高さにより、高感度の測定が可能となるからである。また、セレウリド合成酵素に特異的かつ互いに異なるエピトープを認識する2種類の抗体を用いたサンドイッチ法を利用することが感度、特異性の面で好ましい。

抗体は固相化して用いることができる。固相化に用いる不溶性支持体としては、例えばポリスチレン樹脂、ポリカーボネート樹脂、シリコン樹脂、ナイロン樹脂等の樹脂や、ガラス等の水に不溶性の物質が用いられ、特にその材質は限定されない。この不溶性支持体への抗体の担持は物理吸着又は化学吸着によって行うことができる。

免疫学的測定法において使用できる標識物質としてはペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコース-6-リン酸脱水素酵素、及びマイクロペルオキシダーゼなどの酵素、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、テトラメチルローダミンイソチオシアネート(TRITC)、及びユーロピウムなどの蛍光物質、ルミノール、イソルミノール、及びアクリジニウム誘導体などの化学発光物質、NADなどの補酵素、ビオチン、並びに¹²⁵I、及び¹³¹Iなどの放射性物質などが標識物質として用いられる。特に、ビオチンを標識物質として用い、蛍光色素や酵素で標識したアビジン(例えばアビジンペルオキシダーゼ)を反応させる方法によれば、より高感度の測定が可能である。

セレウリド合成酵素に特異的に結合するモノクローナル抗体は常法によって取得することができる。以下にモノクローナル抗体の作製方法の一例を示す。まずセレウリド合成酵素を取得し、これを抗原としてマウス等の動物に免疫する。その後、免疫された動物から抗体産生細胞を摘出し、これと骨髓腫細胞とを融合してハイブリドーマ細胞を得る。続いて、このハイブリドーマをモノクローナル化した後、セレウリド合成酵素に特異的に結合する抗体を産生するクローンを選択する。

抗原としては、セレウリドを産生するセレウス菌の菌体内から分離、精製されたセレウリド合成酵素を用いることができる。また、セレウリド合成酵素をコードする塩基配列を用

10

20

30

40

50

い、大腸菌等による発現系を利用して得られる組換えポリペプチドを用いることもできる。

免疫方法としては、例えば上記抗原をフロインド完全あるいは不完全アジュバンドと混合してエマルジョン化し、マウス等の腹腔内、皮下又は筋肉に一定の間隔をおいて数回注射する方法を採用することができる。免疫する動物としてはマウスの他、ラット、ハムスター、ウサギ、モルモット、ニワトリ、ヒツジ、ヤギ等を用いることができる。免疫が完成した後、免疫した動物の脾臓を採り出し、抗体産生細胞を取得する。抗体産生細胞をリンパ節、末梢血液などから採取することもできる。

使用する骨髄腫細胞の種類は特に限定されず、免疫に用いる動物との関係で適宜適切なものが選択される。抗体産生細胞と同種の動物由来の骨髄腫細胞を用いることが好ましく、例えば、マウスを用いた場合にはミエローマ細胞株 P A I を用いることができる。細胞融合は、例えば一定割合で抗体産生細胞と骨髄腫細胞を混合し、ここへポリエチレングリコールを加えて攪拌処理することにより行われる。また、電気パルスを用いて細胞融合をすることもできる。

細胞融合が行われたハイブリドーマのみを選択するには、一般的な H A T 培地（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジンを所定の割合で含有した選択培地）を用いた方法を用いることができる。ハイブリドーマを含む培養液は後の選択のために 9 6 w e l l p l a t e 等の容器内で生育される。

次に、各容器内の培養上清を採取し、セレウリド合成酵素に対する抗体を産生しているハイブリドーマをセレウリド合成酵素を用いた E L I S A 法等により選択する。抗体陽性の容器内のハイブリドーマは限界希釈法によりクローニングし、モノクローナル化されたハイブリドーマ細胞株が得られる。

ハイブリドーマの培養液を精製することにより所望の抗体を取得することができる。また、ハイブリドーマを所望数以上に増殖させた後、これを動物（例えばマウス）の腹腔内に移植し、腹水内で増殖させて腹水を精製することにより所望の抗体を取得することもできる。上記培養液の精製又は腹水の精製には、プロテイン G、プロテイン A 等を用いたアフィニティークロマトグラフィーが好適に用いられる。また、抗原を固相化したアフィニティークロマトグラフィーを用いることもできる。更には、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、硫酸分画、及び遠心分離等の方法を用いることもできる。これらの方法は単独ないし任意に組み合わせられて用いられる。

以上の方法により得られた抗体がセレウリド合成酵素を特異的に認識するか否かは、例えばセレウリド合成酵素を固相化したプレートを用いた E L I S A 法により確認することができる。

本発明のセレウリド検出方法において利用される核酸（プライマー又はプローブ）を不溶性支持体に固定化して用いることができる。同様に、本発明のセレウリド検出方法において利用される抗体を不溶性支持体に固定化して用いることもできる。固定化に使用する不溶性支持体をチップ状、ビーズ状などに加工しておけば、これら固定化核酸又は固定化抗体を用いて検体中のセレウリドの検出を簡便に行うことができる。

本発明の更なる局面はセレウリドの検出に利用できるキットを提供する。即ち、セレウリドの検出に利用される核酸（一組の核酸、固相化核酸を含む）を用いてセレウリド検出用キットを構築することができる。セレウリド検出用キットにはこれらの核酸の他、核酸増幅用酵素（例えば P C R 法に使用される D N A 合成酵素）や基質となる核酸（d A T P、d C T P、d G T P、d T T P）、反応用試薬などを含めることができる。また、標準物質としてセレウリド合成酵素（部分精製品でもよい）、セレウリド産生菌株の菌体内抽出物（一部精製したものでよい）を含めることができる。

以上のセレウリド検出用キットによれば検体中の核酸をターゲットとしてセレウリドが検出されるが、検体中のポリペプチド、即ちセレウリド合成酵素をターゲットとしてセレウリドを検出するためのキットを構築することもできる。このようなキットには上記のセレウリド合成酵素に特異的な抗体（固相化抗体を含む）が含有される。その他、当該抗体に結合する 2 次抗体、抗原抗体反応用試薬（緩衝液、発色基質、発色試薬、発色反応停止液

10

20

30

40

50

等)などを含めてキットを構成することもできる。また、標準物質としてセレウリド合成酵素(部分精製品でもよい)、セレウリド産生菌株の菌体内抽出物(一部精製したものでよい)を含めることができる。

本発明のセレウリド検出方法に供する検体は特に限定されず、例えば各種食品、ヒト若しくは動物の嘔吐物若しくは糞便、又は拭き取り試料などを検体として用いることができる。これらの検体は予めリゾチーム等の酵素による処理、加圧処理、加熱処理又は超音波処理等に供される。これらの処理によって検体中の菌体が溶菌ないし破碎される。但し、検体を採取した時点で検体中のセレウス菌の細胞膜が破碎されていることを期待できる場合には、当該溶菌処理などは必須ではない。

ここで、検査対象からサンプリングした試料をセレウス菌の増殖培地(選択培地)を用いて予め培養しておくことが好ましい。この培養工程を採用することにより、より信頼性の高い検出を行うことができる。

尚、検査対象が液状の場合にはサンプリングした試料を直接溶菌などの処理や培養工程に用いることもできるが、検査対象が固体状の場合には一旦適当な溶媒を用いて菌体の抽出を行った後にこれらの処理に用いることが好ましい。

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明する。

<実施例1> セレウス菌ゲノムDNAライブラリーからの嘔吐毒(セレウリド)合成酵素遺伝子のクローニング

セレウス菌NC7401株(名古屋市衛生研究所、国立医薬品食品衛生研究所に保管)からEMBL3(プロメガ社製)を用いてファージライブラリーを作製した。得られた約400個の白色プラークをスクリーニングし、リボゾームを介さないアミノ酸合成酵素に特異的に保存されている領域であり、BSC I(GGAATTCCTTAAAGCIGGAGGAGCITATGTGCCGCTTGATCC:配列番号20)及びII(GGAATTCCTTTIGGITTTICCGTTGTICCGAIGTGTAAAT:配列番号21)をプライマーとして(Kathrin, M., et al., FEMS Microbiol. Lett. 135, 295-303(1996))特異的に増幅されるDNA断片を用いてサザンハイブリダイゼーション法による分析を行った。尚、鑄型としてNC7401株の染色体DNAを用い、BSC I及びIIをプライマーとしたPCR法によって増幅されるDNA断片をディグラベリングキット(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社製)でラベルしたプローブを用いた。分析の結果、発現量が大きなインサート(挿入)DNAを複数選択し、それぞれを制限酵素SalIで切り出し、クローニングベクターpHSG299(宝酒造株式会社製)のマルチクローニング部位にサブクローニングした。

<実施例2> 嘔吐毒(セレウリド)合成酵素cDNAの配列解析

サブクローニングされた各DNA断片の配列をオートシーケンサー(アプライドバイオシステム社製)を用いたサイクルシーケンス反応によって解析した。重複する配列を考慮して各DNA断片の配列情報を分析することにより、セレウリド合成酵素の全長のDNA配列及びアミノ酸配列が決定された(配列番号1)。この配列を詳細に検討したところ、セレウリド合成酵素はそれぞれ一つのアミノ酸を合成する4つのドメインから構成されており、N末端側の2つのドメインはセレウリドを産生しないセレウリド菌株にも広く保存されているが、c末端側の2つのドメインはセレウリドを産生する菌株に特異的なものであった。

<実施例3> PCR法を利用したセレウリドの検出

(3-1) 検体の調製

図1の表に示したセレウス菌(セレウリド産生株及び非産生株を各5株)から以下の手順に従って検体を調製した。対照群としてはパチルス・スリンギエネシス(*Bacillus thuringiensis*)、パチルス・サブチリス(*Bacillus subtilis*)を用いた。

各菌体をそれぞれ適当な増菌培地(LB培地)に接種し、37℃、好気条件下で一晩培養を行い、培養後の培地1.5mlから遠心操作により菌体を回収した。回収された菌体を

10

20

30

40

50

10 mM トリス - 塩酸緩衝液 (pH 7.5) で1回洗浄した後、同緩衝液にリゾチームを 1 mg / ml となるように溶解した溶液 0.5 ml に懸濁させた。この状態で 37、10 分間放置することにより溶菌させた。続いて、溶菌液に上記緩衝液で飽和させたフェノールを等量加え、十分に攪拌した。遠心処理の後、上層液を回収し、エタノール沈澱処理を行って核酸成分を沈澱させた。得られた沈澱物を上記緩衝液 1 ml に溶解し、これを以下の検出方法における検体とした。

(3-2) PCR用プライマーの合成

配列番号6に示されるセレウリド合成酵素の塩基配列情報を基にセレウリド産生株に特異的な配列を選び、以下に示すプライマー(オリゴヌクレオチド)を化学合成した。

センス鎖用プライマー: 5'-GGTGAATTGTGTCTGGGAGG-3' (配列番号10)

10

アンチセンス鎖用プライマー: 5'-ATTTTTATTAAGAGGCAATG-3' (配列番号11)

(3-3) PCR法

上記の各検体 3 µl に滅菌蒸留水 16.05 µl、10×反応用バッファーを 3 µl、dNTP 溶液を 4.8 µl、センス鎖用プライマーを 1.5 µl、アンチセンス鎖用プライマーを 1.5 µl、及び耐熱性DNAポリメラーゼを 0.150 µl 加えて全量約 30 µl の反応液を調製した。尚、10×反応用バッファーの組成は 500 mM KCl、100 mM Tris-HCl (pH 8.3)、15 mM MgCl₂、0.1% (w/v) ゼラチンであり、dNTP 溶液は各終濃度が 1.25 mM となるように dATP、dCTP、dGTP、及び dTTP を混合させた溶液である。また、各プライマーは(3-2) で得られた化学合成精製品の水溶液 (50 DU/ml) である。耐熱性DNAポリメラーゼには Taq DNAポリメラーゼ (5 unit/ml: Perkin Elmer Cetus 社製) を用いた。

20

PCRの反応条件は次の通りとした。即ち、熱変性: 94 1分間、アニーリング: 55、1分間、重合反応: 72、1分間である。熱変性からアニーリングを経て重合反応に至る過程を1サイクルとし、これを35サイクル行った。尚、PCR反応はDNAThermal Cycler (Perkin Elmer Cetus 社製) を用いて行った。

(3-4) PCR増幅産物の検出

PCR反応液から増幅されたDNA断片を検出するため、以下の条件でアガロース電気泳動を行った。アガロースゲルとしてゲル濃度2% (w/v) のものを用いた。泳動後のゲルの染色は臭化エチジウム (0.5 µg/ml) を用いて行った。電気泳動の条件は印加電圧100V、泳動時間30分とした。その他の泳動条件及び操作方法はMolecular Cloning, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York に記載されている方法に従った。

30

図1に染色後のゲルを示す。図1において左のレーンから順にNC7401株、NC-T株、NC-G15株、NC327株、NC-1-55株(以上、セレウリド産生株)、ATCC14579株、B-4ac株、PHLS2668株、PHLS4433株、NC1225株(以上、セレウリド非産生株)、バチルス・スリングエネシス(HD73)、及びバチルス・サブチリス(ATCC21332)のPCR反応後の溶液を電気泳動した結果である。図1に示されるように、セレウリド産生株(レーン1~5)では約450bpのPCR増幅産物が得られているのがわかる。一方、セレウリド非産生株やバチルス・スリングエネシスHD73及びバチルス・サブチリスATCC21332ではこのPCR増幅産物に相当するバンドは検出されなかった。以上の結果から、本実施例の方法によってセレウリド産生株の検出、即ちセレウリドの検出を特異的に行えることが確認された。

40

<実施例4> PCR法を利用したセレウリド産生セレウス菌の微量検出

(4-1) 検体のDNA量算定

図1の表に示したセレウス菌NC7401株を用いて、実施例3の(3-1)に示した方法で検体を調製し、精製DNA標品を得た。そして、この標品中のDNA量を波長260

50

nmの吸光度を測定することにより算定した。

(4-2) PCR増幅産物の検出

(4-1)で求めたDNA量を参考にして検体を希釈してDNA量がそれぞれ300ng(分子数:約 1×10^2)、30ng(分子数:約 1×10^1)、3ng(分子数:約1)、0.3ng(分子数:約 1×10^{-1})含まれる試料を調製した。これらの試料を用いて実施例3の(3-2)及び(3-3)に示した方法でPCR反応を行い、続いて(3-4)に示した方法でPCR増幅産物の検出を行った。図2に各PCR増幅産物を電気泳動したゲルの染色後の状態を示す。レーン番号1、2、3、及び4は300ng、30ng、3ng、及び0.3ngの試料からのPCR増幅産物をそれぞれ電気泳動したレーンである。レーン3、即ち3ngのDNAを含む試料を用いた場合においても目的とするバンドを確認することができる。これは、セレウス菌染色体の1~数分子相当のDNA量を検出していることを意味し、このことから、理論的には数個程度のセレウリド産生セレウス菌が検体中に存在していればその存在、即ちセレウリドの検出を行うことができるといえる。

10

この発明は、上記発明の実施の形態及び実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

産業上の利用の可能性

本発明によりセレウス菌が産生する嘔吐毒(セレウリド)のアミノ酸配列及び塩基配列が提供される。これにより、核酸プローブや抗体を用いたセレウリドの検出が可能となる。セレウリドに特異的な抗体や核酸プローブを用いることにより、簡便かつ迅速にセレウリドを検出可能となる。実施例に示した本発明の検出方法の一例では、検体中の核酸を増幅する反応に約3時間、その後の検出結果を得るまでに約30分であり、現在まで検出不可能であったセレウリドを極めて短時間に検出が行えた。

20

また、本発明の方法によれば高感度にセレウリドを検出することができる。このことは少量の検体からの検出も可能であること、及び検体の前処理を簡便化できることをも意味する。さらに、本発明のセレウリド検出方法では、セレウリドを直接検出するのではなく、セレウリド合成酵素の有無を調べ、その結果からセレウリドが検体中に存在するかを判別する。セレウス菌の中でセレウリドを産生する株に共通する特徴として、本発明において同定されたセレウリド合成酵素活性を有しており、即ちセレウリド産生株は必然的にセレウリド合成酵素遺伝子を有すると考えられる。しかも、他の生物種で、セレウリドと同一の毒素を産生するものは知られていないことから、セレウリド合成酵素又はそれをコードする遺伝子を検出対象とすることにより、検体中のセレウリドの存在(セレウリド産生菌の存在)を選択的ないし特異的に検出することが可能となる。したがって、信頼性の高い結果が得られ、食品検査、臨床検査に適したものとなる。

30

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Bio Control Institute Limited
 OHTA, Michio
 AGATA, Norio

<120> A cereulide synthetase, a gene thereof, and a detection method for cereulide.

<130> P0202401

<150> JP P2002-142398

<151> 2002-05-17

10

<160> 21

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 3704

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 1

20

Phe Ile Lys Ser Met Asn Gln Leu Gly Lys Ser Lys Asn Leu His Asn
 1 5 10 15

Gly Gly Met Met Glu Met Lys Arg Val Glu Glu His Asp His Ile His
 20 25 30

Val Leu Asn Glu Ile Glu Asn Glu Cys Glu Arg Arg Tyr Gly Arg Ser
 35 40 45

Asn Ile Ala Ile Met Leu Glu Lys His Gly Val His Glu Gln Pro Leu
 50 55 60

30

His Ile Glu Asp Leu Phe His Glu Val Glu Met Gln Glu His Ser Arg
 65 70 75 80

al Ser Arg His Glu Thr Val Leu Met Thr Asp Lys Gln Cys Ile Asp
 85 90 95

Glu Ser Gly Lys Pro Leu Ala Leu Arg Phe Gly Glu Pro Leu His Leu
 100 105 110

Asp Asp Cys Thr Pro Lys Thr Leu Gln Glu Ile Leu Lys Arg Ala Ala
 115 120 125

10

Lys Gln Ala Lys Asp Lys Gly Met Thr Phe Val Tyr Glu Asp Gly His
 130 135 140

Glu Glu Tyr Leu Ser Tyr Gln Glu Met Leu Ala Asp Ala Glu Arg Leu
 145 150 155 160

Leu Lys Gly Leu Arg Asn Leu Gly Ile Gln Pro Gly Glu Ser Ile Leu
 165 170 175

20

Phe Gln Phe Lys Asp Asn Lys His Phe Val Thr Ala Phe Trp Ala Cys
 180 185 190

Ile Leu Gly Gly Phe Leu Pro Thr Pro Leu Gly Thr Ala Pro Ile Tyr
 195 200 205

30

Ser Glu Gln Asn Ala Gln Val Leu Lys Leu Tyr Asn Thr Trp Gln Leu
 210 215 220

Leu Glu Gln Pro Ile Ile Leu Thr Glu Phe Glu Leu Lys Glu Glu Ile
 225 230 235 240

Ala Ala Ile Arg Thr Thr Leu Gln Arg Gln Glu Ile Val Ile His Ser
 245 250 255

Ile	Glu	Asn	Val	Met	Asp	Thr	Ala	Arg	Asp	Thr	Asn	Trp	Phe	Pro	Cys	
		260						265					270			
Thr	Glu	Asp	Thr	Ile	Val	Leu	Asn	Leu	Leu	Thr	Ser	Gly	Ser	Thr	Gly	
		275					280						285			
Val	Pro	Lys	Cys	Val	Gln	His	Lys	Ser	Lys	Ser	Ile	Ile	Ala	Arg	Thr	
	290					295					300					10
Val	Ser	Asn	Cys	Ile	Asp	Arg	Gln	Leu	Asp	Glu	Lys	Glu	Val	Ser	Leu	
305					310					315					320	
Asn	Trp	Met	Pro	Leu	Asp	His	Val	Gly	Gly	Ile	Val	Met	Cys	His	Ile	
				325					330					335		
Arg	Asp	Thr	Tyr	Leu	Met	Cys	Gln	Gln	Val	Asn	Cys	Leu	Ile	Ser	Ala	
			340					345						350		20
Phe	Ile	Glu	Asn	Pro	Leu	Asn	Trp	Leu	His	Trp	Ile	Asp	Ala	Tyr	Ser	
		355						360					365			
Ala	Thr	Phe	Thr	Trp	Ala	Pro	Asn	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	
	370						375					380				
Tyr	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ser	Ser	Ser	Trp	Asn	Leu	Ser	Ser	Met	Arg	
385					390					395					400	30
Tyr	Ile	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Ala	Val	Ile	Ser	Ser	Val	Gly	Met	Lys	
				405					410					415		
Phe	Leu	Gln	Leu	Leu	Gln	Gln	His	Gln	Leu	Pro	Ser	Asn	Cys	Leu	Ile	
		420						425					430			40

o Thr Phe Gly Met Ser Glu Val Ser Ser Gly Ile Ile Glu Cys His
 435 440 445

Ser Phe Tyr Thr Gln Thr Thr Asn Thr Gly Met Leu Tyr Val Asp Lys
 450 455 460

Asn Ser Leu Asp Gly Asn Leu Gln Phe Thr Tyr Glu Gly His Gln Asn
 465 470 475 480

10

Ala Ile Val Phe Thr Glu Val Gly Arg Pro Met Pro Gly Ile Gly Ile
 485 490 495

Arg Ile Val Asp Glu Asp Asn Gln Cys Leu Ser Glu Asp Arg Ile Gly
 500 505 510

Arg Phe Gln Ile His Gly Pro Thr Val Met Asn Gly Tyr Phe Lys Asn
 515 520 525

20

Asp Glu Ala Asn Ala Glu Ser Phe Thr Glu Asp Gly Trp Phe Asp Ser
 530 535 540

Gly Asp Leu Gly Phe Ile His Asn Gly Asn Leu Val Ile Thr Gly Arg
 545 550 555 560

30

Lys Lys Asp Met Ile Val Val His Gly Ala Asn Tyr Tyr Asn Tyr Glu
 565 570 575

Ile Glu Ala Leu Val Glu Gln Val Pro Gly Val Glu Thr Thr Phe Val
 580 585 590

Cys Ala Thr Ser Val Lys Ser Ala Glu Gly Ala Glu Glu Leu Ala Ile
 595 600 605

40

ie Phe Val Pro Val Ile Asn His Val Ser Val Met Phe Ala Thr Met
 610 615 620

Gln Gln Ile Lys Gln Ile Val Ala Arg Lys Met Gly Ile Thr Pro Lys
 625 630 635 640

Val Ile Ile Pro Ile Gln Lys Glu Ala Phe Phe Lys Thr Asp Ser Gly
 645 650 655

10

Lys Ile Thr Arg Asn Ala Phe Gln Lys Gln Phe Glu Asn Gly Ala Tyr
 660 665 670

Arg Glu Ile Thr Gln Lys Ile Asp Cys His Leu Gln Asn Glu Lys Thr
 675 680 685

Leu Ser Gln Trp Phe Tyr Arg Glu Lys Leu Val Glu Ser Lys Leu Gly
 690 695 700

20

Lys Ser Val Ser Ser Gln Lys Glu Thr Tyr Val Phe Phe Arg Gln Gly
 705 710 715 720

Lys Ser Phe His His Val Leu Lys Glu Lys Leu Thr Gln His Ser Val
 725 730 735

30

Val Ile Val Asp Val Gly Glu Thr Phe Gly Glu Ile His Pro Asn His
 740 745 750

Tyr Gln Ile Asn Pro Lys Asn Lys Met Asp Tyr Val Arg Leu Phe Glu
 755 760 765

Glu Leu Ala Lys Arg Asn Val Glu Asp Gln Val Phe His Leu Leu His
 770 775 780

40

r Glu Ile Glu Thr Asn Ala Glu Lys Met Arg Leu Leu Asp Ser Leu
 965 970 975

Lys Glu Tyr Glu Gln Tyr Gly Gly Thr Val Gln Tyr Lys Met Cys Asn
 980 985 990

Val Met Asp Leu Asp Ala Met Arg Lys Val Val His Ser Gln Glu Glu
 995 1000 1005

10

Arg Leu Gln Gln Lys Val Asn Gly Ile Ile His Leu Ala Gly Ile
 1010 1015 1020

Ile Gln Glu Ile Leu Ile Glu Lys Gln Thr Glu Lys Glu Leu His
 1025 1030 1035

Ala Met Phe Glu Ala Lys Val Tyr Ala Ser Trp Val Leu His Glu
 1040 1045 1050

20

Ile Val Lys Glu Arg Gln Asp Cys Leu Tyr Ile Thr Thr Ser Ser
 1055 1060 1065

Ala Arg Thr Leu Leu Pro Gly Met Thr Ile Ser Ala Tyr Cys Ser
 1070 1075 1080

30

Ala Asn Arg Phe Val Glu Asn Phe Ala Tyr Tyr Gln Arg Ser Gln
 1085 1090 1095

Asn Val Asn Ser Tyr Cys Phe Ser Trp Ser Phe Trp Asn Glu Ile
 1100 1105 1110

Gly Met Gly Thr Asn Leu Leu Ile Lys Asn Ala Leu Ile Ala Lys
 1115 1120 1125

40

y Phe	Gln	Leu	Ile	Asp	Asp	Gln	Lys	Gly	Ile	Tyr	Ser	Leu	Leu	
1130					1135					1140				
Ala	Gly	Leu	Lys	Gly	Asn	Glu	Pro	Asn	Val	Phe	Val	Gly	Ile	Asn
1145						1150						1155		
His	Glu	Lys	Glu	Glu	Met	Ala	His	Leu	Ile	Gly	Thr	Glu	Glu	Gln
1160						1165						1170		
Glu	Thr	Gln	Gln	Leu	Thr	Ile	Tyr	Ile	Thr	Pro	Glu	Tyr	Leu	His
1175						1180						1185		
Ile	Leu	Glu	Glu	Val	Phe	Ser	Ile	Leu	Asn	Arg	Glu	Glu	Phe	Gly
1190						1195						1200		
Gly	Leu	Glu	Lys	Glu	Ile	Val	Ile	Leu	Pro	Lys	Leu	Pro	Leu	Asp
1205						1210						1215		
Glu	Tyr	Gly	Lys	Val	Asp	Gln	Thr	Arg	Leu	Ala	His	Ala	Ser	Asp
1220						1225						1230		
Ser	Arg	Phe	Gly	Lys	Lys	Gln	His	Ile	Val	Pro	Arg	Asn	Asp	Ile
1235						1240						1245		
Glu	Glu	Lys	Ile	Ala	Phe	Ile	Trp	Glu	Gly	Leu	Leu	Asn	Lys	Lys
1250						1255						1260		
Asp	Ile	Ser	Val	Leu	Asp	His	Phe	Phe	Glu	Leu	Gly	Gly	Asp	Ser
1265						1270						1275		
Leu	Lys	Ala	Thr	Gln	Met	Ile	Ser	Ala	Leu	Lys	Lys	Asn	Phe	Ala
1280						1285						1290		

10

20

30

ie Phe	Val	Asn	Thr	Leu	Pro	Leu	Arg	Ile	Asn	Leu	His	Arg	Glu		
1625					1630					1635					
Met	Gln	Phe	Thr	Glu	Leu	Leu	Ser	Gln	Val	Lys	Lys	Thr	Thr	Ile	
1640					1645					1650					
Asp	Ala	Tyr	Asp	His	Gln	Asp	Val	Pro	Phe	Glu	Leu	Leu	Val	Asp	
1655					1660					1665					10
Glu	Leu	Gln	Ile	Glu	Arg	Asp	Ser	Ser	Arg	Asn	Ala	Leu	Phe	Gln	
1670					1675					1680					
Val	Leu	Phe	Val	Leu	Gln	Asn	Ala	Gln	Leu	Gln	Ala	Val	Asp	Leu	
1685					1690					1695					
Glu	Lys	Ala	Thr	Met	Glu	Leu	Glu	Ile	Leu	Asp	Ser	Asp	Thr	Ala	
1700					1705					1710					20
Lys	Phe	Asp	Met	Ser	Val	Gln	Ile	Phe	Glu	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	
1715					1720					1725					
Ser	Ile	Lys	Leu	Glu	Tyr	Asn	Thr	Asp	Leu	Phe	Phe	Asp	Asp	Thr	
1730					1735					1740					
Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Ala	His	Tyr	Glu	Thr	Ile	Leu	Ala	Ser	Val	
1745					1750					1755					30
Ile	His	Asn	Gln	Lys	Ala	Lys	Ile	Gly	Glu	Leu	Ser	Ile	Leu	Pro	
1760					1765					1770					
Gln	Ser	Glu	Tyr	Thr	Lys	Leu	Val	Ser	Glu	Trp	Asn	Glu	Lys	Ser	
1775					1780					1785					

al Met Val Ala His Gln Ser Val Val Asn Leu Leu Leu Asp Leu
1955 1960 1965

Gln Glu Lys Tyr Pro Val Leu Ala Glu Asp Lys His Leu Leu Lys
1970 1975 1980

Thr Thr Tyr Thr Phe Asp Val Ser Val Ala Glu Ile Phe Gly Trp
1985 1990 1995

10

Phe His Ala Gly Gly Thr Leu Val Ile Ala Gly His Gly Asp Glu
2000 2005 2010

Lys Asp Pro Glu Lys Leu Ile Gln Leu Ile Gln Cys His Lys Val
2015 2020 2025

Thr His Ile Asn Phe Val Pro Ser Met Leu His Ala Met Leu Gln
2030 2035 2040

20

Ala Leu Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ile Met Asn Arg Leu Lys Tyr
2045 2050 2055

Ile Ile Val Ala Gly Glu Ala Val Ser Pro Glu Leu Cys Asn Arg
2060 2065 2070

30

Leu Tyr Ala His Cys Pro Asn Val Lys Leu Glu Asn Leu Tyr Gly
2075 2080 2085

Pro Thr Glu Gly Thr Ile Tyr Ala Thr Gly Phe Ser Ile His Lys
2090 2095 2100

Glu Met Asn Val Ala Asn Val Pro Ile Gly Lys Pro Leu Ser His
2105 2110 2115

al	Glu	Thr	Tyr	Ile	Leu	Asp	Gln	Asn	Asn	Gln	Ile	Val	Pro	Ile	
	2120					2125					2130				
Gly	Val	Pro	Gly	Glu	Leu	Cys	Leu	Gly	Gly	Ile	Cys	Val	Ala	Lys	
	2135					2140					2145				
Gly	Tyr	Met	Lys	Glu	Pro	Val	Leu	Thr	Glu	Glu	Lys	Phe	Val	Val	
	2150					2155					2160				10
Asn	Pro	Met	Lys	Gln	Ser	Glu	Arg	Met	Tyr	Arg	Thr	Gly	Asp	Leu	
	2165					2170					2175				
Val	Arg	Trp	Leu	Ala	Asp	Gly	Asn	Ile	Glu	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ile	
	2180					2185					2190				
Asp	Asn	Gln	Val	Lys	Ile	Arg	Gly	Phe	Arg	Ile	Glu	Leu	Gly	Glu	
	2195					2200					2205				20
Ile	Glu	Ala	Ala	Ile	Ala	Ala	Leu	Glu	Asp	Val	Val	Gln	Thr	Ile	
	2210					2215					2220				
Val	Thr	Thr	Met	Thr	Asp	His	Lys	Gly	Ala	Asn	Lys	Ile	Val	Ala	
	2225					2230					2235				
Tyr	Val	Val	Ser	Glu	Lys	Tyr	Asp	Glu	Glu	Arg	Ile	Arg	Glu	His	
	2240					2245					2250				30
Val	Lys	Lys	Thr	Leu	Pro	Gln	Tyr	Met	Val	Pro	Ser	Tyr	Phe	Val	
	2255					2260					2265				
Ser	Met	Lys	Ala	Leu	Pro	Leu	Asn	Lys	Asn	Gly	Lys	Val	Asp	Arg	
	2270					2275					2280				

.ys	Gln	Leu	His	Ser	Val	Asp	Leu	Tyr	Glu	Thr	Ser	Met	Asp	Thr
	2285					2290					2295			
Val	Ile	Val	Gly	Pro	Arg	Asn	Glu	Lys	Glu	Ala	Met	Leu	Ser	Val
	2300					2305					2310			
Ile	Trp	Gln	Glu	Leu	Leu	Gly	Leu	Glu	Asn	Ile	Ser	Val	His	Asp
	2315					2320					2325			
Asn	Phe	Phe	Lys	Leu	Gly	Gly	His	Ser	Ile	Asn	Ala	Thr	Gln	Leu
	2330					2335					2340			
Val	Ser	Lys	Ile	Tyr	Ser	Val	Cys	Arg	Val	Arg	Met	Pro	Leu	Lys
	2345					2350					2355			
Asn	Val	Phe	Gln	Tyr	Thr	Thr	Leu	Ala	Thr	Met	Ala	Arg	Val	Leu
	2360					2365					2370			
Glu	Glu	Leu	Leu	Val	Ser	Ala	Val	Asp	Glu	Val	Ala	Val	Thr	Thr
	2375					2380					2385			
Glu	Arg	Ile	Pro	Lys	Ile	Leu	Pro	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Asp	Leu	Ser
	2390					2395					2400			
Tyr	Ser	Gln	Gln	Arg	Ile	Tyr	Phe	Leu	Ser	Thr	Met	Glu	Lys	Glu
	2405					2410					2415			
Thr	Asn	Tyr	Tyr	Asn	Ile	Leu	Gly	Ala	Trp	Asp	Ile	Tyr	Gly	Lys
	2420					2425					2430			
Leu	Asp	Val	Thr	Leu	Phe	Glu	Lys	Ala	Ile	Gln	Leu	Leu	Met	Lys
	2435					2440					2445			

10

20

30

rs His	His Ser	Leu Arg	Ala Thr	Phe Glu	Ile Val	Asp Gly	Lys
2450			2455			2460	

Pro Val	Gln Ile	Ile His	Asp Asp	Met Glu	Ile Pro	Val Gln	Phe
2465			2470			2475	

Ile Asp	Leu Thr	Val Met	Pro Glu	Gly Leu	Arg Ile	Glu Glu	Vai
2480			2485			2490	

10

Asp Glu	Leu Met	Leu Lys	Glu Ser	Lys Arg	Val Tyr	Asn Leu	Ala
2495			2500			2505	

Asn Gly	Pro Leu	Met His	Cys Thr	Ile Val	Lys Ile	Lys Glu	Gly
2510			2515			2520	

Glu His	Val Leu	Leu Ile	Gly Gln	His His	Ile Ile	Ser Asp	Gly
2525			2530			2535	

20

Trp Ser	Leu Gly	Ile Phe	Val Lys	Glu Leu	Asn Glu	Met Tyr	Asp
2540			2545			2550	

Ala Phe	Val Gln	His Lys	Pro Val	Ala Glu	Thr Pro	Ser Thr	Ile
2555			2560			2565	

30

Ser Ile	Met Asp	Phe Thr	Ala Trp	His Asn	Ser Lys	Val Asp	Glu
2570			2575			2580	

Asp Gln	Asp Asp	Arg Gln	Tyr Trp	Leu Gln	Arg Phe	Glu Gly	Glu
2585			2590			2595	

Leu Pro	Thr Leu	Glu Leu	Pro Thr	Asp Arg	Gln Arg	Pro Leu	Leu
2600			2605			2610	

ys Thr Tyr His Gly Asp Thr Leu Ser Tyr Lys Val Asn Ser Gln
 2615 2620 2625

Leu His Gln Lys Leu Lys Asp Phe Ser His Ala Asn Gly Val Thr
 2630 2635 2640

Met Phe Met Thr Leu Leu Thr Ala Tyr Asn Ile Met Leu Asn Lys
 2645 2650 2655

10

Leu Thr Asn Glu Thr Asp Ile Val Val Gly Ser Pro Val Ala Gly
 2660 2665 2670

Arg Asn Glu Pro Glu Ser Lys Asp Leu Ile Gly Met Phe Val Asn
 2675 2680 2685

Thr Leu Ala Leu Arg Ser His Leu Gly Asp Asn Pro Thr Val Asp
 2690 2695 2700

20

Val Leu Leu Lys Gln Ile Lys Gln Asn Thr Leu Glu Ala Tyr Asn
 2705 2710 2715

His Gln Asp Tyr Pro Phe Asp Lys Leu Val Asp Asp Leu Asp Pro
 2720 2725 2730

30

His Arg Asp Leu Ser Arg Thr Pro Ile Phe Gln Val Met Met Gly
 2735 2740 2745

Tyr Met Asn Met Pro Leu Met Val Ala Phe Arg Glu Ala Glu Val
 2750 2755 2760

Arg Glu Arg Phe Val Arg His Lys Val Ala Arg Phe Asp Leu Thr
 2765 2770 2775

In His	Ile Trp	Arg Asp	Ser	Gly Ala	Lys Val	Leu	Leu Gly	Lys		
2945			2950			2955				
Asn Glu	Thr Thr	Val Glu	Val	Gly Lys	Glu Val	Pro	Phe Val	Asp		
2960			2965			2970				
Ile Glu	Gly Asp	Lys Gly	Lys	Gln Glu	Glu Leu	Val	Cys Pro	Ile		
2975			2980			2985				10
Ser Pro	Glu Asp	Thr Ala	Tyr	Ile Met	Tyr Thr	Ser	Gly Ser	Thr		
2990			2995			3000				
Gly Lys	Pro Lys	Gly Val	Met	Val Thr	His Arg	Asn	Ile Val	Arg		
3005			3010			3015				
Leu Val	Lys Asn	Thr Asn	Phe	Val Ser	Leu Gln	Glu	Gln Asp	Val		20
3020			3025			3030				
Leu Leu	Gln Thr	Gly Ser	Leu	Thr Phe	Asp Ala	Ala	Thr Phe	Glu		
3035			3040			3045				
Ile Trp	Gly Ala	Leu Leu	Asn	Gly Leu	Thr Leu	His	Leu Val	Glu		
3050			3055			3060				
Asp Tyr	Val Ile	Leu Asp	Gly	Glu Ala	Leu Gln	Glu	Glu Ile	Gln		30
3065			3070			3075				
Gln Asn	Lys Ala	Thr Ile	Met	Trp Val	Ser Ala	Pro	Leu Phe	Asn		
3080			3085			3090				
Gln Leu	Ala Asp	Gln Asn	Pro	Ala Met	Phe Thr	Gly	Ile Lys	Gln		
3095			3100			3105				

au Leu	Ile Gly Gly Asp Val	Leu Ser Pro Lys His	Ile Asn Lys	
3110	3115	3120		
Val Met	Asp His Cys Ala Pro	Ile Asn Ile Ile Asn	Gly Tyr Gly	
3125	3130	3135		
Pro Thr	Glu Asn Thr Thr Phe	Ser Thr Ser Phe Val	Ile Asp Gln	
3140	3145	3150		10
Met Tyr	Gln Asp Ser Ile Pro	Ile Gly Thr Pro Ile	Ala Asn Ser	
3155	3160	3165		
Ser Ala	Tyr Ile Leu Asp Val	His Gln Asn Ile Gln	Pro Ile Gly	
3170	3175	3180		
Val Val	Gly Glu Leu Cys Val	Gly Gly Asp Gly Val	Ala Lys Gly	
3185	3190	3195		20
Tyr Val	Asn Leu Glu Gln Leu	Thr Glu Glu Arg Phe	Ile Ala Asp	
3200	3205	3210		
Pro Phe	Leu Lys Gly Ser Thr	Met Tyr Arg Thr Gly	Asp Tyr Val	
3215	3220	3225		
Lys Leu	Leu Pro Asn Gly Asn	Ile Gln Tyr Ile Gly	Arg Val Asp	
3230	3235	3240		30
Asn Gln	Val Lys Ile Arg Gly	Phe Arg Ile Glu Leu	Glu Ala Ile	
3245	3250	3255		
Met Asn	Thr Leu Lys Gln Cys	Glu Ser Ile Lys Asp	Val Ile Val	
3260	3265	3270		40

al Val	Gln	Glu	Gln	Asn	Gly	Tyr	Lys	Thr	Leu	Val	Ala	Tyr	Val	
3275					3280					3285				
Val	Gly	Glu	Glu	Ser	Leu	Ser	Ile	Glu	Thr	Val	Arg	Ala	Tyr	Ala
3290					3295						3300			
Lys	Lys	His	Leu	Ala	Glu	Tyr	Met	Val	Pro	Ser	Gln	Phe	Ile	Phe
3305					3310						3315			
Ile	Glu	Glu	Ile	Pro	Leu	Ser	Ile	Asn	Gly	Lys	Val	Gln	Tyr	Ser
3320					3325						3330			
Lys	Leu	Pro	Lys	Val	Gln	Glu	Val	Leu	His	Lys	Lys	Val	Glu	Thr
3335					3340						3345			
Leu	Leu	Pro	Glu	Asn	Arg	Leu	Glu	Glu	Ile	Ile	Leu	Arg	Val	Tyr
3350					3355						3360			
Arg	Asp	Val	Leu	Glu	Lys	Glu	Asp	Phe	Gly	Val	Thr	Asp	Ser	Phe
3365					3370						3375			
Phe	Ala	Tyr	Gly	Gly	Asp	Ser	Leu	Leu	Ser	Ile	Gln	Val	Val	Ser
3380					3385						3390			
Met	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu	Ile	Ala	Val	Asp	Pro	Lys	Met	Ile	Phe
3395					3400						3405			
Met	His	Thr	Thr	Val	Arg	Glu	Leu	Ala	Lys	Ala	Cys	Glu	Asn	Arg
3410					3415						3420			
Pro	Val	Met	Glu	Glu	Thr	Lys	Arg	Thr	Glu	Lys	Asp	Tyr	Leu	Ile
3425					3430						3435			

10

20

30

In Met	Arg	Glu	Gly	Ser	Glu	Glu	Asp	Ser	Cys	Ile	Ile	Phe	Ala	
3440					3445					3450				
Pro Pro	Ala	Gly	Gly	Thr	Val	Leu	Gly	Tyr	Ile	Glu	Leu	Ala	Arg	
3455					3460					3465				
Tyr Phe	Glu	Gly	Ile	Gly	Asn	Val	Tyr	Gly	Leu	Gln	Ala	Pro	Gly	
3470					3475					3480				
														10
Leu Tyr	Asp	Asp	Glu	Glu	Pro	Thr	Phe	Leu	Asp	Tyr	Asp	Glu	Leu	
3485					3490					3495				
Val Gln	Val	Phe	Leu	Arg	Ser	Ile	Glu	Gly	Thr	Tyr	Arg	Pro	Gly	
3500					3505					3510				
Gln Asp	Tyr	Leu	Gly	Gly	His	Ser	Leu	Gly	Gly	His	Ile	Ala	Phe	
3515					3520					3525				
														20
Gly Met	Cys	Cys	Glu	Leu	Ile	Lys	Gln	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Gly	
3530					3535					3540				
Leu Leu	Ile	Leu	Asp	Thr	Thr	Pro	Ser	Leu	Gln	Val	Val	Lys	Gly	
3545					3550					3555				
Ala Lys	Asp	Glu	Lys	Ile	Ala	Glu	Glu	Asp	Phe	Lys	Met	Met	Val	
3560					3565					3570				
														30
Leu Ala	Ala	Gly	Ile	Gly	Asn	Met	Met	Gly	Val	Asp	Pro	Glu	Glu	
3575					3580					3585				
Leu Lys	Gln	Leu	Ser	Tyr	Glu	Glu	Ala	Lys	Thr	Arg	Val	Val	Ala	
3590					3595					3600				

al Ala Gln Lys Asp Glu Lys Leu Lys Thr Phe Ile Asn Glu Thr
 3605 3610 3615

Tyr Leu Asp Lys Tyr Leu Lys Leu Gln Ile His Ser Leu Leu Met
 3620 3625 3630

Ser Arg Thr Leu Glu Leu Glu Lys Thr Gln Leu Asp Ile Pro Ile
 3635 3640 3645

10

Lys Val Phe Lys Thr Gln Phe His Thr Glu Glu Leu Val Glu Arg
 3650 3655 3660

Phe Asp Ala Trp His Asn Tyr Thr Asn Gln Ala Cys Thr Phe Ile
 3665 3670 3675

Asp Ile Pro Gly Thr His Thr Thr Met Met Arg Leu Pro His Val
 3680 3685 3690

20

Lys Glu Val Ala Lys Lys Ile Glu Glu Gln Leu
 3695 3700

<210> 2

<211> 1804

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

30

<400> 2

Phe Ile Lys Ser Met Asn Gln Leu Gly Lys Ser Lys Asn Leu His Asn
 1 5 10 15

Gly Gly Met Met Glu Met Lys Arg Val Glu Glu His Asp His Ile His
 20 25 30

40

Val Leu Asn Glu Ile Glu Asn Glu Cys Glu Arg Arg Tyr Gly Arg Ser

35

40

45

Asn Ile Ala Ile Met Leu Glu Lys His Gly Val His Glu Gln Pro Leu
50 55 60

His Ile Glu Asp Leu Phe His Glu Val Glu Met Gln Glu His Ser Arg
65 70 75 80

10

Val Ser Arg His Glu Thr Val Leu Met Thr Asp Lys Gln Cys Ile Asp
85 90 95

Glu Ser Gly Lys Pro Leu Ala Leu Arg Phe Gly Glu Pro Leu His Leu
100 105 110

Asp Asp Cys Thr Pro Lys Thr Leu Gln Glu Ile Leu Lys Arg Ala Ala
115 120 125

20

Lys Gln Ala Lys Asp Lys Gly Met Thr Phe Val Tyr Glu Asp Gly His
130 135 140

Glu Glu Tyr Leu Ser Tyr Gln Glu Met Leu Ala Asp Ala Glu Arg Leu
145 150 155 160

Leu Lys Gly Leu Arg Asn Leu Gly Ile Gln Pro Gly Glu Ser Ile Leu
165 170 175

30

Phe Gln Phe Lys Asp Asn Lys His Phe Val Thr Ala Phe Trp Ala Cys
180 185 190

Ile Leu Gly Gly Phe Leu Pro Thr Pro Leu Gly Thr Ala Pro Ile Tyr
195 200 205

40

Ser Glu Gln Asn Ala Gln Val Leu Lys Leu Tyr Asn Thr Trp Gln Leu

210

215

220

Leu Glu Gln Pro Ile Ile Leu Thr Glu Phe Glu Leu Lys Glu Glu Ile
 225 230 235 240

Ala Ala Ile Arg Thr Thr Leu Gln Arg Gln Glu Ile Val Ile His Ser
 245 250 255

10

Ile Glu Asn Val Met Asp Thr Ala Arg Asp Thr Asn Trp Phe Pro Cys
 260 265 270

Thr Glu Asp Thr Ile Val Leu Asn Leu Leu Thr Ser Gly Ser Thr Gly
 275 280 285

Val Pro Lys Cys Val Gln His Lys Ser Lys Ser Ile Ile Ala Arg Thr
 290 295 300

20

Val Ser Asn Cys Ile Asp Arg Gln Leu Asp Glu Lys Glu Val Ser Leu
 305 310 315 320

Asn Trp Met Pro Leu Asp His Val Gly Gly Ile Val Met Cys His Ile
 325 330 335

Arg Asp Thr Tyr Leu Met Cys Gln Gln Val Asn Cys Leu Ile Ser Ala
 340 345 350

30

Phe Ile Glu Asn Pro Leu Asn Trp Leu His Trp Ile Asp Ala Tyr Ser
 355 360 365

Ala Thr Phe Thr Trp Ala Pro Asn Phe Ala Phe Ser Leu Ile Asn Gln
 370 375 380

40

Tyr Glu Glu Glu Ile Lys Ser Ser Ser Trp Asn Leu Ser Ser Met Arg

565

570

575

Ile Glu Ala Leu Val Glu Gln Val Pro Gly Val Glu Thr Thr Phe Val
 580 585 590

Cys Ala Thr Ser Val Lys Ser Ala Glu Gly Ala Glu Glu Leu Ala Ile
 595 600 605

10

Phe Phe Val Pro Val Ile Asn His Val Ser Val Met Phe Ala Thr Met
 610 615 620

Gln Gln Ile Lys Gln Ile Val Ala Arg Lys Met Gly Ile Thr Pro Lys
 625 630 635 640

Val Ile Ile Pro Ile Gln Lys Glu Ala Phe Phe Lys Thr Asp Ser Gly
 645 650 655

20

Lys Ile Thr Arg Asn Ala Phe Gln Lys Gln Phe Glu Asn Gly Ala Tyr
 660 665 670

Arg Glu Ile Thr Gln Lys Ile Asp Cys His Leu Gln Asn Glu Lys Thr
 675 680 685

Leu Ser Gln Trp Phe Tyr Arg Glu Lys Leu Val Glu Ser Lys Leu Gly
 690 695 700

30

Lys Ser Val Ser Ser Gln Lys Glu Thr Tyr Val Phe Phe Arg Gln Gly
 705 710 715 720

Lys Ser Phe His His Val Leu Lys Glu Lys Leu Thr Gln His Ser Val
 725 730 735

40

Val Ile Val Asp Val Gly Glu Thr Phe Gly Glu Ile His Pro Asn His

740

745

750

Tyr Gln Ile Asn Pro Lys Asn Lys Met Asp Tyr Val Arg Leu Phe Glu
 755 760 765

Glu Leu Ala Lys Arg Asn Val Glu Asp Gln Val Phe His Leu Leu His
 770 775 780

10

Ala Trp Asn Tyr Cys Asp Thr Val Pro Thr Phe Arg Ser Val Glu Asp
 785 790 795 800

Leu Ala Asn Ala Gln Tyr Leu Gly Val Phe Ser Val Met Phe Ala Leu
 805 810 815

Gln Ala Ile Met His Ala Lys Leu Pro Leu Arg Arg Val Thr Val Ile
 820 825 830

20

Ala Thr Asn Ser Val Gly Leu Glu Ala Lys Glu Met Asn Tyr Ser Cys
 835 840 845

Ser Thr Leu Glu Gly Tyr Val Lys Thr Leu Pro Ala Glu Phe Glu Asn
 850 855 860

Leu Gln Val Lys Tyr Ile Asp Ile Glu Gly Lys Asp Ile Gln Phe Asp
 865 870 875 880

30

Thr Glu Thr Val Trp Lys Glu Leu Gln Gln Gln Glu Thr Ile Pro Val
 885 890 895

Val Leu Tyr Arg Asp Glu Lys Arg Tyr Lys Ile Gly Leu Glu Lys Val
 900 905 910

40

Pro Met Leu Glu Gln Lys Glu Lys Asn Ile Pro Phe Gln Gln Gln Gly

915	920	925	
Phe Tyr Ile Ile Thr Gly Gly Leu Gly Gly Leu Gly Thr Leu Val Ala			
930	935	940	
Lys Leu Leu Leu Glu Arg Tyr Ser Ala Asn Val Leu Leu Leu Gly Arg			
945	950	955	10
Thr Glu Ile Glu Thr Asn Ala Glu Lys Met Arg Leu Leu Asp Ser Leu			
	965	970	10
Lys Glu Tyr Glu Gln Tyr Gly Gly Thr Val Gln Tyr Lys Met Cys Asn			
	980	985	10
Val Met Asp Leu Asp Ala Met Arg Lys Val Val His Ser Gln Glu Glu			
	995	1000	20
Arg Leu Gln Gln Lys Val Asn Gly Ile Ile His Leu Ala Gly Ile			
	1010	1015	20
Ile Gln Glu Ile Leu Ile Glu Lys Gln Thr Glu Lys Glu Leu His			
	1025	1030	20
Ala Met Phe Glu Ala Lys Val Tyr Ala Ser Trp Val Leu His Glu			
	1040	1045	30
Ile Val Lys Glu Arg Gln Asp Cys Leu Tyr Ile Thr Thr Ser Ser			
	1055	1060	30
Ala Arg Thr Leu Leu Pro Gly Met Thr Ile Ser Ala Tyr Cys Ser			
	1070	1075	30
Ala Asn Arg Phe Val Glu Asn Phe Ala Tyr Tyr Gln Arg Ser Gln			40

1085		1090		1095	
Asn Val	Asn Ser Tyr Cys Phe	Ser Trp Ser Phe Trp	Asn Glu Ile		
1100		1105		1110	
Gly Met	Gly Thr Asn Leu Leu	Ile Lys Asn Ala Leu	Ile Ala Lys		
1115		1120		1125	
Gly Phe	Gln Leu Ile Asp Asp	Gln Lys Gly Ile Tyr	Ser Leu Leu		
1130		1135		1140	
Ala Gly	Leu Lys Gly Asn Glu	Pro Asn Val Phe Val	Gly Ile Asn		
1145		1150		1155	
His Glu	Lys Glu Glu Met Ala	His Leu Ile Gly Thr	Glu Glu Gln		
1160		1165		1170	
Glu Thr	Gln Gln Leu Thr Ile	Tyr Ile Thr Pro Glu	Tyr Leu His		
1175		1180		1185	
Ile Leu	Glu Glu Val Phe Ser	Ile Leu Asn Arg Glu	Glu Phe Gly		
1190		1195		1200	
Gly Leu	Glu Lys Glu Ile Val	Ile Leu Pro Lys Leu	Pro Leu Asp		
1205		1210		1215	
Glu Tyr	Gly Lys Val Asp Gln	Thr Arg Leu Ala His	Ala Ser Asp		
1220		1225		1230	
Ser Arg	Phe Gly Lys Lys Gln	His Ile Val Pro Arg	Asn Asp Ile		
1235		1240		1245	
Glu Glu	Lys Ile Ala Phe Ile	Trp Glu Gly Leu Leu	Asn Lys Lys		

10

20

30

40

1415		1420		1425	
Gln Lys	Leu Glu Gly	Leu Arg	Gln Arg Glu Ala	Asn Thr Ala Phe	
1430		1435		1440	
Lys Ile	Glu Asn Ser Ala Phe	Arg Ala Lys Val	Ile Leu Ile Asp		
1445		1450		1455	
					10
Glu Lys	Arg Val Glu Ile Leu	Leu Ser Val His	His Ile Val Ser		
1460		1465		1470	
Asp Gly	Trp Ser Met Gly Ile	Leu Val Lys Asp	Ile Ala Glu Ile		
1475		1480		1485	
Tyr Glu	Asp Ile Arg Gln Trp	Gly Glu Ser Lys	Gln Glu Pro Leu		
1490		1495		1500	20
Pro Ile	Gln Tyr Ala Asp Tyr	Thr Leu Trp Gln	Asn Glu Phe Met		
1505		1510		1515	
Lys Gly	Glu Glu Phe Ser Lys	Gln Leu Ser Tyr	Trp Lys Glu Lys		
1520		1525		1530	
Leu Ala	Glu Asp Ile Pro Val	Leu Asp Leu Pro	Leu Asp Lys Pro		
1535		1540		1545	30
Arg Pro	Pro Ile Gln Thr Tyr	Arg Gly Lys Val	Lys Thr Phe Thr		
1550		1555		1560	
Leu His	Glu Asn Met Thr Arg	Met Leu Lys Glu	Ile Cys Gln Glu		
1565		1570		1575	
					40
Glu Glu	Cys Thr Leu Phe Met	Leu Leu Leu Ser	Ala Phe Ser Ser		

1745 1750 1755

Ile His Asn Gln Lys Ala Lys Ile Gly Glu Leu Ser Ile Leu Pro
1760 1765 1770

Gln Ser Glu Tyr Thr Lys Leu Val Ser Glu Trp Asn Glu Lys Ser
1775 1780 1785

10

Ala Thr Tyr Asn Gly Asn Gln Cys Ile His Glu Leu Phe Glu Ala
1790 1795 1800

Ala

- <210> 3
- <211> 1900
- <212> PRT
- <213> Bacillus cereus

20

<400> 3

Val His Lys Thr Pro Ser Ala Thr Ala Leu Ile Tyr Arg Asn Lys Glu
1 5 10 15

Met Thr Tyr Glu Asp Val Asn Ala Gln Ala Asn Ala Leu Ala His Lys
20 25 30

30

Leu Arg Asp Ala Gly Val Gly Pro Asn Gln Val Val Gly Val Leu Cys
35 40 45

Asp Arg Ser Phe Glu Met Val Val Gly Ile Leu Ala Val Leu Lys Ala
50 55 60

Gly Gly Ala Tyr Leu Pro Ile Asp Thr Ala Tyr Pro Met Gln Arg Thr
65 70 75 80

40

Glu Tyr Val Leu Gln Asn Ser Glu Ala Thr Ile Leu Leu Thr Lys Glu
 85 90 95

Cys Tyr Leu Lys Glu Ser Leu Asp Phe Glu Gly Glu Val Phe Tyr Leu
 100 105 110

Asp Asp Ala Arg Leu Phe Glu Gly Asp Arg Arg Asp Leu Gln Asn Ile
 115 120 125

10

Asn Asn Pro Thr Asn Leu Ala Tyr Ile Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr
 130 135 140

Gly Asn Pro Lys Gly Val Met Val Ala His Gln Ser Val Val Asn Leu
 145 150 155 160

Leu Leu Asp Leu Gln Glu Lys Tyr Pro Val Leu Ala Glu Asp Lys His
 165 170 175

20

Leu Leu Lys Thr Thr Tyr Thr Phe Asp Val Ser Val Ala Glu Ile Phe
 180 185 190

Gly Trp Phe His Ala Gly Gly Thr Leu Val Ile Ala Gly His Gly Asp
 195 200 205

30

Glu Lys Asp Pro Glu Lys Leu Ile Gln Leu Ile Gln Cys His Lys Val
 210 215 220

Thr His Ile Asn Phe Val Pro Ser Met Leu His Ala Met Leu Gln Ala
 225 230 235 240

Leu Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ile Met Asn Arg Leu Lys Tyr Ile Ile
 245 250 255

Val Ala Gly Glu Ala Val Ser Pro Glu Leu Cys Asn Arg Leu Tyr Ala
 260 265 270

His Cys Pro Asn Val Lys Leu Glu Asn Leu Tyr Gly Pro Thr Glu Gly
 275 280 285

Thr Ile Tyr Ala Thr Gly Phe Ser Ile His Lys Glu Met Asn Val Ala
 290 295 300

10

Asn Val Pro Ile Gly Lys Pro Leu Ser His Val Glu Thr Tyr Ile Leu
 305 310 315 320

Asp Gln Asn Asn Gln Ile Val Pro Ile Gly Val Pro Gly Glu Leu Cys
 325 330 335

Leu Gly Gly Ile Cys Val Ala Lys Gly Tyr Met Lys Glu Pro Val Leu
 340 345 350

20

Thr Glu Glu Lys Phe Val Val Asn Pro Met Lys Gln Ser Glu Arg Met
 355 360 365

Tyr Arg Thr Gly Asp Leu Val Arg Trp Leu Ala Asp Gly Asn Ile Glu
 370 375 380

30

Tyr Leu Gly Arg Ile Asp Asn Gln Val Lys Ile Arg Gly Phe Arg Ile
 385 390 395 400

Glu Leu Gly Glu Ile Glu Ala Ala Ile Ala Ala Leu Glu Asp Val Val
 405 410 415

Gln Thr Ile Val Thr Thr Met Thr Asp His Lys Gly Ala Asn Lys Ile
 420 425 430

40

Val Ala Tyr Val Val Ser Glu Lys Tyr Asp Glu Glu Arg Ile Arg Glu
435 440 445

His Val Lys Lys Thr Leu Pro Gln Tyr Met Val Pro Ser Tyr Phe Val
450 455 460

Ser Met Lys Ala Leu Pro Leu Asn Lys Asn Gly Lys Val Asp Arg Lys
465 470 475 480

10

Gln Leu His Ser Val Asp Leu Tyr Glu Thr Ser Met Asp Thr Val Ile
485 490 495

Val Gly Pro Arg Asn Glu Lys Glu Ala Met Leu Ser Val Ile Trp Gln
500 505 510

Glu Leu Leu Gly Leu Glu Asn Ile Ser Val His Asp Asn Phe Phe Lys
515 520 525

20

Leu Gly Gly His Ser Ile Asn Ala Thr Gln Leu Val Ser Lys Ile Tyr
530 535 540

Ser Val Cys Arg Val Arg Met Pro Leu Lys Asn Val Phe Gln Tyr Thr
545 550 555 560

30

Thr Leu Ala Thr Met Ala Arg Val Leu Glu Glu Leu Leu Val Ser Ala
565 570 575

Val Asp Glu Val Ala Val Thr Thr Glu Arg Ile Pro Lys Ile Leu Pro
580 585 590

Arg Thr Tyr Tyr Asp Leu Ser Tyr Ser Gln Gln Arg Ile Tyr Phe Leu
595 600 605

Ser Thr Met Glu Lys Glu Thr Asn Tyr Tyr Asn Ile Leu Gly Ala Trp
 610 615 620

Asp Ile Tyr Gly Lys Leu Asp Val Thr Leu Phe Glu Lys Ala Ile Gln
 625 630 635 640

Leu Leu Met Lys Lys His His Ser Leu Arg Ala Thr Phe Glu Ile Val
 645 650 655

10

Asp Gly Lys Pro Val Gln Ile Ile His Asp Asp Met Glu Ile Pro Val
 660 665 670

Gln Phe Ile Asp Leu Thr Val Met Pro Glu Gly Leu Arg Ile Glu Glu
 675 680 685

Val Asp Glu Leu Met Leu Lys Glu Ser Lys Arg Val Tyr Asn Leu Ala
 690 695 700

20

Asn Gly Pro Leu Met His Cys Thr Ile Val Lys Ile Lys Glu Gly Glu
 705 710 715 720

His Val Leu Leu Ile Gly Gln His His Ile Ile Ser Asp Gly Trp Ser
 725 730 735

Leu Gly Ile Phe Val Lys Glu Leu Asn Glu Met Tyr Asp Ala Phe Val
 740 745 750

30

Gln His Lys Pro Val Ala Glu Thr Pro Ser Thr Ile Ser Ile Met Asp
 755 760 765

Phe Thr Ala Trp His Asn Ser Lys Val Asp Glu Asp Gln Asp Asp Arg
 770 775 780

Gln Tyr Trp Leu Gln Arg Phe Glu Gly Glu Leu Pro Thr Leu Glu Leu
785 790 795 800

Pro Thr Asp Arg Gln Arg Pro Leu Leu Lys Thr Tyr His Gly Asp Thr
805 810 815

Leu Ser Tyr Lys Val Asn Ser Gln Leu His Gln Lys Leu Lys Asp Phe
820 825 830

10

Ser His Ala Asn Gly Val Thr Met Phe Met Thr Leu Leu Thr Ala Tyr
835 840 845

Asn Ile Met Leu Asn Lys Leu Thr Asn Glu Thr Asp Ile Val Val Gly
850 855 860

Ser Pro Val Ala Gly Arg Asn Glu Pro Glu Ser Lys Asp Leu Ile Gly
865 870 875 880

20

Met Phe Val Asn Thr Leu Ala Leu Arg Ser His Leu Gly Asp Asn Pro
885 890 895

Thr Val Asp Val Leu Leu Lys Gln Ile Lys Gln Asn Thr Leu Glu Ala
900 905 910

30

Tyr Asn His Gln Asp Tyr Pro Phe Asp Lys Leu Val Asp Asp Leu Asp
915 920 925

Pro His Arg Asp Leu Ser Arg Thr Pro Ile Phe Gln Val Met Met Gly
930 935 940

Tyr Met Asn Met Pro Leu Met Val Ala Phe Arg Glu Ala Glu Val Arg
945 950 955 960

Glu Arg Phe Val Arg His Lys Val Ala Arg Phe Asp Leu Thr Leu His
 965 970 975

Val Phe Glu Asp Glu Asp Gln Met Lys Ile Phe Phe Glu Tyr Asn Thr
 980 985 990

Asp Leu Phe Asp Glu Ser Thr Ile Met Arg Trp Gln Asn His Phe Glu
 995 1000 1005

10

Thr Leu Leu Gln Glu Ile Val Ser Asn Pro Thr Lys Arg Ile Ser
 1010 1015 1020

Glu Leu Asn Ile Leu Thr Asn Glu Glu Lys Tyr Glu Ile Leu Glu
 1025 1030 1035

Met Asn Asn Asn Ser Thr Glu Tyr Pro Gln His Glu Ser Val Ala
 1040 1045 1050

20

Glu Ile Phe Arg Glu Thr Lys Ile Lys His Gln Ala Lys Leu Ala
 1055 1060 1065

Ile Thr Tyr Lys Asp Arg Lys Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Ser Glu
 1070 1075 1080

Lys Ala Asn Ala Leu Ala His Thr Leu Lys Arg Arg Gly Val Ala
 1085 1090 1095

30

Gln His Asp Val Val Gly Ile Val Ala Glu Arg Ser Pro Glu Thr
 1100 1105 1110

Ile Ile Gly Ile Leu Ala Ile Leu Lys Val Gly Ala Ile Tyr Leu
 1115 1120 1125

Pro Ile Asp Pro Lys Leu Pro Gln Leu Thr Leu Gln His Ile Trp
 1130 1135 1140

Arg Asp Ser Gly Ala Lys Val Leu Leu Gly Lys Asn Glu Thr Thr
 1145 1150 1155

Val Glu Val Gly Lys Glu Val Pro Phe Val Asp Ile Glu Gly Asp
 1160 1165 1170

10

Lys Gly Lys Gln Glu Glu Leu Val Cys Pro Ile Ser Pro Glu Asp
 1175 1180 1185

Thr Ala Tyr Ile Met Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Gly Lys Pro Lys
 1190 1195 1200

Gly Val Met Val Thr His Arg Asn Ile Val Arg Leu Val Lys Asn
 1205 1210 1215

20

Thr Asn Phe Val Ser Leu Gln Glu Gln Asp Val Leu Leu Gln Thr
 1220 1225 1230

Gly Ser Leu Thr Phe Asp Ala Ala Thr Phe Glu Ile Trp Gly Ala
 1235 1240 1245

30

Leu Leu Asn Gly Leu Thr Leu His Leu Val Glu Asp Tyr Val Ile
 1250 1255 1260

Leu Asp Gly Glu Ala Leu Gln Glu Glu Ile Gln Gln Asn Lys Ala
 1265 1270 1275

Thr Ile Met Trp Val Ser Ala Pro Leu Phe Asn Gln Leu Ala Asp
 1280 1285 1290

Gln Asn Pro Ala Met Phe Thr Gly Ile Lys Gln Leu Leu Ile Gly
 1295 1300 1305

Gly Asp Val Leu Ser Pro Lys His Ile Asn Lys Val Met Asp His
 1310 1315 1320

Cys Ala Pro Ile Asn Ile Ile Asn Gly Tyr Gly Pro Thr Glu Asn
 1325 1330 1335

10

Thr Thr Phe Ser Thr Ser Phe Val Ile Asp Gln Met Tyr Gln Asp
 1340 1345 1350

Ser Ile Pro Ile Gly Thr Pro Ile Ala Asn Ser Ser Ala Tyr Ile
 1355 1360 1365

Leu Asp Val His Gln Asn Ile Gln Pro Ile Gly Val Val Gly Glu
 1370 1375 1380

20

Leu Cys Val Gly Gly Asp Gly Val Ala Lys Gly Tyr Val Asn Leu
 1385 1390 1395

Glu Gln Leu Thr Glu Glu Arg Phe Ile Ala Asp Pro Phe Leu Lys
 1400 1405 1410

30

Gly Ser Thr Met Tyr Arg Thr Gly Asp Tyr Val Lys Leu Leu Pro
 1415 1420 1425

Asn Gly Asn Ile Gln Tyr Ile Gly Arg Val Asp Asn Gln Val Lys
 1430 1435 1440

Ile Arg Gly Phe Arg Ile Glu Leu Glu Ala Ile Met Asn Thr Leu
 1445 1450 1455

Lys Gln Cys Glu Ser Ile Lys Asp Val Ile Val Val Val Gln Glu
 1460 1465 1470

Gln Asn Gly Tyr Lys Thr Leu Val Ala Tyr Val Val Gly Glu Glu
 1475 1480 1485

Ser Leu Ser Ile Glu Thr Val Arg Ala Tyr Ala Lys Lys His Leu
 1490 1495 1500

10

Ala Glu Tyr Met Val Pro Ser Gln Phe Ile Phe Ile Glu Glu Ile
 1505 1510 1515

Pro Leu Ser Ile Asn Gly Lys Val Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Lys
 1520 1525 1530

Val Gln Glu Val Leu His Lys Lys Val Glu Thr Leu Leu Pro Glu
 1535 1540 1545

20

Asn Arg Leu Glu Glu Ile Ile Leu Arg Val Tyr Arg Asp Val Leu
 1550 1555 1560

Glu Lys Glu Asp Phe Gly Val Thr Asp Ser Phe Phe Ala Tyr Gly
 1565 1570 1575

Gly Asp Ser Leu Leu Ser Ile Gln Val Val Ser Met Leu Lys Lys
 1580 1585 1590

30

Glu Glu Ile Ala Val Asp Pro Lys Met Ile Phe Met His Thr Thr
 1595 1600 1605

Val Arg Glu Leu Ala Lys Ala Cys Glu Asn Arg Pro Val Met Glu
 1610 1615 1620

Glu Thr Lys Arg Thr Glu Lys Asp Tyr Leu Ile Gln Met Arg Glu
 1625 1630 1635

Gly Ser Glu Glu Asp Ser Cys Ile Ile Phe Ala Pro Pro Ala Gly
 1640 1645 1650

Gly Thr Val Leu Gly Tyr Ile Glu Leu Ala Arg Tyr Phe Glu Gly
 1655 1660 1665

10

Ile Gly Asn Val Tyr Gly Leu Gln Ala Pro Gly Leu Tyr Asp Asp
 1670 1675 1680

Glu Glu Pro Thr Phe Leu Asp Tyr Asp Glu Leu Val Gln Val Phe
 1685 1690 1695

Leu Arg Ser Ile Glu Gly Thr Tyr Arg Pro Gly Gln Asp Tyr Leu
 1700 1705 1710

20

Gly Gly His Ser Leu Gly Gly His Ile Ala Phe Gly Met Cys Cys
 1715 1720 1725

Glu Leu Ile Lys Gln Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu Leu Ile Leu
 1730 1735 1740

30

Asp Thr Thr Pro Ser Leu Gln Val Val Lys Gly Ala Lys Asp Glu
 1745 1750 1755

Lys Ile Ala Glu Glu Asp Phe Lys Met Met Val Leu Ala Ala Gly
 1760 1765 1770

Ile Gly Asn Met Met Gly Val Asp Pro Glu Glu Leu Lys Gln Leu
 1775 1780 1785

Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Thr Arg Val Val Ala Val Ala Gln Lys
 1790 1795 1800

Asp Glu Lys Leu Lys Thr Phe Ile Asn Glu Thr Tyr Leu Asp Lys
 1805 1810 1815

Tyr Leu Lys Leu Gln Ile His Ser Leu Leu Met Ser Arg Thr Leu
 1820 1825 1830

10

Glu Leu Glu Lys Thr Gln Leu Asp Ile Pro Ile Lys Val Phe Lys
 1835 1840 1845

Thr Gln Phe His Thr Glu Glu Leu Val Glu Arg Phe Asp Ala Trp
 1850 1855 1860

His Asn Tyr Thr Asn Gln Ala Cys Thr Phe Ile Asp Ile Pro Gly
 1865 1870 1875

20

Thr His Thr Thr Met Met Arg Leu Pro His Val Lys Glu Val Ala
 1880 1885 1890

Lys Lys Ile Glu Glu Gln Leu
 1895 1900

30

- <210> 4
- <211> 1020
- <212> PRT
- <213> Bacillus cereus

<400> 4

Val His Lys Thr Pro Ser Ala Thr Ala Leu Ile Tyr Arg Asn Lys Glu
 1 5 10 15

Met Thr Tyr Glu Asp Val Asn Ala Gln Ala Asn Ala Leu Ala His Lys
20 25 30

Leu Arg Asp Ala Gly Val Gly Pro Asn Gln Val Val Gly Val Leu Cys
35 40 45

Asp Arg Ser Phe Glu Met Val Val Gly Ile Leu Ala Val Leu Lys Ala
50 55 60

10

Gly Gly Ala Tyr Leu Pro Ile Asp Thr Ala Tyr Pro Met Gln Arg Thr
65 70 75 80

Glu Tyr Val Leu Gln Asn Ser Glu Ala Thr Ile Leu Leu Thr Lys Glu
85 90 95

Cys Tyr Leu Lys Glu Ser Leu Asp Phe Glu Gly Glu Val Phe Tyr Leu
100 105 110

20

Asp Asp Ala Arg Leu Phe Glu Gly Asp Arg Arg Asp Leu Gln Asn Ile
115 120 125

Asn Asn Pro Thr Asn Leu Ala Tyr Ile Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr
130 135 140

30

Gly Asn Pro Lys Gly Val Met Val Ala His Gln Ser Val Val Asn Leu
145 150 155 160

Leu Leu Asp Leu Gln Glu Lys Tyr Pro Val Leu Ala Glu Asp Lys His
165 170 175

Leu Leu Lys Thr Thr Tyr Thr Phe Asp Val Ser Val Ala Glu Ile Phe
180 185 190

Gly Trp Phe His Ala Gly Gly Thr Leu Val Ile Ala Gly His Gly Asp
 195 200 205

Glu Lys Asp Pro Glu Lys Leu Ile Gln Leu Ile Gln Cys His Lys Val
 210 215 220

Thr His Ile Asn Phe Val Pro Ser Met Leu His Ala Met Leu Gln Ala
 225 230 235 240

10

Leu Asp Glu Lys Asp Phe Ala Ile Met Asn Arg Leu Lys Tyr Ile Ile
 245 250 255

Val Ala Gly Glu Ala Val Ser Pro Glu Leu Cys Asn Arg Leu Tyr Ala
 260 265 270

His Cys Pro Asn Val Lys Leu Glu Asn Leu Tyr Gly Pro Thr Glu Gly
 275 280 285

20

Thr Ile Tyr Ala Thr Gly Phe Ser Ile His Lys Glu Met Asn Val Ala
 290 295 300

Asn Val Pro Ile Gly Lys Pro Leu Ser His Val Glu Thr Tyr Ile Leu
 305 310 315 320

30

Asp Gln Asn Asn Gln Ile Val Pro Ile Gly Val Pro Gly Glu Leu Cys
 325 330 335

Leu Gly Gly Ile Cys Val Ala Lys Gly Tyr Met Lys Glu Pro Val Leu
 340 345 350

Thr Glu Glu Lys Phe Val Val Asn Pro Met Lys Gln Ser Glu Arg Met
 355 360 365

Tyr Arg Thr Gly Asp Leu Val Arg Trp Leu Ala Asp Gly Asn Ile Glu
 370 375 380

Tyr Leu Gly Arg Ile Asp Asn Gln Val Lys Ile Arg Gly Phe Arg Ile
 385 390 395 400

Glu Leu Gly Glu Ile Glu Ala Ala Ile Ala Ala Leu Glu Asp Val Val
 405 410 415

10

Gln Thr Ile Val Thr Thr Met Thr Asp His Lys Gly Ala Asn Lys Ile
 420 425 430

Val Ala Tyr Val Val Ser Glu Lys Tyr Asp Glu Glu Arg Ile Arg Glu
 435 440 445

His Val Lys Lys Thr Leu Pro Gln Tyr Met Val Pro Ser Tyr Phe Val
 450 455 460

20

Ser Met Lys Ala Leu Pro Leu Asn Lys Asn Gly Lys Val Asp Arg Lys
 465 470 475 480

Gln Leu His Ser Val Asp Leu Tyr Glu Thr Ser Met Asp Thr Val Ile
 485 490 495

30

Val Gly Pro Arg Asn Glu Lys Glu Ala Met Leu Ser Val Ile Trp Gln
 500 505 510

Glu Leu Leu Gly Leu Glu Asn Ile Ser Val His Asp Asn Phe Phe Lys
 515 520 525

Leu Gly Gly His Ser Ile Asn Ala Thr Gln Leu Val Ser Lys Ile Tyr
 530 535 540

Ser Val Cys Arg Val Arg Met Pro Leu Lys Asn Val Phe Gln Tyr Thr
 545 550 555 560

Thr Leu Ala Thr Met Ala Arg Val Leu Glu Glu Leu Leu Val Ser Ala
 565 570 575

Val Asp Glu Val Ala Val Thr Thr Glu Arg Ile Pro Lys Ile Leu Pro
 580 585 590

10

Arg Thr Tyr Tyr Asp Leu Ser Tyr Ser Gln Gln Arg Ile Tyr Phe Leu
 595 600 605

Ser Thr Met Glu Lys Glu Thr Asn Tyr Tyr Asn Ile Leu Gly Ala Trp
 610 615 620

Asp Ile Tyr Gly Lys Leu Asp Val Thr Leu Phe Glu Lys Ala Ile Gln
 625 630 635 640

20

Leu Leu Met Lys Lys His His Ser Leu Arg Ala Thr Phe Glu Ile Val
 645 650 655

Asp Gly Lys Pro Val Gln Ile Ile His Asp Asp Met Glu Ile Pro Val
 660 665 670

30

Gln Phe Ile Asp Leu Thr Val Met Pro Glu Gly Leu Arg Ile Glu Glu
 675 680 685

Val Asp Glu Leu Met Leu Lys Glu Ser Lys Arg Val Tyr Asn Leu Ala
 690 695 700

Asn Gly Pro Leu Met His Cys Thr Ile Val Lys Ile Lys Glu Gly Glu
 705 710 715 720

His Val Leu Leu Ile Gly Gln His His Ile Ile Ser Asp Gly Trp Ser
 725 730 735

Leu Gly Ile Phe Val Lys Glu Leu Asn Glu Met Tyr Asp Ala Phe Val
 740 745 750

Gln His Lys Pro Val Ala Glu Thr Pro Ser Thr Ile Ser Ile Met Asp
 755 760 765

10

Phe Thr Ala Trp His Asn Ser Lys Val Asp Glu Asp Gln Asp Asp Arg
 770 775 780

Gln Tyr Trp Leu Gln Arg Phe Glu Gly Glu Leu Pro Thr Leu Glu Leu
 785 790 795 800

Pro Thr Asp Arg Gln Arg Pro Leu Leu Lys Thr Tyr His Gly Asp Thr
 805 810 815

20

Leu Ser Tyr Lys Val Asn Ser Gln Leu His Gln Lys Leu Lys Asp Phe
 820 825 830

Ser His Ala Asn Gly Val Thr Met Phe Met Thr Leu Leu Thr Ala Tyr
 835 840 845

Asn Ile Met Leu Asn Lys Leu Thr Asn Glu Thr Asp Ile Val Val Gly
 850 855 860

30

Ser Pro Val Ala Gly Arg Asn Glu Pro Glu Ser Lys Asp Leu Ile Gly
 865 870 875 880

Met Phe Val Asn Thr Leu Ala Leu Arg Ser His Leu Gly Asp Asn Pro
 885 890 895

Thr Val Asp Val Leu Leu Lys Gln Ile Lys Gln Asn Thr Leu Glu Ala
 900 905 910

Tyr Asn His Gln Asp Tyr Pro Phe Asp Lys Leu Val Asp Asp Leu Asp
 915 920 925

Pro His Arg Asp Leu Ser Arg Thr Pro Ile Phe Gln Val Met Met Gly
 930 935 940

10

Tyr Met Asn Met Pro Leu Met Val Ala Phe Arg Glu Ala Glu Val Arg
 945 950 955 960

Glu Arg Phe Val Arg His Lys Val Ala Arg Phe Asp Leu Thr Leu His
 965 970 975

Val Phe Glu Asp Glu Asp Gln Met Lys Ile Phe Phe Glu Tyr Asn Thr
 980 985 990

20

Asp Leu Phe Asp Glu Ser Thr Ile Met Arg Trp Gln Asn His Phe Glu
 995 1000 1005

Thr Leu Leu Gln Glu Ile Val Ser Asn Pro Thr Lys
 1010 1015 1020

30

- <210> 5
- <211> 880
- <212> PRT
- <213> Bacillus cereus

<400> 5

Arg Ile Ser Glu Leu Asn Ile Leu Thr Asn Glu Glu Lys Tyr Glu Ile
 1 5 10 15

Leu Glu Met Asn Asn Asn Ser Thr Glu Tyr Pro Gln His Glu Ser Val
 20 25 30

Ala Glu Ile Phe Arg Glu Thr Lys Ile Lys His Gln Ala Lys Leu Ala
 35 40 45

Ile Thr Tyr Lys Asp Arg Lys Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Ser Glu Lys
 50 55 60

10

Ala Asn Ala Leu Ala His Thr Leu Lys Arg Arg Gly Val Ala Gln His
 65 70 75 80

Asp Val Val Gly Ile Val Ala Glu Arg Ser Pro Glu Thr Ile Ile Gly
 85 90 95

Ile Leu Ala Ile Leu Lys Val Gly Ala Ile Tyr Leu Pro Ile Asp Pro
 100 105 110

20

Lys Leu Pro Gln Leu Thr Leu Gln His Ile Trp Arg Asp Ser Gly Ala
 115 120 125

Lys Val Leu Leu Gly Lys Asn Glu Thr Thr Val Glu Val Gly Lys Glu
 130 135 140

30

Val Pro Phe Val Asp Ile Glu Gly Asp Lys Gly Lys Gln Glu Glu Leu
 145 150 155 160

Val Cys Pro Ile Ser Pro Glu Asp Thr Ala Tyr Ile Met Tyr Thr Ser
 165 170 175

Gly Ser Thr Gly Lys Pro Lys Gly Val Met Val Thr His Arg Asn Ile
 180 185 190

al Arg Leu Val Lys Asn Thr Asn Phe Val Ser Leu Gln Glu Gln Asp
 195 200 205

Val Leu Leu Gln Thr Gly Ser Leu Thr Phe Asp Ala Ala Thr Phe Glu
 210 215 220

Ile Trp Gly Ala Leu Leu Asn Gly Leu Thr Leu His Leu Val Glu Asp
 225 230 235 240

10

Tyr Val Ile Leu Asp Gly Glu Ala Leu Gln Glu Glu Ile Gln Gln Asn
 245 250 255

Lys Ala Thr Ile Met Trp Val Ser Ala Pro Leu Phe Asn Gln Leu Ala
 260 265 270

Asp Gln Asn Pro Ala Met Phe Thr Gly Ile Lys Gln Leu Leu Ile Gly
 275 280 285

20

Gly Asp Val Leu Ser Pro Lys His Ile Asn Lys Val Met Asp His Cys
 290 295 300

Ala Pro Ile Asn Ile Ile Asn Gly Tyr Gly Pro Thr Glu Asn Thr Thr
 305 310 315 320

30

Phe Ser Thr Ser Phe Val Ile Asp Gln Met Tyr Gln Asp Ser Ile Pro
 325 330 335

Ile Gly Thr Pro Ile Ala Asn Ser Ser Ala Tyr Ile Leu Asp Val His
 340 345 350

Gln Asn Ile Gln Pro Ile Gly Val Val Gly Glu Leu Cys Val Gly Gly
 355 360 365

sp Gly Val Ala Lys Gly Tyr Val Asn Leu Glu Gln Leu Thr Glu Glu
 370 375 380

Arg Phe Ile Ala Asp Pro Phe Leu Lys Gly Ser Thr Met Tyr Arg Thr
 385 390 395 400

Gly Asp Tyr Val Lys Leu Leu Pro Asn Gly Asn Ile Gln Tyr Ile Gly
 405 410 415

10

Arg Val Asp Asn Gln Val Lys Ile Arg Gly Phe Arg Ile Glu Leu Glu
 420 425 430

Ala Ile Met Asn Thr Leu Lys Gln Cys Glu Ser Ile Lys Asp Val Ile
 435 440 445

Val Val Val Gln Glu Gln Asn Gly Tyr Lys Thr Leu Val Ala Tyr Val
 450 455 460

20

Val Gly Glu Glu Ser Leu Ser Ile Glu Thr Val Arg Ala Tyr Ala Lys
 465 470 475 480

Lys His Leu Ala Glu Tyr Met Val Pro Ser Gln Phe Ile Phe Ile Glu
 485 490 495

30

Glu Ile Pro Leu Ser Ile Asn Gly Lys Val Gln Tyr Ser Lys Leu Pro
 500 505 510

Lys Val Gln Glu Val Leu His Lys Lys Val Glu Thr Leu Leu Pro Glu
 515 520 525

Asn Arg Leu Glu Glu Ile Ile Leu Arg Val Tyr Arg Asp Val Leu Glu
 530 535 540

ys Glu Asp Phe Gly Val Thr Asp Ser Phe Phe Ala Tyr Gly Gly Asp
 545 550 555 560

Ser Leu Leu Ser Ile Gln Val Val Ser Met Leu Lys Lys Glu Glu Ile
 565 570 575

Ala Val Asp Pro Lys Met Ile Phe Met His Thr Thr Val Arg Glu Leu
 580 585 590

10

Ala Lys Ala Cys Glu Asn Arg Pro Val Met Glu Glu Thr Lys Arg Thr
 595 600 605

Glu Lys Asp Tyr Leu Ile Gln Met Arg Glu Gly Ser Glu Glu Asp Ser
 610 615 620

Cys Ile Ile Phe Ala Pro Pro Ala Gly Gly Thr Val Leu Gly Tyr Ile
 625 630 635 640

20

Glu Leu Ala Arg Tyr Phe Glu Gly Ile Gly Asn Val Tyr Gly Leu Gln
 645 650 655

Ala Pro Gly Leu Tyr Asp Asp Glu Glu Pro Thr Phe Leu Asp Tyr Asp
 660 665 670

Glu Leu Val Gln Val Phe Leu Arg Ser Ile Glu Gly Thr Tyr Arg Pro
 675 680 685

30

Gly Gln Asp Tyr Leu Gly Gly His Ser Leu Gly Gly His Ile Ala Phe
 690 695 700

Gly Met Cys Cys Glu Leu Ile Lys Gln Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu
 705 710 715 720

eu lle Leu Asp Thr Thr Pro Ser Leu Gln Val Val Lys Gly Ala Lys
 725 730 735

Asp Glu Lys lle Ala Glu Glu Asp Phe Lys Met Met Val Leu Ala Ala
 740 745 750

Gly lle Gly Asn Met Met Gly Val Asp Pro Glu Glu Leu Lys Gln Leu
 755 760 765

10

Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Thr Arg Val Val Ala Val Ala Gln Lys Asp
 770 775 780

Glu Lys Leu Lys Thr Phe lle Asn Glu Thr Tyr Leu Asp Lys Tyr Leu
 785 790 795 800

Lys Leu Gln lle His Ser Leu Leu Met Ser Arg Thr Leu Glu Leu Glu
 805 810 815

20

Lys Thr Gln Leu Asp lle Pro lle Lys Val Phe Lys Thr Gln Phe His
 820 825 830

Thr Glu Glu Leu Val Glu Arg Phe Asp Ala Trp His Asn Tyr Thr Asn
 835 840 845

30

Gln Ala Cys Thr Phe lle Asp lle Pro Gly Thr His Thr Thr Met Met
 850 855 860

Arg Leu Pro His Val Lys Glu Val Ala Lys Lys lle Glu Glu Gln Leu
 865 870 875 880

<210> 6

<211> 11115

<212> DNA

<213> Bacillus cereus

40

\400> 6

tttataaaat caatgaatca gttgggaaaa tcaaaaaatt tacataatgg ggggatgatg	60	
gagatgaaac gagtgggaaga acatgatcac attcatgtgt taaatgaaat agaaaacgaa	120	
tgcgaaagaa gatatgggag aagtaatatt gcaattatgc ttgaaaagca tgggtttcat	180	
gaacagccgc ttcatataga agacttattt catgaggtag agatgcaaga acattcacga	240	
gtatcgcgcc acgaaacagt ttgatgaca gataaacaat gtatagatga gagtggaaaa	300	10
ccgttagctc ttcgttttgg tgagccactt catcttgatg actgtacccc aaaaacacta	360	
caagaaattt taaagcgtgc cgctaagcaa gcaaaagata aagggatgac attgtatai	420	
gaagatggac aigaagagta cctctcctac caagagatgt tggcagatgc ggagcggtia	480	
ctaaaagggt tgcgaaatct tggtaataca ccaggagaaa gtattttgtt tcaatttaag	540	
gacaataagc attttgttac tgcgttttgg gcatgtatac tigggggatt tttaccaacg	600	
ccgttaggaa cggcccctat ctatagttag caaaatgcac aagtattaaa acittataac	660	20
acatggcagc tattagaaca accgattatt ttaacggaat ttgaattgaa agaagagatt	720	
gctgcaattc gaacaacatt gcaacgicaa gagattgtta tacatagtat tgagaatgtt	780	
atggatacag cgcgcgatac aaactgggtt ccttgtaccg aagatactat tgitttgaat	840	
ttattaacgt ctggtagcac aggagtaccc aaatgtgtgc agcacaaaag taaatccatt	900	
attgcgcgca cagtttccaa ttgtattgac cgccagctag atgaaaaaga agtatcgtta	960	30
aattggatgc cgcttgatca tgttggaggc atcgtaatgt gtcacattcg tgatacctat	1020	
ttaatgtgcc aacaggtaaa ctgtcttatt tcggcattta ttgaaaatcc gctaaattgg	1080	
ttgcactgga ttgatgcita ctacagcaca tttacatggg cgccaaactt cgctttttca	1140	
ttaattaacc agiatgaaga agagattaaa tcatcttcat ggaatctttc ttcgatgaga	1200	
tacatcgtaa atggtgggga agctgttatt tcaagtgttg ggatgaaatt tttacaattg	1260	

tacagcaac atcaattgcc ttcgaactgt cttattccta cgittgggat gtctgaagtt	1320	
tcttcgggta ttattgaatg tcattcgitt tatacgcaa cgacaaatac aggaatgttg	1380	
tatgttgata agaattcttt agatggtaat ttacaattca caiatgaggg gcacccaaaat	1440	
gccattgttt ttacggaagt agggagaccg atgcctggta ttggcattcg tattgttgat	1500	
gaggacaatc agtgcctgtc agaagatcgt atggacgat tccaaattca tggccaacg	1560	
gttatgaatg gttatttcaa aaatgatgaa gcaaatgcgg aaagttttac tgaagatggc	1620	10
tggttcgata gtggagatct ggggtitata cataacggta atcttgtcat tacaggaaga	1680	
aaaaaggata tgattgttgt tcatggtgca aattactaca actatgaaat tgaagccttg	1740	
gtagaacaag tacctggggg gaaaccacg ttigtatgtg caacgagtgt gaagtcggct	1800	
gaaggagcag aggaattagc tattitcttt gtcccagtaa ttaatcatgt ttctgtgatg	1860	
tttgcgacga tgcaacaaat caaacaaatt gttgcgcgca aaatgggtat cacgccgaaa	1920	20
gtgattatac caattcagaa ggaagcattc tttaaaacgg atagtgggaa aataacgaga	1980	
aatgcatttc aaaaacagtt tgagaacggg gcatatagag agattacaca aaagattgat	2040	
tgccatttac aaaatgaaaa aacactatct cagtggtttt atcgtgaaaa attagtcgaa	2100	
agtaagtigg gcaaaagcgt atcctcccaa aaagaaacgt atgttttctt tcgacaaggt	2160	
aaatcatttc atcatgtcct aaaagaaaag ttaacgcaac atctgttgtt tattgtggat	2220	30
gtaggagaaa cattcgggta gatccatcca aatcattatc aaattaatcc taaaaacaaa	2280	
atggattacg ttcgattatt tgaagaactc gcaaaaagaa atgtagaaga tcaagttttt	2340	
catctcttgc atgcttggaa ttattcgat acagttccaa cttttagatc ggtagaagat	2400	
ttagctaata cgcaataatc tgggtggttt agtgtgatgt tcgcacttca agctattatg	2460	
catgcgaaat tgccactacg tcgtgttacg gtgattgcga caaatagtgt tggattagaa	2520	
gcaaggaaa tgaactattc atgttcaaca ttagaagggt atgtgaaaac tttgccagct	2580	40

agtttgaaa atttacaagt gaagtatatt gatatagaag gaaaagatai acagtttgat	2640	
acigagaccg tatggaaaga acitcagcaa caagaaacca ttcctgtcgt attglatcgt	2700	
gatgagaaaa gatacaaaat aggtttagaa aaagttaccaa tgttagaaca gaaagaaaaa	2760	
aatattccgt ttcaacagca agggttttac atcattacag gtggcttgg tggtttggg	2820	
acgctttag ccaaattact tttagaacga tacagcgcaa atgttctttt acttggtcga	2880	
acagaaatg aaacaaatgc agaaaaatg cgcttcttg attcattaa agaglatgaa	2940	10
caatatggig gtacagtcca atataaaatg tgcaatgtaa tggatttaga tgcgatgca	3000	
aaagttgtt attcacagga agaacgtctg caacaaaagg taaatgggat tatccacctt	3060	
gcagggatta ttcaagaaat actgatagaa aagcaaaccg aaaaagaact gcatgciatg	3120	
ttigaagcta aggtatatgc atcttgggtg ctacatgaaa tcgtaaaaga aaggcaagat	3180	
tgtctctaca ttacaacttc ttcagcaaga acgttgttac cggggatgac catctcagct	3240	20
tattgtagtg cgaatcgatt ttttgaaaat ttgcatatt atcaacgaag tcaaaatgta	3300	
aatagctact gttttcatg gagtttctgg aatgagattg gaatgggtac aaatttactt	3360	
attaanaatg cgttgatagc aaaaggattt caatgatcg atgatcaaaa aggtatatai	3420	
tcccttttgg cgggattaaa agggaacgaa cctaattgtt ttgttggat caatcatgaa	3480	
aaagaagaaa tggctcatct gattggaacc gaggaacaag aaacacaaca attacaatc	3540	30
tatattacac cagaatactt acatattctt gaagaagtgt tcctatact aaatagagaa	3600	
gaatttggtg gattggagaa agagattgtc attctaccaa aattaccgct tgatgaatat	3660	
ggtaaagtag atcaactcg tttggctcat gcgtcggata gccgttttgg aaagaacaa	3720	
catatcgtac caagaaatga tatagaagag aaaattgcat tcatttggga aggtcttttg	3780	
aataaaaagg atattagtgt acttgacat ttcttogaat taggtggtga ttctttaaaa	3840	
gcgacacaaa tgatttctgc gttgaaaaag aattttgctg ttacgattac gcaacaggaa	3900	40

ttttcaat cgagtacagt agaagagcct gctagtttag tagaaaagaa actttctcgt	3960	
actcgtacgc atgaaatgga catagttact tttagtgacc gaggtaacgt agtagagatg	4020	
tcttctgcac aaaagcggca atggitttta tatgaaatgg atcgagaaaa tccttattac	4080	
aataatacac ttgtaattcg ttgacggga gaaattcatc ttcttatttt aagaagtict	4140	
attattgagt tagtaaataa gcatgaaaca ttgcaacaa catttgtgat ggtggaiggt	4200	
ataccatcac aaattattgc agatgaagag ttagttgaaa tagaggaaat tgatttgaaa	4260	10
cacctatctg ctgaggagac gttcaaaaa ctagagggtt tacgacaacg ggaagcaaat	4320	
acggcgttta aaatcagaaa tagcgctttt cgtgcaaaag tgattttaat tgatgagaag	4380	
agagtggaga ttttactttc cgtgcatcac attgtttcgg atggttggtc gatggggatt	4440	
ttagtgaagg acattgcgga aatctatgaa gatattcggc agtggggaga aagtaagcaa	4500	
gagccattac cgattcaata cgcagattat actttgtggc aaaatgagtt tatgaaaggt	4560	20
gaggaattta gcaagcaact gtcttattgg aaggagaaat tagctgaaga tatacctgta	4620	
cttgatcctc cgttagataa accacggcca ccaattcaaa catatcgtgg gaaggtaaag	4680	
actttcacgt tacatgaaaa catgacaagg atgctaaaag aaatatgtca agaagaagaa	4740	
tgcacgctct ttatgttggt actttcggct ttctcatcat tattacatcg ttatacaggt	4800	
caggaggatc ttgttttgg ttgcttagtt gcaaatcgaa accgtgagca aatcgagaaa	4860	30
ttgattgggt tcittgttaa tacgttaccg ctacgtatta atcttcatcg ggaaatgcaa	4920	
tttactgaat tgctttcgca agtaaagaaa acgaccattg atgcatatga tcatcaagat	4980	
gtgccttttg agctactagt cgaatgaatta cagattgaga gagattcgag tcgtaatgcg	5040	
ctattccaag tgttgtttgt cttacaaaac gcacaattac aagcagtaga cttagagaaa	5100	
gcgacaatgg aactcgaat tttagatagt gacacggcca agtttgatat gtcagtgcaa	5160	
attttcgaat tggaggacac ttatctatc aaattagagt acaatcggga ttatttttt	5220	40

atgatacaa tagaacgctt tcttgctcat tatgaaacca tattagcaag cgttattcat	5280	
aatcaaaagg caaaaatagg ggaattgtca attttaccac aatctgaata tacgaaactt	5340	
gtatcigagt ggaatgaaaa gagtgccact tataatggaa atcagtgtat tcatgaattg	5400	
ttcgaagcag ctgttcacaa aacgccatct gcaacagcgc ttatttatcg caacaaagag	5460	
atgacatacg aggatgtaa tgcgcaggca aatgcacttg cacataaatt aagagatgca	5520	
gggtttggac caaaccaggt agttggcgtg ttatgtgac gctctttcga gatggttgtt	5580	10
ggtatattag ctgttttaaa agcagggtgt gcttatttc caattgatac agcgtaccgg	5640	
atgcaacgaa cagaatcgt cctgcaaaaat agtgaggcaa ctattctctt aacaaaggaa	5700	
tgttacctta aggagtcttt agattttgag ggggaagttt ttactttaga tgatgcaaga	5760	
ctgtttgaag gggatagaag agatttaca aatatcaata atcctactaa ccttgcttat	5820	
atcatttata catcaggatc cacgggaaat ccaaaagggt ttatggtagc gcatcaaagt	5880	20
gttgigaatt tgctactcga ttacaagag aaatatccgg tgctagcaga agataagcac	5940	
ttgttaaaaa caacatatac gtttgatgtt tctgtagccg aaatTTTTGG atggtttcat	6000	
gcagggtggca cacttgctat tgctggacat ggtagatgaaa aagaccaga gaaactgatt	6060	
caattgattc aatgccacaa ggttacacat attaaacttc taccatcgt gctacatgca	6120	
atgttacagg ccttggatga aaaagatttt gcaattatga atcggttgaa atatattatc	6180	30
gtcgcaggag aagctgtttc accagaactt tgtaatcgac tgtacgctca ttgtccaaat	6240	
gtaaaactag aaaatctata tgggccaacg gaaggaacga ttatgctgac agggttttct	6300	
attcataaag aaatgaatgt agctaatgta ccgattggaa aaccactttc tcatgtggaa	6360	
acgtatattc ttgatcaaaa caatcaaatt gtaccaattg gtgiaccagg tgaattgtgt	6420	
ctgggaggaa tatgtgtagc aaaaggttat atgaaagagc cgggtgtaac agaagaaaaa	6480	
ttcgtcgtca atcctatgaa acaaagtga agaatgtacc gaacgggtga ttigttagc	6540	40

ggttagcag atgggaatat tgaatattta ggaagaatag ataaccaagt caagataaga	6600	
ggcttccgaa ttgagcttgg tgaattgaa gcggcaattg ctgcattaga agatgtagta	6660	
caaacaattg ttacaacaat gacggatcat aaagggtcga acaagattgt cgcatatgtt	6720	
gtgagcgaag agtatgatga agaacgaatt cgtgaacatg tgaaaaagac gttgccgcaa	6780	
tatatggtac caagttattt cgtttcgtg aaggcattgc ctcttaataa aatggaaaa	6840	
gttgatcgc aacagttgca ttccggtgat ctttatgaaa cgagtatgga tacagtcatt	6900	10
gtgggaccaa gaaacgaaaa agaagcaatg ctttcggtta ttggcaaga gcttttggga	6960	
ttagagaata tcaggttca cgataatttc ttaagcttg gtggtcattc cattaatgcg	7020	
acacaattgg tatcaaaaat ttatagtgtt tcccgagtga gaatgcctct taaaaatgtg	7080	
ttcagtata caacgtagc tacaatggca cgggtgttag aagagtgtt ggtaagcct	7140	
gttgacgaag tagctgtaac aacggagcgc attccaaaga tactaccgag aacatattac	7200	20
gattigtcgt attcacaaca aagaatttat ttcttatcfa caatggagaa agaaaccaat	7260	
tactataata ttcttgggtc ttgggatatt tatgggaaac tagatgttac gctattttaa	7320	
aaagcaatcc aactattaat gaagaaacac cttcattac gtgcaacatt tgaatcgtg	7380	
gacggcaaac ctgtgcaaat catccacgat gatatggaaa ttctgtgca atttattgac	7440	
cttactgtga tgcagaagg attacggata gaagaagtag atgaacttat gttaaaagag	7500	30
tctaaaagag tatacaatct cgcaaatggt ccgtaatgc attgtacaat tgtaagata	7560	
aaagaagggt agcatgtatt attgattgga caacatcata tcattagtga tggttggta	7620	
cttggatttt ttgtaaaaga gttaaatgaa atgtatgatg cttttgtgca acacaaacca	7680	
gttgcigaaa caccatcaac aatctccatt atggacttta ctgcttggca caatagtaaa	7740	
gtagatgaag atcaagatga tcgacaatat tggttacagc gatttgaggg agagttaccg	7800	
acgttagagt tgcgcacaga cagacaacgt ccacttttga aaacatatca tggtagacaca	7860	40

tatcatata aggtgaattc tcaattgcat caaaaattaa aggactttag tcatgcaaat	7920	
ggtgtaacga tgtttatgac gctattaacg gcgtataata ttatgttgaa taagttaaca	7980	
aatgaaacag acattgttgt tggctcccct gtagcaggta gaaatgaacc agaatcaaaa	8040	
gatttaatcg ggatgtttgt gaatacgita gcgttacgtt cgcaattagg agataatccg	8100	
acagttgatg tcttattaaa acaataaaaa cagaatactt tagaagcata caatcatcaa	8160	
gattatccat ttgataagtt ggttgatgac ttggatccac atcgagattt aagtaggaca	8220	10
ccaattttcc aagtgatgat gggatataatg aatatgccat tgatggttgc atttcgtgaa	8280	
gcagaggttc gcgaacgatt tgttcgacat aaagtcgcaa ggtttgattt aacacttcat	8340	
gtgtttgaag atgaagatca gatgaaaata tcttttgagt ataatacaga tttatttgat	8400	
gaatcaacga ttatgcgttg gcagaatcat ttcgaaacgc tattacagga aattglatcg	8460	
aatccgacaa aacgtatttc ggaattgaat atacttacia atgaggagaa atatgaaatt	8520	20
ctagagatga acaataattc aacggagtat cctcagcaig aatctgttgc ggagattttt	8580	
agagaaacga agataaagca tcaagcaaaa ctagcaatta cgtacaaaga tagaaagtta	8640	
acgtatgcag agttgagtga aaaagcaaat gcgittggcac atacattgaa acgtcgaggt	8700	
gttgcgcagc atgatgttgt tggattgtc gcagagcgtt cgccigaaac aattattgga	8760	
atactcgcaa icttaaaagt aggagcaatt tatttgcaa ttgatccaaa actaccgcaa	8820	30
ttaaactgc aacacatttg gcgagatagc ggtgcaaaag tcttcttagg gaaaaatgaa	8880	
acaacigttag aagttggcaa ggaagticcg tttgtggaca tcaaggggga taaagggag	8940	
caagaggagt tagtgtgtcc aattagtcca gaagatacgg catatattat gtatacgtca	9000	
ggcagtactg gaaaaccaa aggggttatg gtgacacata gaaatattgt tcttttagta	9060	
aaaaatacga atttcgtttc ttgcaagag caagatgtgt igttacagac aggttcgctt	9120	
acttttgacg ctgcaacatt tgaatttgg ggcgcattgc taaatggact tacgcttcat	9180	40

tagtagaag attacgtaat ttagatggg gaggcgcttc aggaagagat tcagcagaac	9240	
aaagcaacca ttatgtgggi gagtgcaccg ctgtttaatc aattggcggg tcaaaaccca	9300	
gcgatgttta caggcatiaa gcaattgctc atiggiggig atgtttatc gccaaaacat	9360	
attaacaaag tgatggacca tigtgcacca atcaatatca ttaatggata cggccaaca	9420	
gaaaatacga cgttctcgac gtcattigta attgatcaaa tgtatcaaga cagcattccg	9480	
aittgaacac cgattgctaa ttctagtgtc tacattttag atgtacatca aaatatacaa	9540	10
cctattggig tagttggcga actatgtggt ggtggatg gagittcaaa aggttatgtg	9600	
aacctgaac aattaacaga agaacggitt atagcagatc cgttcctaaa gggttctaca	9660	
atgtacagaa cggcgatta tgtgaaatta ttgcctaag gaaatattca atacattgga	9720	
cgtgiggaca atcaagtga aattcgtgga ttccgcatcg aattagaagc cattatgaac	9780	
acattaaac aatgtgaatc aatcaaagat gtaattgtt ttgtacaaga acagaatggg	9840	20
tataaaacac tggttgcata tgttgggga gaagaatcg ttcaataga aacagtggg	9900	
gcctatgcaa aaaaacattt ggctgaatat atggtacctt ctcaattat atttatagaa	9960	
gaaattccgc tctcaataaa tgggaaagia cagtatagta agttaccgaa agtacaagaa	10020	
gtattgcata aaaaagtaga aacgctgita ccagaaaaca gattagaaga aattattcta	10080	
cgtgtgtatc gtgatgtatt agagaaagaa gatitggcg taacagattc attcttcgct	10140	30
tatggtggtg actcttact aagtattcaa gtcgttcga tgtigaaaa agaggagatt	10200	
gcagtagatc cgaaaatgat ttttatgcat acaacggita gagagttagc aaaggcatgt	10260	
gaaaatcgtc cggttatgga agaaacaaaa aggactgaga aggattattt aattcaaag	10320	
cgtgaaggta gtgaagaaga tagttgtatc attttgctc ctccggcagg tggacggta	10380	
cttggatata tagaattagc aaggatttc gagggaattg gcaatgttta cggcctacaa	10440	
gcaccgggac tgtatgacga tgaagagcct acgttcttag attacgatga actigtacaa	10500	40

tgtttcctc gctcgattga agggacatat cgtccaggtc aagattatfi aggtggccac	10560	
tccttagggg gacalatcgc atttggaatg tgctgtgaac tgattaagca aggaaaggca	10620	
ccaaagggat tgctaatict agatacaaca ccatcacttc aagttgtaaa gggggccaag	10680	
gatgaaaaaa tagccgagga ggactttaaa atgatggtagc tggctgcccgg tatcggaat	10740	
atgatgggtg ttgatccaga agaattaaag caactgtcgt atgaagaagc aaaaacaaga	10800	
gttgtcgcag tggcacaaaa ggatgaaaag ttaaaaactt ttataaatga aacatattg	10860	10
gataagtatt tgaagttaca aaticatagt ttaciaatgt cacgaacatt agaattggag	10920	
aaaacacaat tagatattcc gattaaggta ttaaaacac agtttcatac agaagagcta	10980	
gtagaaagat ttgatgcttg gcataactat acaaatcaag cctgcacatt cattgatata	11040	
ccaggcacac atacgacgat gatgcgttta ccacatgtga aagaggtagc gaaaaaata	11100	
gaagaacagc tataa	11115	20

<210> 7

<211> 5700

<212> DNA

<213> *Bacillus cereus*

<400> 7

cacaaaacgc catctgcaac agcgcttati tatcgcaaca aagagatgac atacgaggat	60	
gitaatgctc aggcaaatgc acttgcacat aaattaagag atgcagggtg tggaccaaac	120	30
caggtagtig gcgtggtatg tgatcgctct ttcgagatgg ttgttggtat attagctggt	180	
ttaaaagcag gttgtgcgta ttigccaatt gatacagcgt acccgatgca acgaacagaa	240	
tacgtcctgc aaaatagtga ggcaactatt ctctaaca aggaatgta ccttaaggag	300	
tctttagatt ttgaggggga agttttttac ttatgatgaig caagactggt tgaaggggat	360	
agaagagait tacaaaatat caataatcct actaaccttg cttatatcat ttatacatca	420	40
ggatccacgg gaaatccaaa aggtgttatg gtacgcatac aaagtgttgt gaatttgcta	480	

ctcgatttac aagagaaata tccggtgcta gcagaagata agcacttggt aaaaacaaca	540	
tatacgtttg atgtttctgi agccgaaatt ttggatggt ttcattgcagg tggcacactt	600	
gttatigctg gacatggiga tgaaaaagac ccagagaaac tgattcaatt gattcaatgc	660	
cacaaggta cacatattaa ctccgtacca tcgatgctac atgcaatggt acaggccttg	720	
gatgaaaaag attttgcaat tatgaatcgg ttgaaatata ttatcgtcgc aggagaagct	780	
gtticaccag aactttgtaa tcgactgtac gctcattgtc caaatgtaa actagaaaat	840	10
ctatatgggc caacggaagg aacgatttat gcgacagggt tttctattca taaagaaatg	900	
aatgtagcta atgtaccgat tggaaaacca ctttctcatg tggaaacgta tattcttgat	960	
caaaacaatc aaattgtacc aattggtgta ccaggatgaa tgtgtctggg aggaatatgt	1020	
gtagcaaaaag gttatatgaa agagccgggt ttaacagaag aaaaattcgt cgtcaatcct	1080	
atgaaacaaa gtgaaagaat gtaccgaacg ggtgatttgg tacgctggtt agcagatggg	1140	20
aatattgaat atttaggaag aatagataac caagtcaaga taagaggctt ccgaattgag	1200	
cttggtgaaa ttgaagcggc aattgctgca ttagaagatg tagtacaac aattgttaca	1260	
acaatgacgg atcataaagg tgcaacaag atgtgcgat atgttgtgag cgaaaagtat	1320	
gatgaagaac gaattcgtga acatgtgaaa aagacgttgc cgcaatata ggtaccaagt	1380	
tatttcgttt cgaigaaggc attgcccttt aataaaaatg gaaaagtga tcgcaaacag	1440	30
ttgcattcgg ttgatcttta tgaaacgagt atggatacag tcattgtggg accaagaaac	1500	
gaaaaagaag caatgcttic ggttatttgg caagagcttt tgggattaga gaatatcagt	1560	
gttcacgata atttctttaa gcttgggtgt cattccatta atgcgacaca attggtatca	1620	
aaaatttata gtgtttgccg agtgagaatg cctcttaaaa atgtgtttca gtatacaacg	1680	
ttagctacaa tggcacgggt gttagaagag ttgttggtaa gcgctgttga cgaagtagct	1740	
gtaacaacgg agcgcattcc aaagatacta ccgagaacat attacgattt gtcgtattca	1800	40

caacaaagaa tttatttctt atctacaatg gagaaagaaa ccaattacia taatattctt	1860	
ggfgcttggg atatttatgg gaaactagat gttacgctat ttgaaaaagc aatccaacta	1920	
ttaatgaaga aacaccattc attacgtgca acatttgaaa tctgggacgg caaacctgtg	1980	
caaatcatcc acgatgatat ggaatticct gtgcaattta ttgaccttac tgtgatgcca	2040	
gaaggattac ggatagaaga agtagatgaa cttatgttaa aagagtctaa aagagtatac	2100	
aatctcgcaa atggtccgtt aatgcattgt acaattgta agataaaaga aggtgagcat	2160	10
gtattattga ttggacaaca tcatatcatt agtgatggtt ggtcacttgg tatttttga	2220	
aaagagttaa atgaaatgta tgatgccttt gtgcaacaca aaccagttgc tgaaacacca	2280	
tcaacaatct ccattatgga ctttactgct tggcacaata gtaaagtaga tgaagatcaa	2340	
gatgatcgac aatattggtt acagcgattt gagggagagt taccgacgtt agagttgccg	2400	
acagacagac aacgtccact ttgaaaaca tatcatggtg acacattatc atataaggig	2460	20
aattctcaat tgcatcaaaa attaaaggac ttagtcatg caaatggtgt aacgatgitt	2520	
atgacgctat taacggcgtt taatattatg ttgaataagt taacaaatga aacagacatt	2580	
gttgttggct cccctgtagc aggtagaaat gaaccagaat caaaagattt aatcgggatg	2640	
tttgtgaata cgttagcgtt acgttcgcat ttaggagata atccgacagt tgatgtctta	2700	
tfaaaacaaa taaaacagaa tactttagaa gcatacaatc atcaagatta tccatttgat	2760	30
aagttggttg atgacttggg tccacatcga gatitaagta ggacaccaat tttccaagt	2820	
atgatgggat atatgaatat gccattgatg gttgcatttc gtgaagcaga ggttcgcgaa	2880	
cgatttgttc gacataaagt cgcaaggitt gatttaacac ttcattggtt tgaagatgaa	2940	
gatcagatga aaatattctt tgagtataat acagatttat ttgatgaatc aacgattatg	3000	
cgttggcaga atcaittcga aacgctatta caggaaattg tatcgaatcc gacaaaacgt	3060	
atttcggaat tgaatataci tacaaatgag gagaaatatg aaattctaga gatgaacaat	3120	40

aatcaacgg agtatcctca gcatgaatct gtigcggaga titttagaga aacgaagata	3180	
aagcatcaag caaaactagc aattacgtac aaagatagaa agttaacgta tgcagagttg	3240	
agtgaaaaag caaatgcgtt ggacacataca ttgaaacgtc gaggtgttgc gcagcatgat	3300	
gttgttgaa ttgtcgaga gcgttcgctt gaaacaatta ttggaatact cgcaactta	3360	
aaagtaggag caattatit gccaatgat caaaactac cgcaattaac actgcaacac	3420	
atttggcgag atagcgggtc aaaagtcctc ctagggaaaa atgaaacaac tgtagaagtt	3480	10
ggcaaggaag ttccgtttgt ggacatcgaa ggggataaag ggaagcaaga ggagttagtg	3540	
tgtccaatta gtccagaaga tacggcatat attatgtata cgtcaggcag tactggaaaa	3600	
ccaaaagggg ttatggtagc acatagaaat attgttcgtt tagtaaaaa tacgaattc	3660	
gttctttgc aagagcaaga tgtgttgta cagacaggit cgttacttt igacgtgca	3720	
acattgaaa ttggggcgc attgctaaat ggacttacgc ttcaattagt agaagattac	3780	20
gtaattttag atggggaggc gcttcaggaa gagattcagc agaacaaagc aaccattatg	3840	
tgggtgagtg caccgctgtt taatcaattg gcggatcaaa acccagcgat gtttacaggc	3900	
attaagcaat tgctcattgg tggatgatgt ttatcgcaa aacatattaa caaagtgatg	3960	
gaccattgtg caccaatcaa tatkattaat ggatagggtc caacagaaaa tacgacgttc	4020	
tcgacgtcat ttgtaattga tcaaatgtat caagacagca ttccgattgg aacaccgatt	4080	30
gctaattcta gtgcttacet tttagatgta catcaaaata tacaacctat tgggttagtt	4140	
ggcgaactat gtgttggtg tgatggagtt gcaaaagggt atgtgaacct tgaacaatta	4200	
acagaagaac ggittatagc agatccgttc cttaaagggt ctacaatgta cagaaccggc	4260	
gattatgtga aattattgcc taatggaaat attcaatata ttggacgtgt ggacaatcaa	4320	
gtgaaaattc gtggattccg catcgaatta gaagccatta tgaacacatt aaaacaatgt	4380	
gaatcaatca aagatgtaat tgttgttgta caagaacaga atgggtataa aacactggtt	4440	40

gcataatggtg igggagaaga atcgctttca atagaaacag tgagggccia tgcaaaaaaa 4500
 catttggctg aataiatggt accttctcaa tttatattta tagaagaaat tccgctctca 4560
 ataaatggga aagtacagta tagtaagtta ccgaaagtac aagaagtatt gcataaaaaa 4620
 gtagaaacgc tgttaccaga aaacagatta gaagaaatta ttctacgtgt gtatcgtgat 4680
 gtattagaga aagaagattt tggcgtaaca gattcattct tgccttatgg tggtagctct 4740
 ttactaagta ttcaagtcgt ttcgatgttg aaaaaagagg agattgcagt agatccgaaa 4800
 atgattttta tgcatacaac ggtagagag ttagcaaagg catgtgaaaa tcttccggtt 4860
 atggaagaaa caaaaaggac tgagaaggat tatttaattc aaatgctga aggtagtga 4920
 gaagatagtt gtatcatttt tgcctctccg gcagggtgaa cggtagcttg atatatagaa 4980
 ttagcaaggt atttcgaggg aattggcaat gtttacggcc tacaagcacc gggactgtat 5040
 gacgatgaag agcctacgtt cttagattac gatgaacttg tacaagtgtt tcttcgctcg 5100
 aittgaaggga catatcgtcc aggtcaagat taittaggtg gccactcctt agggggacat 5160
 atcgcatthg gaatgtgctg tgaactgatt aagcaaggaa aggcaccaa gggattgcta 5220
 attctagata caacaccatc acttcaagtt gtaaaggggg ccaaggatga aaaaatagcc 5280
 gaggaggact ttaaaatgat ggtactggct gccggtatcg gaaatatgat ggggtgtgat 5340
 ccagaagaat taaagcaact gtcgtatgaa gaagcaaaaa caagagttgt cgcagtggca 5400
 caaaaggatg aaaagttaa aacitttata aatgaaacat aittggataa gtatttgaag 5460
 ttacaaattc atagtttact aatgtcacga acattagaat tggagaaaac acaattagat 5520
 attccgatta aggtatttaa aacacagttt catacagaag agctagtaga aagatttgat 5580
 gcttggcata actatacaaa tcaagcctgc acattcattg atataccagg cacacatacg 5640
 acgatgatgc gtttaccaca tgtgaaagag giagcgaaaa aatagaaga acagctataa 5700

10

20

30

<210> 8
 <211> 11115
 <212> RNA
 <213> *Bacillus cereus*

<400> 8
 uuuaaaaau caaugaauca guugggaaaa ucaaaaaau uacauaugg ggggaugaug 60
 gagaugaaac gaguggaaga acaugaucac auucaugugu uaaaugaau agaaaacgaa 120
 ugcgaaagaa gauaugggag aaguaauuu gcauuuagc uugaaaagca ugguguucau 180 10
 gaacagccgc uucauuaga agacuauuu caugagguag agaugcaaga acauucacga 240
 guaucgcgcc acgaaacagu uuugaugaca guaaaacau guauagauga gaguggaaaa 300
 ccguuagcuc uucguuuugg ugagccacu caucuugaug acuguacccc aaaaacacua 360
 caagaaauuu uaaagcgugc cguaagcaa gcaaaagaua aagggaugac auuuguauu 420
 gaagauggac augaagagua ccucuccuac caagagaugu uggcagaugc ggagcgguaa 480 20
 cuaaaagggu ugcgaaucu ugguauaca ccaggagaaa guauuuuguu ucauuuag 540
 gacaauaagc auuuuguuac ugcguuuugg gcauguauac uggggggau uuuaaccacg 600
 ccguuaggaa cggccccuau cuauagugag caaaaugcac aaguauuaa acuuuauaac 660
 acauggcagc uauuagaaca accgauuuuu uuaacggau uugaauugaa agaagagauu 720
 gcugcaauuc gaacaacauu gcaacguca gagauuguua uacauaguau ugagaaugu 780
 auggauacag cgcgcgauac aaacugguuu ccuuguaccg aagauacuau uguuuugau 840 30
 uuauuacgu cugguagcac aggaguaccc aaauguggc agcacaaaag uaauccauu 900
 auugcgcgca caguuccaa uuguauugac cgccagcuag augaaaaga aguaucguua 960
 aauggaugc cgcuugauca uguuggaggc aucguaagu gucacauucg ugauaccuau 1020
 uuaaugugcc aacagguaa cugucuuu ucggcauuua uugaaaucc gcuaaaugg 1080
 uugcacugga uugaugcuua cucagcgaca uuuacauggg cgccaaacuu cgcuuuuuca 1140 40

uaauuaacc	aguaugaaga	agagauuaaa	ucaucuucau	ggaauuuuc	uucgauagaga	1200	
uacaucguaa	auugguggga	agcuguuuuu	ucaaguguug	ggaugaaau	uuuacaauug	1260	
uuacagcaac	aucaauugcc	uucgaacugu	cuuauuccua	cguuugggau	gucugaaguu	1320	
ucuucgggua	uuauugaaug	ucauucguuu	uauacgcaa	cgacaaauac	aggaauuguug	1380	
uauguugaua	agaauucuuu	agaugguaau	uuacaauuca	cauauagagg	gcacccaaa	1440	
gccauuguuu	uuacggaagu	agggagaccg	augccuggua	uuggcauucg	uauuguugau	1500	10
gaggacaauc	agugccuguc	agaagaucgu	auuggacgau	uccaaaauca	ugguccaacg	1560	
guuangaau	guuuuuuca	aaaugaugaa	gcaaauccgg	aaaguuuuac	ugaagauggc	1620	
ugguucgaa	guggagauuc	gggguuuuua	cauacggua	aucuugucau	uacaggaaga	1680	
aaaaaggaua	ugauuguugu	ucauggugca	aaauacuaca	acuaugaaau	ugaagccuug	1740	
guagaacaag	uaccuggggu	ggaaccacg	uuuguauug	caacgagugu	gaagucggcu	1800	20
gaaggagcag	aggaauuagc	uaauuuuuuu	guccaguaa	uuaucaugu	uucugugaug	1860	
uuugcgacga	ugcaacaaau	caaacaaau	guugcgcgca	aaauggguau	cacgccgaaa	1920	
gugauuuac	caauucagaa	ggaagcauuc	uuuaaacgg	auagugggaa	aaauacgaga	1980	
aaugcauuuc	aaaaacaguu	ugagaacggg	gcuuauagag	agauuacaca	aaagauugau	2040	
ugccauuuac	aaaaugaaaa	aacacuauuc	cagugguuuu	aucgugaaaa	auuagucgaa	2100	30
aguaaguugg	gcaaaagcgu	auccucccaa	aaagaaacgu	auguuuuuu	ucgacaaggu	2160	
aaaucuuuc	aucauguccu	aaaagaaaag	uuaacgcaac	auucuguugu	uauuguggau	2220	
guaggagaaa	cauucgguga	gauccaucca	aucauuuuc	aaaauuaucc	uaaaaacaaa	2280	
auggauuacg	uucgauuuuu	ugaagaacuc	gcaaaaagaa	auguagaaga	ucaaguuuuu	2340	
caucucuugc	augcuuggaa	uuauugcgau	acaguuccaa	cuuuuagauc	gguagaagau	2400	
uuagcuauug	cgcauuuuc	ugguguuuuu	agugugaugu	ucgcacuuca	agcuuuuug	2460	40

augcgaaa	ugccacuacg	ucguguuacg	gugauugcga	caaauagugu	uggauuagaa	2520	
gcgaaggaaa	ugaacuaauuc	auguuaaca	uuagaagguu	augugaaaac	uuugccagcu	2580	
gaguuuagaaa	auuuacaagu	gaaguauuu	gauauagaag	gaaaagauau	acaguuuagau	2640	
acugagaccg	uauggaaaaga	acuucagcaa	caagaaacca	uuccugucgu	auuguaucgu	2700	
gaugagaaaa	gauacaaaau	agguuuagaa	aaaguaccaa	uguuagaaca	gaaagaaaaa	2760	
aaauuuccgu	uucaacagca	aggguuuuac	aucuuuacag	guggucuuug	ugguuugggg	2820	10
acgcuuguag	ccaaauuacu	uuuagaacga	uacagcgcaa	auguucuuuu	acuuggucga	2880	
acagaaaauug	aaacaaaugc	agaaaaaauug	cgccuucuuug	auucauuaaa	agaguauagaa	2940	
caauauggug	guacagucca	auauaaaaug	ugcaauguaa	uggauuuaga	ugcgauugcga	3000	
aaaguuguuc	auucacagga	agaacgucug	caacaaaagg	uaaaugggau	uauccaccuu	3060	
gcagggauua	uucaagaaa	acugauagaa	aagcaaaccg	aaaaagaacu	gcaugcuauug	3120	20
uuugaagcua	agguauaugc	aucuugggug	cuacaugaaa	ucguaaaaga	aaggcaagau	3180	
ugucucuaca	uuacaacuuc	uucagcaaga	acguuguuac	cggggaugac	caucucagcu	3240	
uaauuguagug	cgaaucgauu	uguugaaaau	uuugcauuu	aucaacgaag	ucaaaaugua	3300	
aauagcuacu	guuuuucaug	gaguucucgg	aaugagauug	gaauggguac	aaauuuacuu	3360	
auuuuuuuug	cguugauagc	aaaaggauuu	caauugaucg	augaucaaaa	agguauuuuu	3420	30
ucccuuuugg	cgggauuuuu	agggaacgaa	ccuaauguuu	uuguuggaau	caaucaugaa	3480	
aaagaagaaa	uggcucaucu	gauuggaacc	gaggaacaag	aaacacaaca	auuaacaauc	3540	
uaauuuacac	cagaauacu	acauuuucuu	gaagaagugu	ucucuauacu	aaauagagaa	3600	
gaaauuggug	gauuggagaa	agagauuguc	auucuaacaa	aaauaccgcu	ugaugaauau	3660	
gguaaaguag	aucaaacucg	uuuggcucau	gcgucggaua	gccguuuugg	aaagaaacaa	3720	
cauaucguac	caagaaauga	uaugaagag	aaaauugcau	ucauuuggga	aggucuuuuug	3780	40

uuaaaaagg auuuuagugu acuuugaccu uucuuuuga uaggugguga uucuuuuuuuu	3840	
gcgacacaaa ugauuuucugc guugaaaaag aauuuugcug uuacgauuac gcaacaggaa	3900	
uuuuuucaau cgaguacagu agaagagcuu gcuaguuuag uagaaaagaa acuuucucgu	3960	
acucguacgc augaaaugga cauaguuacu uuuagugacc gagguaacgu aguagagaug	4020	
ucuuucgcac aaaagcggca augguuuuuu uaugaaaugg aucgagaaaa uccuuuuuac	4080	
aaauuacac uuguauuucg uuugacggga gaaauuac uuccuuuuu aagaaguucu	4140	10
auuuuugagu uaguuuuuuu gcaugaaaca uuugcaaca cauuuugau gguggauggu	4200	
auaccuacac aaauuuuugc agaugaaagag uuaguugaaa uagaggaaa ugaauuuuuu	4260	
caccuauucg cugaggagac guugcaaaaa cuagaggguu uacgacaacg ggaagcauuu	4320	
acggcguuuu aaauucgaaa uagcgcuuuu cgugcaaaag ugauuuuuuu ugaugagaag	4380	
agaguggaga uuuuacuuuc cgugcauac auuguuucgg augguugguc gauggggauu	4440	20
uuagugaagg acuuugcggg aaucuaugaa gauuuucggc aguggggaga aaguaagcaa	4500	
gagccauuac cgauucaaua cgagauuuu acuuuugggc aaaaugaguu uaugaaaggu	4560	
gaggaauuuu gcaagcaacu gucuuuuugg aaggagaaa uagcugaaga uauaccugua	4620	
cuugaucuu cguuagauaa accacggcca ccauuucaa cauauucgug gaagguuuag	4680	
acuuucacgu uacaugaaa caugacaagg augcuuuuag aaauauguca agaagaagaa	4740	
ugcacgcucu uuauuuuuuu acuuucggcu uucucaucau uuuuacauc uuauacaggu	4800	30
caggaggauc uuguuuuugg uucgcuaguu gcaauucgaa accgugagca auucgagaaa	4860	
uuuuuuuuuu ucuuuuuuuu uacguuaccg cuacguuuu auuuuacuc ggaaaugcaa	4920	
uuuacugaau ugcuuucgca aguaaaagaa acgaccuug augcauuga ucaucaagau	4980	
gugccuuuuu agcuacuagu cgaugauuuu cagauugaga gagauucgag ucguuuuucg	5040	
cuuuuuccaag uguuuuuuuu cuuacaaaac gcacauuuu aagcaguaga cuuagagaaa	5100	40

gCGacaauagg aacucgaaa uuuagauagu gacacggcca aguuugauau gucagugcaa	5160	
auuuucgaau uggaggacac uuuaucuauc aaauuagagu acaauacgga uuuuuuuuu	5220	
gau gauacaa uagaacgcuu ucuugcucu uaugaaacca uauuagcaag cguuauucan	5280	
aaucaaaagg caaaaauagg ggaauuguca auuuuaccac aaucugaaua uacgaaacuu	5340	
guaucugagu ggaauaaaa gagugccacu uauaauggaa aucaguguau ucaugaauug	5400	
uucgaagcag cuguucacaa aacgccaucu gcaacagcgc uuauuuauug caacaaagag	5460	10
augacauacg aggauguuaa ugCGcaggca aaugcacuug cacauaaauu aagagaugca	5520	
gguguuggac caaacagggu aguuGGcgug uuauugauC gcucuauugc gaugguuuu	5580	
ggauuuuag cuguuuuaaa agcagguggu gcguuuuugc caauugauac agcguaccg	5640	
augcaacgaa cagaauacgu ccugcaaaa agugaggcaa cuauucucu aacaaaggaa	5700	
uguuaccuua aggagucuuu agauuuugag ggggaaguuu uuauuuuaga ugaugcaaga	5760	20
cuguuugaag gggauagaag agauuuacaa aaaucaaua auccuacuaa ccuugcuuau	5820	
aucauuuaa caucaggauC cacgggaaa ccaaaaggug uuauugguagc gcaucaaaagu	5880	
guugugaauu ugcuaucuga uuuaCaagag aaauauccgg ugcuaGcaga agauaagcag	5940	
uuguuaaaaa caacauauac guuuGauguu ucuguagccg aaauuuuugg augguuucau	6000	
gcagguggca cacuuuuuu ugcuggacau ggugaugaaa aagaccaga gaaacugauu	6060	
caauugauuc aaugccacaa gguuacacau auuaacuugc uaccaucgau gcuacaugca	6120	30
auguuacagg ccuuggauga aaaagauuuu gcauuuanga aucgguuGaa auauuuuac	6180	
gucgcaggag aagcuuuuuc accagaacuu uguaaucgac uguacgcua uuguccaaau	6240	
guaaaacuag aaaaucuaa ugggccaacg gaaggaacga uuuaugcGac aggguuuuu	6300	
auucauaaaag aaauGaaugu agcuaaugua ccgauuggaa aaccacuuuc ucauuggGaa	6360	
acguauuuuc uugaucaaaa caaucaaaau guaccaauug guguaaccagg ugaauugugu	6420	40

ugggaggaa uauguguagc aaaagguuau augaaagagc cgguguuuac agaagaaaaa	6480	
uucgucguca auccuauгаа асааагугаа агааугуаас гаасggguga uuugguacgc	6540	
ugguuagcag augggaaauau ugaauuuua ggaagaauag auaaccaagu caagauаага	6600	
ggcuuccgaa uugagcuugg ugaauugaa gcggcaauug cugcauuaga agauguagua	6660	
caacaauug uuacaacaau gacggaucau aaaggugcga асаагауугу сgcauаугуу	6720	
gugagcгааа агуаугауга агаасгаауу сгугаасaug ugaaaaagac гуугссгсаа	6780	10
uauaugguac caaguauuuu cguuucgaug aaggcauugc cucuuauaa aaauggaaaa	6840	
guugaucgca aacaguugca uucgguugau cuuuаугааа сgагуаuggа uacагусауу	6900	
gugggaccaa gaaacgaaaa агаассаауг сuuucggua uuuggcaaga gcuuuuggga	6960	
uuagagaaua ucaguguuca сгауаауус uuuaаgcuug guggucauuc cauuauгсg	7020	
acacaauugg uaucaaaaau uuauагууу ugccgагуга гааугсссу uaaaaugug	7080	20
uuucaguaua caacguuagc uacaauгсga сggguguuag aagaguuguu gguаагсgu	7140	
guugacgaag uagcuguaac aacggagcgc auuccaaaga uacuaccgag aacauuuac	7200	
gauuugucgu auucacaaca агаауууау uucuuauca caauггггаа агаассаау	7260	
uacuauааа uucuuггugc uugggauauu uauггггааас uагаугууас gcuauuгаа	7320	
aaagcauuc aacuuuuau gaagaaacac cauucuuac guгсаасауу ugaauгсgu	7380	30
gacggcaaac cugugcaau cauccacgau гауаuggааа uuccugugca auuuauгac	7440	
cuuacuguga ugccagaagg auuacggaua gaagaaguag агаассуау guuaaaгag	7500	
ucuaaaгag uauacaaucu сgcaauггу ccguuaаugc auuguacaau uguuaггауа	7560	
aaagaaggug агсаугуауу auugauгга сасаусауа ucauuагуга ugguugguca	7620	
cuugguauuu uuguaaaга guuaааугаа аугуаугауг ссууугсга acacaacca	7680	
guugcugaaa caccaucaac auucuccauu ауггасууаа сугсуугсга сауагуааа	7740	40

uagaugaag aucaagauga ucgacaauau ugguuacagc gauuugaggg agaguuaccg	7800	
acguuagagu ugccgacaga cagacaacgu ccacuuuuga aaacauauca uggugacaca	7860	
uuaucauaua agguuauuuc ucaauugcau caaaaauuua aggacuuuag ucaugcaau	7920	
gguguaacga uguuuauagac gcuauuaacg gcguauaaua uuauuguaa uaaguuaaca	7980	
aaugaaacag acauuguugu uggcucuccu guagcaggua gaaaugaacc agaaucaaaa	8040	
gauuuauucg ggauuuuugu gaauacguua gcguuacguu cgcauuuagg agauauccg	8100	10
acaguugaug ucuuuuuuuu acauuuuuuu cagaauacuu uagaagcaua caaucaucaa	8160	
gauuauccau uugauaagu uggauugac uggauccac aucgagauuu aaguaggaca	8220	
ccauuuuucc aagugaugau gggauuauug aaauugccau ugaugguugc auuucgugaa	8280	
gcagagguuc gcgaacgauu uguucgacau aaagucgcaa gguuugauuu aacacuucan	8340	
guguuugaag augaagaucan gaugaaaaua uuuuuugagu auuuuacagau uuuuuugau	8400	20
gaaucaacga uuauugcuug gcagauucan uucgaaacgc uuuuacagga auuugauucg	8460	
auucgacaa aacguuuuuc ggaauugaau auacuuaaa augaggagaa auuugaaau	8520	
cuagagauga acauuuuuuc aacggaguau ccucagcaug auucuguugc ggagauuuuu	8580	
agagaaacga agauaaagca ucaagcaaaa cuagcauuu cguacaaga uagaauguu	8640	
acguauucag aguugaguga aaaagcauu gcguuggcac auacauugaa acgucgaggu	8700	30
guugcgagc augauguugu uggaauugc gcagagcguu cgccugaaac auuuuuugga	8760	
auacucgcaa ucuuuuuuagu aggagcauu uuuuugccea uugauccaaa acuaccgcaa	8820	
uuuacacugc aacacuuuug gcgagauagc ggugcaaaag uccuccuagg gaaaaugaa	8880	
acaacuguag aaguugccea ggaaguuccg uuuguggaca ucgaagggga uaaagggaag	8940	
caagaggagu uagugugucc auuagucca gaagauacgg cauauuuuau guauacguca	9000	
ggcaguacug gaaaaccaa agggguuugc gugacacaua gaaauuuuug ucguuuugua	9060	40

aaaauacga auuucguuuc uuugcaagag caagaugugu uguvacagac agguucgcuu	9120	
acuuuugacg cugcaacauu ugaaauuugg ggcgcuuugc uaaauggacu uacgcuucau	9180	
uuaguagaag auuacguaa uuuagauggg gaggcgcuuc aggaagagau ucagcagaac	9240	
aaagcaacca uuauugggu gagugcaccg cuguuuauuc aauggcggga ucaaaacca	9300	
gcgauguuuu caggcauuua gcaauugcuc auugguggug auguuuuau gccaaaacau	9360	
auuaacaaag ugauggacca uuugcacca aucaauuca uuauggaua cgguccaaca	9420	10
gaaaauacga cguucucgac gucauuugua auugaucaaa uguaucaaga cagcauuccg	9480	
auuggaacac cgauugcuua uucuagugcu uacauuuuag auguacauca aaauuacaa	9540	
ccuauuggug uaguuggcga acuauuguu gguggugaug gaguugcaaa agguuauug	9600	
aaccuugaac aauaacaga agaacgguu auagcagauc cguuccuaaa ggguuuaca	9660	
auguacagaa ccggcgauua ugugaaaua uugccuaaug gaaauuua auacauugga	9720	20
cguguggaca aucaagugaa aaucgugga uuccgcaucg aaauagaagc cauuugaac	9780	
acauuaaac aaugugauc aaucaaagau guaaauugug uuguacaaga acagauggg	9840	
uaaaaaacac ugguugcaua uguuguggga gaagaaucgc uuucaauaga aacagugagg	9900	
gccuauugca aaaaacauuu ggcugaauau augguaccuu cucauuuuu auuuauagaa	9960	
gaaaauccgc ucucaauaaa ugggaaagua caguauagua aguuaccgaa aguacaagaa	10020	30
guauugcaua aaaaaguaga aacgcuguua ccagaaaaca gauuagaaga aaauuucua	10080	
cguguguauc gugauguuu agagaaagaa gauuuuggcg uaacagauuc auucucgcu	10140	
uaugguggug acucuuuacu aaguauuca gucguuucga uguugaaaa agaggagauu	10200	
gcaguagauc cgaaaugau uuuuauugcau acaacggua gagaguagc aaaggcaugu	10260	
gaaaauucguc cgguuuugga agaaacaaaa aggacugaga aggauuuuu aaaucaauug	10320	
cgugaaggua gugaagaaga uaguuguauc auuuuugcuc cuccggcagg uggaacggua	10380	40

uuggauua uagaauuagc aagguuuuc gagggauug gcaauguuu cggccuacaa 10440
 gcaccgggac uguaugacga ugaagagccu acguucuua auuacgauga acuuguacaa 10500
 guguuuuuuc gcucgauuga agggacauau cguccagguc aagauuuuu agguggccac 10560
 uccuuagggg gacauaucgc auuuggaauug ugcugugaac ugauuaagca aggaaaggca 10620
 ccaaagggau ugcuaauucu agauacaaca ccaucacuuc aaguuguaaa gggggccaag 10680
 gaugaaaaa uagccgagga ggacuuuaaa augaugguac uggcugccgg uaucggaaau 10740 10
 augaugggug uugauccaga agaauaaaag caacugucgu augaagaagc aaaaacaaga 10800
 guugucgcag uggcacaaaa ggauaaaaag uuaaaaacuu uuauaaauga acauuuuug 10860
 gavaaguau ugaaguuaa aaucuuuagu uuacuaaugu cacgaacauu agaauuggag 10920
 aaaaacaa uagauuuuc gauuaaggua uuuuuacac aguuucauac agaagagcua 10980
 guagaaagau uugaugcuug gcuaaacuau acaauucaag ccugcacauu cauugauua 11040 20
 ccaggcacac auacgacgau gaugcguuuu ccacauguga aagagguagc gaaaaaaau 11100
 gaagaacagc uauaa 11115

<210> 9

<211> 5700

<212> RNA

<213> *Bacillus cereus*

30

<400> 9

cacaaaacgc caucugcaac agcgcuuuu uaucgcaaca aagagaugac auacgaggau 60
 guuuauuggc aggcaauugc acuugcaca auuuuagag augcaggugu uggaccaaac 120
 cagguaguug gcguguuauug ugaucgcucu uucgagaugg uuguugguau auuagcuguu 180
 uuuuuagcag guggugcgua uuugccaaau gauacagcgu acccgauca acgaacagaa 240
 uacguccugc aaaaauaguga ggcaacuauu cucuuuaaca aggaauuuu ccuuuaggag 300
 uuuuuagauu uugaggggga aguuuuuuac uuagaugaug caagacuguu ugaagggggu 360 40

gaagagauu uacaaaauu caaaaauccu acuaaccuug cuuauaucu uuauacauca	420	
ggauccacgg gaaauccaaa agguuuuug guagcgcauc aaaguuugu gaauuugcua	480	
cucgauuuac aagagaaaua uccggugcua gcagaagaua agcacuuuu aaaaacaaca	540	
uauacguuug auguuucugu agccgaaauu uuuggauggu uucaugcagg uggcacacuu	600	
guuuuugcug gacaugguga ugaaaaagac ccagagaaac ugauucauu gauucaaugc	660	
cacaagguua cacauuuua cuucguacca ucgaugcuac augcaauguu acaggccuug	720	10
gaugaaaaag auuuugcaau uaugaauccgg uugaaauua uuauugcugc aggagaagcu	780	
guuucaccag aacuuuguaa ucgacuguac gcucauuguc caaanguaaa acuagaaaau	840	
cuauugggc caacggaagg aacgauuuu gcgacaggg uuuuuuuca uaaagaaaug	900	
aauguagcua auguaccgau uggaaaacca cuuucucaug uggaaacgua uauucuuuau	960	
caaaacaauc aaauuguacc aauggugua ccaggugaau ugugucuggg aggaauaugu	1020	20
guagcaaaag guuuauuga agagccggug uuaacagaag aaaaauucgu cgucaauccu	1080	
augaacaaa gugaagaau guaccgaacg ggugauuugg uacgcugguu agcagauugg	1140	
aaauugaau auuuaggaag aaugauaac caagucaaga uaagaggcuu ccgaauugag	1200	
cuuggugaaa uugaagcggc aaugcugca uuagaagaug uaguacaaac aauguuaca	1260	
acaugacgg aucuuuaagg ugcgaacaag auugucgcau auguugugag cgaaaaguau	1320	30
gaugaagaac gaauucguga acaugugaaa aagacguugc cgcauuuuu gguaccaagu	1380	
uuuuucguuu cgaugaaggc auugccuuu aauaaaaaug gaaaaguuga ucgcaaacag	1440	
uugcauucgg uugaucuuu ugaaacgagu auggauacag ucauuguggg accaagaaac	1500	
gaaaaagaag caaugcuuuc gguuuuuugg caagagcuuu ugggauuaga gaauaucagu	1560	
guucacgaa auuuuuuuu gcuugguggu cauucauuu augcgacaca auugguauca	1620	
aaaauuuuu guguuugccg agugagaau ccuuuuuuu auguuuuuca guauacaacg	1680	40

uuagcuacaa	uggcacgggu	guuagaagag	uuguugguua	gcgcuguuga	cgaaguagcu	1740	
guaacacagg	agcgcuuucc	aaagauacua	ccgagaacau	auuacgauuu	gucguuuuca	1800	
caacaaagaa	uuuuuuucuu	aucuacaau	gagaaagaaa	ccaauuacua	uaauuuucuu	1860	
ggugcuuggg	auuuuuuggg	gaaacuagau	guuacgcua	uugaaaaagc	aaucacua	1920	
uuauagaaga	aacaccuuuc	auuacgugca	acauuugaaa	ucguggacgg	caaaccugug	1980	
caaucaucc	acgaugauu	ggaaauuucc	gugcauuua	uugaccuuac	ugugaugcca	2040	10
gaaggauuac	ggauagaaga	aguagaugaa	cuuauuuua	aagagucua	aagaguauac	2100	
aaucucgca	augguccguu	aaugcauugu	acaauuuua	agauaaaaga	aggugagcau	2160	
guuuuuuga	uuggacaaca	ucauaucau	agugaugguu	ggucacuugg	uuuuuuugua	2220	
aaagaguua	augaaugua	ugaugccuuu	gugcaacaca	aaccaguugc	ugaaacacca	2280	
ucaacaauu	ccauuugga	cuuuacugcu	uggcacaaua	guaaaguaga	ugaagaucaa	2340	20
gaugaucgac	aaauuugguu	acagcgauuu	gagggagagu	uaccgacguu	agaguugccg	2400	
acagacagac	aacguccacu	uuugaaaaca	uaucauggug	acacuuuuc	uuuuuaggug	2460	
aaucucuau	ugcauacaaa	auuuuaggac	uuuagucaug	caauuggugu	aacgauguuu	2520	
augacgcua	uaacggcgua	uuuuuuuug	uugaauuagu	uaacaaauga	aacagacauu	2580	
guuuuuggcu	ccccugugc	agguagaaau	gaaccagaau	caaaagauuu	aaucgggug	2640	30
uuugugaau	cguuagcguu	acguucgcau	uuaggagaua	aucggacagu	ugaugucuuu	2700	
uuuuuacaaa	uuuuuacagaa	uacuuuagaa	gcauacaauc	aucaagauua	uccauuugau	2760	
aaguugguug	augacuugga	uccacaucga	gauuuuagua	ggacaccaau	uuuccaagug	2820	
augauuggau	auaugauuu	gccauugaug	guugcauuuc	gugaagcaga	ggucgcgaa	2880	
cgauuuguuc	gacauaaagu	cgcaagguuu	gauuuuacac	uucauguguu	ugaagaugaa	2940	
gaucagauga	aaauuuucuu	ugaguauuu	acagauuuuu	uugaugaauc	aacgauuug	3000	40

-guuggcaga aucauuucga aacgcuauua caggaaauug uaucgaaucc gacaaaacgu	3060	
auuucggaa ugaauuacu uacaaaugag gagaaauug aaauucuaga gaugaacaau	3120	
aaaucaacgg aguauccuca gcaugaaucu guugcggaga uuuuuagaga aacgaagaua	3180	
aagcaucaag caaaacuagc aaauacguac aaagauagaa aguuacgua ugcagaguug	3240	
agugaaaaag caauugcguu ggcacauaca uugaaacguc gagguuguc gcagcaugau	3300	
guuguuggaa uugucgcaga gcguucgccu gaaacaaua uuggaauacu cgcaauuaa	3360	10
aaaguaggag cauuuuuuu gccaaugau ccaaaacuac cgcauuuac acugcaacac	3420	
auuuggcgag auagcggugc aaaaguccuc cuagggaaa augaaacaac uguagaagu	3480	
ggcaaggaag uuccguuuu ggacaucgaa gggauaaag ggaagcaaga ggaguugug	3540	
uguccaaua guccagaaga uacggcauau auuauuua cgucaggcag uacuggaaa	3600	
ccaaaagggg uuauugugac acauagaaau auuguucguu uaguaaaaa uacgaauuuc	3660	20
guuucuuugc aagagcaaga uguguuuua cagacagguu cgcuuacuuu ugacgcugca	3720	
acauuugaaa uuuggggcgc auugcuaaa ggacuuacgc uucauuuagu agaagauuac	3780	
guauuuuag auugggagc gcuucaggaa gagauucagc agaacaagc aaccuuuug	3840	
ugggugagug caccgcuguu uaaucaauug gcggaucaaa acccagcgau guuuacaggc	3900	
auuaagcaau ugcucauugg uggugauguu uuaucgcca aacauuuua caaagugaug	3960	30
gaccuuugug caccaauca uaucauuau ggauacgguc caacagaaa uacgacguuc	4020	
ucgacguc auuguaauuga ucaaauguau caagacagca uuccgauugg aacaccgauu	4080	
gcuauuucua gugcuuacau uuuaugua caucaaaa uacaaccuau ugguguagu	4140	
ggcgaacuau guguugggug ugauggagu gcaaaagguu augugaaccu ugaacaaua	4200	
acagaagaac gguuuuagc agauccguuc cuaaagguu cuacaugua cagaaccggc	4260	
gauuauuga auuuuugcc uaugggaa auucaauaca uuggacgugu ggacaauca	4320	40

ugaaaauuc guggauuccg caucgaauua gaagccauua ugaacacauu aaaacaauyu	4380	
gaaucaauca aagauguaau uguuguugua caagaacaga auggguauaa aacacugguu	4440	
gcuauguuug ugggagaaga aucgcuuua auagaaacag ugagggccua ugcaaaaaa	4500	
cauuuggcug aaauauggu accuucuaa uuuauuuua uagaagaaau uccgcucua	4560	
auaauggga aaguacagua uaguaaguuu ccgaaaguac aagaaguauu gcuaaaaaa	4620	
guagaaacgc uguuaccaga aaacagauua gaagaaauua uucucgugu guaucgugau	4680	10
guauuagaga aagaagauuu uggcguaaca gauucauucu ucgcuuauug uggugacucu	4740	
uuacuaagua uucaagucgu uucgaguug aaaaaagagg agauugcagu agauccgaaa	4800	
augauuuua ugcauacaac gguuagagag uuagcaaagg caugugaaaa ucguccgguu	4860	
auggaagaaa caaaaaggac ugagaaggau uauuuauuc aaauugcuga agguagugaa	4920	
gaagauaguu guaucuuuu ugcuccuccg gcagguggaa cgguacuugg auauauagaa	4980	20
uuagcaaggu auuucgaggg aauggcaau guuuacggcc uacaagcacc gggacugau	5040	
gacgaugaag agccuacguu cuuagauuac gaugaacuug uacaaguguu ucuucgcucg	5100	
auugaaggga cauucgucc aggucaagau uauuuaggug gccacuccuu agggggacau	5160	
aucgcuuug gaauugcug ugaacugauu aagcaaggaa aggcaccaa gggauugcua	5220	
auucuagaua caacaccauc acuucaaguu guaaaggggg ccaaggauga aaaaaagcc	5280	30
gaggaggacu uuaaaugau gguacuggcu gccgguaucg gaaauaugau gggugugau	5340	
ccagaagaau uaaagcaacu gucguaugaa gaagcaaaaa caagaguugu cgcaguggca	5400	
caaaaggau gaaaguuuaa aacuuuuuaa auagaacau auuuggaua guauuugaag	5460	
uuacaaauuc auaguuuacu aaugucacga acuuuagaau uggagaaaac acauuugau	5520	
auuccgauua agguuuuaa aacacaguuu cauacagaag agcuaguaga aagauuugau	5580	
gcuuggcaua acuauacaaa ucaagccugc acuuucauug auauaccagg cacacauacg	5640	40

..cgaugaugc guuuaccaca ugugaaagag guagcgaaaa aaauagaaga acagcuauaa 5700

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DN A fragment unique to a cereulide synthetase gene 10

<400> 10

ggtgaattgt gtcctgggagg 20

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DN A fragment unique to a cereulide synthetase gene

<400> 11

atttttatta agaggcaatg 20

<210> 12

<211> 24

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DN A fragment unique to a cereulide synthetase gene

<400> 12

gtcaagataa gaggcttccg aatt 24

40

<210> 13

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene

<400> 13
 aatggaatga ccaccaagct 20 10

<210> 14
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene 20

<400> 14
 aggaagtcc gttigtggac 20

<210> 15
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene 30

<400> 15
 cacataacct tttgcaactc 20

<210> 16
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence 40

<220>

- <223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene
- <400> 16
ggcgaactat gtgttggtgg 20
- <210> 17
<211> 20
<212> DNA 10
<213> Artificial Sequence
- <220>
<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene
- <400> 17
taaagagtca ccaccataag 20
- <210> 18 20
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
- <220>
<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene
- <400> 18 20
acgtcaggca gtactggaaa 30
- <210> 19
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
- <220>
<223> Description of Artificial Sequence : PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene
- <400> 19 40
ttc gatgcgg aatccacgaa 20

<210> 20
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence : PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene

<220>

<221> modified_base
 <222> (14)..(14)
 <223> |

10

<220>

<221> modified_base
 <222> (17)..(17)
 <223> |

20

<220>

<221> modified_base
 <222> (26)..(26)
 <223> |

<400> 20

ggaattcctt aaaagcagga ggagcatatg tgccgcttga tcc

43

<210> 21

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:PCR primer for amplifying a DNA fragment unique to a cereulide synthetase gene

<220>

<221> modified_base

40

<222> (12)..(12)
<223> |

<220>
<221> modified_base
<222> (15)..(15)
<223> |

<220>
<221> modified_base
<222> (18)..(18)
<223> |

10

<220>
<221> modified_base
<222> (21)..(21)
<223> |

20

<220>
<221> modified_base
<222> (27)..(27)
<223> |

<220>
<221> modified_base
<222> (30)..(30)
<223> |

30

<220>
<221> modified_base
<222> (33)..(33)
<223> |

<400> 21
ggaattcctt taggaitacc agttgtacca gaagtgtaaa t

41

40

【図面の簡単な説明】

図1は本発明の実施例においてPCR増幅産物を電気泳動したゲルの染色後の状態を示す図である。左のレーンから順にNC7401株、NC-T株、NC-G15株、NC327株、NC-1-55株（以上、セレウリド産生株）、ATCC14579株、B-4ac株、PHLS2668株、PHLS4433株、NC1225株（以上、セレウリド非産生株）、バチルス・スリンギエネシス（HD73）、及びバチルス・サブチリス（ATCC21332）のPCR反応後の溶液を電気泳動した結果が示される。

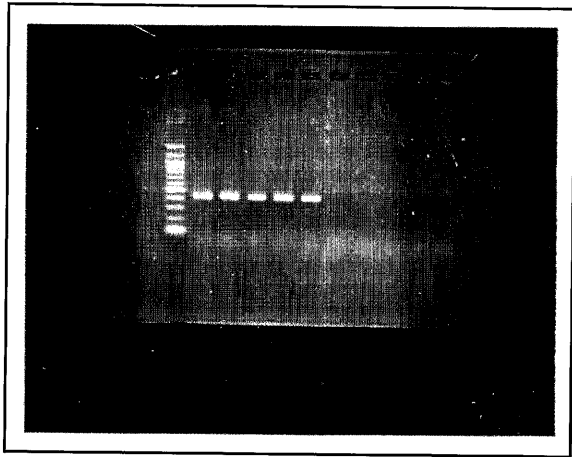
図2はDNA濃度の異なる試料からのPCR増幅産物を電気泳動したゲルの染色後の状態を示す図である。レーン番号1、2、3、及び4は300ng、30ng、3ng、及び

50

0.3 ng の試料からの PCR 増幅産物をそれぞれ電気泳動したレーンである。

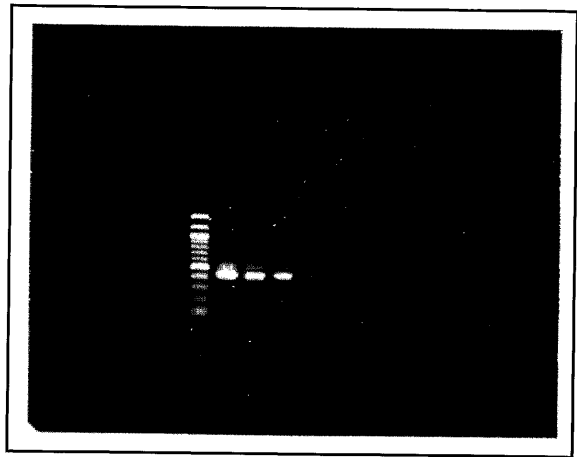
【図 1】

Fig.1



【図 2】

Fig.2



 フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
<i>C 1 2 N</i>	<i>5/10</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 N</i>	<i>5/00</i>	<i>A</i>
<i>C 0 7 K</i>	<i>16/40</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 0 7 K</i>	<i>16/40</i>	
<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/68</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/68</i>	<i>A</i>
<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/02</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/02</i>	
<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/527</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>C 1 2 Q</i>	<i>1/527</i>	
<i>G 0 1 N</i>	<i>33/53</i>	<i>(2006.01)</i>	<i>G 0 1 N</i>	<i>33/53</i>	<i>D</i>

- (56) 参考文献 日本細菌学雑誌, 2003年 2月28日, Vol.58, No.1, p.142
 Abstracts of the General Meeting of the American Society for Microbiology, 2002年
 5月19日, Vol.102nd, p.374, P-66

(58) 調査した分野(Int.Cl., D B名)

C12N 15/09
 GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
 SwissProt/PIR/GeneSeq
 JSTPlus(JDreamII)
 BIOSIS/WPI(DIALOG)

专利名称(译)	由蜡状芽孢杆菌产生的脑苷脂合成酶，编码它的基因和检测脑炎的方法		
公开(公告)号	JP4340227B2	公开(公告)日	2009-10-07
申请号	JP2004506479	申请日	2003-05-16
申请(专利权)人(译)	有限公司生物控制实验室		
当前申请(专利权)人(译)	有限公司生物控制实验室		
[标]发明人	太田美智男 安形則雄		
发明人	太田 美智男 安形 則雄		
IPC分类号	C12N9/88 C12N15/09 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/40 C12Q1/68 C12Q1/02 C12Q1/527 G01N33/53 C07K14/32 C12N9/00		
CPC分类号	C12N9/00 C07K14/32 C07K16/40		
FI分类号	C12N9/88 C12N15/00.ZNA.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C07K16/40 C12Q1/68.A C12Q1/02 C12Q1/527 G01N33/53.D		
代理人(译)	萩野 干治		
审查员(译)	松田良子		
优先权	2002142398 2002-05-17 JP		
其他公开文献	JPWO2003097821A1		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了一种简便快速的方法，用于检测蜡状芽孢杆菌产生的催吐毒素（甲状腺）。使用样品中存在的谷胱甘肽合成酶作为指示剂检测脑苷。通过检测编码酶的核酸或通过使用酶特异性抗体的免疫学方法进行脑苷合成酶的存在。