



등록특허 10-2701188



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월30일

(11) 등록번호 10-2701188

(24) 등록일자 2024년08월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6883 (2022.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7032795

(22) 출원일자(국제) 2018년04월10일

심사청구일자 2021년03월23일

(85) 번역문제출일자 2019년11월05일

(65) 공개번호 10-2020-0017386

(43) 공개일자 2020년02월18일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/026962

(87) 국제공개번호 WO 2018/191304

국제공개일자 2018년10월18일

(30) 우선권주장

62/483,588 2017년04월10일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020070076532 A

KR1020110018702 A*

KR1020160088028 A

Invest Ophthalmol Vis Sci,57(13):5407-5414.

(2016.10.01.)

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

아벨리노 랩 유에스에이, 인크.

미국, 캘리포니아 94025, 멘로 파크, 스위트 비-2, 아담스 드라이브 1505

(72) 발명자

차오-선 코니

미국, 캘리포니아 94025, 멘로 파크, 스위트 비2, 1505 아담스 드라이브

(74) 대리인

특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 1 항

심사관 : 최지다

(54) 발명의 명칭 각막 이상증과 관련된 대립유전자의 다중 검출을 위한 방법

(57) 요약

본 개시내용은 돌연변이 TGFBI 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 하나 이상의 표지된 프로브를 포함하는 반응 혼합물(반응 혼합물은 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키기 위한 적어도 하나의 증폭 프라이머 쌍을 추가로 포함한다)을 포함하여 대상체에서 각막 이상증을 검출하고; TGFBI 유전자에서 G623D,

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1a



M502V, R124S, A546D, H572R, 및 H626R 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 돌연변이를 검출하는 방법을 제공하며; 여기서 검출 단계는 표지된 검출 프로브를 사용하여 하나 이상의 돌연변이를 검출함을 포함한다. 반응 혼합물을 포함하는 반응 키트가 추가로 제공된다.

(52) CPC특허분류

C12Q 2600/16 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/573,537 2017년10월17일 미국(US)

62/624,660 2018년01월31일 미국(US)

62/624,661 2018년01월31일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

각막 이상증(CD) 검출에 대한 정보를 제공하는 방법으로서,

(A-1) 적어도 제1 증폭 프라이머를 포함하는 반응 혼합물을 사용하여 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 하나 또는 둘의 관심 DNA 영역을 증폭시켜 하나 또는 둘의 증폭된 관심 DNA 영역을 생산하는 단계;

(B-1) 서열 번호 36의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제1 표지된 TGFBI G623D 검출 프로브 및 서열 번호 30의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제2 표지된 TGFBI M502V 검출 프로브를, 상기 하나 또는 둘의 증폭된 관심 DNA 영역에서 아미노산 위치 623을 암호화하는 영역을 포함하는 제1 TGFBI 유전자 서열 및 상기 하나 또는 둘의 증폭된 관심 DNA 영역에서 아미노산 위치 502을 암호화하는 영역을 포함하는 제2 TGFBI 유전자 서열에 각각 하이브리드화(hybridizing)하는 단계;

(C) 상기 하나 또는 둘의 증폭된 관심 DNA 영역에서 적어도 G623D 및 M502V 돌연변이가 검출되는 경우, CD를 검출하는 단계

를 포함하는, 방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 일반적으로 각막 이상증을 검출 또는 진단하기 위한 프로브, 및 각막 이상증을 검출 또는 진단하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 실시간 PCR을 사용하여 실질적으로 동일한 서열을 갖는 핵산 서열들 간의 차이를 검출할 수 있다. 차동 표지된 형광 핵산 프로브, 예를 들어 야생형 서열에 결합하는 것 및 돌연변이 서열에 결합하는 것의 사용을 통해, 인간 게놈에서 단일 뉴클레오타이드 변화가 신속하고 신뢰할 수 있게 검출될 수 있다. 이러한 분해능은 의학적 진단에 적용되었으며, 여기서 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP), 즉 단백질의 코딩 및/또는 비-코딩 서열 내에서 발견되는 단일 염기 변화가 인간 질병과 상관성이 있다.

[0003] 그러나, 실시간 PCR 분석은 고품질 샘플의 수집 및 분리에 매우 의존한다. 불량한 샘플 수집 및/또는 분리는 더 긴 분석 조건과 더 많은 양의 실시간 PCR 시약의 사용을 필요로 하며, 이들 둘 다 비용 증가와 생산성 저하를 초래한다. 게다가, 실시간 PCR 단일 뉴클레오타이드 다형성 검출 분석의 실패는 추가 샘플을 수집해야 해서 시간과 자원의 손실이 훨씬 커질 수 있다.

[0004] 따라서, 분석의 전반적인 성공률을 개선하고, 분석에 필요한 시약을 줄이고, 나중에 추가 시료를 수집해야 할 필요성을 줄이는 개선된 샘플 수집 및 분리를 야기하는 방법이 매우 바람직하다. 게다가, 보다 적은 양의 샘플

물질로 실시간 PCR SNP 검출 분석을 수행하는 방법은 또한 고품질 샘플의 수집 및 분리와 관련된 문제를 줄일 수 있다.

[0005] 각막은 망막에 빛을 집중시키는 과정을 시작하는 안구 앞에 있는 무혈관 투명 조직이며 눈의 광출력의 대략 3분의 2를 차지한다. 다수의 유전 조건이 각막 선명도에 영향을 미치며, 이들은 영향을 받은 각막 층에 따라 후부, 간질 또는 표면으로 분류된다. 상염색체 우성 (AD), X-연관 열성 (XR), 및 상염색체 열성 (AR) 유전 패턴이 모두 관찰되었으며, 많은 경우에, 질병 유전자좌가 매핑되었고 원인 유전자가 확인되었다. 가장 많이 연구된 각막 이상증은 염색체 5q31.1에 위치한 형질전환 성장 인자 베타-유도된 유전자 (*TGFBI*)에서 상염색체 우성 미스센스 돌연변이에 의해 야기된 것이며, 이것은 세포 접착, 이동, 증식 및 분화를 매개함으로써 생리학 및 병리학 반응에서 중추적 역할을 하는 것으로 생각되는 세포외 기질 단백질을 암호화한다. 현재까지, 파립 각막 이상증 타입 1 (GCD1) 및 타입 2 (GCD2, 이전에 아벨리노 각막 이상증으로 명명됨), 상피 기저막 이상증 (EBMD), 격자 각막 이상증 (LCD), 레이스-버클러스 각막 이상증 (RBCD) 및 티엘-벵케 각막 이상증 (TBCD)을 포함하여 각막 아밀로이드 및 비-아밀로이드 침착물을 갖는 광범위하게 상이한 상피-간질 각막 이상증을 야기하는 62개의 *TGFBI* 돌연변이가 인간 유전자 돌연변이 데이터베이스 (HGMD)에 보고되어 있다. 다른 *TGFBI* 돌연변이가 특정 각막 이상증을 유발할 수 있으며, 유전자형-표현형 상관관계가 두 개의 돌연변이 호발부위, R124와 R555에서 입증되었다.

[0006] 라식 (LASIK)은 근시 (근시안), 원시 (초안) 및 난시에 대한 시력 교정을 제공하는 수술 절차이다. 각막 상피의 얇은 플랩을 자르고 접으며, 노출된 간질 층을 각막 초점력을 변경하기 위해 레이저로 재형성한다. 최소 절개 각막 추출법 (SMILE)은 근시의 교정을 위한 덜 침습적인 수술이다. 상피 층에 레이저에 의해 작은 절개를 만들고, 작은 간질 조각 (각막실질조각)을 제거하여 간질을 재형성한다. 굴절교정 레이저 각막절제 (PRK) 및 치료 레이저 각막절제 (PTK) 수술은 각막으로부터 표면 불투명도와 표면 불규칙성을 제거함으로써 시력 교정에 영향을 미치거나 다양한 안과 질환을 치료한다. 이러한 침습성 각막 수술은 간질 층에 상처를 유발하며, 이것이 *TGFBI*의 발현을 상향조절하여, 각막 이상증과 관련된 병리를 일으키는 *TGFBI* 돌연변이를 가진 개인의 각막 내에 각막 아밀로이드 침착을 야기한다. LASIK은 파립 각막 이상증 (GCD)을 가진 개인에서는 금지된다. 상업적으로 이용 가능한 유전자 검사는 *TGFBI* 유전자 내에서 다섯 가지 더 일반적인 유형의 각막 이상증과 관련된 다섯 가지 가장 일반적인 돌연변이를 검출할 수 있다: 파립 각막 이상증 타입 2의 경우 R124H, 격자 각막 이상증 타입 1의 경우 R124C, 레이스-버클러 각막 이상증의 경우 R124L, 파립 각막 이상증 타입 1의 경우 R555W, 및 티엘-벵케 각막 이상증의 경우 R555Q. 이러한 다섯 가지 돌연변이 유전자 검사는 원래 *TGFBI* 각막 이상증 사례의 대다수가 R124H 돌연변이에 의해 유발된 GCD2로 진단되는 한국인과 일본인을 대상으로 설계되었다. 한국과 일본 내에서, 검사는 주로 굴절교정 수술 전에 스크리닝 도구로서 사용된다. 그러나, 미국 및 유럽에서, 검사는 굴절교정 수술 후보를 선별하고 각막 이상증 질환의 임상 진단을 위한 확인 검사로서 사용된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 상기 배경을 감안할 때, 당업계에서 요구되는 것은 다양한 인구 및 지리적 위치에서 상이한 *TGFBI* 돌연변이의 유병률을 검토하여 전세계의 상이한 인구에서 사용하기 위해 유전자 검사를 개선하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 서열 번호 25-30, 36 및 54로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 프로브(labeled probe)를 포함하는, 대상체에서 각막 이상증을 검출하기 위한 반응 혼합물을 제공한다. 반응 혼합물은 서열 번호 19-24, 33 및 50으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 정상 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상응하는 표지된 프로브를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표지된 프로브는 서열 번호 25-30, 36 및 54로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이 뉴클레오티드 서열로 이루어지고/지거나; 상응하는 표지된 프로브는 서열 번호 19-24, 33 및 50으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 정상 뉴클레오티드 서열로 이루어진다. 추가의 실시양태에서, 반응 혼합물은 서열 번호 33 또는 36의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 *TGFBI* G623D 프로브; 및 서열 번호 24 또는 30의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 *TGFBI* M502V 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 서열 번호 36의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 *TGFBI* G623D 프로브; 및 서열 번호 30의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 *TGFBI* M502V 프로브.

[0009] 일부 실시양태에서, 표지된 프로브는 형광 표지된다. 추가의 실시양태에서, 각각의 표지된 프로브는 상이한 프

로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 각각의 표지된 프로브는 독립적으로 VIC, FAM, ABY, 또는 JUN으로 표지된다.

[0010] 일부 실시양태에서, 반응 혼합물은 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키기 위한 적어도 하나의 증폭 프라이머 쌍을 추가로 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 혼합물은 (a) 서열 번호 7-12 및 41로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상응하는 정방향 프라이머(forward primer); 및 (b) 서열 번호 13-18 및 47로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 상응하는 역방향 프라이머(reverse primer)를 포함한다. 반응 혼합물이 서열 번호 33 또는 36의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI G623D 프로브; 및 서열 번호 24 또는 30의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI M502V 프로브를 포함하는 경우, 반응 혼합물은 (a) 서열 번호 10 및 12를 포함하는 상응하는 정방향 프라이머; 및 (b) 서열 번호 16 및 18을 포함하는 상응하는 역방향 프라이머를 추가로 포함할 수 있다.

[0011] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 반응 혼합물을 포함하는 반응 키트(reaction kit)를 제공한다. 하나의 측면에서, 반응 키트는 TGBI 유전자에서 G623D 및 M502V 돌연변이에 대한 검출 프로브를 포함하는 반응 혼합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 반응 키트는 TGBI 유전자에서 R124S, A546D, H572R, 및 H626R 돌연변이에 대한 하나 이상의 검출 프로브를 추가로 포함한다. 하나의 측면에서, 본 개시내용은 본원에 기술된 반응 혼합물, 및 R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 TGFBI 돌연변이에 대한 하나 이상의 표지된 프로브를 포함하는 반응 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 표지된 프로브는 반응 혼합물로부터 분리되어 있다. 추가의 실시양태에서, 하나 이상의 표지된 프로브는 서열 번호 19, 25, 20, 26, 21, 27, 23, 29, 50 및 54의 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 표지된 프로브로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 19 또는 25의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI R124S 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 20 또는 26의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI A546D 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 21 또는 27의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H572R 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 23, 29, 50 또는 54의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H626R 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 추가의 증폭 프라이머 세트를 추가로 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 R124S 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제3 증폭 프라이머 세트, A546D 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제4 증폭 프라이머 세트, H572R 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제5 증폭 프라이머 세트, 및/또는 H626R 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제6 증폭 프라이머 세트를 추가로 포함한다.

[0012] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGFBI 유전자에서 G623D, M502V, R124S, A546D, H572R, 및 H626R 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 돌연변이를 검출하는 단계를 포함하여, 각각 이상증을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 검출 단계는 TGFBI 유전자를 서열분석함을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 검출 단계는 표지된 검출 프로브를 사용하여 돌연변이를 검출함을 포함한다.

[0013] 하나의 측면에서, 본 개시내용은: (A-1) 적어도 제1 증폭 프라이머 쌍 및 적어도 두 개의 검출 프로브의 세트를 포함하는 반응 혼합물을 사용하여 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 제1 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키는 단계; (B-1) 적어도 두 개의 검출 프로브의 세트의 제1 및 제2 검출 프로브를 각각 G623D 돌연변이를 갖는 제1 TGFBI 유전자 서열 및 M502V 돌연변이를 갖는 제2 TGFBI 유전자 서열에 하이브리드화(hybridizing)하는 단계; 및 (C-1) 각각 제1 및 제2 TGFBI 유전자 서열에 대한 제1 및 제2 검출 프로브의 하이브리드화에 기초하여 TGFBI 유전자 서열에서 하나, 둘 또는 그 이상의 돌연변이를 검출하는 단계를 포함하여, 각각 이상증을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (A-2) 생물학적 샘플로부터 제3 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키는 단계로서, 여기서, 반응 혼합물은 R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제3 TGFBI 돌연변이에 대한 제3 표지된 프로브를 추가로 포함하는 단계; (B-2) 제3 표지된 프로브를 제3 TGFBI 유전자 서열에 하이브리드화하는 단계; 및 (C-2) 제3 TGFBI 유전자 서열에 대한 제3 검출 프로브의 하이브리드화에 기초하여 제3 TGFBI 유전자 서열에서 돌연변이를 검출하는 단계를 추가로 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1a는 다양한 TGFBI 돌연변이를 갖는 보고된 사례의 세계 지도를 예시한다. 지역이나 국가 위에 배치된 각 풍선은 인종, 돌연변이 및 사례 수와 같은 보고된 사례 정보를 담고 있다. 지도는 TGFBI 돌연변이 사례가 제한된 연구 능력 또는 출판이 어려운 언어를 가진 지역을 제외하고는 전세계에 걸쳐 보고되어 있음을 예시한다. 남미에서 보고된 사례는 거의 없으며, 아프리카나 러시아에서는 보고된 사례가 없다. 도 1b는 잉글랜드를 가리

키는 적색 화살표를 풍선에 담겨있는 정보의 예로서 예시한다. 왼쪽의 범례는 보고된 돌연변이, 인증 및 각각의 보고된 돌연변이에 대한 총 사례 수를 보여준다.

도 2는 지리 구역별 비교를 제공한다. 5가지 돌연변이, 6가지 추가 돌연변이 및 제안된 확장된 11가지 돌연변이 패널을 사용한 원래의 유전자 검사는 1,600건 이상의 보고된 사례에서 모델링되었다. 5가지 돌연변이를 사용한 이용 가능한 유전자 검사의 검출율은 유럽과 아시아 간에 매우 가깝다.

도 3은 보고된 사례 내에서 가장 높은 것부터 가장 낮은 것까지 5가지 가장 일반적인 돌연변이를 순위화한 표를 제공한다. 또한, 이것은 6가지 추가 돌연변이에 대해 사례 수를 높은 것부터 낮은 것까지 열거한다.

도 4는 R124C, R555W, R124H, R555Q, 및 R124L에 대해 이용 가능한 유전자 검사에 대한 이론적 결과를 나타내는 표를 제공한다. 이 검사는 Moorfield의 각막 이상증 연구에 의해 확인된 68명 TGFBI CD 코호트의 90%를 검출한다. 이 표는 또한 문헌 연구를 통해 확인된 6가지 추가 돌연변이를 사용한 결과를 보여준다. 이들은 검출율을 7%까지 증가시키며, 이것이 영국에서 전체 검출율을 97%로 되게 한다.

도 5a-5c는 실시예에서 사용된 표적, 프라이머 및 프로브에 대한 예시적인 서열을 제공한다.

도 6a 및 6b는 M502V 및 G623D TGFBI 프로브를 사용한 실시예 4로부터의 식별 플롯 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 서론

본 개시내용은 각막 이상증의 검출을 개선하기 위한 반응 혼합물, 반응 키트의 발견에 적어도 부분적으로 기초한다.

아시아에서 TGFBI 각막 이상증의 보고된 유병률은 한국에서 870명 중 1명, 중국에서 416명 중 1명이다. 아시아는 근시 비율이 높으며, Holden 등에 의해 수행된 연구에서는 2050년까지 아시아-태평양 인구가 전세계 유병률 49.8%에 비해 66.4%로 모든 인구 중 가장 높은 근시 유병률을 가질 것으로 예측하였다. 이러한 아시아 인구에서의 높은 근시 유병률로 인해, LASIK 시력 교정 수술의 사용이 지속적으로 증가하고 있으며 계속 증가할 것으로 예측된다. 아시아 인구에서 TGFBI 돌연변이의 알려진 유병률 및 높은 근시 비율로 인해, 이 지역에서는 돌연변이 검사가 중요하다; 후속적으로, 5-돌연변이 유전자 검사가 초기에 아시아-태평양 인구에 도입되었다.

TGFBI 돌연변이를 과립 각막 이상증의 원인으로 하는 1988년 Folberg 등의 최초 설명 이래로, 이 질환에 대한 우리의 인식과 이해가 꾸준히 증가하고 있다. 가장 일반적인 R124 및 R555 돌연변이는 잘 기록되어 있으며 다음 단계의 공통 변이체를 이해하기 위해 추가 돌연변이가 보다 면밀히 조사되고 있다. 본 개시내용은 이러한 질환의 유병률을 이해하기 위해 다양한 TGFBI 각막 이상증에 관한 문헌의 보고서의 검토를 제공한다. 이 질환의 전세계적 유병률은 알려져 있지 않다; 그러나, 질환 결과는 쇠약하다. 궁극적인 치료는 각막 이식이며, 질환의 재발 특성은 종종 후속적인 각막 이식을 필요로 하며, 이것은 환자와 안과의 모두에게 대단히 충격적이며 비용이 많이 든다. 따라서, 돌연변이 진단을 위한 분자 진단 검사를 사용한 예방 및 사전스크리닝이 중요하다.

일부 실시양태에서, 하나의 목적은 굴절교정 수술 전에 사전스크리닝 검사에서 향상된 시험 능력을 제공하는 것이다. 또 다른 목적은 유전자 검사와 임상 진단으로부터 야기되는 검출율 간의 격차를 메우는 것이다.

II. 선택 정의

본원에서 사용되는 용어 "발명" 또는 "본 발명"은 본 발명의 임의의 하나의 특정 실시양태로 제한되는 것이 아니라 청구범위 및 명세서에 기술된 바와 같은 본 발명의 임의의 및 모든 실시양태에 적용된다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 단수형 "a", "an", 및 "the"는 문맥상 명백하게 달리 뜻하지 않는 한, 복수형 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들면, "방법"에 대한 언급은 본 명세서를 읽을 때 당업계의 숙련자들에게 자명해질 본원에 기술된 유형의 하나 이상의 방법, 및/또는 단계를 포함한다.

본원에서 사용되는 용어 "다형성" 및 이의 변이형은 상이한 게놈 또는 개체 간에 또는 상이한 게놈 또는 개체 사이에 둘 이상의 대안적인 게놈 서열 또는 대립유전자의 발생을 가리킨다. 용어 "유전자 돌연변이" 또는 "유전자 변이" 및 이의 변이형은 다형성을 포함한다.

본원에서 사용되는 용어 "단일 뉴클레오타이드 다형성" ("SNP") 및 이의 변이형은 대립유전자 사이에서 변하는 하나의 뉴클레오타이드의 부위를 가리킨다. 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)은 단일 염기 변화 또는 점 돌연변이이지만 또한 소위 "인델" 돌연변이 (뉴클레오타이드의 삽입 또는 결실)를 포함하여, 개체 간의 유전자 변이를 초래

한다. 모든 인간 유전자 변이의 약 90%를 구성하는 SNP는 30억개-염기 인간 게놈을 따라 100 내지 300개 염기마다 발생한다. SNP는 게놈의 코딩 또는 비-코딩 영역에서 발생할 수 있다. 코딩 영역의 SNP는 단백질 산물의 아미노산 서열을 변화시킬 수 있거나 변화시키지 않을 수 있다. 비-코딩 영역의 SNP는 프로모터 또는 처리 부위를 변경시킬 수 있으며 유전자 전사 및/또는 처리에 영향을 줄 수 있다. 개체가 관심있는 게놈 영역에 특정 SNP를 가지고 있는지에 대한 지식은 다양한 질환에 대한 진단, 예방 및 치료 응용을 개발하기에 충분한 정보를 제공할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 TGBI 유전자로부터의 산물의 아미노산 서열에서 돌연변이를 야기하는 아미노산 서열을 변경시키는 코딩 영역에서의 SNP의 검출에 관한 것이다. 예를 들면, 본 개시내용은 TGBI 유전자에서 G623D, M502V, R124S, A546D, H572R, H626R, G623D, R124S, H403Q, R124C 및/또는 R124H 돌연변이를 일으키는 SNP의 검출에 관한 것이다.

[0025] 용어 "프라이머" 및 이의 변이형은 PCR 반응에서 DNA 합성의 개시점으로서 작용하는 올리고뉴클레오타이드를 가리킨다. 프라이머는 통상적으로 약 15 내지 약 35개의 뉴클레오타이드 길이이며 표적 서열에 상보적인 영역에 하이브리드화된다.

[0026] 용어 "프로브" 및 이의 변이형 (예를 들어, 검출 프로브)은 PCR 반응에서 표적 핵산에 하이브리드화하는 올리고뉴클레오타이드를 가리킨다. 표적 서열은 분석하고자 하는 핵산의 영역을 가리키며 관심있는 다형성 부위를 포함한다.

[0027] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 숙련가들에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 바와 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 방법 및 재료의 다양한 실시양태가 본원에 구체적으로 기술되어 있다.

[0028] **III. 반응 혼합물**

[0029] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGBI에서 돌연변이를 검출하기 위한 검출 프로브를 포함하는, 대상체에서 각막 이상증을 검출하기 위한 반응 혼합물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 본원에 기술된 아미노산 돌연변이를 유발하는 SNP를 검출한다. 하나의 측면에서, 본 개시내용은 서열 번호 25-30, 36 및 54로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 대상체에서 각막 이상증을 검출하기 위한 반응 혼합물을 제공한다. 반응 혼합물은 서열 번호 19-24, 33 및 50으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 정상 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 상응하는 표지된 프로브를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표지된 프로브는 서열 번호 25-30, 36 및 54로 이루어진 그룹으로부터 선택된 돌연변이 뉴클레오타이드 서열로 구성되고/되거나; 상응하는 표지된 프로브는 서열 번호 19-24, 33 및 50으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 정상 뉴클레오타이드 서열로 구성된다. 추가의 실시양태에서, 반응 혼합물은 서열 번호 33 또는 36의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI G623D 프로브; 및 서열 번호 24 또는 30의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI M502V 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 서열 번호 36의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI G623D 프로브; 및 서열 번호 30의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI M502V 프로브.

[0030] 일부 실시양태에서, 반응 혼합물은 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 TGBI 유전자 서열을 증폭시키기 위한 적어도 하나의 증폭 프라이머 쌍을 추가로 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 혼합물은 (a) 서열 번호 7-12 및 41로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 상응하는 정방향 프라이머; 및 (b) 서열 번호 13-18 및 47로 이루어진 그룹으로부터 선택된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 상응하는 역방향 프라이머를 포함한다. 반응 혼합물이 서열 번호 33 또는 36의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI G623D 프로브; 및 서열 번호 24 또는 30의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 표지된 TGBI M502V 프로브를 포함하는 경우, 반응 혼합물은 (a) 서열 번호 10 및 12를 포함하는 상응하는 정방향 프라이머; 및 (b) 서열 번호 16 및 18을 포함하는 상응하는 역방향 프라이머를 추가로 포함할 수 있다.

[0031] 일부 실시양태에서, 표지된 프로브는 형광 표지된다. 추가의 실시양태에서, 각각의 표지된 프로브는 상이한 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 각각의 표지된 프로브는 독립적으로 VIC, FAM, ABY, 또는 JUN으로 표지된다.

[0032] **IV. 진단 키트**

[0033] 하나의 측면에서, 본원에 기술된 임의의 또는 모든 시약은 진단 키트에 포장된다. 이러한 키트는 임의의 및/또는 모든 본원에 기술된 프라이머, 프로브, 완충액 및/또는 기타 시약을 임의의 조합으로 포함한다.

[0034] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGBI 유전자에서 R124S, A546D, H572R, H626R, G623D 및 M502V 돌연변이를 검

출하기 위한 프라이머 세트, 검출 프로브 및/또는 시약을 포함하는 반응 키트를 제공한다. 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGBI 유전자에서 G623D 및 M502V 돌연변이를 검출하기 위한 프라이머 세트, 검출 프로브 및/또는 시약과 G623D 및 M502V를 검출하기 위한 프라이머 세트, 프로브 및/또는 시약의 조합을 포함하는 단일 반응 혼합물을 포함하는 반응 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 반응 키트는 R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3 또는 4개의 TGFBI 돌연변이를 검출하기 위한 1, 2, 3 또는 4개의 프라이머 세트, 검출 프로브 및/또는 시약을 추가로 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 G623D, R124S, H403Q, R124C 및 R124H로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개 TGFBI 돌연변이를 검출하기 위한 1, 2, 3, 4 또는 5개의 프라이머 세트, 검출 프로브 및/또는 시약을 추가로 포함한다.

[0035] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 상기한 반응 혼합물 및 하나 이상의 추가의 시약을 포함하는 반응 키트를 제공한다. 일부 실시양태에서, 반응 키트는 R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3 또는 4개의 TGFBI 돌연변이를 검출하기 위한 1, 2, 3 또는 4개의 프라이머 세트, 표지된 프로브 및/또는 시약을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3 또는 4개의 TGFBI 돌연변이를 검출하기 위한 1, 2, 3 또는 4개의 프라이머 세트, 표지된 프로브 및/또는 시약은 키트에서 반응 혼합물로부터 분리되어 있다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 19-24, 33, 50, 25-30, 36 및 54의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 프로브로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개의 표지된 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 19의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI R124S 정상 프로브 및/또는 서열 번호 25의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI R124S 돌연변이 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 20의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI A546D 정상 프로브 및/또는 서열 번호 26의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI A546D 돌연변이 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 21의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H572R 정상 프로브 및/또는 서열 번호 27의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H572R 돌연변이 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 서열 번호 23 또는 50의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H626R 정상 프로브 및/또는 서열 번호 29 또는 54의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 표지된 TGFBI H626R 돌연변이 프로브를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 TGFBI G623D 프로브가 별도로 보관되거나 TGBI M502V 프로브와 혼합되지 않은 키트는 배제한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 추가 증폭 프라이머 세트를 추가로 포함한다. 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 R124S 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제3 증폭 프라이머 세트, A546D 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제4 증폭 프라이머 세트, H572R 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제5 증폭 프라이머 세트, 및/또는 H626R 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자를 증폭시키기 위한 제6 증폭 프라이머 세트를 추가로 포함한다. 본원에서, R124S 돌연변이를 포함하는 TGFBI 유전자는 TGBI 단백질 산물에서 R124S 돌연변이를 유발하는 SNP를 포함하는 TGFBI 유전자를 가리킬 수 있다.

[0036] 추가의 실시양태에서, 반응 키트는 G623D, R124S, H403Q, R124C 및 R124H로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 TGFBI 돌연변이를 검출하기 위한 1, 2, 3, 4 또는 5개의 프라이머 세트, 검출 프로브 및/또는 시약을 추가로 포함한다.

[0037] 일부 실시양태에서, 키트 중의 시약은 동결건조된 분말로서 포함된다. 일부 실시양태에서, 키트 중의 시약은 재구성을 위한 지침과 함께 동결건조된 분말로서 포함된다. 일부 실시양태에서, 키트 중의 시약은 액체로서 포함된다. 일부 실시양태에서, 시약은 플라스틱 및/또는 유리 바이알 또는 기타 적절한 용기에 포함된다. 일부 실시양태에서 프라이머와 프로브는 모두 키트에서 개별 용기에 담겨 있다. 일부 실시양태에서, 프라이머는 하나의 용기에 함께 포장되고, 프로브는 다른 용기에 함께 포장된다. 일부 실시양태에서, 프라이머와 프로브는 단일 용기에 함께 포장된다.

[0038] 일부 실시양태에서, 키트는 대조 gDNA 및/또는 DNA 샘플을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서 포함되는 대조 DNA 샘플은 G623 정상 서열을 갖는 TGFBI 샘플 및/또는 M502 정상 서열을 갖는 TGFBI 샘플이다. 일부 실시양태에서 포함되는 대조 DNA 샘플은 R124S, A546D, H572R, 및 H626R을 포함하여 검출되는 돌연변이에 상응한다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124C, R124H, R124L, R555W, R555Q 및/또는 H626P에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124C, R124H, R124L, R555W 및/또는 R555Q에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124C, R124H 및/또는 R124L에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R555W 및/또는 R555Q에

상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124C에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상 DNA에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124H에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R124L에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상 DNA에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R555W에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 사용된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 R555Q에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다. 일부 실시양태에서, TGFBI R124 정상에 상응하는 대조 DNA 샘플 및 H626P에 상응하는 돌연변이 DNA 샘플이 포함된다.

[0039] 일부 실시양태에서, 대조 DNA 샘플의 농도는 5 ng/ μ L, 10 ng/ μ L, 20 ng/ μ L, 30 ng/ μ L, 40 ng/ μ L, 50 ng/ μ L, 60 ng/ μ L, 70 ng/ μ L, 80 ng/ μ L, 90 ng/ μ L, 100 ng/ μ L, 110 ng/ μ L, 120 ng/ μ L, 130 ng/ μ L, 140 ng/ μ L, 150 ng/ μ L, 160 ng/ μ L, 170 ng/ μ L, 180 ng/ μ L, 190 ng/ μ L 또는 200 ng/ μ L이다. 일부 실시양태에서, 대조 DNA 샘플의 농도는 50 ng/ μ L, 100 ng/ μ L, 150 ng/ μ L 또는 200 ng/ μ L이다. 일부 실시양태에서, 대조 DNA 샘플의 농도는 100 ng/ μ L이다. 일부 실시양태에서, 대조 DNA 샘플들은 동일한 농도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 대조 DNA 샘플들은 상이한 농도를 갖는다.

[0040] 일부 실시양태에서, 키트는 완충제, 예를 들면, GTXpress TAQMAN® 시약 혼합물, 또는 임의의 등가 완충제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 완충제는 본원에 기술된 임의의 완충제를 포함한다.

[0041] 일부 실시양태에서, 키트는 (예를 들어, M13 벡터를 포함한) 벡터와 같이 클로닝에 사용하기 위한 시약을 추가로 포함할 수 있다.

[0042] 일부 실시양태에서, 키트는 DNA의 정제에 사용하기 위한 시약을 추가로 포함한다.

[0043] 일부 실시양태에서, 키트는 대상체에서 각막 이상증의 검출에 키트를 사용하기 위한 지침서를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 지침서는 본원에 기술된 프로토콜의 다양한 측면을 포함한다.

[0044] V. 핵산 분석

[0045] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGFBI 유전자에서 G623D, M502V, R124S, A546D, H572R, 및 H626R 돌연변이로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 TGFBI 돌연변이를 검출함을 포함하여, 각막 이상증을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 G623D, R124S, H403Q, R124C 및 R124H로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 TGFBI 돌연변이를 검출함을 추가로 포함할 수 있다.

[0046] 일부 실시양태에서, 검출 단계는 TGFBI 유전자를 서열분석함을 포함한다. 추가의 실시양태에서, 검출 단계는 표지된 검출 프로브를 사용하여 돌연변이를 검출함을 포함한다.

[0047] 하나의 측면에서, 본 개시내용은: (A-1) 적어도 제1 증폭 프라이머 쌍 및 적어도 두 개의 검출 프로브의 세트를 포함하는 반응 혼합물을 사용하여 대상체로부터의 생물학적 샘플로부터 제1 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키는 단계; (B-1) 적어도 두 개의 검출 프로브의 세트의 제1 및 제2 검출 프로브를 각각 G623D 돌연변이를 갖는 제1 TGFBI 유전자 서열 및 M502V 돌연변이를 갖는 제2 TGFBI 유전자 서열에 하이브리드화하는 단계; 및 (C-1) 각각 제1 및 제2 TGFBI 유전자 서열에 대한 제1 및 제2 검출 프로브의 하이브리드화에 기초하여 TGFBI 유전자 서열에서 하나, 둘 또는 그 이상의 돌연변이를 검출하는 단계를 포함하여, 각막 이상증을 검출하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 (A-2) 생물학적 샘플로부터 제3 TGFBI 유전자 서열을 증폭시키는 단계로서, 여기서, 반응 혼합물은 R124S, A546D, H572R, 및 H626R로 이루어진 그룹으로부터 선택된 제3 TGFBI 돌연변이에 대한 제3 표지된 프로브를 추가로 포함하는 단계; (B-2) 제3 표지된 프로브를 제3 TGFBI 유전자 서열에 하이브리드화하는 단계; 및 (C-2) 제3 TGFBI 유전자 서열에 대한 제3 검출 프로브의 하이브리드화에 기초하여 제3 TGFBI 유전자 서열에서 돌연변이를 검출하는 단계를 추가로 포함한다.

[0048] 일부 실시양태에서, 본원의 방법은 계능 샘플을 분리하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 대상체로부터 세포의 샘플을 제공하는 단계를 포함한다. 추가의 실시양태에서, 대상체는 인간일 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포는 환자의 세포 표면을 세포를 기질에 가역적으로 고정시킬 수 있는 기질과 접촉 시킴으로써 수집된다.

[0049] 개시된 방법은 다양한 샘플로부터 수득된 다양한 세포 유형에 적용 가능하다. 일부 실시양태에서, 개시된 방법에 사용하기 위한 세포 유형은 상피 세포, 내피 세포, 결합 조직 세포, 골격근 세포, 내분비 세포, 심장 세포, 비뇨기 세포, 멜라닌 세포, 각질 세포, 혈액 세포, 백혈구, 비피 코트, 모발 세포 (예를 들어, 모근 세포 포함) 및/또는 타액 세포를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 세포는 상피 세포이다. 일부 실

시양태에서, 세포는 피막하-혈관주위 세포 (상피 유형 1)이고; 담엽 세포 (상피 유형 2); 중층 세포 (상피 유형 3); 어둠 세포 (상피 유형 4); 미분화 세포 (상피 유형 5); 및 대-수질 세포 (상피 유형 6)이다. 일부 실시양태에서, 세포는 협측 상피 세포 (예를 들어, 협측 교환(buccal swap)을 사용하여 수집된 상피 세포)이다. 일부 실시양태에서, 개시된 방법에서 사용되는 세포의 샘플은 상기 확인된 세포 유형의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제공되는 세포는 협측 상피 세포이다.

[0050] 일부 실시양태에서, 샘플은 비-침습적인 방식으로 유리하게 수집되며 이와 같은 샘플 수집은 어디서든 거의 모든 사람들에게 의해 달성된다. 예를 들면, 일부 실시양태에서 샘플은 의사의 사무실, 대상체의 집 또는 LASIK 수술이 수행되거나 수행될 시설에서 수집된다. 일부 실시양태에서 환자, 환자의 의사, 간호사 또는 의사의 조수 또는 기타 임상 요원이 샘플을 수집한다.

[0051] 예를 들면 게놈 DNA (gDNA) 샘플을 포함하지만 이에 제한되지 않는 샘플에서 SNP를 분석하기 위한 다양한 방법들이 당업계에 공지되어 있으며, PCR 방법, 예를 들어 실시간 PCR 분석, 마이크로어레이 분석, 하이브리드화 분석 및 핵산 서열 분석, 뿐만 아니라 핵산 조성물을 분석하고 당업계의 숙련가들에게 공지된 다양한 다른 방법들을 포함할 수 있다. 예를 들면, 문헌[Molecular Cloning (three volume set, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012)] 및 최신 프로토콜 (Genetics and Genomics; Molecular Biology; 2003-2013)을 참조한다.

[0052] a. 실시간 PCR

[0053] 실시간 PCR 분석의 설계를 위해, 두 개의 프라이머에 의해 플랭킹된 다음 증폭되는, 종종 앰플리콘이라고 하는 DNA 단편, 두 개의 프라이머 및 사용하고자 하는 검출 프로브 또는 프로브들을 포함하는 여러 부분이 조정된다.

[0054] 실시간 PCR은 서열-특이적 방식으로 게놈 대립유전자와 관련된 짧은 폴리뉴클레오티드 ("검출 프로브"로 지칭됨)에 접합된 형광 염료의 시각적 방출에 의존한다. 단일 뉴클레오티드를 달리하는 실시간 PCR 프로브는 상이한 파장에서 형광하는 프로브의 접합 및 검출에 의해 실시간 PCR 분석에서 구별될 수 있다. 실시간 PCR은 검출 용도 (진단 용도), 정량 용도 및 유전형 분석 용도에서 사용된다.

[0055] TAQMAN® 프로브 (미국 특허 제5,210,015호 및 제5,487,972호, 및 문헌 참조; Lee et al., *Nucleic Acids Res.* 21:3761-6, 1993), 분자 비콘 프로브 (미국 특허 제5,925,517호 및 제6,103,476호, 및 문헌 참조; Tyagi and Kramer, *Nat. Biotechnol.* 14:303-8, 1996), 자가-프로빙 앰플리콘 (scorpions) (미국 특허 제6,326,145호, 및 문헌 참조; Whitcombe et al., *Nat. Biotechnol.* 17:804-7, 1999), Amplisensor (Chen et al., *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4210-6, 1998), Amplifluor (미국 특허 제6,117,635호, 및 문헌 참조; Nazarenko et al., *Nucleic Acids Res.* 25:2516-21, 1997, 변위 하이브리드화 프로브 (Li et al., *Nucleic Acids Res.* 30:E5, 2002), DzyNA-PCR (Todd et al., *Clin. Chem.* 46:625-30, 2000), 형광 제한 효소 검출 (Cairns et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 318:684-90, 2004) 및 인접 하이브리드화 프로브 (미국 특허 제 6,174,670호 및 문헌 참조; Wittwer et al., *Biotechniques* 22:130-1, 134-8, 1997)에 의존하는 분석들을 포함하여, 실시간 PCR을 수행하기 위한 몇 가지 관련 방법들이 당업계에 개시되어 있다.

[0056] 하나의 측면에서, 본 개시내용은 TGFBI 유전자에서 G623D, M502V, R124S, A546D, H572R, H626R, G623D, R124S, H403Q, R124C 및/또는 R124H 돌연변이를 유발하는 SNP의 검출에 관한 것이다. 몇몇 경우에, 실시간 PCR은 예를 들면 SNP를 포함하지만 이에 제한되지 않는 각종 유전자 돌연변이의 검출을 야기할 수 있다. 일부 실시양태에서, 특정 유전자 후보에서 SNP의 검출은 테더링된 퀀칭 모이어티의 사용에 의한 형광 분자의 분자내 퀀칭의 사용에 기초하여, 실시간 PCR을 사용하여 수행된다. 따라서, 예시적 실시양태에 따르면, 실시간 PCR 방법은 또한 분자 비콘 기술의 사용을 포함한다. 분자 비콘 기술은 관심있는 DNA 표적에 결합함으로써 형광이 회복되는 내부-퀀칭된 형광단을 갖는 헤어핀 모양의 분자를 사용한다 (예를 들면, 참조; Kramer, R. et al. *Nat. Biotechnol.* 14:303-308, 1996). 일부 실시양태에서, 추적하는 PCR 산물에 대한 분자 비콘 프로브의 증가된 결합은 게놈 DNA에 존재하는 SNP를 특이적으로 검출하는데 사용된다.

[0057] 다수의 적합한 유전형 분석 절차 중 하나는 TAQMAN® 대립유전자 식별 분석이다. 이 분석의 일부 경우에서, 프로브의 5' 말단에 형광 리포터 염료 및 프로브의 3' 말단에 퀀처 염료 (quencher dye)로 표지된 올리고뉴클레오티드 프로브가 이용된다. 온전한 프로브에 대한 퀀처의 근접성은 리포터에 대해 낮은 형광을 유지한다. PCR 반응 동안, DNA 중합효소의 5' 뉴클레아제 활성이 프로브를 절단하고, 염료와 퀀처를 분리한다. 이것이 리포터의 형광 증가를 야기한다. PCR 산물의 추적은 리포터 염료의 형광 증가를 모니터링함으로써 직접적으로 검출된다. DNA 중합효소의 5' 뉴클레아제 활성은, 프로브가 표적에 하이브리드화되고 PCR 동안 증폭되는 경우에만 리포터와 퀀처 사이에 프로브를 절단한다. 프로브는 특정 SNP 대립유전자가 존재하는 경우에만 표적 SNP 위치를

가로지르고 핵산 분자에 하이브리드화되도록 설계된다.

[0058] 예를 들자면, TGFBI 유전자의 엑손 4에 위치한 아벨리노 각막 이상증 관련 SNP를 증폭시키기 위해, 정방향 및 역방향 PCR 프라이머 쌍이 미국 특허 공개 제2012/0077200호에 기술된 바와 같이 작제되었으며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 포함된다.

[0059] **b. 실시간 PCR 사이클**

[0060] 실시간 PCR 방법은 증폭을 위한 방법의 일부로서 다양한 단계 또는 사이클을 포함한다. 이러한 사이클은 이중-가닥 핵산을 변성시키는 단계, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머 및 검출 프로브를 표적 게놈 DNA 서열에 어닐링하는 단계 및 어닐링된 정방향 프라이머 및 역방향 프라이머로부터 2차-가닥 DNA를 합성 (즉, 복제)하는 단계를 포함한다. 이러한 3 단계 프로세스를 본원에서 사이클이라고 한다.

[0061] 일부 실시양태에서, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 또는 60 사이클이 사용된다. 일부 실시양태에서, 약 10 내지 약 60 사이클, 약 20 내지 약 50 또는 약 30 내지 약 40 사이클이 사용된다. 일부 실시양태에서, 40 사이클이 사용된다.

[0062] 일부 실시양태에서, 이중-가닥 핵산을 변성시키는 단계는 약 80℃ 내지 100℃, 약 85℃ 내지 약 99℃, 약 90℃ 내지 약 95℃의 온도에서 약 1초 내지 약 5초, 약 2초 내지 약 5초, 또는 약 3초 내지 약 4초 동안 일어난다. 일부 실시양태에서, 이중-가닥 핵산을 변성시키는 단계는 95℃의 온도에서 약 3초 동안 일어난다.

[0063] 일부 실시양태에서, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머 및 검출 프로브를 표적 게놈 DNA 서열에 어닐링하는 단계는 약 40℃ 내지 약 80℃, 약 50℃ 내지 약 70℃, 약 55℃ 내지 약 65℃에서 약 15초 내지 약 45초, 약 20초 내지 약 40초, 약 25초 내지 약 35초 동안 일어난다. 일부 실시양태에서, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머 및 검출 프로브를 표적 게놈 DNA 서열에 어닐링하는 단계는 약 60℃에서 약 30초 동안 일어난다.

[0064] 일부 실시양태에서, 어닐링된 정방향 프라이머 및 역방향 프라이머로부터 2차-가닥 DNA를 합성 (즉, 복제)하는 단계는 약 40℃ 내지 약 80℃, 약 50℃ 내지 약 70℃, 약 55℃ 내지 약 65℃에서 약 15초 내지 약 45초, 약 20초 내지 약 40초, 약 25초 내지 약 35초 동안 일어난다. 일부 실시양태에서, 정방향 프라이머, 역방향 프라이머 및 검출 프로브를 표적 게놈 DNA 서열에 어닐링하는 단계는 약 60℃에서 약 30초 동안 일어난다.

[0065] 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 본 발명의 방법에 따라 제조된 약 1 μL, 약 2 μL, 약 3 μL, 약 4 μL 또는 약 5 μL의 게놈 DNA 샘플이 단지 약 0.05 μL, 약 0.10 μL, 약 0.15 μL, 약 0.20 μL, 약 0.25 μL 또는 약 0.25 μL의 30X, 35X, 40X, 45X, 50X 또는 100X 실시간 PCR 분석 믹스 및 증류수와 조합되어 PCR 마스터 믹스를 형성하는 것으로 밝혀졌다. 일부 실시양태에서, PCR 마스터 믹스는 약 1.5 μL, 약 2.5 μL, 약 5 μL, 약 6 μL, 약 7 μL, 약 8 μL, 약 9 μL, 약 10 μL, 약 11 μL, 약 12 μL, 약 13 μL, 약 14 μL, 약 15 μL, 약 16 μL, 약 17 μL, 약 18 μL, 약 19 μL 또는 약 20 μL 또는 그 이상의 최종 용적을 갖는다. 일부 실시양태에서, 상기 기술된 바와 같이 제조된 2 μL의 게놈 DNA 샘플은 PCR 마스터 믹스를 형성하기 위해 단지 약 0.15 μL의 40X 실시간 PCR 분석 믹스 및 2.85 μL의 증류수와 조합되는 것으로 밝혀졌다.

[0066] 예시적인 반응이 본원에 기술되어 있지만, 당업계의 숙련가는 프로브 설계에 기초하여 온도 및 시간을 변경하는 방법을 이해할 것이다. 또한, 본 발명의 방법은 상기 시간 및 온도의 임의의 조합을 고려한다.

[0067] **c. PCR 프라이머 및 프라이머 설계**

[0068] 일부 실시양태에서, 프라이머는 실험실 환경에서 시험 및 설계된다. 일부 실시양태에서, 프라이머는 *in silico* 방법에 기반한 컴퓨터에 의해 설계된다. 프라이머 서열은 증폭시키고자 하는 앰플리콘의 서열 또는 표적 핵산 서열에 기초한다. 더 짧은 앰플리콘이 전형적으로 더 긴 앰플리콘에 비해 더욱 효율적으로 복제되고 보다 효율적인 증폭을 초래한다.

[0069] 프라이머를 설계하는데 있어서, 당업자는 설계되는 프라이머의 GC 및 AT 함량 뿐만 아니라 이차 구조 고려사항 (증가된 GC 함량은 이차 구조를 증가시킬 수 있다)에 기초하여 용융 온도 (T_m ; 프라이머-표적 듀플렉스의 절반이 해리되고 단일 가닥이 되는 온도이고 듀플렉스 안정성의 지표이며; 증가된 T_m 은 증가된 안정성을 나타낸다)를 고려해야 할 필요성을 이해할 것이다. T_m 은 당업계에 공지된 다양한 방법을 사용하여 계산될 수 있고, 당업계의 숙련가들은 T_m 을 계산하기 위한 이러한 다양한 방법을 쉽게 이해할 것이며; 이러한 방법은 예를 들면 월드 와이드 웹 promega.com/techserv/tools/biomath/calc11.htm에서 이용 가능한 T_m 계산기와 같은 온라인 도구에서 이

용 가능한 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 프라이머 특이성은 Taq 중합효소에 의해 연장된 부분인 3' 말단 서열과 조합된 이의 완전 서열에 의해 정의된다. 일부 실시양태에서, 부정확한 증폭 산물의 잘못된 프라이밍 및 생성을 감소시키는데 도움을 주기 위해, 3' 말단은 표적 서열에 다른 곳에서는 발견되지 않는 적어도 5 내지 7개의 독특한 뉴클레오티드를 가져야 한다. 정방향 및 역방향 프라이머는 전형적으로 유사한 효율로 표적에 결합한다. 몇몇 경우에, NCBI BLAST (월드 와이드 웹 ncbi.nlm.nih.gov에 위치)와 같은 도구가 정렬을 수행하고 프라이머 설계를 지원하는데 사용된다.

[0070] 프라이머 설계의 추가의 측면은 프라이머 복잡성 또는 언어적 서열 복잡성이다 (참조; Kalendar R, et al. (*Genomics*, 98(2): 137-144 (2011))). 언어적 서열 복잡성을 갖는 프라이머 (예를 들어, 뉴클레오티드 정렬 및 조성)가 전형적으로 더 효율적이다. 일부 실시양태에서, 언어적 서열 복잡성 계산 방법은 단순 서열 반복, 불완전한 동향 또는 역위 반복, 폴리퓨린 및 폴리피리미딘 삼중-가닥 cDNA 구조, 및 4-가닥 구조 (예를 들어 G-사중나선구조)를 포함한 저-복잡성 영역의 검출을 위한 비교된 서열들 사이의 보존된 영역을 검색하는데 사용된다. 일부 실시양태에서, 언어적 복잡성 (LC) 측정은 전체 서열 길이에 따라 알파벳-용량 L-그램 방법 (alphabet-capacity L-gram method) (참조; A. Gabrielian, A. Bolshoy, *Computer & Chemistry* 23:263-274 (1999) 및 Y.L. Orlov, V.N. Potapov, Complexity: an internet resource for analysis of DNA sequence complexity, *Nucleic Acids Res.* 32: W628-W633(2004))을 사용하여 수행되며 서열에서 1 내지 L 크기 단어로부터의 관찰된 범위 (ξ)의 합을 이 서열 길이에 대한 예상되는 (E) 값의 합으로 나눈 값으로서 계산된다. 일부 G-풍부 (및 C-풍부) 핵산 서열은 G-사중체의 스택을 함유하는 4-가닥 DNA 구조로 접힌다 (월드 와이드 웹 quadruplex.org 참조). 몇몇 경우에, 이러한 사중나선구조는 2개 또는 4개의 DNA 분자의 분자간 회합, 2개의 G-염기를 함유하는 서열의 이량체화, 또는 4개의 구아닌 블록을 함유하는 단일 가닥의 분자간 집합에 의해 형성된다 (참조; P.S. Ho, *PNAS*, 91:9549-9553 (1994); I.A. Il'icheva, V.L. Florent'ev, *Russian Journal of Molecular Biology* 26:512-531(1992); D. Sen, W. Gilbert, *Methods Enzymol.* 211:191-199 (1992); P.A. Rachwal, K.R. Fox, *Methods* 43:291-301 (2007); S. Burge, G.N. Parkinson, P. Hazel, A.K. Todd, K. Neidle, *Nucleic Acids Res.* 34:5402-5415 (2006); A. Guédin, J. Gros, P. Alberti, J. Mergny, *Nucleic Acids Res.* 38:7858-7868 (2010); O. Stegle, L. Payet, J.L. Mergny, D.J. MacKay, J.H. Leon, *Bioinformatics* 25:i374-i382 (2009); 몇몇 경우에는, 이들의 낮은 언어적 복잡성, (TTAGGG)₄의 경우 LC=32% 때문에 이들은 프라이머 설계로부터 제외된다.

[0071] 이러한 방법은 CG 함량 및 용융 온도에 관한 GC skew, (G-C)/(G+C), AT skew, (A-T)/(A+T), CG-AT skew, (S-W)/(S+W), 또는 퓨린-피리미딘 (R-Y)/(R+Y) skew를 갖는 서열에서의 패턴 분석을 위한 다양한 생물정보학 도구를 포함하고 언어적 서열 복잡성 프로파일을 결정하기 위한 도구를 제공한다. 예를 들면 n의 슬라이딩 윈도우에서 GC skew (여기서, n은 양의 정수이다) 염기는 (G-C)/(G+C) 공식에 따라 하나의 염기의 스택으로 계산되며, 여기서 G는 구아닌의 총 수이고 C는 윈도우에서 모든 서열에 대한 사이토신의 총 수이다 (Y. Benita, et al., *Nucleic Acids Res.* 31:e99 (2003)). 양의 GC-skew 값은 G 염기의 과잉을 나타내었고, 음의 GC-skew 값은 C 염기의 과잉을 나타내었다. 유사하게, 다른 skew가 서열에서 계산된다. 이러한 방법들 뿐만 아니라 다른 방법들이 일부 실시양태에서 프라이머 복잡성을 결정하는데 사용된다.

[0072] 비제한적인 예시적인 실시양태에 따르면, 실시간 PCR은 엑소뉴클레아제 프라이머 (TAQMAN® 프로브)를 사용하여 수행된다. 이러한 실시양태에서, 프라이머는 증폭 반응에 존재하는 이중-표지된 프로브를 절단하기 위해 Taq와 같은 열안정성 폴리머라제의 5' 엑소뉴클레아제 활성을 이용한다 (예를 들면, 참조; Wittwer, C. et al. *Biotechniques* 22:130-138, 1997). PCR 산물에 상보적이기는 하지만, 이 분석에 사용되는 프라이머 프로브는 PCR 프라이머와는 다르며 형광이 가능한 분자와 형광을 퀀칭할 수 있는 분자 둘 다를 이중-표지된다. 프로브가 손상되지 않은 경우, DNA 프로브 내의 형광 신호의 분자내 퀀칭은 신호를 거의 발생하지 않는다. 형광 분자가 증폭 동안 Taq의 엑소뉴클레아제 활성에 의해 유리될 때, 퀀칭이 크게 감소되어 형광 신호를 증가시킨다. 형광 프로브의 비제한적인 예는 6-카복시-플루오레세인 잔기 등을 포함한다. 예시적인 퀀처는 Black Hole Quencher 1 모이어티 등을 포함한다.

[0073] 예시적인 프라이머는 본원에 기술된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 개시된 방법에서 사용하기 위한 프라이머는 또한 미국 특허 공개 제20120077200호에서 찾아볼 수 있으며, 이것은 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에서 사용하기 위한 PCR 프라이머는 도 5b 및 5c의 표에 열거된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, TGFBI 유전자의 검출에 사용된다. 각 프라이머에 대한 생물물리학적 파라미터는 월드 와이드 웹 primerdigital.com/tools/PrimerAnalyser.html을 사용하여 계산할 수 있

다.

- [0074] 일부 실시양태에서, 개시된 방법에 사용하기 위한 실시간 PCR 프라이머는 적어도 70%, 적어도 72%, 적어도 75%, 적어도 77%, 적어도 80%, 적어도 82%, 적어도 85%, 적어도 88%, 적어도 90%, 적어도 92%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 적어도 99%의 언어적 서열 복잡성을 갖는다.
- [0075] **d. 검출 프로브 설계 및 검출 프로브**
- [0076] 당업계의 숙련가들에 의해 통상적으로 사용되는 검출 프로브는 가수분해 프로브 (TAQMAN® 프로브, 5' 뉴클레아제 프로브 또는 이중-표지된 프로브로도 알려짐), 하이브리드화 프로브, 및 Scorpion 프라이머 (하나의 분자에 프라이머와 검출 프로브를 구비함)를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 프로브는 효율적인 신호 생성을 촉진하기 위해 프라이머보다 높은 T_m을 갖도록 설계된다. T_m은 당업계에 공지된 다양한 방법들 중의 어느 하나를 사용하여 계산되고 숙련가들은 T_m을 계산하기 위한 이러한 다양한 방법들을 쉽게 이해할 것이며; 이러한 방법은 예를 들면 월드 와이드 웹 promega.com/techserv/tools/biomath/calc11.htm에서 이용 가능한 계산기와 같은 온라인 도구에서 이용 가능한 것들을 포함한다.
- [0077] 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 다양한 변형을 함유한다. 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드 변형, 포스포로티오에이트 골격 변형, 포스포로디티오에이트 골격 변형, 포스포아미데이트 골격 변형, 메틸포스포네이트 골격 변형, 3' 말단 포스포에이트 변형 및/또는 3' 알킬 치환과 같지만 이에 제한되지 않는 변형된 핵산 잔기를 포함한다.
- [0078] 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 변형으로 인해 표적 서열에 대해 증가된 친화도를 갖는다. 이러한 검출 프로브는 길이가 증가된 검출 프로브 뿐만 아니라 화학적 변형을 함유하는 검출 프로브를 포함한다. 이러한 변형은 2'-플루오로 (2'-데옥시-2'-플루오로-뉴클레오시드) 변형, LNA (잠금 핵산), PNA (펩티드 핵산), ZNA (zip 핵산), 모르폴리노, 메틸포스포네이트, 포스포아미데이트, 폴리양이온성 접합체 및 2'-피렌 변형을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 2' 플루오로 변형 (일명, 2'-데옥시-2'-플루오로-뉴클레오시드), LNA (잠금 핵산), PNA (펩티드 핵산), ZNA (zip 핵산), 모르폴리노, 메틸포스포네이트, 포스포아미데이트, 및/또는 폴리양이온성 접합체를 포함하는 하나 이상의 변형을 함유한다.
- [0079] 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 본원에 기술된 것과 같은 검출 가능한 모이어티 뿐만 아니라 당업계의 숙련가들에게 공지된 임의의 검출 가능한 모이어티를 함유한다. 이러한 검출 가능한 모이어티는 예를 들면 형광 표지 및 화학발광 표지를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 검출 가능한 모이어티의 예는 또한 FRET 쌍의 구성원을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 검출 프로브는 검출 가능한 엔티티를 함유한다.
- [0080] 형광 표지의 예는 ABY, JUN, AMCA, DEAC (7-디에틸아미노쿠마린-3-카복실산); 7-하이드록시-4-메틸쿠마린-3; 7-하이드록시쿠마린-3; MCA (7-메톡시쿠마린-4-아세트산); 7-메톡시쿠마린-3; AMF (4'-(아미노메틸)플루오레세인); 5-DTAF (5-(4,6-디클로로트리아지닐)아미노플루오레세인); 6-DTAF (6-(4,6-디클로로트리아지닐)아미노플루오레세인); 6-FAM (6-카복시플루오레세인; 일명 FAM; TAQMAN® FAMTM 포함); TAQMAN VIC®; 5(6)-FAM 카다베린; 5-FAM 카다베린; 5(6)-FAM 에틸렌디아민; 5-FAM 에틸렌디아민; 5-FITC (FITC 이성체 I; 플루오레세인-5-이소티오시아네이트); 5-FITC 카다베린; 플루오레세인-5-말레이미드; 5-IAF (5-요오도아세트아미도플루오레세인); 6-JOE (6-카복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시플루오레세인); 5-CR1 10 (5-카복시로다민 110); 6-CR1 10 (6-카복시로다민 110); 5-CR6G (5-카복시로다민 6G); 6-CR6G (6-카복시로다민 6G); 5(6)-카복시로다민 6G 카다베린; 5(6)-카복시로다민 6G 에틸렌디아민; 5-ROX (5-카복시-X-로다민); 6-ROX (6-카복시-X-로다민); 5-TAMRA (5-카복시테트라메틸로다민); 6-TAMRA (6-카복시테트라메틸로다민); 5-TAMRA 카다베린; 6-TAMRA 카다베린; 5-TAMRA 에틸렌디아민; 6-TAMRA 에틸렌디아민; 5-TMR C6 말레이미드; 6-TMR C6 말레이미드; TR C2 말레이미드; TR 카다베린; 5-TRITC; G 이성체 (테트라메틸로다민-5-이소티오시아네이트); 6-TRITC; R 이성체 (테트라메틸로다민-6-이소티오시아네이트); 단실 카다베린 (5-디에틸아미노나프탈렌-1-(N-(5-아미노펜틸))설폰아미드); EDANS C2 말레이미드; 플루오레스아민; NBD; 및 피로메텐 및 이의 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0081] 화학발광 표지의 예는 서던 블롯 및 웨스턴 블롯 프로토콜에 사용되는 표지를 포함하지만 이에 제한되지 않는다 (예를 들면, 참조; Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (3rd ed.) (2001); 전문이 본원에 참고로 포함됨). 예는 -(2'-스피로아다만탄)-4-메톡시-4-(3"-포스포릴옥시)페닐-1,2-디옥세탄 (AMPPD); 아크리디늄 에스테르 및 아다만틸-안정화된 1,2-디옥세탄, 및 이의 유도체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

- [0082] 일부 실시양태에서, 표지된 프로브는 증폭 동안 증폭된 영역 내에서 하이브리드화하는데 사용된다. 프로브는 증폭을 위한 프라이머로서 작용하지 않도록 변형될 수 있다. 검출 프로브는 두 개의 형광 염료로 표지될 수 있는데, 하나의 염료가 다른 염료의 형광을 퀀칭할 수 있다. 하나의 염료는 프로브의 5' 말단에 부착되고 다른 염료는 내부 부위에 부착되어, 프로브가 비-하이브리드화 상태에 있을 때 퀀칭이 일어난다.
- [0083] 전형적으로, 실시간 PCR 프로브는 형광 공명 에너지 전달 (FRET)에 관여하는 한 쌍의 염료 (리포터 염료 및 수용체 염료)로 구성되며, 이에 의해 수용체 염료가 리포터 염료의 방출을 퀀칭시킨다. 일반적으로, 형광-표지된 프로브는 애플리콘 정량의 특이성을 증가시킨다.
- [0084] 개시된 방법의 일부 실시양태에서 사용되는 실시간 PCR은 또한 본 개시내용의 측면에서 당업계의 숙련가들에 의해 결정되는 바와 같이 하나 이상의 하이브리드화 프로브 (즉, 검출 프로브)의 사용을 포함한다. 비제한적인 예를 들자면, 이러한 하이브리드화 프로브는 기술된 방법에 제공된 것들 중의 하나 이상을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. HEX 채널 및/또는 FAM 채널 프로브와 같은 예시적인 프로브는 당업계의 숙련가들에 의해 이해된다.
- [0085] 예시적인 실시양태에 따르면, 검출 프로브 및 프라이머는 예를 들어 프라이머 설계 소프트웨어를 사용한 *in silico* 분석을 사용하고 국립 생물공학 정보 센터 (NCBI)에 기탁된 유전자 및 게놈의 이용 가능한 뉴클레오타이드 데이터베이스에 대해 상호참조하여 편리하게 선택된다. 몇몇 추가 지침이 일부 실시양태에서 프라이머 및/또는 프로브의 선택에 사용될 수 있다. 예를 들면, 일부 실시양태에서, 프라이머 및 프로브는 서로 가까이 있지만 중첩되지 않도록 선택된다. 일부 실시양태에서, 프라이머는 동일한 (또는 가까운 T_m) (예를 들어, 약 58°C 내지 약 60°C)를 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 프로브의 T_m 은 프라이머의 T_m 에 대해 선택된 것보다 대략 10°C 더 높다. 일부 실시양태에서, 프로브와 프라이머의 길이는 약 17 내지 39개 염기 쌍 등이도록 선택된다. 이들 및 다른 가이드라인이 몇몇 경우에 적절한 프라이머 및/또는 프로브를 선택하는데 있어서 당업계의 숙련가들에 의해 사용된다.
- [0086] 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 프로브는 도 5b 및 5c에 열거된 하기 예시적인 프로브를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0087] **실시예**
- [0088] 실시예 1: 전세계 문헌 검색
- [0089] HGMD 데이터베이스를 조사하였으며 62개의 다른 *TGFBI* 돌연변이가 발견되었다. HGMD 데이터베이스는 전세계 분포의 그림 (도 1a 및 1b)을 구축하기 위해 이러한 돌연변이가 설명된 논문을 확인하는데 사용되었다. 세계 지도의 각 깃발은 특정 지역 또는 국가에서 보고된 돌연변이의 요약을 담고 있다. 요약은 인종, 돌연변이 및 각 돌연변이에 대해 보고된 총 사례 수를 포함한다 (도 1a). 돌연변이는 특정 인구나 지리 구역에서 분포에 유의적인 차이 없이 퍼져 있다. 남미에서 보고된 사례는 거의 없고, 아프리카 또는 러시아에서는 보고된 사례가 없다. 지도는 국가별 정보를 추출하는데 사용될 수 있으며, 예를 들어 런던은 도 1b에서 적색 화살표로 표시된다.
- [0090] 전세계적으로, 1,600건 이상의 사례에서 보고된 *TGFBI* 돌연변이의 75%는 이용 가능한 유전자 검사에 의해 현재 검출된 5가지 돌연변이 중 하나로 구성되었다. 신규 *TGFBI* 돌연변이에 대한 보고가 공개될 가능성이 있지만, 코돈 R124 및 R555에서 발견된 가장 일반적인 *TGFBI* 돌연변이는 반대로 적게 보고된다. 따라서, 문헌 내에서 *TGFBI* 이상증의 실제 전세계 검출율의 정확한 추정을 얻기는 어렵다.
- [0091] 우리의 연구에서 최고로 보고된 사례 수의 순위에 기초하여, 이용 가능한 유전자 검사 패널에 6개의 돌연변이를 추가함으로써 *TGFBI* 돌연변이 검출율에 대한 효과를 평가하였다. 가장 일반적인 5가지 돌연변이와 확장된 시험을 위해 제안된 6가지 추가 돌연변이 각각에 대해 보고된 사례 수는 도 3의 표에 나타나어져 있다. H626R은 R124L 다음으로 4번째로 가장 흔한 돌연변이라는 것이 주목할 만하다. 이러한 발견은 *TGFBI* 각막 이상증의 진단을 위해 확장된 패널에 이 돌연변이를 포함시킴을 지지한다. M502V와 관련된 *TGFBI* 각막 이상증의 4가지 사례 만이 문헌 (보충 자료) 내에 보고되었지만, M502V에 대한 이형접합 돌연변이가 하나의 샘플에서 검출되었다. 따라서, 이것은 확장 패널에 포함되었다.
- [0092] 문헌에 보고된 사례로부터, 6개의 새로운 돌연변이를 기존 패널에 추가하면 전세계 검출율을 75%에서 90%로 증가시킬 수 있다 (도 2). 이용 가능한 유전자 검사에 추가 돌연변이를 추가하면 이론적으로는 검출율이 남미에서는 32%, 북미에서는 30%까지 증가한다. 검출율이 둘 다 13% 증가한 유럽과 아시아가 또한 제안된 11개의 돌

연변이 패널로부터 혜택을 볼 수 있다 (도 2).

[0093] 실시예 2: 세계적인 이용 가능한 유전자 검사 데이터 분석

[0094] 2008년 이후, 전세계적으로 600,000개 이상의 샘플이 이용 가능한 유전자 검사에 의해 시험되었으며; 대부분의 샘플은 한국과 일본에서 왔으며, 여기서 검사는 사전-굴절교정 수술 스크리닝에 사용된다. 전세계적 시험 데이터의 분석은 한국에서의 검출율이 10,000명 중 대략 15명으로, 870명 중 1명으로 보고된 유병률과 거의 일치한다는 것을 입증하였다.¹⁰ 일본에서의 *TGFBI* 돌연변이의 검출율 (10,000명 중 3명)은 한국보다 낮았다. 한국에서는, 검사가 모든 굴절교정 수술 후보자에 대한 일반적인 스크리닝으로서 시행되는 반면, 일본에서는 환자가 먼저 엄격한 임상 검사를 받고 각막 이상이 검출되지 않은 환자만 유전자 검사를 위해 샘플을 제출하였다.

[0095] 한국과 일본의 진료소/병원은 유전자 검사가 굴절교정 수술의 실습 지침의 일부를 형성하기 때문에 스크리닝 목적으로 유전자 검사를 사용한다. 미국에서, 일부 진료소/병원은 시력 교정 수술을 위한 수술전 검사 동안 스크리닝을 위해 검사를 사용하는 반면, 다른 진료소/병원은 임상 진단을 위한 확인으로 이를 사용하거나 의사가 환자의 각막에서 주목되는 결함에 대해 의심을 가질 경우 *TGFBI* 돌연변이를 제외하기 위해 이를 사용한다. 유럽의 진료소는 이러한 유형의 임상 확인에 주로 이 검사를 사용한다.

[0096] 실시예 3: 6개의 추가 돌연변이를 갖는 확장 패널의 평가

[0097] 2016 UCL, Moorfield의 각막 이상증 연구와 같은 소수의 인구 연구에서는 전체 *TGFBI* 유전자에 대해 Sanger 서열분석을 수행하였다. 이 연구는 주어진 인구에서 픽업률을 높이기 위해 6개의 새로운 돌연변이 부위의 추가를 평가할 수 있는 일련의 데이터를 제공하였다. 간단히 말해서, 이 연구는 91명의 관련없는 *TGFBI* 각막 이상증 사례로 구성되었으며, 이 중 68명은 상피-간질 *TGFBI* 관련 이상증 (RBCD, TBCD, LCD 및 GCD)을 진단받았고 23명은 양측 상피 기저막 이상증 (EBMD)을 진단받았다⁴. UK 인구의 경우, 이들 돌연변이가 5개의 돌연변이 유전자 검사와 함께 적절한지 여부를 결정하기 위해 6개의 *TGFBI* 돌연변이 세트를 평가하였다. 데이터는 UK 코호트에서의 검출율이 90%에서 97%로 증가함을 보여주었다 (도 4의 표). 검출율을 거의 100%로 증가시키기 위해, 도 4의 표로부터 V625D 및 A620D와 같은 다른 후보 돌연변이가 고려될 수 있다. 이러한 결과는 이용 가능한 유전자 검사에 6가지 추가 돌연변이를 포함시키면서 픽업률을 개선시키는 것이 여전히 UK 인구에서 발견되는 일부 중요한 돌연변이를 놓칠 수 있음을 입증한다.

[0098] 원래의 유전자 검사로 음성으로 시험된 임상적 징후가 있는 19개 샘플 중 16개는 여전히 음성 (전체의 84.2%)인 반면, 3개는 확장 패널로 양성으로 시험되었다 (전체의 15.7%). LCD의 후기-발병의 임상 진단을 받은 어머니와 아들 쌍의 WES 결과는 이형접합성 *TGFBI* H626R 돌연변이에 대해 양성이었다. 병행 실시간 PCR 검사는 동일한 이형접합성 H626R 돌연변이를 보여 주었다. 세 번째 샘플은 M502V에 대해 이형접합성인 것으로 밝혀졌다. 결과는 Sanger 서열분석으로 확인되었다. 후속 환자 병력은 환자가 왼쪽 각막에 매우 작은 각막 흉터가 있음을 나타내었다. 각막 이상증 또는 혼탁의 가족력은 없었다.

[0099] 문헌의 증거에 근거하여, 이용 가능한 유전자 검사에 6개의 돌연변이를 추가하면 검출율이 15%까지 증가한다. 이것은 우리의 샘플 코호트에 대한 검출에서의 15.7% 증가와 일치한다 (19개 샘플 중 3개). 지리적 또는 인구 차이는 검출되지 않았다; 따라서 새로 제안된 6개 추가 돌연변이는 현재 유전자 검사의 개선으로서 전세계적으로 사용하기에 적합하다. 새로운 돌연변이는 돌연변이 검출율을 상당히 개선시킬 것이다.

[0100] 확장된 패널에서 6개의 추가 돌연변이의 존재에 대한 19개 샘플의 시험은 확장된 유전자 검사가 *TGFBI* 돌연변이의 검출능을 증가시킬 것이라는 것을 입증하였다.

[0101] 실시예 4: 돌연변이의 다중화 검출

[0102] 첫째, 도 5b에 나타낸 바와 같은 각각의 돌연변이에 대해, 버전 1 (V1) 프라이머, 정상 서열을 갖는 VIC 표지된 프로브, 및 돌연변이 서열을 갖는 FAM 표지된 프로브를 조합하여 돌연변이를 검출하였다. R124S, A546D, H572R, G623D, H626R 및 M502V 각각에 대한 검출은 성공적이었다. 둘째, 도 5b에 나타낸 바와 같은 A546D, H572R 및 G623D 돌연변이 각각에 대해, V1 프라이머, 정상 서열을 갖는 ABY 표지된 프로브, 및 돌연변이 서열을 갖는 JUN 표지된 프로브를 조합하여 돌연변이를 검출하였다. G623D 돌연변이의 검출 만이 성공적이었다. 셋째, 도 5c에 나타낸 바와 같은 R124S, H626R, 및 M502V 돌연변이 각각에 대해, 버전 2 (V2) 프라이머, 정상 서열을 갖는 VIC 표지된 프로브, 및 돌연변이 서열을 갖는 FAM 표지된 프로브를 조합하여 돌연변이를 검출하였다. 단지 H626R에 대한 검출이 성공적이었다. 넷째, 도 5c에 나타낸 바와 같은 A546D, H572R, 및 G623D 돌연변이 각각에 대해, V2 프라이머, 정상 서열을 갖는 ABY 표지된 프로브, 및 돌연변이 서열을 갖는 JUN 표지된 프

로브를 조합하여 돌연변이를 검출하였다. 돌연변이 중 어느 것도 제대로 검출되지 않았다. 다섯째, 단일 반응 혼합물에서, 상이한 조합의 돌연변이를 검출하기 위해 프라이머 및 프로브를 혼합하였다.

[0103] 하기 PCR 마스터 믹스 용적 계산 및 PCT 조건이 사용되었다:

[0104] TaqPath ProAmp 마스터 믹스 용적; 검사당 2.5 μ L

[0105] M502V V1 프라이머 정방향 및 역방향 프라이머, 및 VIC 및 FAM 프로브 믹스 용적; 검사당 0.05 μ L

[0106] G623D 20 pM V1 프라이머 정방향 및 역방향 프라이머 용적; 검사당 0.05 μ L

[0107] G623D 50 pM V1 ABY 프로브 용적; 검사당 0.025 μ L

[0108] G623D 50 pM V1 JUN 프로브 용적; 검사당 0.025 μ L

[0109] 물 용적; 검사당 2.35 μ L

[0110] PCR 형광 검출 증폭 사이클링 횟수 및 조건:

[0111] 사이클 횟수: 40 사이클

[0112] 사이클링 조건;

[0113] PCR-전 판독 (대기 상태): 60.0°C - 01:00분

[0114] 대기 단계: 95.0°C - 00:20분

[0115] 사이클링 상태: 40 cycles, 95.0°C - 00:30분

[0116] PCR-후 판독 (대기 단계): 60.0°C - 01:00분

[0117] 단일 반응 혼합물에서 돌연변이의 상이한 조합에 대한 프라이머 및 프로브 중에서, V1 M502V 프라이머와 VIC 및 FAM 프로브와 V1 G623D 프라이머와 ABY 및 JUN 프로브 만이 도 6a 및 6b에 나타낸 바와 같이 단일 반응 혼합물에서 돌연변이 둘 다를 성공적으로 검출하였다. R124S 및 A546D, H626R 및 H572R에 대한 시약의 조합은 돌연변이를 제대로 검출하지 못했다.

[0118] 다음은 GRCh38.p7 호모 사피엔스 형질전환 성장 인자 베타 유도된 (TGFBI), 염색체 5 상의 RefSeqGene, NCBI 참조 서열: NG_012646.1 (서열 번호 62)을 보여준다.

```

1 agaggggaaca gaagcatcta ggagagatTT ggaaagaaca cctgcaggat cttggtgact
61 gattgcacgt gggggaccag agagcagggg caggcaaaac tgaatgcaag gtttccaacc
121 ttgagcggca cccacaggcaa gaatgaagaa atgaagaagg ggagctggac gaaagagcca
181 agggatttct gcattttgga atgaattgct gctgggtggt gtccatttcc ctgaaggcoo
241 ttatcctacg tgcagaagaaa ctctgtggaa gcagaggaaa ggcattgtgt agccaacaat
301 catctgtggg catctttcca ctaaagtatt tgaggtcagg caactaagc aaacctcaaa
361 gtgctctggt attcttttta gatattttag ctgagccaaa tcaatgaaac tctcatgaaa
421 aatcgggttc cctggaaaat gaaattgggt tctaaccaac aagtagcatt tggcaggccc
481 tgattaaaga agccagtgtt tggagaagt gtgaaacag ccaagtcatt taagaaacta
541 aacactgggg cctaatgcca ttctagggtt gcgacggctg ttctgttccc atcaattgca
601 gagcccgaa gctcaagttt gttttaagtt cctgccatta caaacctgtc gattatccca
661 gcctcccttg cgggctttga aaagagagaa gaatggaagg tgactgtggc caatttcccc
721 tccctgtcca gtgtgtggaa gacactgaat atgcaactac tgacctgtg cctgggcate
781 ttgaaggctt tccacaaagt gagctggggt cagcgggaag atgagagtct ctctgtggtc
841 acttcactgg tacacatttt caggtgtatt tctgttcttc catgcctaca taaattgaat
901 cctctgttaa ccactctga gctcatagct atttaacatg accctgtagt cctgtgcata
961 caaatcacct tgggatctgg tgaaaatgca gattcagtg gtctgtggag gttgggaggt
1021 tataagattc cacgtttctt catgagagct agaaaaata aataaataaa taaaaattt
1081 ttaaattttc cacattttta atgaactctg gggttgtgct gatgatgctg ttttgcagat
1141 cacattttga gtggcaagac tgtggaaaat ccttgagaaa tcaatccaaa atccccataa
1201 tggctactaca atcacacctt aatgttagta aactgagatg tttcttacct ttatttgtaa

```

[0119]

1261 catggaaaaa acaattactg tatatgaagt accattctaa gttctgtgtg ttacacaagg
 1321 gatggcaatt ttcccccacaa ttgattccac atcttttcat ttggatatct cttgcccacaa
 1381 ctccactttt tttctcccta gcaagtcttg gggagctgaa ttttaagagc tctttattta
 1441 gctatatggt ggcctctgaa aatgattttg actgtatctt ctgtctccat gtatgcccac
 1501 gcatcacacg gaacttttag gagtaaggaa aaggcaggcc tgggtgtcagc tgggtgtcag
 1561 atgccagctc tcccacacac aggccacagaa ccagtctctt tccataggtc ctttgtgaag
 1621 aacttggttg aactactaat ttatcatgat gcataaagct tgttgtcata cctcacagta
 1681 ttattttcaa aacctgaatg tttttggtga cctttcatgt gccacaaaat gtaaaagcag
 1741 tcattttttta aaaagtgcct gaaaaagtct agtaaaagatt cttccaagca agcctcaact
 1801 tctcctgttt agattgttta atctggaagg aaaaaattct ttctcaaatg acagggtttc
 1861 tgggtgctctg tgtttgcttg gttggctctg ggtcatctgg ggatggaggg tccctgctct
 1921 taacctccagc agcatcacct ttgtctccaa agaagcagca acctcagggt ggagaatggt
 1981 taaactcaca gcatctctgt tttcatgttt gaaagagggg atgggtgtgt gggcatggat
 2041 gtgggatttt aaaaaaatat ctaaacccata aataaagtat tactgcaatc tctttactga
 2101 gctcatggaa aaactcaagt catcgaatgt tagttttgca gactggagaa gtgagggtca
 2161 gtgaactttg ttgacttgcc ctaaatcttg cttagagagag agctggaaac agatggcagg
 2221 gctcctggcc tcttacatac aaggagcatt ttctctagaa actgcaatgc agccaaattc
 2281 taotggtctc aggggaaact tgttctggga gtccagcctga gcttgaatcc ctttgggttc
 2341 tttccattat cctatgccc gacgtcatgc tgaaccggag aaatgttttg ctttcaataa
 2401 atgaaatgag cactttcaga taattatttc tgtagtgtct caaaaactatc atattgttcc
 2461 attgaaacct actatataga acaatgactg gggagaggtta ataataataa tagcaatgca
 2521 taattatttg ccattttact tgaattgtat catgtaatct agtttagagt cctgtgagg
 2581 aggttttatt atctctctta tgagggtgaa taacttgccc aagaccacac agctaggaag
 2641 tagaaagact ggtatttgaa cccatctctc cctttctctc tccctctctc tccctctctc
 2701 ttcccaacac tgcctcccaag gaagctcacc cagtgcatac ctttagctac caactgctcg
 2761 tagtgggtgac tcaaatctgc atctccaac ctcataccta tectgagctc aagacctttg
 2821 aaatagctcc cctcctgtcc atccctcctg gaaatgcagg tggctgttgc acacataatg
 2881 tgaacacaaa tggagcactc tccctcacaca cccaaatgtg cactttcacc agcgtgccc
 2941 gcacaggcat ccttctctgc cagctatgag cctcgagggt agctctactc cccctcccta
 3001 accctgcact ccccaagggt ttccaagtct aatcaatgct accactaaaa tctcccatc
 3061 acctgttccc tctctctcac tagcttgatc actcccatg caggccctca gttgtttat
 3121 gctctcagta ggcctctctc cagtgcacc acctctctcc ttctctctcc cacttcttt
 3181 ctaccagagt tctaacctct ccaagccccc cttgtctttt tctttccctg gctgcatcc
 3241 taactcgcct ctccctctct cagacaagct tctacatgct actcatctct ccatcaaac
 3301 accatatttg ggtcttgccc atctgctctc cacagccaaag tcccagtggt cctctctgct
 3361 tctgacacag tgaagccatc tcagatctgt cttgttgga gcaatctctc ctttgagcag
 3421 cgcctcccta ctgagatcac cctccttgac tacaacccca cattctctac tccctgggt
 3481 ctctgtctac tggaggtatg ctcccagggt tgaattctca tcccgcgtcc ctcaactcaag
 3541 ccccccagtc tcatatccag ctttatctct atgggatgct tcaaccaggat gactcataag
 3601 caactcagac tcagggtgtc ccaaacccact catctacctg gcaagcctgc actctgcatg
 3661 tgctctcttc tgaacatggc accatcacct gctgcaatgt ccagaccaca aacacccctac
 3721 aatatecttg actctctctt ctcccctctt cctgtatac agactccaaa ttctattgag
 3781 actattacct cctacacccc tcacatttgc ccagccttcc ccatctctgc ctctacaccc
 3841 atagttcaag ctctcccatg gtcccttctt ggttacctgt tcttcttgcc tctttaagcc
 3901 tctcatgaca ctggccatgt caettgctc caccatcac ccgtaggct cttagctgga
 3961 gtctggggcc tgcacacctc ctcccctctt tccctacccc tgaactccac tccctgtgct
 4021 tcagcccaac agataacttg agtttctgta atgcatgctt cagtttacct gattaaactca
 4081 ttttcatctt tcaggccctc gagcagggtat caccctgtca gggccagggt cctcttctta
 4141 gctcccacaa cccagctac tcttcatgga acatcattgg cttgggtctac ggtatctccc
 4201 aaattggagc tttttcaca agggttagg tctcactcat tctattaatc catctgtgtc
 4261 tccccagggt tagcagtgc aagtaactga cagggtgatta atagatgctt gggtaagtat
 4321 caactcttta caatgtgaca atttgtttac ctgccttgag ctctccagg gcaggactct
 4381 tgctcttgca gaactctatc ggcaggtaact gttgcagaga tgtttactga agaagggaat
 4441 gaattagtag caaggtagg accccacccct tccccacggg ctccaaaagg agcttagagc
 4501 ccaacaaaac ctgccccaca tttttgggtt ttctgtggat caacagattt actcatctgt
 4561 ttttcaatga gcatgcacag tgggttggtg gtggagggat tagagattga ggagctgggg
 4621 aggtgtgtca gctctgggtg tgcagaaaca agtctgatgg gccatggtgt tctgggaatc
 4681 agcaactgct cccctcacc cctcctgag tgtttgttag cctcaagatc agtgaggga
 4741 tcttcgggcc cccagcatgc aggaccgaag ccccgagac agctgtccct cagtcaccaag
 4801 gtcccatctt ggaagcagcc acaggaggcc taagggaacct atacccttg tttgagggaag
 4861 actgtggcga gggagagagg gagggaaggc tggcagttag ggcaagggtc gggaaaaatg

[0120]

4921 agcacgggca cagtgcggga ggggtgggt gccagggca gccaggggcg cagggttgg
 4981 gaggggccag gggggccgco ctccttgca cggcggggcg agcttcccg cccctggcgt
 5041 ccgctccctc ccgctccgag cttacttaac ctggccggcg cggcggaggc gctctcaact
 5101 cctggagacc gcccgcttgc cgttcggtcg ctgagctcgt cggctgcgct cgtcccgctc
 5161 catggogctc ttogtgoggc tgcctggctc cgcctggct ctggccctgg gcccgcgcgc
 5221 gacccctggc ggtcccgcga agtcgcccga ccagctgggt ctgcagcaca gcaggctccg
 5281 gggcccgccag cagggttaag ccgagccgct tggccaggcg ctgcggaagg tcaggtagtc
 5341 ggggctcgga gcgcaagccg ctgggggcat tgaactgggc tgggggcgca ggggacaaag
 5401 ccogaactaa aaaccttgca gcatggagcg ctgggacacc agccctgcac ggggtggaag
 5461 gagagagggg gggaggttga ggacattgga gggaaagcgg gagggccgcg cttttagtaa
 5521 gggagtgggg aagtggacca gagactttcg acgcaggcca agagcctgag acggacagcg
 5581 ctttcagctt ctcctccag ccactgcaga aagggggaaa tggcaactct ttggccataa
 5641 tcaccgtggg aggggtgcca gggcaagcc caccagcag tacacctatt ccaaccagc
 5701 caggcccccg ccagcgagct ccagacaaga acctgggcca cacacggtgg cagcatctaa
 5761 ggtgccccag gctcctgtgc tccctggccag gccctgcact cagacactgc tggcaccgga
 5821 cactgctctc tgggtacagc aaggggcaatg tggcacttct tgcctcgccc gatgaagagc
 5881 agggagaaag actgggccc cccacacact gttcaaatgg ggaactgag tccctgagtg
 5941 ttccacttcc ccacagtcct gaagtgtgca ctggagccag gattggagtc tgtcttaag
 6001 taatagctgg gtttgaatg gtaggacact atcattgcag gaattccttt gagaccctga
 6061 agatgtgtgc gctttaggag acaaaactca gcagaaggtc tggctgtata gttggccctaa
 6121 tactgaacca ggcagaggca ggcaacattt ctacctaaa aaccaggcca taacctggtc
 6181 acaaatcccc aggcctttgct gcagcttcca gccctacctg ttgcaccaac ttctttttca
 6241 taactaggta aaactatata tgagtagaat cttgtagtga ctctcagag gaagcctaaa
 6301 taacctcggy gtcctggcgt caccaccaca agcaatgccc aaacctcaa gagactgggc
 6361 agatctgtgc tcaaatcaaa actcattgtt gggggtgata gagtgtact caccggccct
 6421 gaaagtcttg gctccttgca ctaggagtg cctgggtacg ggtacaggct gcccttctga
 6481 gggcatagtt gctcctgttt cctctacttg tggctttatg gcttaggctc tcaggaggt
 6541 tggggctctg cgggagaggg cctgctggga gcacatctgg ccacctgca gagtgaatc
 6601 aaaccaggcc tggctgcaac ctcaaccccc tctgggaaag agggagaatac tggggatctc
 6661 ctggggctct totggaagt ggagaatcag ctttgacttg ggcagtgtgc agaataagag
 6721 gaggggggat gtcagaaaga tgagagggat atgaggcctc aacatcaaaa tgcaagcacc
 6781 tggcattttt attatctctg cccacctctc cgtttggtctc tctgccttctc ctgccaatga
 6841 attgtgttat gtttgggtgc ctaatttgc ctaggagggt tctatttctc ctgtatcttc
 6901 gccactaaat gtcagagaaga tcccttatgc atgcccctgc acagtgtcac ctgtaagggc
 6961 attctctctg acagccacag tgaaggatcc tcaaaaggat tgagggcttt ccatcaagag
 7021 ccatctttac agcaaaacctc ttcccttca gagccagaaa gagtgtgac cagctggaaa
 7081 acagggtttt ttcttcaaat gcagatgctc ttgattatga gttccagata ttagatcaac
 7141 ttccccacca tacccttgca ggcagagcct ctttaattag ttcctgcagc acagctggaa
 7201 aggcctattg taactctgtg tgggcagagt aatctaagaa gtcaaggag caccctgtc
 7261 ccagtagaat ctggatgogc aggcacatga accatggcaa aatggttgca ggcacagttg
 7321 tatttactct gatctaaactg tccctgttaa tggccacagg ctgcctggcc tggcacacag
 7381 ggtgtgtggc ccttgtgcaa atggataacg ttgttctagc tccagccttt cattcaagt
 7441 gaaaactgtt agaaaaggaa ggaaaacttt gctattttta ggaattgtag cgtgtgtgct
 7501 gatatgaagg aagaaataac agctgtgcct tgcctgtgcy cagcactcga ttgcccgttt
 7561 tgccttgcac ctcaccacaa cccagtgcga tctactgttc atgttcccat ttacaggag
 7621 gtgaaactgc agcttagtga ggtagagagt gacttagtgc agacacagaa tgcgtgtggg
 7681 agagtaataa ctatgatag gtcctctgac tccagctat atctgtgttg ctatagggaa
 7741 ggggaaaaat aatactgaaa gagaagttaa aatacaatca cacttccaaa catcaaccac
 7801 caaaaactga actgaatttc ctgaagcact tgggtttcaa atctaagctg aacatcaatg
 7861 ctgttattct tgaggccagc aagcaacttg ctcatttcaa ttaagcttca gcatgaactt
 7921 cctatgtaca cagcccccac acactccccg atgtgagaag gagagggtca cagccgcccc
 7981 cagcctctgc tgcctgccaca aggacagcag cagtggaaac attcagcaaa ggaatgttgg
 8041 agccacatcc acaagagact cactgaagat tgcgcaaacg cctacggaaa gtcgagggga
 8101 attcattgac agtaattgtt tctgtcttga tcagattgaa gagcttcttg gattctgtaa
 8161 caataaatag gaccgggggc tggagtatgg ccagcaagga cctctcaggg gttattcagg
 8221 gactgtctaa cctgtgaatc ctaggcagca aacagaaacc aggtattcag aaatctggag
 8281 gatttggta gggccagcta ggaactaggga ggcattgggc tctgtgtgct gttgtccctt
 8341 cctcagcctt caactctctt gtccttagat ccttacatgg attcattaat gctcattgtc
 8401 cctcctgggc ccactcactt tcacctgttg aacaaaaaac tggccaagag gtgacagtca
 8461 tatcaccgca gaagagacag ggcagagaaa tgaaggggca gaatggactc ccccccacaa
 8521 gctgaotct gaataattga gaattgttca agttcctgca gaggaaatc gatggggaca

[0121]

8581 gtaggtgtag tttttactgc aatattgggt tcttcttaac aaatacgtg cacatcaagt
 8641 gatgtctgtg gatggcattc ttaaagttao agggaaattg atgttaaaga aatacttoat
 8701 cctttgggtg atacctgaag ttctctgagc ttggagggtc tgtgaaagcc ctcagttattg
 8761 tttgttttat ttgttttctt ctgactttgt attcagtcag atgcatgctt gccctctggct
 8821 caggaagatc aacctctctc tgactgacca ogcctctcct gaotgaocac gttagcacagc
 8881 agcttctctt ccttaggggc tctaatgaa gctttcaca tcacctggcc tgagcacagt
 8941 ttgggtcagg actttgtata cttgaaaaaa acatgcaaaa ccaaaatcct gtgttctgtg
 9001 aaaaaggctt tttagcagaac cccagacat ttacactctg ctttttcaaa gggtoootga
 9061 ggattctttg gatctgggta gtttggggag cagtattttc aacaagtcca tttcgtgtctc
 9121 cttctacacc ctgctgggat gctaggcccc atctagaatg tgaacaacag aacaaggcag
 9181 aacactttgc ctcaagggtc tgttgagtgt tagatgcaga gaagagacac cccccacctc
 9241 cccgcatcac ttacagggaat tctgttttga acccaacatc aaataaggac cgtatccact
 9301 gtcagaggat ggggaagcag atgtcatctg ggacattgga gaaaggctcc tgggggaagt
 9361 gggactttgag ctgtgtacta agtaatgaac aactgagagt taaatgggag agcatccctt
 9421 atcaggggtc tttagagcaac cagccatggt ttaaacacagc tataaagcct cgggtttata
 9481 ggatagacag taacaatggc ttgtctttgg gagccaagca gctgtccag gcatgcagag
 9541 catgtctgta tggagagctg cctgagagat gcttttgttt acacttatca attgccatg
 9601 tcaaaagaag atattgtacat gaagttaacat cagtattgta gagagatttt aacaattttt
 9661 gcaggggaag ctttctatggg ggctgtatgg aatctaggta aacagaacca agtctaaac
 9721 ccaagatata cccagtaacca agactgaaat gaetctctcc tctatcteta gaaagtcca
 9781 gtgacccaag gaggcaaaac cagtgaggat cattaaagtg ggggtgaagt gctgacatc
 9841 tctctaattc ttgtcttttt gttttcagcc ccaacgtgtg tgctgtgcag aaggttattg
 9901 gcaactaatt gaagtacttc acccaactgca agcagtggtt ccaaaagaaa atctgtggca
 9961 aatcaacgtg agtatctgta accagccagc agacaaagct gtatgcacgc tggctgcagt
 10021 tccccagggc ctgggcccagc cttctagaag gtcagggttc ctaaaaagcc atgaagatgc
 10081 atgtgcgaac atgtctggga cctgcgtgct agggagtggtc attttttaga agctggccaa
 10141 ttttgttttg cacttttaag gctgtgaca agacttgag acatttttca gggctgggtt
 10201 ggggtttgca gaaacatgaa acactgcgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt tctcaatcct
 10261 cataaataaa tacagatattg cagtgagaaa gccaccagca tgtgactctg gaaagaaag
 10321 cccattgggt aatctgtact caagatgccc atccctatct tacagtccta aggtaaacac
 10381 cccaaaaaga cttagagcac taaacatatg cagattatga gacagcatag catataatat
 10441 ttgcacagac tctctcattc aaacccatgc tctacctggg ccagtcgatt catctttaga
 10501 accctccatt gcttctaact aaaaagttctg ataaacaaaag gaocccacct atggggttgt
 10561 tacaaggatt gaatgaataa atgtacataa gagactgaat atgggtgccca gcatatatca
 10621 gtgtcaata aatgctagct actattatta ttatccacct agatttgcaa atctagacca
 10681 cacaagcaga agtaagagt ccaacggggt gtggaacagt gtggttacaa tagggcttgt
 10741 tgatgtctgt tttagcaagg agggaggcag cttttacccc actgcccagc tccctgggtg
 10801 aatcagggtc atgtcttaac aattctgggg aaacctaatc tgttttgcca ctgtcaacag
 10861 atctcaaaag tggctgtctc ctatagctag gaagatgtgt atgacaaatc tctgagcca
 10921 cttgtgaagg cctgaccttc cctctgtctc catacataat gggatgatta agaaactcta
 10981 agccactctc ttaagcactt ttcaatgta gggattttta agttatttgt tgtgacattg
 11041 cttttgagca gacatctcct ccaatttaat agccaactga aagaagagaa aatgctcttt
 11101 ccttaaaactg tatgtggaat taaatattcc aatgtgtgac cctgattatg ttaggcaatt
 11161 agcaatccta atattgaatt aggggaagtg ggattcatgg cacagctggg gagataccag
 11221 cagtccctgg gagcctgtcc agggcagggtc catggcagct tgcctcatgc ctgattgaca
 11281 gcccagcctg caagctaaaa gttgagtgag ctaggaggac acactgccaa gattcagcta
 11341 acagacaccc agcgatattc ttgctgctat gaacaaaagg agactatgca aattatacac
 11401 caccattctt tccaggatgc ctgacttaaa aaataagaaa aaagatgggc cgggcacagt
 11461 ggctcaagcc tgaatcccca acactttggg aggcagaggt gggcggatca caaggtcagg
 11521 agacagagac catcctggct aacatggtga aacccctctc ctactaaaaa aatacaaaaa
 11581 tattagcggg cgtgtgtggc ggcacctgta gtcccagcta ctcgggaggc tgaggcagga
 11641 gaatggcgtg aacctgggag gcggagcttg cagtgaacca agatcgtgcc actgcagtcc
 11701 agcctgggtg acagagtgag acaccgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaag aaaaagaaac
 11761 cttttagtact gattgatatt ttcccatgtg tgtatattat ctactcaaat taacaattaa
 11821 ttaactaatt aaacacaaaag ccaggcctca cctaattgct tcttggaagg tgaccagagt
 11881 gctagtgcga agcaaacacac tctctatatc ctcaagagcc ctgggcttca gagggccatc
 11941 ttttttgtta attcaagttt ctctgaaaaa ggagaccctt ttatgatgac aagctggcta
 12001 cagggtagca tctgccacac tgtttcgggg gtgcgcgtgg gctgaagcat ttgccagct
 12061 agttaacaat agctcgataa cattccctat cagtgtccag gctgagaata ctgtcagtga
 12121 tgagtcgctt tggctcttgt acctgtatct ttgtgtgcca ggacaaggca caagcaacag
 12181 agctgtgtgt tgcaaaaatg tccctgatga gcaggtaaac cctcggggg caggtttgga

[0122]

12241 tatgataatg tgggtgatgtg gtggcgccagc tcccttaacc agtgagcaca aggggagtc
 12301 tctaggaaaa ggaagaaatg tctggatgag gtggggagat ggggttcaga gtcgactcag
 12361 gcaaaagcccg atgcccagtc ccagctgttg gcttagcttc acaaaagccag aaggatatga
 12421 cactttacatt caactcttga atttgtggcc actgcttttg gcaacttcaa agagagaaaa
 12481 tgaagataga aaaatattat ttgatataaa aottctagga caagagagcc ccttctggga
 12541 acattacatg tagtattagg aaggtggagc tgccctggaa aagatccaga gaaactcagag
 12601 agaggaagag gtggaaccaca tctctgttct tgtagagagc tcagtaagag tggcttggca
 12661 gggctcctgt gtacctgaga ccaagaccag tggaggagct actgctgac caaccatcgg
 12721 tcagaattca gtgcccaggg tggtcagggt ggaaggggag aggactgtgc tggctggagt
 12781 tgatgttatc ctggggaag taggtcccta gatgcttta gttgagtgag gaggcagctg
 12841 ggaatggga gcacagtagt ggttggggca aaaaggactg tctctgcatg aggtccatag
 12901 gcagttggaa ttttctcagc aagactccag agaaggagcc tggagcagag gcttatgttg
 12961 ggaatgaaaag gagtaaaatg tcatggggga ggaggcagct caggttgtca agggccaaga
 13021 aaccagaagg agaatttcac cttggaagca gacaacgggt accaagcata caggggataa
 13081 ctttgtgggt agaggtcaca cagagataca ggagccgacc tggtagaca ggagcctgga
 13141 gccacatgcc tgcttttggc agggcccaga ctccactgct atcatcaggt gaagctctgt
 13201 tgctgtcaca caaaagcttt tctgcattta caaagagaga agggcctgag tttctgggtg
 13261 aatgogtcaa gctgacatat ggaacttatt acaggaagtg gttacagtg ggtcctatt
 13321 tagtggctgt tagtggtaat tttattgttc ggaatttcac tttgacattt atttcagatc
 13381 ctaaatagca ccggagtgat acaatggcta atcaaaacaa gagggctgtg gggagcagac
 13441 agtcagcatc cccctctgtg atttccaggcc ctggtttgat tagtagccat aaaatttttt
 13501 acgtgtggca cttttagcaa aggtgcagga aattgtggtc aggaagcctg gctgctctc
 13561 gacaggtctc ctttgtgcta gcccagggga gaggagccct atttaacagc caagtccaag
 13621 ttgacatcat gggactggaa tagtcatagc aggagctcag acatcataaa cgtggcatag
 13681 ggagggcttg tggaggagct agcgggtatg ggtggcagct attcattcca aaagtcttga
 13741 aattgtttca cgagcaacac atttcacaag tgcgaagccc tctctggag ccaagatgag
 13801 ctggcagagc actcctgttt ctctagttag aagtgttctt ttgcccaggg gcaaaaatat
 13861 taatactcct tcagcactgc attaatgctt aaagatttaa cttttaaaga gatcagctgg
 13921 tgcatgggtg agctttttca tcagctggca gggctttttc agtaggtgtc cttctgggca
 13981 gggcactggg gacagctgac gtgaaggtga agaagagctg tegttttctt ccttatatc
 14041 ccacaacctt ggtcccaaga ggaaaaaaaa gaagatggtg agaagctatc caagcagacc
 14101 ccagacccat actagtgcct ctttctctgt ttcatatccc tgtgcagcca gctgggtctt
 14161 cttgaataat ctgctctggg ggcactgaga ttggacatac accaaaacagc ggagatcgac
 14221 caaacgcttc tgttgggcag tgtttcttga ggttctctgc ccatctgta aactaggagg
 14281 ctgactagct gacaaggaa tttattctgt tgggtattta catgaaccta tgtgccacct
 14341 ggggttaagac cctgtggtag gtgaaaatc gacttcccaa aaatgtccac atcctaactc
 14401 ctatctctgt aaatatatt ccttactgga aaaagagact ttgcaggtgt gattaaatta
 14461 aggatcataa gagggagaga ttatccagga ttatttgatg agtctaatat aatcatcagg
 14521 gtaactaaaa gagggaggca ggcctgtgct ggtggttcc gcttttaac ccagcacttt
 14581 gggagactga ggcgagcggg tcacgaggac agggagttga gaccagcctg accaacatgg
 14641 tgaactctcc cctctagtta aaaaaaaat acaaaaatta gccaggcatg gtggtacaca
 14701 cctgtaatcc cagctactca ggaggctgag gcgggagaat tgcctgaacc caggaggcag
 14761 aggttgttgt gagctgagat cgcaccaatg cctctcagcc tgggcaacag agcaagactc
 14821 catctcaaaa aaaaaaaaag agggagggcag tgggatcaga gtcagagaag gcaactgtat
 14881 gatgaaagct gacatttgag tgatgcaacc acaagccaaag gaatgcaggc agcttctcaa
 14941 agctggaaag gacgagcaat ggattcttcc ctacagctc tgtgaggaat gcagccttg
 15001 atttttaacc cataaggccg atttctgact ctgacctctg gaattgttaag ataatttgca
 15061 tgatctcaag ccactaaatt tgtggttaatt tgtcacagaa agcaatggga agcccaacaca
 15121 ggccttattt gttgacttat agatgcattt ttctttattt caatgtactt ttatcaatgg
 15181 tctcatgtag ggtattgctt tcaatgaaga tattaacata gtttcaactt taaggtttat
 15241 atctggagtt tctttagaag ctccacaact gaccacttag taaacagtaa gcatctgtta
 15301 agtgcctctc atatgtaaag tcattcaatt ctcaaatca caotataaga taaatatgat
 15361 tattagccca ttacagatg aggagacagg ctcaaaagac ttttatgcaa cctggtcaaa
 15421 gtcattcaat ggttaagctga ggaggtctgt ccacttctt ttcgtcccc cagggggtat
 15481 caagcctggc agttagtgct agcgaactag gagggtgaaca agtgagcagg cctgtaggac
 15541 ctggctaaac tgccccaggt ctctgtctac agcctcaaac ctgtggtgtt gggctccaga
 15601 gacaaggcct cctcagcatc agagaaggat gcctttgtct cagggtcatc aaccttctcc
 15661 aggttgctca cccctctctg taaaggggat ccccaagacc gtcactcaga caaggagctt
 15721 gggaactgag gagacacagt cagcctccag gactgcccac aatgcctcca catgctgcat
 15781 acgattgtgc acaataaag taccatccca ttctgaagac tctgtcctca tcccaacca
 15841 ggtggccccc tggtaggggc tgtagtgggt gaggccttgg ttggtagaca gtaggttaaa

[0123]

15901 gcaagccatg attttctatt gggaggcttc agaatacagct cagctgtgtt tccaagacca
 15961 ggaggggcaga aagcaaaaca tcccaggcaa gcagtcocatg ggccatgtca gatgtotaga
 16021 cgttatgggt ctgtgtttgc tctgccattc ctctcggaaa ctatgatgcc ctgtatgggt
 16081 taacttcagc cacaggtgac tggcctacag ggccattcct tgttccaacg acctctcgag
 16141 tataatataat occcaggcat ttacggccag agcagccggc caaatccgtg aagtgcagtg
 16201 gttgttttaa attatattaa cttcttgga aattatttta ggagagagaa actcagtaact
 16261 tctctctatc caatcttgag taaaaatgtt agaagggact ggtggagagc ctcccagaca
 16321 tccctacaca tagactttgg gttgacatta totctttgca ccttccttga aactttcttc
 16381 taatttaggt gcttcccta atttaggcac ctccccagta ctagtctgtg acctgttagg
 16441 aaccaggcca cacagcagga gttgagtggt agggagtgtg cattattgcc tgagctccgc
 16501 ctctgtctag atcagcagtg gcatttagatt ctcatagcag tccgaatact attgtgaact
 16561 gtgcgtgtta gggatctagc ttgtgcattc ctatagagaa tctaagccc gatggtctga
 16621 gatggaagag ttctcatcca aaaccacccc tccccctgc caccatctgg ggaatatattg
 16681 tctaccacga aactgatccc tgggtccaaa aaggttgggg accgtgtgct taagggatct
 16741 gctttttctg acctgaggtt tttctttatt agactgtatc tggctgagga gaagcctgaa
 16801 gctttttaac ggaacagctt tggctgatga gatttagattc agaaaccaac agattggtct
 16861 tttctatgca ggaagcccta ggaactgggt ggctatggct ggaagccccc ctattgttct
 16921 catcctttcc tatgttccat ctggaggaat ggcatcagac ccatgctctc gtgattgtct
 16981 ccagcccatc caaccacagc atctatgttc tgcctgggac cagggccagg gacatggca
 17041 cactgagctg agtataagga gagtggagca ggccactgcc agcccagaaa attttggtca
 17101 aagttgcttg aaatctttct agccttcgat tcacagctgc totctgctgc totggggcca
 17161 tgcagaccag ttccagaaaag agttaatttg ttggggcagt tggaggcagg tggactgcca
 17221 gctttgacac ctctccagcc cacaggtgtc tgcactgggg ctgaaggcgt ggttaacccc
 17281 tgcacacctc gagagtgaac gagatgccc actgggcagc aggaaggcaa gaggattaa
 17341 agcagctctc ctggctgaaa gccacactcg gtttaaccagg aaaaagccct tggcagcaga
 17401 agactcagtg gcttgaggga ctgagccttg gttgttgggc atgtgctgca taagccatcc
 17461 atgtgtgaca gttagagtga gtccagccac tgtgggacat ggtgtgtgaa agaccacatg
 17521 gagaggaaca gtgagtgctg acaagggtca gccttgatca ctttgagac accccctgtg
 17581 tctctcagat gtcagacttt ccaaatctgt ctgctattct ccaacgtgtc attttcaaga
 17641 gcaatggaaa aaggtattga cttgatggaa tgcagcaaga gtcctagggtc tgttactacc
 17701 taactatgac cttaagaaac tcttccaccc ctccagaacc ttacagcttt cttctctgatt
 17761 ctatctctag ttactctact ccaagctgag actttttctg ttatagctat ccttctctcc
 17821 taaccaccca acctccattt ctctgtgtgt cttcttttac acacccctca gcatcacac
 17881 acacccagcc acaggaaaca atgagttaat atttgaggag ttgggtttct tttgtctcca
 17941 atgagatctt ggtgaggcca cttgagctgt tcagctccct tgggttattt tggggatgga
 18001 actcagaagc caacaatata gaaaaagagt ctttgccag ctttccagg ggcctcatgc
 18061 catagagagt actgcacccg tgtgcacagg gggccctgac atgaggactt tgaggataac
 18121 actattcttc caactctgct tcagcatctc catggatttt cacacagaca ctttaggaaa
 18181 gaaactaagt ttggggggac ttgacctaat cccacatcac agcccagta atacagccct
 18241 ggaatttctc acagaaaagc tagaatccca tgcataatcc atgcataatgc atccctagtc
 18301 ctatgggttc aaggcttgga gctctccctg gatttagctg ggaaggttg gcagacagtt
 18361 cttctctgtc ttctagaaat atggactaga atcgtgagtg tgagattgca agtaactttt
 18421 aaaatcatct agtttaactt caccocattt catagaccaa gaaactgaga ccagagagag
 18481 aaatggactt tcaagttcac cctgctagtt actgatggat cacaagtcac atctctctgat
 18541 tctagcactg tttctcttac accacaccac ctttgaaagt gtgtcaatca aatcttactt
 18601 tagttgcaga ggtgactttt agtttctgaa gataaaattg tgagtcaatc aagatgagtc
 18661 ccaagacaat agcctgttta gcccttataa gttcagggat gaaaggttag aaagaaacag
 18721 gatggaagga ggcattggga aaaaaacaaa agagggaagga aggaggagga agcaaacagg
 18781 aaaaaaaaag aatgtgcata gcttgcact cctcagtcac ttctgtggag cccatttcta
 18841 gcaaaagtgc agctgcaact cctggccac ctgagcatct tagctgatct gtctctgaaa
 18901 cccccctgg agaacagatg aatcaggctt catcttcgct taactaagtc ttccctgaga
 18961 cgaactccatt taaatgaaca agagcaggat ttctgtggca cactgagagc accttcagga
 19021 ggccctcca gagccctaaa gctgtattt cttccagtcg gctgtttct ttctgtgtga
 19081 tgtcatataa cgccctttga gagtccaca gtgagcagtt ctgctgtaaa acccgtgca
 19141 attaaagtct gagtctcttc ctgtctcaaa gggaatattc atatagaaga aaggaaaagg
 19201 aaggactggc tgtttgcatt tggttccagg cctgttgagt agaggtcgtg ctccctccac
 19261 cgaaggtaaa gggtagcctt cagcagaacc tggggatttg gttttaagca agtctttctt
 19321 aggtgtgggc tttcagaaca ctctctctc tgcataatta tttgaaattc tcagtgtttt
 19381 agccgtcccc agaattattg ttcgttaaag ctgtgtattt cagatctcca gacagtggtc
 19441 actgttttga tattttcaat ttcaaacag aaacaaaag ttcttattga ttactttttt
 19501 tatttaaaaa ataaaaagta agtatcttcg taagaggagc tttgttttaa ttttaagttt

[0124]

19561 taaaatttga ttgtgaagac agagaaaaac ttgatgattg tagatatatt cccctctttg
 19621 gctattcaat cagagaacta gaaaatcatg agagatttaa tgaccactgc ctgatacaca
 19681 tatgtgtttt acagatgagg aaactgagac ccagagagat gatgaaattg gctgaggatg
 19741 gccacgtggg tcagtgaag actcagagcc agagctgggt cagggtcttt tctattcctt
 19801 cctgttccct ttcaggaaca ctcaccatcg gctttcctgt gaataatgtt gagataaaat
 19861 ccttggtgca ttatgttttc tagtcacaac attgactagg ctgccagagt cctctgttct
 19921 cccagtgggt tgggtgtagg tgttgccagc ccccaggagc attctacaga acagaggagg
 19981 agtgagactc tccctgtcga ggaaggcag acctatgact tagcaaataa ctcctaagag
 20041 gagagtgttt caccaccatc tccctctcct tggctgtgga ggcaacttag tggagagggg
 20101 ccagatgacc tgtgaggaa acgtgaagcc tgcctaacc acgtgatgtt tgtctgttta
 20161 cagagtcatc agctacgagt gctgtcctgg atatgaaaag gtccttgggg agaaagggctg
 20221 tccagcaggt gaatgaatcc tccgggctt gctgttgggt gtgggtgga ggggaatggtg
 20281 ggagagagga gtaccacatc aaaaggcagc agagtgtgaa tggggcagc ggcacaagga
 20341 catggcattc tcccacgtg cccactggcc ccaggctcta tgcgaggggc tgaggaaatgg
 20401 aagctggaaa cagcgcatct cctgagctgc tccctcctgg cctctacca caactggtgga
 20461 gtagactcca actgtggcct gtccatgccc tcccagcag gcacaggctc aggcctcaggc
 20521 tcttggtctc tgcctctggc tgggagtgtt tctaaacaca tccagcaggg tcagcctgat
 20581 agcccatcag ttccgatac gctctgtatg agagccgatg ggaatgtgga ggggggggtc
 20641 actggtgggc tggcaacccc aagccatccc catctccctc tgtgtctaaa cttggccctt
 20701 tggagtctgg tagggagaag agccataggg cagggtgggt caccagaggt cagcagagag
 20761 tcccacaaat ggttgcaatg ggcgaagac agcatggcac ctgtgaattt tattagagct
 20821 tttcttttag tctacacac aagtactgtt acaggggagt tagtattttg ttttaatttt
 20881 gaaatagagt catcttttgg tatctgctgg ggaattgattc taggacccat tctagagatgc
 20941 catatctca gatgttcaag tccctgatat aaagtgttat agtatttgca tgtaatctat
 21001 gcatattctt ccatgtactt caagattact tataatacca aatataatgt
 21061 aaatcctatg taagtgtgtt ttataccctc ttttaatttt ttgtatttat ttttattgta
 21121 tttcaaaaaa tattttttgt ccatgttttag ttgaatctgt ggggtgaagaa cccacagata
 21181 cgaaggggca actgtatttg ctattttttt agttaagaat gtgagactga gggcaggcgc
 21241 agtggctcat gcccttgatt ccagcacttt gggaggccaa gaggggagca tcacctgagc
 21301 caagaattcg agaccagcag cccgtgcaac atagttagac cttgtctctt aaagatttgtg
 21361 agactgggtc gggcacggtg gctcacgctt gtaatcctag cactttggga gggcagggca
 21421 ggtggatcaa ctgaggtcag gattttgaga tcagcctggc taacatagtg aaactctgtc
 21481 tctactaaaa atacaaaaa attagctggg tgtgtgtgtg ggcgcctata atccagcta
 21541 ctacaggagc tgaggcagga gaatcgtctg tatccaggag ggggaggttg cagttagctg
 21601 agatagggcc gttgcactcc agcctgggca agaagagcaa aactccatct caaaaataaa
 21661 taataaaaaa aataaaaaa tcatgagact gagacataac aggaaggagg gcaatttgtt
 21721 tgggtccaag gttcctagag tatgtgatgg gagaggttgg tgggggtggg gccatggagg
 21781 tactgactca agtggaggga cagggtggga aatgggatgg gaaaagaaga ttgaccttag
 21841 aaggggagct caacctctga accctaattt cagacccctc aaaatgaata ttaagctcat
 21901 tttggtctaa gaaacaaaaa acaaatgaac atgaaactca ttttggcttt ataaggtctg
 21961 agaaacccct tctaaacttc aagctgcttt aagaataaac attttattac ctgcaaatac
 22021 acacagtact ttggagattt ataatagtct ctatttctaa tagaagccat tagggaaacca
 22081 gtttcaataa acaggtaaat ctgtaagact agtttgtaat taggatatct gtttccagtg
 22141 tccattcctg cctctgttat ctaaatgtct gggaacaaga gctgtgctct gctgtgttta
 22201 aaatgattea aaatcaccaa ttagttaggt tcacgttagc aggcatttga ctattttagt
 22261 tgttttaaga agactataac aagccttaag cccccagaa acagcctgtc tttgggcttt
 22321 cccacatgcc tccctcgtct cccacctgt agatgtacgg tgcctctgt cagagaaggg
 22381 aggggtgtgt tgggctggac ccccagagcc catccctcct tctgtctctt gctcctgcag
 22441 cctaccact ctcacaacct tacgagacc tgggagtcgt tggatccacc accactcagc
 22501 tgtacacgga ccgacaggag aagctgaggg ctgagatgga ggggcccggc agcttcacca
 22561 tcttcgcccc tagcaacag gectgggctt ccttgccagc tgtgagatga cctccgtctg
 22621 cccgggggac tcttatgggg aactgcotta ctcccccag ggggtgggat gatgaatggg
 22681 agtctgcagt catctctac tgtttcagga agctttctcc ttaacccctt agaaaaggct
 22741 gtggaacttg agctaaaaa tgtcttacc aagtgccgtc aatgcccccc gttccctact
 22801 gggcagaaa agcttgggtg ttcctgagga gggatccttg gcagaagaga ggccctgggt
 22861 cagaggggct gagaacatgt tcccagaggt tgcaaggacc catctcttaa acacagagtc
 22921 tgcagccctt aactgacacc ctgtccttcc tcttaggaag tcttggaact cctggtcagc
 22981 aatgtcaaca ttgagctgct caatgccttc cgtaccata tgggtgggag gcgagtcctg
 23041 actgatgagc tgaacaacgg catgacccc acctctatgt accagaattc caacatccag
 23101 atccaccact atctaatgg ggtaggggat cccagcccat actgcatggc ccttggtgca
 23161 taatgaaccc atttctgttc catgtgtggg ctggtttctg gggtttaagc tgtagacaa

[0125]

23221 ccaacccctttt tgtgctctgt tctctcttggg cccctctattc cacagcttgtt ggaacccaca
 23281 ttttgcctact gtgtttgaaa acaactgtttt ctctctccgg ggctttggga ctatgcctct
 23341 gtgtgtgtga ctgctcatcc ttgtgtgttc tctgggcaga ttgtaactgt gaactgtgcc
 23401 cggctgtctga aagctggacca ccctgcaacc aacgggggtg tgcacctcat cgataagggtc
 23461 atctccacca tcaaccaaaa catccagcag atcattgaga tcgaggagac ctttgagacc
 23521 cttcgggttaa gggactgccc tgggtggagg cccaggcttg ggcacacattg cctcccaaga
 23581 ggggcctagc aggaactctt ctgcaggaga ggtagaggat ggctcctgta ggggaacata
 23641 gagcagggttc cctggaatgc ccttgaaact ggagaattca ttgaocagac attcagctgt
 23701 acctaacctg tgaattcttc catctctctt ataaagtgtt cctctccttg cctccctggg
 23761 aaaggctcagt ggtgtgtgttc tgcagcagca cagtgtcttc tgagccctgg acctgcactg
 23821 tggcttcagc aggtggcagt tcccacatgg ggtactagaa taaatggcct acaggctgtg
 23881 gtgtgtcttg ggtatcacatg tcccacccct aggaacctgg ttccaacct acgcatgttc
 23941 tcttgaggcc cagaacagca gagaagccac cagtgtggac acagaagtca agggctctgat
 24001 ttcacagctg gctcttgact gctctggggc cgcaggaaata cgggtctctc ccccatgccc
 24061 agcaggcatt tgccttaca ctggagggga aggcattgtt ctcttggaac ggaactgctca
 24121 gggaggaaatg gaggcaggct gccctgtcag ggtttttgct ttgattcaag gagaacttcc
 24181 taaccacaaa ggatacaagt gggagttagg cggaccctcc cttagagatct ccaacacaga
 24241 gagacaaaac cgttgggctt ggctggcact gacaggcctc gaaggtgtgg atggtctgta
 24301 gctgggagct tgcctgtcta agctcctctc ccatgctttt ctctctgggt gctcgaaggga
 24361 cgggggtctg caagaaaatg atgttccac atagttggca gcactggaac agcaattgat
 24421 cctctgtctg cactgtctct atttggtaaa tatttctctc tctcctcttc
 24481 tgacctcca ttttgcgat ctttctctct tataacacat acttactagg tactctctac
 24541 tttccgggtg ggctctatgt ccaggagtat agagggtgac aaggaaaggca aagtctctat
 24601 ctacgttagg ctaatactct atctggagag agacaacaaa caaatcaaca aggtagccag
 24661 gggctgtgat aatcttatgt aagtgggcag gtaaatcggg agtgacagta gtcaggaggag
 24721 gatgggaaag tcagggaagt ctctctggag gagggtgctt ttgacttgca gcctaaaggga
 24781 tgagaatggg tccattatac aaaatgctgg ggcaagagca caccagtag aggggagagt
 24841 aatagcaaa gctcagggca ggaagggcaa gggagaggcc agtgggtgag gtcacatgtg
 24901 aagggtcatc aatgggcaaa gacaaggcca gactggccag gcccaatctt ccaggacttg
 24961 cagacctggg aaagagtgc tctccatcct gggagcagca ggaacccact caggccttta
 25021 gaagatcctt ctggcagctg tgtagagaat ggtgtgtgtg atccttccat gcatgggctc
 25081 atgtacgtga ttaccagtta ctgtcgagt acagtgtgag gagggtctga agccatgagt
 25141 gtaggcacag cagacagact cacttttctc tggcgggtgag atgggggtgg aagtgtgcca
 25201 agttgacctc ccaagaaat gatattttag tgaagaaatg aatagaatca gagaagcaaa
 25261 gtaagaggga agagcagaga ggcagcagg gacaaggact tggggggcagg aagaggaaag
 25321 gcaggttaag gatataaag atggccaggg tggctggagc tcaggccag caaggccccc
 25381 tggggggcct ggtcactgggt gagcttgggt ttggctctgt ttttctctgt gggctctctg
 25441 gaaagcctcg agcccttgcg gggaaaccag gaagctgtgt gtgcatcttc tgtggggagt
 25501 gccagagctc tcaggagca ctcactcttc tctcctcccc acaggctgct gtggtgcat
 25561 cagggtctca cagcatgctt gaaggtaacg gccagtacac gcttttggcc ccgaccaatg
 25621 aggcctctga gaagatccct agtgagactt tgaaccgtat cctggggcag ccagaagccc
 25681 tgagagggtg gcatcctttg gctcctgtg ctgcctcatt tgtgcagta gattgagccc
 25741 aagacctgct ctggtccaa atgaacata cactgtccat gagggtgacc tcaggatata
 25801 cactgcagcc atgggctggg gtcactctgt cctgttgcct cagctaacgg tgtctctagc
 25861 agccacacta ctctgagggc tgactacaga atccagcagc ttttgtctgg gagagctgga
 25921 ctgaagagag gcatagctgg agacccatag ctggccctgg ccagaaacag ggagagtga
 25981 aggctggaat agccaaggcc agagcaaggc taataggtag agcaacagct tacagggtgtg
 26041 ggggtggcag atactggcac ccttgaatg gattcctcat gccacgctt cactattctt
 26101 ctctgtggct aggggtatga tggataaacc aaaattacag ttaaaaaaca gccataggcc
 26161 aggcacagtg actcacgctt ttaatatcag cactttggga ggaacagggt ggcggatcac
 26221 ctgagatctg gaatttgaga ccagcctggc caacatggcg aaaaaccatc tctactaaaa
 26281 atacaaaaat tagctgggca tgggtgggtgg cactgtaat cccagttact caggggctga
 26341 ggcaggagaa ccacttgaa ccaggaggtg gagggtgagc tgagccaagc ttgcaccact
 26401 gcactccagc ctgggtgaca cagcgacact ccgtctcaag aaaaaaaaaa aaaaaaacag
 26461 ttatagtagt caacttttga ctctccattt cagatttctg catgocctcc tcaatgagct
 26521 gctaagttag gcagtgcatt gattattgct gcaggagagg gaagggaagg gctaactgtg
 26581 tttcacatgt tttccttttg gagatgagaa aggaggactc tgccctcccc ctaccctgcc
 26641 cctttctact ccaggacccc tgaaaggcca tgagcacaac gctgctgctt gagtccctgt
 26701 aaatgcaggg tacgccccag gtctctgatg taccacacca cacttttctt ctcaaacata
 26761 ttcaggatc acttgatttc ttttgaatct atttaaaccc accgtgtcaa tgtgctatat
 26821 aaaaatgtcta atgcatttca gacacccat acatctatac atttaagtg tctcctctct

[0126]

26881 atctgtgacg ggatgggaaa gggcatattt ctgaagcac agatgggaag acgggatttg
 26941 ttccgtgtcc aggtgattat ggtacctota tgcgctggc cggcactggg gacagaggcc
 27001 atgaaaaatg atacagacac gcccttgcc ccaagaaact taagacctag tagaaatggc
 27061 aggttttaaa acagggtgtt gggatctgat ttggtgagtg caatgacaga gatactcaca
 27121 gcacaaaatg gggatgagg ggggcatatg ggacacacat agccttaagg gggccaaagg
 27181 cttttagaac tgtattccct attaaaaatc gatttgacac gaggacattc tttgctttgg
 27241 agacctcaga actccttact ataggccggg catgggtata atcccagcac tttgggaagc
 27301 caaggcgggc agatcaactg aggtctgagag ttcaagacca gctggcccaa catggtaaaa
 27361 ccccgctctc actaaaaata caaaaattag ctgggtgtgg tgggtggccac ctgtaatccc
 27421 agctactcag gaggctgagg tagggagaatc acttgaacct gggaggcaga agttgcaata
 27481 agcccagatc atgcccactg actccagcct gggcaacaaa gctagactct ctcaaaagaa
 27541 aaaaacaaaa caaaaacaaa aaaaacaaa aaaaactcctt attataaact gtaagaaaaa
 27601 aaaggccctt acttcgtccc ttttgcaaat ctgccttttc ctactcacta accagctggg
 27661 tcagagcaag gacactctgt ttggtgccat cgtctgcagac tggaaaggaa aggtccttgc
 27721 cccacaccca acagtctcct gctgttaccg gcagggtggc aggcaggcag gcgagaagca
 27781 gccagggtcg gtggtgtgtc cagtttgaag actagtcttc agccctggcc ctgctcacc
 27841 tccaaagtgg cctggcagggt tccctctacca catcgtggac ttcaaccttc ttctctaaga
 27901 agctcaatcc ocaaggctcc attcccatag gcttctcacc cctttttctt tccctctggc
 27961 tgaatgtggc cagcacgggc ttccaaggcc atcaactcgt ctgcagcagc cccatgcctt
 28021 gcagggcctc agagcttctc cctgctatg acagtgtggg tttggttccc acacttggga
 28081 tcagattgaa actcgcctcc gtggtgagaa tatgggacat agagcctcgg tgacctggg
 28141 gagcagcagt ccaggccacc tgcctcagcct ggggttgggg ggggtctctc ctccctgact
 28201 ggtccttgca tttgcctcca tccagcctgt ctgggtctct cgaggcaatg gagaccgca
 28261 ggagtcacga tgggtcagga gcccctttg ggccctcagc ctgcccctgccc cccataagta
 28321 gcacttggat aagcaataaa attattatac ttactattta tgggtgtgtg gaatgggag
 28381 gcaaaaggcca agtcttactg atcaccacac cttaagatat atcctggcag ctagttagcc
 28441 cttgggctaa atgaacagaa aactggacaa ataaagtgt cacaataaac tcaaaagctgt
 28501 catttgtaca cttttctgtc tttcctacta cagtttccat ttttataaag gtgagtagat
 28561 ttctaaaaac ccgtgttagg ctctcttgag ttttcttggt atccctgaag ttcagctaca
 28621 aataagctaa tcaactaacat ttgttgagca tttactctgt tgtcaggccc cgtgccaggt
 28681 gcttttaggt cagaatttca tgtcatcccc acagcagccc tagggagatg atgcaattct
 28741 tatgtccact tgactgataa ggaagttag gttcaaaagag gctaaatgac tctcccagg
 28801 tcccacagct ggaagtgtgc cacagggcc cagctgtgtt tctagggcag caggcagaag
 28861 gcgaggagga tctgggccc gtggtgccc agcctcatct gagggtctct atctgagaga
 28921 acaggatctt cacagcatgg gcaggctgca agtggctccc gagggtatcg tggagtggac
 28981 cctgacttga cctgagctgt ttggacccc agacctgctg aacaaccaca tcttgaagtc
 29041 agctatgtgt gctgaagcca tctgttcggg gctgtctgta gagaacctgg agggcacgac
 29101 actggagggt ggctgcagcg gggacatgct cactatcaac gggaaaggcga tcatctccaa
 29161 taaagacatc ctaggcccca acggggtgat ccactacatt gatgagctac tcatcccaga
 29221 ctcaggtagg ccaggcctcc gggggccttg gccctgctg gccaccate tctctgcca
 29281 tctcttggg cgggggagg gaaattcaga gatctttggg cgacttccct gcttgagccc
 29341 agctcacagc ttctcggcca ctgcaaatgt gtgggtgtg accagactga tgtgtcttga
 29401 gcttcaggct tgcaagtgc gtggagagg agtggggagc tattgaagg gtctggggac
 29461 agactcaatc acagaggcct ttcagaagat ctgctgtctg tgcattgggca aagaggcca
 29521 cttgctgacc tcagagcatg tgcctttctc gtagtgccc agctgtccc tggctcactga
 29581 cccagttaga atgactgaat ggaactttgg cttgtgtctc ttagggaatc tagcccatc
 29641 ctgactctcc agtgagatct gtccatgagt gaaggaaatc cacaggaaaa acaaaaatgc
 29701 ttctatgggt gtggttgctg gctttatcta caccacagaa gccatcacac agactgtctt
 29761 tcttccatct gttagaatgt gccctgacca agcagcccac agggcctggg acagaggctg
 29821 atctctgctt aactgagctc acctctctcc cctctctctc tgaactggta gattttctag
 29881 gtgactgttc cctctatgac acaagcccgc tgggcccag cagtgtttag aggggtgtgt
 29941 gactcaacag atgacattcc tgcctgatgt tgcctatgcc tggggtggat gaatgataaa
 30001 tgaaaacagc gcttttaact tttgaaccca cttctcctt cctttagacc aagacactat
 30061 ttgaattggc tgcagagtct gatgtgtcca cagccattga ccttttcaga caagccggcc
 30121 tcggcaatca tctctctgga agtgagcgtg tgacctcctt ggtccctctg aattctgtat
 30181 tcaaaaggtaa catgggggag gcatccctgt tagattgtcc ctggaggcag cttccccacc
 30241 cctgtcacct ccacaacact ctccgattta cagcacccca tgggacatta gaacttccac
 30301 tcagctcaac caaaagcaga tgtgacttca gcagaaact caggagctct gttgtttcat
 30361 taggcagtc agagaatgct tttggggagc cgttccctcag aactcaagac ttgacatctg
 30421 ggaggcagcc gttctctcaga actcaagact tgacatctgg gagagcagag cattcccttg
 30481 cctttctatt tgcagggtca cttgccaatg tatagtcaag aggtcagagt gagggtacag

[0127]

30541 ctgagctgca gccccaggaa ggcagagaag ggggccaagt tgtgtgcgtg cctgcccctc
 30601 cctcttaggg caaaaatcca aacacccctg attatctgga tctctttaa tctccatag
 30661 aagataccag atgttaaggga atattggcag cttcacttgg tttctcaatc cctgtttcca
 30721 aactcaaggga gggatgggt ttttcaactgt attatctct catcactctc ttcattgcag
 30781 gagoacatct ccttggaact aaccatcacc ctttcttgta gatggaaccc ctccaattga
 30841 tgcccataca aggaatttgc ttcggaacca cataattaaa gaccagctgg cctctaagta
 30901 tctgtaccat ggacagaccc tggaaactct gggcggaaca aaactgagag tttttgttta
 30961 tctgaatgta agtctctgggt cctaaatcat gctcctggga agctccttac tgtgggaact
 31021 gtatttagtg aaaaaaaat gtcctcaata agcaggagtt tgcatgagaa ctgggttgctg
 31081 acaagggaagg aaataatttc tggaaaatat agataacaaa atgagatcct gcagaaggat
 31141 tggaaatctct tttctgggag gcccttgaga ataaaccaca caattatcca acctgtattg
 31201 tgaagggaata agtccctctt gaattcagga attaacacct gggaggaggg atggagtcca
 31261 gactctttct gagcttatga gaagagaagc cccctaaact aaaatacagc cctccttggt
 31321 ccaaaaagggtg cctctctctc tctgctgtat cttctttgtt ttaaaaccca acagttaacc
 31381 tggaaatcaa aaagggaagt caactcaaca tagctcttgc ctgggaccaa ccagcaccat
 31441 ttggctaaaag atgggtatca tctgttaaac aaagaaataa ataatgggt tcaactgatt
 31501 tatttcaaca ttgtcaatgg acctcatgtg taactgatat tctcattatg ggaacctctgt
 31561 gtgaactttat tggggcctct ctacacgtct tttccttaag gaagaccatt tattgtttta
 31621 tttcctggag aaaaatcac attttatccc agccttaata acccatccca gtgtatactc
 31681 cttcatcttc atggataatg acctgcttac atgctctgaa caaatcagga ggcctctctg
 31741 ggaagtataa ccagtctctt cttctctgt cctctctctg tgcagagcct ctgcattgag
 31801 aacagctgca tgcgggcccc cgacaagagg gggaggtaac ggacctgtt cactgtggac
 31861 cgggtgttga ccccccaat ggggactgtc atggatgtcc tgaagggaga caatcgtctt
 31921 aggttaattag ttccatcccc ggggtggagct tctgcccagt ggtcatgtcg gagtgggatg
 31981 tgggggcccc gctatttgtc aagctttctt ctacctggg gattcaatta acactagcag
 32041 tgcactgctg cgaccttcca gacttgggat ggggaaaagg caagggtcgc cttgaaagct
 32101 tacattggga agaagggtta cttctaagag tctaattctc acatgcatgg gaagcaggga
 32161 ggggggacta cacttttatg actgaagtgc aaggaaaaca tcacctctc attgtaaagc
 32221 tccaagtgtg ccaagagcac atagtttaca gtgcacgat agcctctcac tctctgcgca
 32281 gtatctgttt attgcaactg aagcaccctt gtgagtttgt tttcttgccc ggtatctctc
 32341 attctgact tgcctatcca ccttgggggt ctgtcatatt gaatgtttcc ctgtcactga
 32401 cttcagccac ctgcacacag gcttggagac cacacccctc tgcctctcca gaatcatatc
 32461 cctggaggct cagctagtct cttgggtcag catacctctg cctcttcttt tccctccttt
 32521 cctctgtggc cctctgactc tggccattta acagagctta gcatttttgc tgggtggaga
 32581 gagctggagc ctggaatcac tccctctttg tgcatacgga gggcatgaaa accaagggtg
 32641 gtgcattcca gtggcctgga ctctactatc ctcagtgtgt aggtatttaa ggaaaatacc
 32701 tctcagctgt gtgaggtatt taaggaaaat acctgttgac aggtgacatt tctgtgtgt
 32761 gtatctacac catgctggtta gctgccatcc agtctgcagg actgacggag acctcaacc
 32821 gggaaaggagt ctacacagtc tttgtctcca caaatgaagc cttcogagcc ctgccacca
 32881 gagaacggag cagactcttg ggtaaagacc aacttaagta cactctctca tttttctaaa
 32941 gtatgtatcc ctcaggggcc cagcagcaaa cagttggcac atcaaggatt gacttgaagg
 33001 gattttatga caagactatt agtgaaagag tggcggggac taaaggaaact agcaaggat
 33061 gaggccaacc agggactagc aacctggga agcctttact acccttaggc ctgggggaat
 33121 gggaggatga gagcagggaac caggagggtc atgagccttg gacaagggca cagaacagca
 33181 gccagagcca tgtgcagcca gccactgtca gaacctgca agggggacca ctcagcgccc
 33241 cagcctccct ctcagacagt tgcacatctg gtctctgtt ggcctgatgc agagcaggag
 33301 ggagcccaact gatgcagttc atagagctca gcctcctggg caggaaaacc ggcagagagg
 33361 agtagaanaa aattaaagggt ggcctgcgacc agcccagtc ctgaggcacg tttccactg
 33421 gagacctatg agcacagtga taataaagcc agttacctgc actgactatc cctccagaca
 33481 aaagctttcc caagaagtta gtcattggctc tgagagatct agttgaggat gtttggcagg
 33541 ggaactatgt gttacgggtg gctaagaaaa atgaggaaag taagagtatc ttgcagcctg
 33601 tgttgggagg attaaatagg atgcacaca caggggccag cagacagcct ggtcagtaat
 33661 agccatgacg atggggggcg ggggagcagg aatgggagtt gcagtgttta gctcagatgc
 33721 atgacctgta gagatgtctc cactctcaca gaaagatgag accaaggaaa agggaggagg
 33781 agagggaagg ccttgacaaa ccttggggcc cacattgtct acacotcctc tctgtctcta
 33841 gagcagaata gaaagtccag gttgcaggca gctctaagtt gaattcgtgt cctgtttaat
 33901 tttttttatt gctaaatgaa tgcctgtgtc tgtgatgtc acgtatgttc ctaaggagag
 33961 gggagaagtt cactctgaac ataaactttt catctctctc ctgtccagca agaattggaat
 34021 attcccccaag tggcctgagc cagcttggct tctcttttgt tttcaattat gtgggagttg
 34081 agggggggga tgggaaaagc ttcccaaaaca caccctcccc caggcctgag gcaccttg
 34141 gggacagaga gtgtcttagg tgggtacagg tgttagagat attgaaagga catcccatgc

[0128]

34201 accccagggg ctggtgtggc tctgtacttc caggcaatat tttgtggaag gggaaccttg
 34261 tcagctccag gttgtggatg tttgaaaac agttgtgacc cagtggctcc atcctctggc
 34321 aggcattgtg atttgcacat aaccaagtga actctccaaa ataagttaaa acttctctcc
 34381 ttctcagttt caagatgctg gaaatagctg ttcataagcc ctggggaaat ttgacctttt
 34441 ggctggtaat gggagtatcc gagatgagag ggcagctgga aactttcgga atgacctccc
 34501 acacttaatt tgggaaatgc ctctgcacct ttatgggcaa ccagatgcct gccccagttg
 34561 ctggagacac tgatgtgggc tgaaaggaat gctgagacgt gacgaggaga gatgctgctg
 34621 agggaaatcc cccctcagcc ctgacctcat cggctccatg gctcctccac agtacagctg
 34681 tctactcttt taagtctctc ctccaggaaa tagccatctc aaacagaatg tgcatttgag
 34741 ggcagaatgt gtaaatattg cactactgtg ttataaccgt caggagccat gctgatgtg
 34801 aaacgtccca gatgccgggt ctggaaaagt cctctggctt ccaagcaaat atttatctca
 34861 tggaaaacatg agtcatactc acagaggagt atggattaac tctctctcag cagccaggga
 34921 gccagcctcc ccagacagca tatttaaccc agaggccaac tgactgctgg ggcagatttg
 34981 tggctcatgaa catgtgcttt gtgtcctctg accatttagc agattgtggg tcacaacgtt
 35041 gactatacac tgggagctta ataagtgcct attcctggg caggaggttc ttcatttcag
 35101 ggggtgaccac ttacatcttc tctctctggg cctccttgac caggctaatt accattcttg
 35161 ggattaaact tatctccttt tcccgcaacc tgcaggagt gccaaggaaac ttgccaacat
 35221 octgaaatac cacattgggt atgaaatcct ggttagcgga ggcactcggg cctgggtgct
 35281 gctaaagtct ctccaaagtg acaagctgga agtcagcttg gtaagtgtcc tgcaaatcaa
 35341 aggtctggcta aatttcccca gggcagggtc ccaggacata tctcaccccc aggatggaa
 35401 tatcacaca caacctccaa gttgcagccc gaatctctga gtgtaattcg tccaaagaaa
 35461 aagagaaaag agaaaggggt cttcagggaa atcaagttag atcatagtta gacatgagta
 35521 agaacttcca gatttcaasg ggaatagagc atctgatttg gcatctgaga gaggctatta
 35581 gatcttctct ctcttaagga gggtgttagc aactagttat gtgactgaag agatcagctc
 35641 gtactccacac catcccccac cccaaaccac gggcttccat gaggttgacc atgaaccaga
 35701 ccactcccaag aggtcttttg agttctgaca cttgctctgt gaggcttccc ttgctctgca
 35761 cattgatgat ataaacttgt aactgcacta agagtgttcc taaagcagat agccagccga
 35821 gctccagaaa tctcctctgg tgcacctgca gaggccactg acccctctgt ggagggaccg
 35881 ctcttcagtg tctggtctgg ttctactctc tgctcctctc tcttggtctt cagccatcca
 35941 ttgctcacca gtttctcacc agggagcatg gaagatatgc atgtaggag gtaggcacgg
 36001 ggtatgactg ttgtaactta gcaggctcatt caagaatctc ctgcacacct gtttcagatg
 36061 ctggggctct gtctgtccca ggtctctgtg cctcctaccc ccttgagttt gtcacatggc
 36121 ccttcaggaa ggcctgagat agatttgccc tgggtgggccc tctatgaga aaatcttaag
 36181 tgaggcaccac aggcaaaatg gaaagagcct ttgcccaga gcaggaaagcc tgtcttccat
 36241 ttccagctgt tccacctact tagcttaaaa gaggcacttc gctgtcttc agtctcagtc
 36301 tcagttctct cttctgtgga atgggacaa atatatctat ctctctatca tacaactgct
 36361 tgaggactga gtggtccaca caaaaaagca ttatgtaaat tgcaagtgc taaatccaca
 36421 caggagattt gaattaatcc accacactga aggtctgtca agggcaggga ctgtttcatt
 36481 caccagagta tccccagctc aacacaggac ttggcatatg aaaagtgttc agtaggcggg
 36541 gtgcagtcag tcatgctctg aatcccagca ctttgggagg ccaaaagtggg cggatcatct
 36601 gaggtcagga gttcaagtc agcctggcca acgtggtgaa accacatctc tactaaaaat
 36661 acaaaattag ctgggctgtg tggcacatgc ctgtaatcac agctactctg gaggctgagg
 36721 caggagaatc acttgaaacc agggaggcga ggttgagtg agtcagatc atgccactgc
 36781 actccagcct gggcgcaasg attgaaactc catctcaaaa acaagaaca agggaaaaaa
 36841 cgaaaaactgt tcagtaaaaa cttgtctaat gaataaaaa aatatataaa tgtataaata
 36901 aatgctctac ttccaaccac tactctgttt ttctttttag aaaaacaatg ggtgagtgct
 36961 aacaaggagc ctgttgccga gcttgacatc atggccacaa atggcgtggt ccatgtctac
 37021 accaatgttc tgcagcctcc aggttaagtgt cgcaccccca ctgactctgc agccagtcct
 37081 ttctctcatg tggcagttgg tggagagaag aaaaaactgt ctaaacaaat atgagaataa
 37141 catgtaattg tgatagttaa actgtgccta tgtgactgat tgcagagtga attgggagct
 37201 gttgggtttg aatgcaccac actaaggaaat gtgaggacac attgtctctt gggagtttgc
 37261 ccagctatat tagctccctc cggacacagc ccagttttct gtatttcggt ggatgctgct
 37321 cgcgcgattc ccagcactcc tcttacagca tctcacctca gtgtatgttc cttgctctca
 37381 gtgcagttag acctcagtc tgcctctcct catgtgtgca ttcaaccttc ttggtgctct
 37441 ctcccatagg gccaagtctt accatgagtt atgaaacatt atggagaaaa catgtctttg
 37501 gaaatgtgag ccagaaagcc caccagtgcc cctcagtcac ggttgttatg aatgacatgc
 37561 taatgggttc actctgggta aacctgcctt ttctttcttc ttcagccaac agacctcagg
 37621 aaagaggggg tgaacttgca gactctgcgc ttgagatctt caaaacaaga tcagcgtttt
 37681 ccaggggtaag atgctctgca ggtttgccc tagcctgagc agcctcaggt cctctgtttg
 37741 ggccatagag gagcctctcc agccctgttc ttctttggct gctcccccag gctctcttaa
 37801 aactctctcc cactcccaat gaggcactct cagcccccag ctgtgtcaaa ttcagagtaa

[0129]

37861 agaaccaagg caactccctg gctttcatgg gccaaagcgc aggcctttcac accgaggcct
37921 ctgagcctca gatcatgggg aagtcactgc tggagagaac agacatagct ctggaagcca
37981 tctgcccagg agggcagccc atcccaagtt catcttacag tggccaggcc tgccctgagc
38041 cggggccctt ggttcactct tctgctgtcc atggcattgc ccactctggg tgaggctggg
38101 gctctcctgg goactgtatg tattctggat acaggggatac tgggctcgct atgtgtgtgg
38161 agccatccct tctctgcccc agcccccact cctctcctaaa cctctctctgg ctctctctga
38221 gcttctcttcc tctctcccca gcttggccag tgcctcagtg ccactctggc tcttttgcta
38281 cttcgggtca ggtggagcct cttgggaatg tgaagtgcct tacagaaaag ttgcaactca
38341 agaggagagg ctgcaggagg ccatcctaaa ccagaggccc tggagcctac tgtgtcactt
38401 tactttttga cacaggggct tctcttagtg cctcgagaag gattcttggc cctgagcttc
38461 tactcctgag gccacctctg tgcagcccca gctccctcaa ctctaggtct tagtctcagt
38521 gggaaagcct ggcttggggg tctcctagga atgtccacct gaaggcacac ttgatagggg
38581 cttgcacaaac ttatgtctgc caaggccacc tgaggaaact cctgggtgctt ataagttcca
38641 ccttccccctt cctcttccct gccccagcat tttttctgag taggggtggc aatggggcaa
38701 gccattgtca taagcagttg caggtataac tttcactaga aaacctgaca ccttgtgttt
38761 tctttcaggc ttcccagagg tctgtgcgac taggtgagtc tggcttgggt ttgaagtcat
38821 tgacagacct tttaggcctt acccccagc aagcccagc ctgccatctg ctgtatatag
38881 ataagaacct catggtgcag taaaagaagc ctggcctttg gagtcaaac agcagggtga
38941 cttgggggtca gaccagagg accccatttc cttctctgta agatgaggat aataagagta
39001 acaacctttt aggggttaagg tgagttttca gcttaggaag tctgggaata ttgcaagggg
39061 cttggcagga acccctgggt aggatctagt tocaagttga taggtacaga aaacagaaac
39121 atcgggctctt gagttaaagg tgaagtttca caaacccaa agcaccctgt atgtgcagga
39181 gagcatggca gaaggaggct gcttggccct ggtccttgag attctgacag tgcctctagc
39241 agacatgggg agatctgcac ctatttgacg ttacccactt ctctttttca gccctgtct
39301 atcaaaagtt attagagagg atgaagcatt agcttgaagc actacaggag gaatgcacca
39361 cggcagctct cccccaattt ctctcagatt tccacagaga ctgtttgaat gttttcaaaa
39421 ccaagtatca cactttaagt tacatgggac gaaccaaat gagatgtgag ccttgtgcat
39481 gtgggggagg agggagagag atgtactttt taaatcatgt tccccctaaa catggctgtt
39541 aaccctctgc atgcagaaac ttggatgtca ctgcttgaca ttcaactcca gagaggacct
39601 atcccaaatg tggaaattgac tgcctatgcc aagtccctgg aaaaggagct tcagtattgt
39661 ggggctcata aacatcgaat caagcaatcc agcctcatgg gaagtccctg cacagttttt
39721 gtaaaagcct tgccagctg gagaatggc atcattataa gctatgagt gaaatgttct
39781 gtaaatgtg tctcacatct acacgtggct tggaggcttt tatggggccc tgtccaggta
39841 gaaaagaaat ggtatgtaga gcttagattt cctctattgt acagagccat ggtgtgtttg
39901 taataataaa acccaagaaa catacgtcct gtgtgcattg tacagtgtgc tgacctgagg
39961 ccgtcatgct cctccacacc tcaattctgc tctggagaag ctcaaaaagg agccccagg
40021 gatggttttg gggagatttc agcagccagc cctcagacag ccagacagct catgggggtt
40081 tgagcctgtc ttggccaaac aggtttttat ttcacctcc tccggtcttg gggtttcaa
40141 ttttcagttg tgccttcaac ccgcacttta tctctcttat taottggaag taacctccct
40201 ccagcatggt gatccctgc ctgtgtgtct gacttttgag tctcagcac caacctgtga
40261 agtggttggc acattaatcc cattatgcag atgaggagc caaggccag ggaagggaga
40321 accaccagca gcacgtaaaa tagctgagct gggactggaa ctccacctc ctgactctca
40381 gtgaccacca ctgacaaacg cataagtcca ggttttccag gccatcccc tctgtgcaa
40441 cccacattca gattccttcc cgggtctccg taatctcttg catctagaat atcctcagga
40501 ctctgagagg tgatatcatg tggttgtggt gccattgccc cctacctgtg tggcctgggg
40561 ccagtcattg gacctccag ggtctcctct tctgtaatag ggagatgacc gtcacatcta
40621 cttcatgggt ccacgtgag gatgaaatga gatgatctat ataaaaatgct tggtaacaa
40681 ttagggtgccc ttatttttat cctgcccctt gggactgtct aggatcaatg ccgagagag
40741 cctttatttg tgcctttccc acaggtgggc tggcccact tctagagaa tgggacagac
40801 ctccttccca cccacaccca tctctgcaa ggcctgattca ctccagcagg cggagctcat
40861 ttcacttcat ggaaccaatg acccaaatg atatccccag cactactgct ggtcagttca
40921 ctgctgctgg gaatacagca atggtagtgg cagacagagg cctctcttta aatagcttcc
40981 agctcgagga aagagagata tgacatcaat ccattaaaat cattcatcca ttggttccac
41041 aaatatttgt tgagggtcac ctatgtgcac ccccatgtta gacctgggg aatagacatg
41101 tcatctctca gaggctctct tactgatggg ggggaagaga attgtcaacc agataatggc
41161 actacagcct gtgtgttctt agtgactctg aggatagcac tgtggttctg tgacagataa
41221 tgaaggattt ggaaggagga atgcccagga gctcccagaa gtgggaagag atgagaggaa
41281 tggaaagaa cttacctgaag gtgaaggcat caggctaggg gaocaaagga gaagggtgct
41341 tgagaggtaa ggccttaacct tgggtgtgaa ttcagttccc gtcactctcc catagctctg
41401 tctctgtgtt cccacctccc ctgcagccat ggggcttgg ggggtagtg agggccttgc
41461 tcatgtctgg tatcctatgc tatgtctcac tttgagcacc taaaatacac acactgcact

[0130]

41521 ttaccaagat gacctcggaa accaaagagg tgatcagcat aagttttaaa gaccttaaa
41581 tttaaagtta aaatcaactac aggatccatt ataaatgcca aacactaaga tgtgtgttc
41641 agttctctcc ctctaatgtt cctgcccact cctgcccgt actttgccc accccctagt
41701 aatgtgggct ccaactctatg ctccaaactc tccctggaga gaaatcctcc ctgtggttga
41761 ggacaaggcg cagccttccc ctccaccaa agaaggtcag attcctttt ttggttccca
41821 accatccata cccctctctt tctcatgaa actcgggcta atccttcat agggctgcca
41881 tctggaggat ggaccttag agctgagggg ccagcactgt gtgt

[0131]

[0132]

다음은 TGFBI 유전자 단백질 산물 (β IG-H3 단백질 서열; NCBI 참조 번호 NG_012646.1) (서열 번호 63)을 보여 준다.

MA LFVRLALALALALGPAATLAGPAKSPYQLVLQHSRLRGRQHGPVNCVQKVIGTNRKYFTNCKQW
YQRKICGKSTVSYECCPGYKVPGEKGPCPALPLSNLYETLGVVSGSTTTQLYTDRTKLRPEMEGPG
SFTIFAPSNEAWASLPAEVLDSLVSNVNI ELLNALRYHVMGRRVLTDELKHGMLTSMYQNSNIQIHH
YPNGIVTVNCARLLKADHHTATNGVVHLIDKVI STITNNIQQIIEIEDTFETLRAA VAASGLNTMLEGN
GQYTLAPTNEAFEKIPSETLNRILGDPEALRDLLNNHILKSAMCAEAI VAGLSVETLEGTTLLEVGS
CDMLTINGKAIISNKDILATNGVIHYIDELLPDSAKTLFELAAESDVSTAIDLFRQAGLGNHLSGSE
RLTLAPLNSVFKDGTFFIDATHRNLLRNHIIKDQLASKYLYHGQTLLET LGGKKLRVVFYRNSLCIEN
SCIAAHDKRGRYGLFTMDRVLTTPPMGTVMVDVLKGDNRFSMLVA AIQSAGLTETLNRGVYTVFAPTN
EAFRALPPRERSRLLDGAKELANILKYHIGDEILVSGGIGALVRLKSLQGDKLEVSLKNNVSVNKEP
VAEPDIMATNGVVHVITNVLPQPNRQERQDELADSALEIFKQASAFSRASQSRVRLAPVYQKLLER
MKH

[0133]

[0134]

모든 제목과 섹션 명칭은 명확성 및 참조 목적으로만 사용되며 어떤 식으로든 제한하는 것으로 간주되지

않는다. 예를 들면, 당업계 숙련자들은 본원에 기술된 본 발명의 취지 및 범위에 따라 적절하게 상이한 제목들로부터 다양한 측면들을 조합하는 것이 유용하다는 것을 인지할 것이다.

[0135] 본원에 인용된 모든 참고 문헌은 각각의 개별 공보 또는 특허 또는 특허 출원이 모든 목적을 위해 전문이 참고로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 전체적으로 그리고 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0136] 당업계의 숙련자들에게 자명한 바와 같이, 본 출원의 취지 및 범위를 벗어나지 않으면서 본 출원의 많은 수정 및 변형이 이루어질 수 있다. 본원에 기술된 특정 실시양태 및 실시예는 단지 예로서 제공되며, 본 출원은 청구 범위가 자격을 부여하는 등가물의 전체 범위와 함께 첨부된 청구 범위의 용어에 의해서만 제한되어야 한다.

도면

도면1a



도면1b

← 잉글랜드: G6234D; R124S; H40.

의류

잉글랜드: G623D; R124S; H403Q; R124C; R124H;
GCD;

설명

인종: 잉글랜드인; 이란인(H403Q); 방글라데시인
(R124C)

G623D: 5

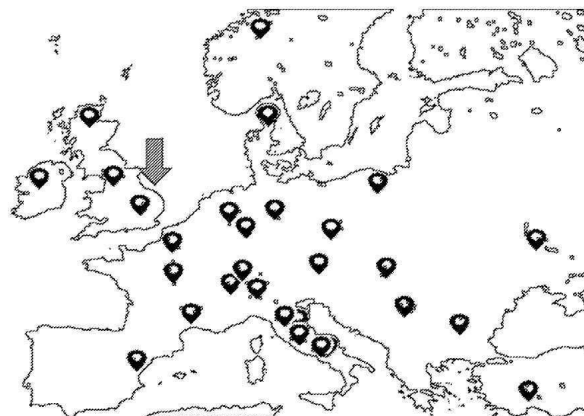
R124S: 6

H403Q: 1 (원주각막)

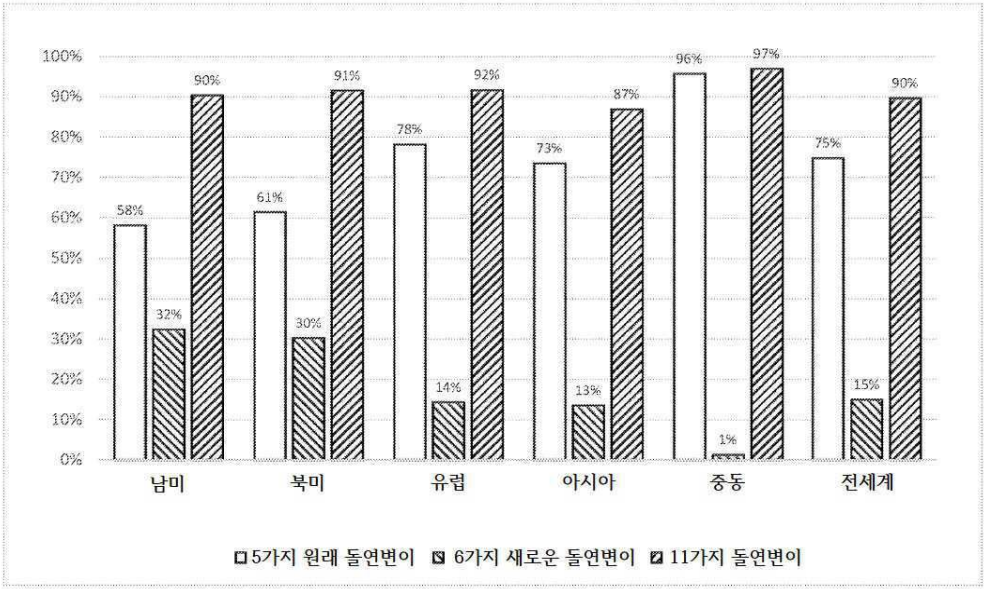
R124C: 3

R124H: 6

GCD: 1



도면2



도면3

돌연변이	보고된 사례 수
현재 유전자 검사 패널에서 가장 흔한 5가지 돌연변이	
R124C 격자 각막 이상증 타입 1	372
R555W 과립 각막 이상증 타입 1	338
R124H 과립 각막 이상증 타입 2	325
R124L 레이스-버클러 각막 이상증	110
R555Q 티엘-벙케 각막 이상증	75
확장된 검사 패널에서 6개의 추가 돌연변이	
H626R 격자 각막 이상증 서브타입 I/IIIA	117
A546D 변종 격자 각막 이상증	48
H572R 격자 각막 이상증 서브타입 1	34
G623D 변종 레이스-버클러 각막 이상증	26
R124S 서브타입 과립 각막 이상증 타입 1	18
M502V 변종 각막 이상증 및 변종 티엘-벙케 각막 이상증	4

도면4

68개의 TGFB1 CD를 가진 91명의 UK 인종적으로 다양한 코호트의 UCL/Moorfields % 검출						
임상 진단	사례#	사례%	TGFB1 돌연변이	돌연변이#	돌연변이%	의견
격자 각막 이상증	24	35%	R124C	19	28%	
			V625D	1	1%	아시아인
			H626R*	2	3%	
			A620D	1	1%	아시아인
			G623D*	1	1%	
과립 각막 이상증1	21	31%	R555W	13	19%	
과립 각막 이상증2			R124H	8	12%	
TB/RB CD	23	34%	R555Q	20	29%	
			R124L	1	1%	
			G623D*	2	3%	
총 TGFB1 CD	68		보편적인 검사	61	90%	
			추가 6가지 SNP*	5	7%	
			총 11가지 SNP	66	97%	

도면5a

코돈 번호	위치	dbSNP(총 19)	LT 분석 ID	표적 서열
R124S	135382095	rs121909210	ANMFJKJ	ACGAGACCCTGGAGTCGTTGGATCCACCACCACTCAGCTGTACAC GGAC(C/A)GCACGGAGAAGCTGAGGCCTGAGATGGAGGGGCC GGCAGCTTCACCATC 서열 번호 1
A546D	135392443	rs267607109	ANNKR6G	GACCCTCAAC CGGG AAG GAGTCTACACAGTC TTT GCT CCC ACAAATGAAG(C/A)CTTCCGAGCCCTGCCACCAAGAGAACGGAG CAG ACT CTT GGGTAAAGACC 서열 번호 2
H572R	135394815	no	ANPRKRE	CTTGCCAACATCCTGAAATACC CCAAGGAACCTGCCAACATCCTGAAATACC(A/G)CATTGGTGATG AAATCCTGGTTAGCGGAGGCAT CGG GGC CTTGGTGCGGCTA 서열 번호 3
G623D	135396587	rs121909215	ANRWFFC	GAGTGTCAACAAGGAGCCTGTTGCCGAGCCTGACATCATGGCCA CAAATG(G/A)CGTGGTCCATGTCATACCAATGTTCTGCA GCC TCC AGG TAAGTGTGCA 서열번호 4
H626R	135396596	no	ANTZ9V9	(AAGGAGCCTGTTGCCGAGC) CTGACATCATGCCACAAATGGCGTGGTCC(A/G)TGTCATCACCA ATGTTCTGCAGCCTCC AGG TAA GTG TCGCATCCCCACTGA 서열 번호 5
M502V	135391462	rs188677757	ANRWFF6	CACGACAAGAGGGGGAGGTACGGGACCTGTTACGATGGACC GGGTGTCACCCCA(A/G)TGGGGACTGTCTGATGTCCTGA AGGGAGACA ATC GCT T TAGGTAATTA GTTCCATCCC 서열 번호 6

도면5ba

버전 1 (V1)

코돈 번호	프라이머 Fwd	프라이머 Rev	VIC 프로브(Norm)	FAM 프로브(Mut)	ABY 프로브(Norm) - NN 보체	JUN 프로브(Mut) HH 보체
R124S	CCACCACCACTCAGCTGTA c 서열 번호 7 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	TCCATCTCAGGCTCAGC T 서열 번호 13 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	CTCCGTGCG6TCCGT 서열 번호 19 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	TCTCCGTGCTGTCCGT 서열 번호 25 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)		
A546D	TCT ACA CAG TCT TTG CTC CCA CA 서열 번호 8 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	CTC CGT TCT CTT GGT GGC A 서열 번호 14 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	CTC GGA AGG CTT CAT T 서열 번호 20 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	CTC GGA AGT CTT CAT T 서열 번호 26 Ver.1 (V1 프라이머로 작동함)	CTT GGT GGC AGG GCT CGG AAG GCT TCA TTT GT 서열 번호 31 (Ver.1 작동하지 않음)	CTT GGT GGC AGG GCT CGG AAG TCT TCA TTT GT 서열 번호 34 (Ver.1 어떠한 프라이머로도 작동하지 않음)
H572R	CCA AGG AAC TTG CCA ACA T 서열 번호 9 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	CCT CCG CTA ACC AGG ATT TCA TC 서열 번호 15 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브로 작동함)	CCT GAA ATA CCA CAT TGG 서열 번호 21 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	CCT GAA ATA CCG CAT TGG 서열 번호 27 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	C TTG CCA ACA TCC TGA AAT ACC ACA TTG GTG AT 서열 번호 32 (Ver.1 어떠한 프라이 머로도 작동하지 않음)	C TTG CCA ACA TCC TGA AAT ACC GCA TTG GTG AT 서열 번호 35 (Ver.1 어떠한 프라이 머로도 작동하지 않음)
G623D	TTG CCG AGC CTG ACA TCA 서열 번호 10 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브 및 ABY/JUN 프 로브로 작동함)	TGC AGA ACA TTG GTG ATG ACA TG 서열 번호 16 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브 및 ABY/JUN 프 로브로 작동함)	CACAAATGGCGTGGT C 서열 번호 22 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	CCACAAATGACGTGGT C 서열 번호 28 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	CA TCA TGG CCA CAA ATG GCG TGG TCC ATG TC 서열 번호 33 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)	CA TCA TGG CCA CAA ATG ACG TGG TCC ATG TC 서열 번호 36 (Ver.1 V1 프라이머로 작동함)

도면5bb

코돈 번호	프라이머 Fwd	프라이머 Rev	VIC 프로브(Norm)	FAM 프로브(Mut)	ABY 프로브(Norm) - NN 보체	JUN 프로브 (Mut) HH 보체
H626R	CTGACATCATGGCCACAAATGG 서열 번호 11 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브만으로 작동함)	GGAGGCTGCAGAACATTGGT 서열 번호 17 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브만으로 작동함)	CGTGGTCCATGTGATC 서열 번호 23 (Ver.1 V1 프라이머만으로 작동함)	TGGTCCGTGTCATC 서열 번호 29 (Ver.1 V1 프라이머만으로 작동함)		
M502V	GGACCGG GTG CTG ACC 서열 번호 12 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브만으로 작동함)	CTCCCTTCAGGACATCCA 서열 번호 18 (Ver.1 V1 VIC/FAM 프로브만으로 작동함)	TGACAGTCCCATTTGGG 서열 번호 24 (Ver.1 V1 프라이머만으로 작동함) - G623D를 갖는 다중화 실험에서 사용됨	TGACAGTCCCACTGGG 서열 번호 30 (Ver.1 V1 프라이머만으로 작동함) - G623D를 갖는 다중화 실험에서 사용됨		

도면5ca

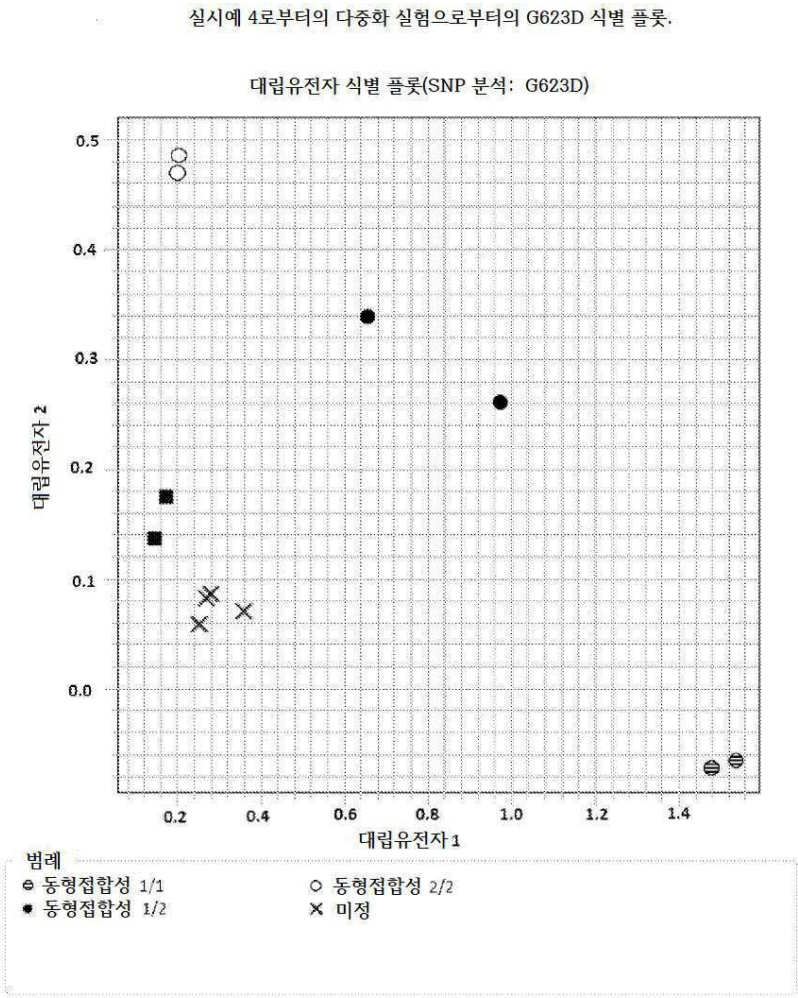
버전 2 (V2)

코돈 번호	프라이머 Fwd	프라이머 Rev	VIC 프로브(Norm)	FAM 프로브 (Mut)	ABY 프로브(Norm) - NN 보체	JUN 프로브(Mut) HH 보체
R124S	GACCTGGAGTCGTGGAT C 서열 번호 37 (Ver.2 V2 VIC/FAM 프로브로 작동하지 않음)	CCCGGACGCTTACCATC 서열 번호 43 (Ver.2 V2 VIC/FAM 프로브로 작동하지 않음)	CGACTTCTCCGTGCGGT CCGT GTACAG 서열 번호 49 (Ver.2 작동하지 않음)	CGACTTCGACTT TCTCCGTGCTGTC CGT GTACAG GTACAG 서열 번호 53 (Ver.2 작동하지 않음)		
A546D	CGGGAAGGAGTCTACACAG TCTTT 서열 번호 38 (Ver.2 V1 또는 V2 ABY/JUN 프로브로 작동하지 않음)	AAGAGTCTGCTCCGTTCTCT T 서열 번호 44 (Ver.2 V1 또는 V2 ABY/JUN 프로브로 작동하지 않음)			AGGGCTCGGAAGGCTTC ATT 서열 번호 56 (Ver.2 V1 프라이머로 작동하지 않음)	AGGGCTCGGAAGTCTTC ATT 서열 번호 59 (Ver.2 V1 프라이머로 작동하지 않음)
H572R	TGAAATACCCCAAGGAAC TG 서열 번호 39 (Ver.2 V1 프로브로 작동하지 않음)	GCCCCGATGCGCTCCGTAAC CAGG 서열 번호 45 (Ver.2 V1 프로브로 작동하지 않음)			ACATCCTGAAATACCACA TTGG 서열 번호 57 (Ver.2 V2 프라이머로 작동함)	ACATCCTGAAATACCGCA TTGG 서열 번호 60 (Ver.2 V2 프라이머로 작동함)
G623D	AGGAGCTGTGTCGAGC 서열 번호 40 (Ver.2 V1 또는 V2 프로브로 작동하지 않음)	CCTGGAGGCTGCAGAACAT TGGTG 서열 번호 46 (Ver.2 V1 또는 V2 프로브로 작동하지 않음)			CACAAATG GCGTGGTC 서열 번호 58 (Ver. 2 V1 또는 V2 프라이머로 작동하지 않음)	CACAAATGACGTGGTC 서열 번호 61 (Ver. 2 V1 또는 V2 프라이머로 작동하지 않음)

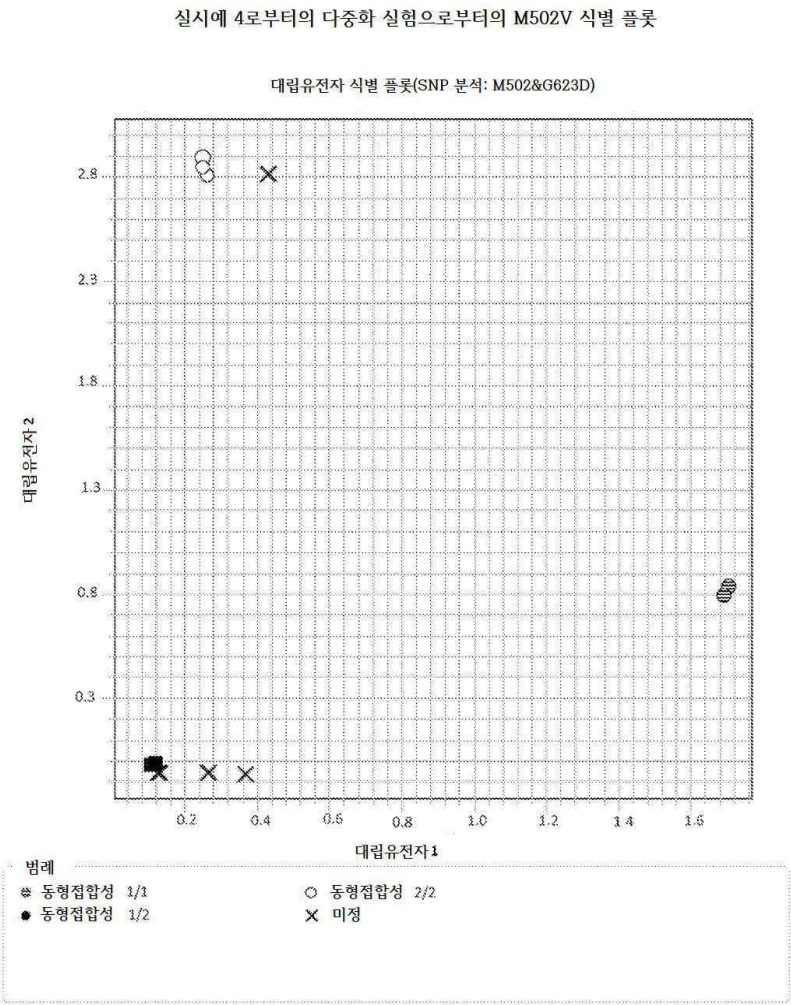
도면5cb

코돈 번호	프라이머 Fwd	프라이머 Rev	VIC 프로브(Norm)	FAM 프로브(Mut)	ABY 프로브 (Norm) - NN 보체	JUN 프로브 (Mut) HH 보체
H626R	TTGCCGAGCTGACATCATGGC 서열 번호 41 (Ver.2 V2 프로브로 작동함)	CACTTACCTGGAGCGCAGA 서열 번호 47 (Ver.2 V2 프로브로 작동함)	TGGCGTGGTCCATGTC 서열 번호 50 (Ver.2 V2 프라이머로 작동함)	TGGCGTGGTCCGTGTC 서열 번호 54 (Ver.2 V2 프라이머로 작동함)		
M502V	GTTACAGATGGACCGG 서열 번호 42 (Ver.2 V2 프로브로 작동하지 않음)	AGCGATTGTCTCCCTCA 서열 번호 48 (Ver.2 V2 프로브로 작동하지 않음)	TCCCCATTGGGGGGGGT 서열 번호 52 (Ver.2 V2 프라이머로 작동하지 않음)	TCCCCACTGGGGGGGGT 서열 번호 55 (Ver.2 V2 프라이머로 작동하지 않음)		

도면6a



도면6b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Avellino Lab USA, Inc.
- <120> METHODS FOR MULTIPLEX DETECTION OF ALLELES ASSOCIATED WITH CORNEAL DYSTROPHY
- <130> IPA191352-US
- <150> US 62/483,588
- <151> 2017-04-10
- <150> US 62/573,537
- <151> 2017-10-17
- <150> US 62/624,660
- <151> 2018-01-31
- <150> US 62/624,661
- <151> 2018-01-31

<160> 62

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> R124S Target sequence

<220><221> misc_feature

<222>

> (50)..(50)

<223> n is c or a

<400> 1

acgagaccct ggagtcgttg gatccaccac cactcagctg tacacggacn gcacggagaa 60

gctgaggcct gagatggagg ggcccggcag cttcaccatc 100

<210> 2

<211> 101

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A546D Target sequence

<220><221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> n is c or a

<400> 2

gaccctcaac cggaaggag tctacacagt ctttgctccc acaaatgaag ncttccgagc 60

cctgccacca agagaacgga gcagactctt gggtaaagac c 101

<210> 3

<211> 105

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H572R Target sequence

<220><221> misc_feature

<222> (53)..(53)

<223> n is a or g

<400> 3

cttgccaaca tcctgaaata cccaaggaa cttgccaaca tcctgaaata ccncattggt 60
gatgaaatcc tggtagcgg aggcacgagg gccctggtgc ggcta 105
<210> 4
<211> 101
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> G623D Target sequence
<220><221> misc_feature
<222> (51)..(51)
<223> n is g or a
<400> 4

gagtgtcaac aaggagcctg ttgccgagcc tgacatcatg gccacaaatg ncgtggtcca 60
tgtcatcacc aatgttctgc agcctccagg taagtgtcgc a 101
<210> 5
<211> 101
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> H626R Target sequence
<220><221> misc_feature
<222> (50)..(50)
<223> n is a or g
<400> 5

aaggagcctg ttgccgagcc tgacatcatg gccacaaatg gcgtggtccn tgtcatcacc 60
aatgttctgc agcctccagg taagtgtcgc atccccactg a 101
<210> 6
<211> 121

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> M502V Target sequence
<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> n is a or g
<400> 6

cacgacaaga gggggaggta cgggaccctg ttcacgatgg accgggtgct gaccccccca 60
 ntggggactg tcatggatgt cctgaaggga gacaatcgct ttaggtaatt agttccatcc 120
 c 121

<210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> R124S Primer Fwd
 <400> 7
 ccaccaccac tcagctgtac 20

<210> 8
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D Primer Fwd
 <400> 8
 tctacacagt ctttgcctccc aca 23

<210> 9
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H572R Primer Fwd
 <400> 9
 ccaaggaact tgccaacat 19

<210> 10
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> G623D Primer Fwd
 <400> 10
 ttgccgagcc tgacatca 18

<210> 11
 <211> 22

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H626R Primer Fwd
 <400> 11
 ctgacatcat ggccacaaat gg 22
 <210> 12
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> M502V Primer Fwd
 <400> 12
 ggaccgggtg ctgacc 16
 <210> 13
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> R124S Primer Rev
 <400> 13
 tccatctcag gcctcagct 19

 <210> 14
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D Primer Rev
 <400> 14
 ctccgttctc ttggtggca 19
 <210> 15
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H572R Primer Rev
 <400> 15
 cctccgctaa ccaggatttc atc 23
 <210> 16

<211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> G623D Primer Rev
 <400> 16
 tgcagaacat tggatgatgac atg 23

<210> 17
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H626R Primer Rev
 <400> 17
 ggaggctgca gaacattggt 20

<210> 18
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> M502V Primer Rev
 <400> 18
 ctcccttcag gacatcca 18

<210> 19
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> R124S VIC Probe (Norm)
 <400> 19
 ctccgtgcgg tccgt 15

<210> 20
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D VIC Probe (Norm)
 <400> 20

ctcggaaggc ttcatt	16
<210> 21	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H572R VIC Probe (Norm)	
<400> 21	
cctgaaatac cacattgg	18
<210> 22	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> G623D VIC Probe (Norm)	
<400> 22	
cacaaatggc gtggtc	16
<210> 23	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H626R VIC Probe (Norm)	
<400> 23	
cgtggtccat gtcac	16
<210> 24	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> M502V VIC Probe (Norm)	
<400> 24	
tgacagtccc cattggg	17
<210> 25	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> R124S FAM Probe (Mut)	

<400> 25	
tctccgtgct gtccgt	16
<210> 26	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> A546D FAM Probe (Mut)	
<400> 26	
ctcggaagtc ttcatt	16
<210> 27	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H572R FAM Probe (Mut)	
<400> 27	
cctgaaatac cgcatggt	18
<210> 28	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> G623D FAM Probe (Mut)	
<400> 28	
ccacaaatga cgtggtc	17
<210> 29	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H626R FAM Probe (Mut)	
<400> 29	
tggtccgtgt catc	14
<210> 30	
<211> 17	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> M502V FAM Probe (Mut)

<400> 30

tgacagtccc cactggg 17

<210> 31

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A546D ABY Probe (Norm) - NN complement

<400> 31

cttgggtggca gggctcggaa ggcttcattt gt 32

<210> 32

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H572R ABY Probe (Norm) - NN complement

<400> 32

cttgccaaca tctgaaata ccacattggt gat 33

<210> 33

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> G623D ABY Probe (Norm) - NN complement

<400> 33

catcatggcc acaaatggcg tggatcatgt c 31

<210> 34

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> A546D JUN Probe (Mut) HH compliment

<400> 34

cttgggtggca gggctcggaa gtcttcattt gt 32

<210> 35

<211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H572R JUN Probe (Mut) HH compliment
 <400> 35
 cttgcccaaca tctgaaata cgcattggt gat 33
 <210> 36
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> G623D JUN Probe (Mut) HH compliment
 <400> 36

 catcatggcc acaaagacg tggatcatgt c 31
 <210> 37
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> R124S Primer Fwd
 <400> 37
 gaccctggag tcgttgatc 20
 <210> 38
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D Primer Fwd
 <400> 38
 cgggaaggag tctacacagt cttt 24
 <210> 39
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> H572R Primer Fwd
 <400> 39

tgaaataccc caaggaactt g	21
<210> 40	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> G623D Primer Fwd	
<400> 40	
aggagcctgt tgccgagc	18
<210> 41	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H626R Primer Fwd	
<400> 41	
ttgccgagcc tgacatcatg gc	22
<210> 42	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> M502V Primer Fwd	
<400> 42	
gttcacgatg gaccgg	16
<210> 43	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> R124S Primer Rev	
<400> 43	
cccggcagct tcaccatc	18
<210> 44	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> A546D Primer Rev	

<400> 44	
aagagtctgc tccgttctct t	21
<210> 45	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H572R Primer Rev	
<400> 45	
gccccgatgc ctccgtaac cagg	24
<210> 46	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> G623D Primer Rev	
<400> 46	
cctggaggct gcagaacatt ggtg	24
<210> 47	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> H626R Primer Rev	
<400> 47	
cacttacctg gaggcgcaga	20
<210> 48	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> M502V Primer Rev	
<400> 48	
agcgattgtc tcccttca	18
<210> 49	
<211> 27	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> R124S VIC Probe (Norm)

<400> 49

cgacttctcc gtgcggtccg tgtacag 27

<210> 50

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H626R VIC Probe (Norm)

<400> 50

tggcgtggtc catgtc 16

<210> 51

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> M502V VIC Probe (Norm)

<400> 51

tccccattgg ggggggt 17

<210> 52

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> R124S FAM Probe (Mut)

<400> 52

cgacttcgac tttctccgtg ctgtccgtgt acaggtacag 40

<210> 53

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H626R FAM Probe (Mut)

<400> 53

tggcgtggtc cgtgtc 16

<210> 54

<211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> M502V FAM Probe (Mut)
 <400> 54
 tccccactgg ggggggt 17
 <210> 55
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D ABY Probe (Norm) - NN complement
 <400> 55
 agggctcgga aggttcatt 20
 <210> 56
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> H572R ABY Probe (Norm) - NN complement
 <400> 56
 acatcctgaa ataccacatt gg 22
 <210> 57
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> G623D ABY Probe (Norm) - NN complement
 <400> 57
 cacaaatggc gtggtc 16
 <210> 58
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> A546D JUN Probe (Mut) HH compliment
 <400> 58
 agggctcgga agtcttcatt 20

<210> 59

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> H572R JUN Probe (Mut) HH compliment

<400> 59

acatcctgaa atacgcatt gg 22

<210> 60

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> G623D JUN Probe (Mut) HH compliment

<400> 60

cacaaatgac gtggtc 16

<210> 61

<211> 41924

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 61

agaggaaca gaagcatcta ggagagattt ggaaagaaca cctgcaggat ctggtgact 60

gattgcacgt gggggaccag agagcaggga caggcaaac tgaatgcaag gtttccaacc 120

ttgagcggca ccacaggcaa gaatgaagaa atgaagaagg ggagctggac gaaagagcca 180

agggatttct gcattttgga atgaattgct gctgggtggt gtccatttcc ctgaaggcct 240

ttatcctacg tgcaagaaaa ctctgtggaa gcagaggaaa ggcatgtgta agccaacaat 300

catctgtggg catccttcca ctaaagtatt tgaggtcagg caactaaagc aacctcaaaa 360

gtgcctctgg attcttctta gatatttttag ctgagccaaa tcaatgaaac tctcatgaaa 420

aatcggtttc cctggaaaaat gaaattgggt tctaaccaac aagtagcatt tggcaggccc 480

tgattaagaa agccagtgtt tggagaagtt gtgaaaacag ccaagtcatt taagaaacta 540

aacactgggg cctaattgcca ttctagggtc gcgacggctg ttctgttccc atcaattgca 600

gagcccgag cctcaagtgt gttttaagtt cctgccatta caaacctgtc gattatccca 660

gcctcccttg cgggctttga aaagagagaa gaatggaagg tgactgtggc caatttcccc 720

tccctgtcca gtgtgtggaa gacactgaat atgcaactac tgacctgtg cctgggcac 780

ttgaaggctt tccacaaagt gagctgggcc tcagcggaag atgagagttc ctctgtggtc	840
acttcactgg tacacatttt cagggtgtatt tcgtttcttc catgcctaca taaattgaat	900
cctctgttaa ccacctctga gctcatagct atttaacatg accctgtagt cctgtgcata	960
caaatcacct tgggatctgg tgaaaatgca gattcagtgg gtcttgggag gttgggaggt	1020
tataagattc cacgtttctt catgagagct agaaaaaata aataaataaa taaaaaattt	1080
ttaaattttc cacatttcta atgaactctg gggtttgtct gatgatgctg ttttgcagat	1140
cacattttga gtggcaagac tgtggaaaat ccttgagaaa tcaatccaaa atcccctaaa	1200
tgggtactaca atcacacctt aatgttagta aactgagatg tttcttacct ttatttgtaa	1260
catggaaaaa acaattactg tataatgaagt accattctaa gttctgtgtg ttacacaagg	1320
gatggcaatt ttcccaaaa tttgattcac atcttttcat ttggatatct ctgccaanaa	1380
ctcacctttt tttctccta gcaagtcttg gggagctgaa ttttaagagc tctttattta	1440
gctatatggt ggctctgaa aatgattttg actgtatctt ctgtctccat gtatgccaa	1500
gcatcaccag gaactttagg gagtaaggaa aaggcaggcc tgggtgtcagc tgggctgcag	1560
atgccagctc tccaccaaac aggccagaa ccagtttctt tcctaggttc ctttgtgaag	1620
aacttgttgg aactactaat ttatcatgat gcataaagct tgttgtcata ccctacagta	1680
ttattttcaa aacctgaatg tttttggtga cttttcatgt gccacaaaat gtaaaagcag	1740
tcatttttta aaaagtgtt gaaaaagtct agtaaagatt cttccaagca agcctcactt	1800
tctctgttt agattgttta atctggaagg aaaaaattct tttcaaatg acagggtttc	1860
tgggtgtctg tgtttgctg gttggctctg ggtcatctgg ggatggaggg tccctgtctt	1920
tacctccagc agcatcactc ttgtctccaa agaagcagca acctcaggtg ggagaatggt	1980
tatactcaca gcattctgct tttcatgttt gaaagagggg atgggtggtg gggcatggat	2040
gtgggatttt aaaaaaatat ctaaaccata aataaagtat tactgcaatc tctttactga	2100
gctcatggaa aaactcaagt catcgaatgt tagttttgca gactggagaa gtgaggtcca	2160
gtgaacttgc ttgacttgcc ctaaatcttg ctagagagag agctggaacc agatggcagg	2220
gtctctggcc tcttacatac aaggagcatt tttcctagaa actgcaatgc agccaaattc	2280
tactggtctc aggggaaact tgttctggga gtcagcctga gcttgaatcc ctttgggttc	2340
ttccattat cctatgccaa gcagtcagtc tgaaccgag aatgttttg ctttcaataa	2400
atgaaatgag cattttcaga taattatttc ttagttgtct caaaactatc atattgtttc	2460
attgaacctt actatataga acaatgactg gggagaggta ataataataa tagcaatgca	2520

tatttattgg ccattttact tgaattgtat catgtaatct agtttagagt cctgtgaggt	2580
aggttttatt atcctctcta tgaggttgaa taacttgccc aagaccacac agctaggaag	2640
tagaaagact ggtatttgaa cccatcttct ccttttcttc tecttctcc tecttctctc	2700
ttccaacacc tgctcccaag gaagctcatc cagtgcata ctttagctac cacctgctcg	2760
tagtggtgac tcaaatctgc atctccaatc ctcatacctt tectgagctc aagacctttg	2820
aatatagctc cctcctgtcc atccctcctg gaaatgcagg tggtctgttc acacataatg	2880
tgaacacaaa tggagcactc tctcacaca cccaaatgtg caccttcacc agcgtgccca	2940
gcacaggcat ccttctctgc cagctatgag cctcgagggt agctctactc cccctccta	3000
acctgcatg cccaaggggt ttccaagtct aatcaatgct accactaaaa tctccatac	3060
acctgttccc tctctccac tagcttgatc actcccatg caggccctca gttgctttat	3120
gctctcagta ggccctctc cagtgcacc actctctccc ttctcttcc caccttcttt	3180
ctaccagagt tctaacctct ccaagcccg cttgtctttt tcttccctg gctgccatcc	3240
taactgccc ctctcttct cagacaagct tctacatgct actcatctct ccatcaaacc	3300
accatattcg ggctttggcc atctgctctc cacagccaag tcccagtggt cctctctgct	3360
tctgacacag tgaagccat tcagatctgt cttgttggca gcattcctca ctttgagcag	3420
cgccctcta ctaggatacc cctccttgac tacaaccca cattctctac ttctgggct	3480
cttctgtcac tggaggatga ctcccagggt tgaatcttca tcccgcgtcc ctcaictaag	3540
ccccgatcc tcatatccag ctttctctc atgggatgct tcaccaggat gagtcataag	3600
cacctcagac tcagggtgtc ccaaaccact catctacctg gcaagcctgc actctgcatg	3660
tgcctcattc tgaacatggc accatcacct gctgcaatgt ccagaccaca aacacctac	3720
aatatccttg actctcttt ctccccctt cctgtatac agactccaaa ttctattgag	3780
actattacct cctacacccc tcacatttgc ccagccttcc ccatctctgc ctctaccacc	3840
atagttcaag ctctcccatg gtcccttctt ggttacctgt tcttcttgcc tcttaagcc	3900
tctcatgaca ctggccatgt cacttgctc caccatcac ccgctaggt cttagctgga	3960
gtctgggccc tgctacctc ctccccctt tccctacct tgactccacc tccctgtgct	4020
tcagccaacc agataacttg agtttctga atgcatgcct cagtttacct gattaactca	4080
ttttcatctt tcaggctca gagcagggtt caccctgtca gggccagggt cctcttctta	4140
gtcccaaaag cccagctac tcttcatgga acatcattgg cttgggctac ggatcttccc	4200
aaattggagc ttttcacaa agggcttagg tctcactcat tctattaatc catctgtgtc	4260

tccccagggc tagcagtgcc aagtaactga caggtgatta atagatgctt gggtaagtat	4320
cacctcttta ccatgtgaca atttgtttac ctgccttgag ctccctccagg gcaggactct	4380
tgcctttgca gaatctatct ggcaggtact gttgcagaga tgtttactga agaagggaa	4440
gaattagtag caaggtgagg accccaccct tccccacggg ctccaaaagc agcttagagc	4500
ccaacaaaac ctgccccaca tttttggcgt ttctgtggat cacacgattt actcatctgt	4560
ctttcaatga gcatgacagg tgggtgggg gtggagggat tagagattga ggagctgggg	4620
agggtggtca gctcctgggg tgcagaaaca agtctgatgg gccatggtgt tctgggaatc	4680
agcactgcct cccctaccc ctccctgcag tgtttttag cctcaagatc agtgaggga	4740
tcttcgggcc ccagcatgc aggaccgaag cccccgagac agctgtccct cagtccaag	4800
gtccccattt ggaagcagcc acaggaggcc taagggacct atacccttgg tttaggaag	4860
actgtggcga gggagagagg gagggagggc tggcagttag ggcaagggtc gggaaaactg	4920
agcacgggca cagtgcggga gcgggtgggt gcccagggca gccaggggcg cacgggttgg	4980
gaggcgccag gcggcccgcc ctccctgcac ggcccgccc agcttccccg cccctggcgt	5040
ccgtccctc ccgtcgcag ctacttaac ctggccggg cggcggaggc gctctcatt	5100
ccctggagcc gcccgctgc ccgtcggctc ctagctcgt cggtgcgct cgtcccgtc	5160
catggcgctc ttctgtcggc tgcctgctct cgccctggct ctggccctgg gccccccgc	5220
gacctggcg ggtcccgcca agtcgcccta ccagctggtg ctgcagcaca gcaggtccg	5280
gggccccag cacgggtaag ccgagccgcc tggccagggg ctgcggaagg tcaggtagtc	5340
ggggctcgga gcgaagccg ctgggggcat tgaactgggc tgggggcgca ggggacaaag	5400
cccgaactaa aaaccttgca gcatggagcg ctcgacacc agccctgcac gcggtggaag	5460
gagagaggga gggagggtga ggaccatgga gggaaagcgg gaggcccgcc cttttagaa	5520
gggagtgggg aagtggacca gagactttcg acgcaggcca agagcctgag acggacagcg	5580
ctttcagctt ctctcccag ccactgcaga aagggggaaa tggcaactct ttggccataa	5640
tcaccgtggg aggttgccaa gggcaaagcc caccagcag tacacctatt ccaaccagc	5700
caggccccg gccagcgact ccagacaaga acctgggcca cacacggtgg cagcatctaa	5760
ggtgccccag gctcctgtgc tcctggccag gcctgcact cagacactgc tggcacccga	5820
cactgtcttc tgggtacagc aagggaatg tggcacttct tgtctgccc gatgaagagc	5880
aggagaatgc actgggcctt cacacacact gttcaaatgg ggaaactgag tcctgagtgg	5940
ttccacttcc ccacagtcct gaagtgtgca ctggagccag gattggagtc tgtcttaaag	6000
taatagctgg gtttgtaaat gtaggacact atcattgcag gaattccttt gagaccctga	6060
agatgtgttg gctttaggag acaaaactca gcagaaggtc tggcttgata gtggccctaa	6120

tactgaccca ggcagaggca ggcaacattt ctacctcaaa aaccaggcca tacctgcgtc	6180
acaaatacc aggttttctt gcagcttcca gcctacctgg ttgcaccaac ttctttttca	6240
taactaggta aaactatata tgagtagaat ctgttagtga ctctcagag gaagcctaaa	6300
taccatcggg gtctggcggt cacaccaca agcaatgccc aaacctccaa gagactgggc	6360
agatctgtgc tcaaatcaaa actcattgtt gggggtgata gatttgactt cacaggccct	6420
gaaagtcttg gctccttgca ctaggagtgc tctgggtacg ggtacaggct gccccttgta	6480
gggcatagtt gctcttggtt cctctacttg tggttttatg gtctaggcct ttcaggagtt	6540
tggggctctg gcggagaggg cctgctggga gcacatctgg ccacctgca gagtgaatc	6600
aaaccaggcc tggctgcaac ctcaacaccc tcttgaaag aggagaatac tggggatata	6660
ctggggcttt tctggaagtg ggagaatcag ctttgacttg ggcagtgtgc agaataagat	6720
gaggggggat gtcagaaaga tgagagggat atgaggcctc aacatcaaaa tgcaagcacc	6780
tggcattttt attatctctg cccacctctc cgttggctct tctgcctttc ctgccaatga	6840
attgtgttat gtttgggtgc ctcaatttgc ctaggagggt tctatttctt ctgtatcttc	6900
gccactaagt caggagaaga tccttatagc atgccctgca acagtgtcac ctgtaagggc	6960
atctctctgc acagccacag tgaaggatcc tcaaaggtat tgagggcctt ccatcaagag	7020
ccatctttac agcaaacctc ttcccttca gagcccagaa gagtgtgac cagctggaaa	7080
acagggtttt ttctttaaat gcagatgctc ttgattatga gttccagata ttagatcaac	7140
ttccccacca taccctgca ggcaaaacct cttaattagc ttctgcagc acagtggaa	7200
aggcctattg taatctgtga tgggcagagt aatctaagaa gtcacaggag caccctgtc	7260
ccagtagaat ctggatgcgc aggcatatga accatggcaa aatggttgca ggcacagttg	7320
tatttactct gatctaactg tcctgttaa tgccacaggg ctgcctggcc tggcacacag	7380
ggctgtggcg ccttgtgcaa atggataacg ttgttctagc tccagccttt cattcaaagt	7440
gaaaactgtt agaaaggga ggaacttt gctattttaa ggaattgtag cgtgtgcct	7500
gatatgaagg aagaaataac agctgtgcct tgcttgtgcg cagcactga ttgccgttt	7560
tgctttcgac ctaccacaa cacagtga tctactgttc atgttccat ttacaggag	7620
gtgaaactgc agcttagtga ggtagagagt gacttagttc agacacagaa tgctgttggg	7680
agagtaataa ctatgatatg gtctcttgac tcccagctat atctgtgttg ctataggga	7740
ggggaaaaat aactgaaa gagaagtaaa aatacaatca cacttccaaa catcaaccac	7800
caaaaactga actgaatttc ctgaagcact tggttttcaa atctaagctg aacatcaatg	7860
ctgttattct tgaggcccag aagcaacttg ctattttcaa ttaagcttca gcatgaactt	7920
cctatgtaca cagcccccc acactccccg atgtgagaag gagagggtca cagccgcccc	7980

cagcctctgc tgctgccaca aggacagcag cagtggaaac attcagcaaa ggaatgttgg	8040
agccacatcc acaagagact cactgaagat tcgccaacg cctacggaaa gtggcaggga	8100
attcattgac agtaattgtt tcctgcttga tcagattgaa gagcttctgg gattctgtaa	8160
caataaatag gaccgggggc tggagtatgg ccagcaagga ctcttcaggg gttattcagg	8220
gactgtctaa cctgtgaatc ctaggcagca aacagaaacc aggtattcag aaatctggag	8280
gatttggta gggccagcta ggactaggga ggcatgggcc tctgctggct gtggtccctt	8340
ctccagcctt cacttctctt gtccttagat ccttacatgg attcattaat gctcattgtc	8400
cctcctgggc ccactcactt tcacctgttg aacaaaaaac tggccaagag gtgacagtca	8460
tatcaccgca gaagagacag ggcagagaaa tgaaggggca gaatggactc ccacccaaaa	8520
gcctgactct gaatatttga gaattgttca agttcctgca gaggaatcat gatggggaca	8580
gtagggttag ttttactgc aatattggtg tcttcttaac aaatacgtg cacatcaagt	8640
gatgtctgtg gatggcattc ttaaagtaac agggaaattg atgttaaaga aatacttcat	8700
cctttgggtg atacctgaag ttctctgagc ttggaggtct tgtgaaagcc ctcagtattg	8760
tttgttttat ttgctttcct ctgacttgtg attcagtcag atgcatgcct gcctctggct	8820
caggaagatc aacctctcc tgactgacca cgcctctcct gactgaccac gtagcacagc	8880
agcttccttt ccctaggggc tcctaatgaa gctttcaca tcacctggcc tgagcacagt	8940
ttgggtcagg acttggtata cttgaaaaa acatgcaaaa ccaaaatcct gtggttctgg	9000
aaaaggttc ttagcagaac cccagacat ttacactctg cttttcaca gggtcctga	9060
ggattctttg gatctgggta gtttggggag cagtattttc aacaagttca tttcgtgctc	9120
cttctacacc ctgcctggat gctaggcccc atctagaatg tgaacaacag aacaaggcag	9180
aacacttgtc ctcaaggttc tgttgagtgt tagatgcaga gaagagacac cccccacctc	9240
cccgcatac ttacaggaat tctgtttgga acccaacatc aaataaggac cgtatccact	9300
gtcagaggat gggaagcagc atgtcatctg ggacattgga gaaaggctcc tgggggaagt	9360
gggacttag ctgtgatcta agtaatgaac aactgagagt taaatgggag agcatccct	9420
atcagggtcc tgagagcaac cagccatggt ttaaaccagc tataaagcct cgggtttata	9480
ggatagacag taacaatggc ttgtctttgg gagccaagca gctggtcag gcatgcagag	9540
catgtctgta tggagagctg cctgagagat gcttttgttt acacttatca attgccatg	9600
tcaaagaagg atatgtacat gaagtacat cagtatgtaa gagagatttt aacaattttt	9660
gcaggggaag ctttcatggg ggctgatggg aatctaggta aacagaacca aagtctaaac	9720

ccaagatata cccagtagca agactgaaat gactctctcc tctatctcta gaaagtcca	9780
gtgaccaag gaggaaca cgatgggagt cattaaagt gggtaggagt gctgacatc	9840
ttcctaattc tgctgctttt gttttcagcc ccaacgtgtg tgctgtgcag aaggttattg	9900
gcactaatag gaagtacttc accaactgca agcagtggta ccaaaggaaa atctgtggca	9960
aatcaacgtg agtatctgta accagccagg agaccaagct gtatgcacgc tggctgcagt	10020
tccccagggc ctgggccagc cttctagaag gtcaggttgc ctaaaaagcc atgaagatgc	10080
atgtgcgaac atgtctggga cctgcgtgct agggagtggc attttagga agctggccaa	10140
ttttgtttt catttttaag gctgctgaca agacttggag acatttttca gggctggttt	10200
gggtttgcaa gaaacatgaa acactgcgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt tctcaatcct	10260
cataaataa tacagatatg cagtggagaa gccaccagca tgtgactctg gaaaagaaag	10320
cccatgtgtg aatctgtact aaagaatgcc atccctatct tacagtctta aggtaaacac	10380
cccaaaaaga cttagagcac taaacatatg cagattatga gacagcatag catataatat	10440
ttgcacagac ttctcattc aaaccctagc tctacctggg ccagtcgatt catctttaga	10500
accctccatt gctttacctg aaaagttcgt ataacaaaag gaccacatt atgggttgt	10560
tacaaggatt gaatgaaata atgtacataa gagactgaat atggtagcca gcataatca	10620
gtgtcaata aatgctagct actattatta ttatcacct agatttgcaa atctagacca	10680
cacaagcaga agtaagagt ccaacggggt gtggaccagt gtggttaca tagggttgt	10740
tgatgtctgt ttacgaagg agggaggcag cttttacccc actgcccagc tcctggtgg	10800
aatcaggtgc atgttctaac aattctgggg aaacctaatc tgttttgca ctgtcaacag	10860
atctcaaagc tggctgtctc ctatagctag gaagatgtgt atgacaaatc tcctgagcca	10920
cttgtgaagg cctgacctc ctctgtctc catacataat gggatgatta agaaactcta	10980
agccactctc ttaagcatt ttcaatgta gggattttta agtttattgt tgtgacattg	11040
cttttagca gacatctct ccaatttaat agccaactga aagaagagaa aatgctcttt	11100
ccttaaactg tatgtgaaa taaatattcc aatgtgtgac cctgattatg ttaggcaatt	11160
agcaatccta atatgaattg agggaagttg ggattcatgg cacagctggg gagataccag	11220
cagtccttgg gagcctgtcc agggcaggtc catggcagct tgctccatgc ctgattgaca	11280
gcccagcctg caagctaaaa gttgagttag ctaggaggac acactgcaa gattcagcta	11340
acagacaccc agcgatatc ttgctgctat gaacaaaagg agactatgca aattatacac	11400
caccattct tccagatgc ctgacttaaa aaataagaaa aaagatgggc cgggcacagt	11460
ggctcacgcc tgtaatccca acatttggg aggccgaggt gggcgatca caaggtcagg	11520
agacagagac catcctggct aacatggtga aacccgtct ctactaaaa aatacaaaaa	11580

tattagcggg cgtggtggcg ggcacctgia gtcccagcta ctcgaggagc tgaggcagga	11640
gaatggcgtg aacctgggag gcggagcttg cagttagcca agatcgtgcc actgcagtcc	11700
agcctgggtg acagagttag acaccgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaag aaaagaaaac	11760
ctttagtact gattgatttt ttcccatgtg tgtatattat ctactcaaat taacaattaa	11820
ttacttaatt aaacacaaag ccaggcctca cctaattgct tcttgggaagg tgaccagagt	11880
gctagtgcga agcaaacaac tctttatata ctcaagagcc ctgggcttca gagggccatc	11940
ttttttgtta attcaagttt ctctgaaaat ggagaccctg ttatgatgac aagctggcta	12000
cagggttagca tctgccacac tgtttcgggg gtgccgctgg gctgaagcat ttgccagct	12060
agttaacaat agctcgataa cattccctat cagtgtccag gctgagaata ctgtcagtga	12120
tgagtgcctt tggctcttgt acctgtatct ttgtgtgcca ggacaaggca caagcaacag	12180
agctgtgtgt tgccaaaatg ttcttgatga gcagggtcaac ccctcggggg caggtttgga	12240
tatgataatg tggtagatgt gtggcgagc tcccttacc agtgagcaca aggggagtc	12300
tctagaaaaa ggaagaaatg tctggatgag gtggggagat ggggttcaga gtggactcag	12360
gcaaagcccg atgccagtc ccagctgttg gcctagtctc acaaagccag aaggatatga	12420
catttacatt caactctga atttgtggcc actgctttgg gcaacttcaa agagagaaaa	12480
tgaagataga aaaatattat ttgatataaa acttctagga caagagagc ctttcttgga	12540
acattacatg tagtattagg aagggtggagc tgccttgga aagatccaga gaactcagag	12600
agaggaagag gtggaacca tctctgttct ttagagagc tcagtaagag tggcttgga	12660
gggctcctgt gtacctgaga ccaagaccag tgaggaggct actgtctgac caccatacgg	12720
tcagaattca gtgccatggg tggtcagggt ggaaggggag aggactgtgc tggctggagt	12780
tgatgttata ctggggaaa taggtcccta gatgccttta gttgagttag gaggagactg	12840
ggaaatggga gcacagtagt ggttggggca aaaaggactg tctctgcatg aggtccatag	12900
gcagttagaa ttttctcagc aagactccag agaaggagc tggagcagag gtgtatgttg	12960
ggatgaaaag gagtaaaagta tcatggggga ggaggcagct caggttgtca aggtcaaga	13020
aaccagaagg agaatttcac cttggaagca gacaacgggt accaagcata cagggaata	13080
cttttgggtg agaggtcaca cagagataga ggagccgacc tggtagaca ggagcctgga	13140
gccacctgcc tgcctttgtg agggcccgaga ctccactgct atcatcaggt gaagctctgt	13200
tgctgcaca caaaagcttt tctgcattta caaagagaga agggcctgag tttctggtgc	13260
aatgcgtcaa gctgacatat ggactttatt acaggaagtg gttaccagtg ggtccctatt	13320
tagtggctgt tattgtgaat ttattgttc ggaatttcac tttagcattt atttcagatc	13380
ctaaatagca ccggagtgat acaatggcta atcaaacaaa gagggctgtg gggagcagac	13440

agtcagcatc cccctctgtg atttcaggcc ctggtttgat tagtagccat aaaatttttt	13500
acgtgtggca ctttgagcaa aggtgcagga aattgtggtc aggaagcctg gctgcctctc	13560
gacaggcttc ctttgtcta gccccaggga gaggaggcct atttaacagc caagtccaag	13620
ttgacatcat gggactggaa tagtcatagc aggagctcag acatcataaa cgtggcatag	13680
ggagggttg tggaggagct agcgggtatg ggtggcagct attcattcca aaagtcttga	13740
aattgtttca cgagcaacac atttcacaag tgcgaagccc ttctctggag ccaagatgag	13800
ctggcagagc actcctgttt ctctagtagc aagtgttctt ttgccagggg gcaaaaatat	13860
taatactcct tcagcactgc attaatgctt aaagatttaa cttttaaaga gatcagctgg	13920
tgcatggtcg agcttttcca tcagctggca gggctttttc agtaggtgtc cttctgggca	13980
gggcactggg gacagctgac gtgaagggtga agaagagctg tcgttttcct cccttatatc	14040
ccacaacctt ggtcccaaga ggaaaaaaaa gaagatgggtg agaagtcac caagcagacc	14100
ccagacccat actagtgcct cctttcctgt ttcatatccc tgtgcagcca gctgggatct	14160
cttgaataat ctgctctggg ggcactgaga ttggacatac accaaacagc ggagatcgac	14220
caaacgcctc tgttgggcag tgtttcctga gggttctgtc ccattctgta aactaggagg	14280
ctgactagct gacaaggaat tttattctgt tgggtattta catgaaccta tgtgccacct	14340
ggggtaagac cctgtggtag gtagaaacat gacttcccaa aaatgtccac atcctaactt	14400
ctaattctgt aaatatattc ctttactgga aaaagagact ttgcagggtg gattaaatta	14460
aggatcataa gaggagaga ttatccagga ttatttgatg agtctaatat aatcatcagg	14520
gtacttaaaa gagggaggca ggctgtgcct ggtggttcac gcctttaac ccagcacttt	14580
gggagactga ggcgagcggg tcacaggagc aggagtggga gaccagcctg accaacaatgg	14640
tgaaactccc cctctagtaa aaaaaaaaaat acaaaaatta gccaggcatg gtggtacaca	14700
cctgtaatcc cagctactca ggaggctgag gcgggagaat tgcttgaacc caggaggcag	14760
aggttgtggt gagctgagat cgcaccactg cctccagcc tgggcaacag agcaagactc	14820
catctcaaaa aaaaaaaaaag agggaggcag tgggatcaga gtcagagaag gcaacgtgat	14880
gatgaaagct gacatttgag tgatgcaacc acaagccaag gaatgcaggc agctttctca	14940
agctggaaag gacgagcaat ggattcttcc ctacagcctc tgtgaggaat gcagcctttg	15000
attttaaccc cataaggccg atttctgact ctageccttg gaattgtaag ataatttgca	15060
tgatctcaag ccaactaatt tgtggttaatt tgtcacagaa agcaatggga agccaacaca	15120
ggccttattt gttgacttat agatgcattt ttctttattt caatgtactt ttatcaatgg	15180

tctcatgtag ggtattgctt tcaatgaaga tattaacata gtttcaactt taaggtttat	15240
atctggaggtt tctttagaag cttcacaact gaccacttag taaacagtaa gcatctgtta	15300
agtgtctctc atatgtaagt tcattcaatt ctcacaatca cactataaga taaatatgat	15360
tattagccca tttaacagatg aggagacagg ctcaaaagac ttttatgcaa cctgggtcaaa	15420
gtcattcact ggtaagctga ggaggtctgt ccacttcctt ttgctgcccc caggggggtat	15480
caagcctggc agttagtgtc agcgacttag gaggtgaaca agtgagcagg cctgtaggac	15540
ctggctaaac tgccccaggt ctctgtctac agcctcaaac ctgtggctgt gggtcccaga	15600
gacaaggcct cctcagcatc agagaaggat gcctttgtct cagggtcctc aaccttctcc	15660
aggttgtcct cccctgtctg taaaggggat cccaagacc gctcatcaga caaggagctt	15720
gggaactgag gagacacagt cagcctccag gagggtccaa aatgccctca catgctgcat	15780
acagattgcc acaataaag tacatccaca ttctgaagac tctgtctca tcaccaacca	15840
ggctggcccc tggtaggggc tgtagtgtt gaggcctttg ttggtagaca gtaggttaaa	15900
gcaagccatg attttctatt gggaggcttc agaactcagct cagctgtgtt tccaagacca	15960
ggagggcaga aagcaaacca tcccaggcaa gcagtcctat ggccatgtca gatgtctaga	16020
cgttatgggt ctgtgtttgc tctgccattc ctctcggaaa ctatgatgcc ctgtatgggt	16080
taccttcagt cacaggtgac tggcctacag ggccattcct tgttccaacg acttctcgag	16140
tataattaat cccagggcat ttacggccag agcagccggc caaatccgtg aagtgcagtg	16200
gttgttttaa attatattaa cttcttggaa acttatttta gggagagaaa actcagtact	16260
tctctctatc caatcttgag taaaaatgtt agaagggact ggtggagagc ctcccagaca	16320
tccctacaca tagactttgg gttgacatta tctctttgca ccttccttga aactttcttc	16380
taaattaggt gccttccta atttaggcac ctcccagta ctagtctgtg acctgttagg	16440
aaccaggcca cacagcagga gttgagtggc agggagttag cattattgcc tgagctccgc	16500
ctcctgtcag atcagcagtg gcattagatt ctcatagcag tccgaatact attgtgaact	16560
gtgcgtgtaa gggatctagc ttgtgcattc cttatgagaa tctaatgccc gatggctctga	16620
gatggaagag ttccatacca aaaccacccc ttccccctgc caccatctgg ggaaatattg	16680
tctaccacga aactgatccc tggtgccaaa aagggtgggg accgctgtcc taagggatct	16740
gctttttctg acctgaggtt tttctttatt agactgtatc tggctgagga gaagcctgaa	16800
gcctttaatc ggaacagctt tggctgatga gattagattc agaaaccaac agattggtct	16860
tttctatgca gggaagccta ggaactgggg ggctatggct gggaagcccc ctattgtttc	16920
catcctttcc tatgttcacg ctggaggaat ggcatcagac ccatgcctct gtgattgctc	16980
ccagcccatc caaccacagc atctatgttc tgctggggac cagggccagg gagcatggca	17040

cactgagctg agtataagga gagtggagca ggccactgcc agcccagaaa attttgggtca	17100
aagttgcctg aaatcttctc agccttcgat tcacagctgc tctctgctgc tctggggcca	17160
tgcagaccag ttcagaaaag agttaatttg ttggggcagt tggaggcagg tggactgcca	17220
gctttgacac ctccccagcc cacaggctgc tgcactgggg ctgaaggcgt ggctaacccc	17280
tgcacaccta gagagtgaca gagatgccag actgggcagc aggaaggcaa gaggattaag	17340
agagagcttc ctggctgaaa gccacactcg gttaaccagg aaaaagccct tggcacgaga	17400
agactcagtg gcctgagggg ctgagccttg gttgttgggc atgtgctgca taagccatcc	17460
atgtgtgaca gtagagtgtg gtccagccac tgtgggacat gggtgctgaa agaccacatg	17520
gagaggaaca gtgagtgtg acaagggtca gccttgatca ctttgagac accccctgtg	17580
tcttctagat gtcagacttt ccaaatctgt ctgctatcct ccaaacgtgc attttcaaga	17640
gcaatggaaa aaggattgga cttgatggaa tgcagcaaga gtcttaggtc tgttactacc	17700
tacctatgac cttaagaaac tcttcaccc ctcaagaacc ttacagcttt ctttctgatt	17760
ctatcctgag ttactctact ccaagctgag acttttctgc ttagatctat cccttcctcc	17820
taaaccceca acctccattt ctcttggtgt ctttctttac acaccctca gcatacacac	17880
acacctagcc acaggaacca atgagttaat atttaggag ttggttttct tttgtcctca	17940
atgagatcct ggtgaggcca cttgagctgt tcagctccct tgcggtattt tggggatgga	18000
actcagaagc caacaatata gaaaaagagt ctttggccag ctttcccagg ggctccatgc	18060
catagagagt actgcacccg tgtgcacagg gggccctgac atgaggactt tgaggataac	18120
actattcttc caactctgct tcagcatctc catggatfff cacacagaca ctttaggaaa	18180
gaaactaagt ttggggggac ttgacctaat cccacatcac agcccagta atacagccct	18240
ggaatttate acagaaagcc tagaatcca tgcataccc atgcatatgc atccctagtc	18300
ctatgggttc aaggcttga gctctccctg gatttagctg ggaaaagttg gcagacagtt	18360
cttctctgtc ttctagaaat atggactaga atcgtgagtg tgagattgca agtaactttt	18420
aaaatcatct agtttaactt caccctatft catagacca gaaactgaga ccagagagag	18480
aatggactt tcaagttcac cctgctagtt actgatggat cacaagtcaa atctctgat	18540
tctagcactg tttctcttac accacaccac ctttgaaagt gtgtcaatca aatcttactt	18600
tagttgcaga ggaatgacttt agtttctgaa gataaaattg tgagtcaatc aagatgagtc	18660
ccaagacaat agcctgttta gcccttataa gttcagggat gaaaggtag aaagaacag	18720
gatggaagga ggactggaga aaaaaacaaa agaggaagga aggaggagga agcaaacagg	18780
aaaaaaaaag aatgtgcata gcttgtcact cctcagtcac ttctgggag cccatttcta	18840
gcaaagtgc agctgcaact ccctggccac ctgagcatct tagctgatct gtctctgaaa	18900

cacccccctgg agaacagatg aatcaggcctt catcttcgct taactaagtc ttcctgaga	18960
cgactccatt taaatgaaca agagcaggat ttcctgggca cactgagagc accttcaga	19020
ggcccccca gagccctaaa gcctgtattt cttccagtcg gcctgtttct ttcctggtga	19080
tgtcattaaa cgcctttga gaggccaca gtgagcagtt ctgcggtaaa acccgctga	19140
attaaagtct gaggctttc ctgtctcaaa gggcatattc atatagaaga aaggaaaagg	19200
aaggactggc tgtttgcatt tggttccagg cctgttgagt agaggctgtg ctcactccac	19260
cgaaggtaaa gggtagcctt cagcagaacc tggggatttg gttttaagca agtctttctt	19320
aggtgtgggc tttcagaaca cttccttctt tgcaatatta tttgaaatc tcagtgtttt	19380
agccgtcccc agaataattg ttcgttaaag ctgtgtattt cagatctcca gacagtggtc	19440
actgtttgta tattttcaat ttcaaaccag aaaacaaaag ttcttattga ttactttttt	19500
tattttaaaa ataaaaagta agtatcttcg taaggaggagc tttgttttaa ttttaaagtt	19560
taaaatttga ttgtgaagac agagaaaaac ttgatgattg tagatatatt cccctctttg	19620
gctattcaat cagagaacta gaaaatcatg agagatttaa tgaccactgc ctgatacaca	19680
tatgtgtttt acagatgagg aaactgagac ccagagagat gatgaaattg gctgaggatg	19740
gcccagctgg tcagtgaag actcagagcc agagctgggtg cagggtctct tctattcctt	19800
cctgttccct ttcaggaaca ctcaccatcg gctttcctgt gaataatgtt gagataaaat	19860
ccttggtgca ttatgtttc tagtcacaac attgactagg ctgccagagt cctctgttct	19920
cccagttggt tggtgttagg tgttggcagc cgccaggagc attctacaga acagaggagg	19980
agtgagactc tccttgcctc ggaaaggcag acctatgact tagcaaataa ctcttaagag	20040
gagagtgttt caccacatc tcctcttctt tggtgtgga ggcaacttag tggagagggg	20100
ccagatgacc tgtgaggaac agtgaagccc tgcctaacac aatgtatggt tgtcttgta	20160
cagatcatc agctacgagt gctgtcctgg atatgaaaag gtcctgggg agaagggtg	20220
tccagcaggt gaatgaatcc tccgggcctt gcctgttgggt gtgggtggaa gggaatggtg	20280
ggagagagga gtaccacatc aaaaggcagc agagtgtgaa tgggggcagt ggcacaagga	20340
catggcattc tccccacgtg cccactggcc ccaggctcta tgcgaggggc tgaggaaatg	20400
aagctggaaa cagcgattt cctgagctgc tcctcctggc ctcttacca cactggtgga	20460
gtagactcca actgtggcct gtccatgccc ttcaccagcag gcacaggctc aggtcaggc	20520
tcttggcctc tgcctctggc tgggagtgat tctaaacaca tccagcaggg tcagcctgat	20580
agcccatcag tttccgatca gctctgctag agagccgatg ggatgtggga ggagggggtc	20640

actgggtgggc tggcaacccc aagccatccc catctccctc tgtgtctaaa ctgggcctt	20700
tggagttcgg tagggagaag agccataggc caggtgggct caccagagt cagcagagag	20760
tcccacaaat ggttgactg ggcgaaagac agcatggcac ctgtgaattt tattagagct	20820
tttcttttag tgctacacac aagtgactgt acaggggagt tagtattttg ttttaatttt	20880
gaaatagagt catcttttgg tatctgcggg ggattgattc taggacccat tctaggatgc	20940
catatcctca gatgttcaag tccctgatat aaagtgtat agtatttga tgtaatctat	21000
gcatattctt ccatgtactt taaatcatct caagattact tataatacca aatataatgt	21060
aaatcctatg taagtagttg ttataccctc ttttaaat tttgtattatc ttttattgta	21120
tttcaaaaaa tatttttggg ccatgttttag ttgaatctgt ggggaagaa cccacagata	21180
cgaagggcc aatgtattgg ctattttttt agttaagaat gtgagactga ggccaggcgc	21240
agtggctcat gcctttgatt ccagcacttt gggaggccaa gaggggacga tcacctgagc	21300
caagaattcg agaccagcag cccgtgcaac atagttagac cttgtctctt aaagattgtg	21360
agactgggct gggcacgggt gctcacgcct gtaatcctag cactttggga ggccaaggca	21420
ggtggatcaa ctgaggtcag gagtttgaga tcagcctggc taacatagtg aaactctgtc	21480
tctactaaaa atacaaaaa attagctggg tgtggtgggt ggcgctata atcccagcta	21540
ctcaggaggc tgaggcagga gaatcgcttg tatccaggag gcggaggttg cagttagctg	21600
agatagggcc gttgactcc agcctgggca agaagagcaa aatccatct caaaaataaa	21660
taaataaata aataaataa tcatgagact gagacataac aggaaggagg gcaatttggg	21720
tggttccaag gttcctagag tatgtgatgg gagaggttgg tgcgggtggg gccatggagg	21780
tactgactca agtggaggga caggtgggga aatgggatgg gaaaagaaga ttgaccttag	21840
aaggggagct caacctctga accctaattt cagacccttc aaaatgaata ttaagctcat	21900
tttgggtctaa gaaacaaaa acaaatgaac atgaaactca ttttggctctt ataaggtctg	21960
agaaaccctt tctaaacttc aagctgcttt aagaaataac attttattac ctgcaatac	22020
acacagtact ttggagattt ataatagtct cttattctaa tagaagccat tagggaacca	22080
gtttcaataa acaggtaaat ctgtaagact agtttgtaat taggatatct gtttcagtg	22140
tccattcttg cctctgttat ctaaagtctt gggaacaaga gctgtgctct gctgtgttta	22200
aaatgattaa aaatcaccaa ttagttgagt tcacgtagac aggcatttga cttattgagt	22260
tgttttaaga agactataac aagccttaag ccccccagaa acagcctgtc tttgggcttt	22320
cccacatgcc tctcgtcct ctccacctgt agatgtaccg tgctctctgt cagagaaggg	22380
agggtgtggg tgggctggac cccagaggc catccctcct tctgtcttct gctcctgcag	22440
ccctaccact ctcaaactt tacgagacc tgggagtcgt tggatccacc accactcagc	22500

tgtacacgga ccgcacggag aagctgaggc ctgagatgga ggggcccggc agcttcacca	22560
tcttcgcccc tagcaacgag gcctgggcct ccttgccagc tgtgagatga cctccgtctg	22620
cccgggggac tcttatgggg aactgcctta ctccccgag ggggtgggcat gatgaatggg	22680
agtctgcagt catttcctac tgtttcagga agctttctcc ttaaccctt agaaaaggct	22740
gtggaacttg agctaaaata tgtcttacca ggttgcgtct aatgcccc gttccctact	22800
gggcagaaag acttgggtgc ttctgagga gggatccttg gcagaagaga ggcctgggct	22860
cacgagggct gagaacatgt ttcccagagt tgcaaggacc catctcttaa acacagagtc	22920
tgcagccct aactgacacc ctgtcttcc tcttaggaag tgttggaact cctggtcagc	22980
aatgtcaaca ttgagctgct caatgccctc cgtaccata tgggtgggag gcgagtcctg	23040
actgatgagc tgaaacacgg catgaccctc acctctatgt accagaattc caacatccag	23100
atccaccact atcctaattg ggtaggggat cccagccat actgcatggc ccttggtgca	23160
taatgaacc atttctgttc catgtgtggg ctggtttctg gggtttaagc tgtagacaac	23220
ccacctctt tgtgcctgct tctccttggg cctctattc cacagcttgt ggaaccaca	23280
ttttgtact gtgtttgaaa acactgtttt ctctcccg ggctttggga ctatgcctct	23340
gttgtgttga ctgctcatcc ttgtgcttc tctgggcaga ttgtaactgt gaactgtgcc	23400
cggctgctga aagccgacca ccatgcaacc aacggggtgg tgcacctcat cgataaggtc	23460
atctccacca tcaccaaaa catccagcag atcattgaga tcgaggacac ctttgagacc	23520
cttcgggtaa gggactgcc tgggtggagg cccaggcttg ggacacattg cctccaaga	23580
ggggcctagc aggaactctt ctgcaggaga ggtagaggat ggctcctgta ggggaacata	23640
gagcaggttc cctgaatgc ccttgaacat ggagaattca ttgaccagac attcagcttg	23700
acctaacctg tgaattctc catctcttt ataaagtgt ccttcttg cctcccttg	23760
aaaggtcagt ggtgtgtggc tgcagcagca cagtgtctc tgagccctgg acctgcactg	23820
tggcttccag aggtggcagt tcccatgg ggtactagaa taaatggcct atcaggctgt	23880
gtgtgctttg ggtacatg tccccacct aggacctgg ttccaacct acgcatgtc	23940
tcttgagcc cagaacagca gagaagccac cagtgtggac acagaagtca aggtctgat	24000
ttccagcctg gcttctgact gctctgggc cgcaggaata cggttcttc ccccatgcc	24060
agcaggcatt tgtcttaca ctggagggga aggcattgtc ctcttgcaa ggactgtca	24120
ggaggaagtg gaggcaggct gccctgtcag ggtttttgcc ttgattcaag gagaacttc	24180
taaccacaaa ggatacaagt gggagtgagg cggacctcc ctagagatct ccaacacaga	24240
gagacaaaca cgtggggct ggctggcact gacaggctc gcagggtg atggctgtta	24300
gctgggagct tcgtgtcta agctccttc ccatgcttt cttctgggtt gctcgaagga	24360

cgggggtctg caagaaaatg atgttccac atagttggca gcacgtgaac agcaattgat	24420
ccctttgcat cacctcctct tactgttttag atttggtaaa tatttcttcc ttcctcttc	24480
tgacctcca ttttgccgat ctttcttct tataacacat acttactagg tacctgctac	24540
ttcccggtg ggcctatgtg ccaggagtat agaggtgaac aaggaaggca aagttctatt	24600
ctcagtagag ctaatactct atctggagag agacaacaaa caaatcaaca aggtagccag	24660
gggctgtgat aatttatgtc aagtgggcag gtaaactcggg agtgacagta gtgcaggag	24720
gattggaaag tcaggagatt ctctctggag gaggtggctt ttgatctgca gcctaagga	24780
tgagaatggg tccattatac aaaatgctgg ggcaagagca caccagtag aggggagagt	24840
aatagcaaag gtcaggga ggaaggcaa gggagaggcc agtgggtgag gtcacatgtg	24900
aagggcatac aatgggcaa gacaaggcca gattggccag gcccaatcct ccaggacttg	24960
cagacctggg aaagagtga tctccatcct gggagcagca ggaaccact caggccttta	25020
gaagatcctt ctggcagctg tgtagagaat ggggtggtgtg atccttccat gcatgggctc	25080
atgtacgtga ttaccagtaa ctgtcgagt acagtgtgag gagggctgca agccatgagt	25140
gtaggcacag cagacagact cacctttgtc tggcggtag atggggtggg aagtgtgcca	25200
agttgacctc ccaagaaat gatatcttag tggaagaatg aatagaatca gagaagcaa	25260
gtaagagga agagcagaga ggacagcagg gacaaggact tgggggcagg aagaggaaag	25320
gcaggttaag gacatgaaag atggccaggc tggtggagc tcaggccag caaggcccc	25380
tgggggcat ggtcatgggt gagcttgggt ttggcttctg ttttcttctt gggcttctgt	25440
gaaagcctcg agcccttgcg gggaaccagt gaagctgtgt gtgcatcttc tgtggggagt	25500
gccagagtct tcaggagca ctccatcttc tctctcccc acaggctgct gtggctgcat	25560
cagggtcaa cagatgctt gaagtaacg gccagtacac gcttttgcc ccgaccaatg	25620
aggccttca gaagatccct agtgagactt tgaaccgtat cctgggcgac ccagaagccc	25680
tgagaggtga gcatccttg gctcctgtg ctgcctcatt tgtgcagcta gattgagccc	25740
aagacctgct ctggtccaag atgaacatac cacctgccat gaggtgaccc tcaggatatac	25800
cactgcagcc atgggctggg gtcacctgt cctgttgctt cagctaaccg tgtctctagc	25860
agccacacta ctctgagggc tgactacaga atccagcagc ttttgtctgg gagagctgga	25920
ctgaagagag gcatagctgg agaccatag ctggccctgg ccagaaacag ggagagtga	25980
aggctggaat agccaaggcc agagcaaggc taataggtag agcaacagct tacaggtgtg	26040
ggggtggcag atactggcac ccttgaaatg gattcctcat gccacgctt cactattctt	26100

ctctgtggct aggggattta tggataaacc aaaattacag ttaaaaacca gccataggcc	26160
aggcacagt actcacgct ttaatatcag cactttggga ggacaagggtg ggcggatcac	26220
ctgagatctg gaatttgaga ccagcctggc caacatggcg aaaccccatc tctactaaaa	26280
atacaaaaat tagctgggca tgggtggtggg cacctgtaat cccagttact caggggctga	26340
ggcaggagaa ccacttgaac ccaggagggtg gaggttgcag tgagccaagc ttgcaccact	26400
gcactccagc ctgggtgaca cagcgacact ccgtctcaag aaaaaaaaa aaaaaaacag	26460
ttatagtagt caacttttga ctctccattt cagatttcgt catgccctcc tcaatgagct	26520
gctaagttag gcagtgcatt gattattgct gcaggagagg gaaggaagga gctaactgtt	26580
tttccatgt tttccttttg gagatgagaa aggaggactc tgccttcccc ctacctgcc	26640
cctttctact ccaggacctc tgaaaggcca tgagcacaaa gctgctgcct gagtccctg	26700
aaatgcaggg tacgccccag gtctctgatg taccacacca cacttttcct ctcaaacata	26760
ttccaggatc acttgatttc ttttgaatct atttaaacc accgtgtcaa tgtgctatat	26820
aaaatgtcta atgcatttca gacacctat acatctatac atttaaagtg ttctccttct	26880
atctgtgcag ggatgggaaa gggcatattt ctgaaagcac agatgggaag acgggatttg	26940
ttccgtgtcc aggtgattat ggtacctcta tgcgcctggc cggcactggg gacagaggcc	27000
atgaaaatga atacagcaca gcctttgcct ccaagaaact taagacctag tagaaatggc	27060
aggctttaa acaggttgtt gggatctgat ttggtgagt caatgacaga gatactcaca	27120
gcacaaaatg gggaatgagg gcgggcattg ggacacacat agccttaagg ggcccaaagg	27180
cttttagaac tgtattccct attaaaacat gatttgcaca gagcacattc ttgtctttgg	27240
agacctcaga actccttact ataggccggg catggttata atcccagcac ttgggaagc	27300
caaggcgggc agatcacttg aggtgagag ttcaagacca gcctggccaa catggtaaaa	27360
ccccgtctct actaaaaata caaaaattag ctgggtgtgg tgggtggccac ctgtaatccc	27420
agctactcag gaggtgagg taggagaatc acttgaacct gggaggcaga agttgcaata	27480
agcccagatc atgccactgc actccagcct gggcaacaaa gctagactct ctcaaaagaa	27540
aaaaacaaaa caaaacaaaa caaaacaaaa aaaactcctt attataaact gtaagaaaaa	27600
aaaggccctt acttcgtccc ttttgcaaat ctgccttttc ctactcacta accagctggt	27660
tcagagcaag gacactctgt ttggtgccat cgctgcagac tggaaggaag aggtccttgc	27720
cccacacca acagtctcct gctgttaccg gcaggttggc aggcaggcag gcgagaagca	27780
gccagggtg gtggtgtgtc cagtttgaag actagtttcc agccctggcc ctgctcaccc	27840
tccaagtggc cctggcaggt tcctctacca catcgtggac ttacacttcc ttctctaaga	27900
agctcaatcc ccaaggcctc attcccatag gccttctcac cctttttctt tcctctggc	27960

tgaatgtggc cagcacgggc ttccaaggcc atcaactcgt ctgcagcagc cccatgcctt	28020
gcagggcctc agagcttctc cctgcctatg acagtgtggt tttggttccc acacttggga	28080
tcagattgaa actcgcctcc gtggtgagaa tatgggacat agagcctcgg tgaccttggt	28140
gagcagcagt ccaggccacc tgctcagcct ggggttgggg ggggctctc ctccttgact	28200
ggctcttgca tttgcctcca tccagcctgt ctgggctctc cgaggcaatg gagaccagca	28260
ggagtacga tgggtcagga gccccctttg ggcctcagcc ctgccctgcc ccctaaagta	28320
gcacttggat aagcaaataa attattatac ttactattta tgggtgtggt gaatgggatg	28380
gcaaaggcca agtcttactg atcaccaaac cttaagatat atcctggcag ctagtagacc	28440
cttgggctaa atgaacagaa aactggacaa ataaagtga cacaataac tcaaagctgt	28500
catttgtaca ctttctgtc tttctacta cagtttcat tttataaag gtgagtagat	28560
ttctaaaac ccgtggtagg ctctcttgag ttttcttgt atccctgaag ttcagctaca	28620
aataagctaa tcactaacat ttgttgagca ttactctgt tgtcaggccc cgtgccgagt	28680
gctttagggt cagaatttca tgtcatcccc acagcagccc taggagatga atgcaattct	28740
tatgtccact tgactgataa ggaagttag gttcaaagag gctaaatgac tctcccaggg	28800
tcccacagct ggaaagtggc cacaggggccc cagctggttt tctagggcag caggcagaag	28860
gcgaggagga tctgggccct gtggtgcccc agcctcatct gagggctctc atctgagaga	28920
acaggatcct cacagcatgg gcaggctgca agtggtcctt gaggttatcg tggagtggac	28980
cctgacttga cctgagctct tttggacccc agacctgtg aacaaccaca tcttgaagtc	29040
agctatgtgt gctgaagcca tcgttgcggg gctgtctgta gagaccttg agggcacgac	29100
actggagggt ggctgcagcg gggacatgct cactatcaac gggaaggcga tcatctccaa	29160
taaagacatc ctagccacca acggggtgat ccactacatt gatgagctac tcatccaga	29220
ctcaggtagg ccaggcctcc gggggccttg gccctgcctg gccaccatc tcttctgcca	29280
tcctttgtgg cgggggaggg gaaattcaga gatctttggg cgacttccct gcctggaccc	29340
agctcacagc ttctcgcca ctgcaaatgt gtgggttgtg accagactga tgtgtcttga	29400
gcttcaggct tgcaagtga gtggagaggc agtggggagc tattgaagggt gtctggggac	29460
agactcaatc acagaggcct ttcagaagat ctgcctgtctg tgcatgggca aagagggcca	29520
cttgtgacc tcagagcatg tgctttctca gtagtgccca agctgtccca tggctactga	29580
cccagttaga atgactgaat ggactttggc ttgtgtctca ttaggaatcc tagccccatt	29640
ctagtcttcc agtgagatct gtccatgagt gaaggaatct cacaggaaaa aacaaaatgc	29700
ttctatgggt gtggttgtct gccttatcta caccacagaa gccatcacac agactgtctt	29760
tcttccatt gttagaatgt gccctgacca agcagccac agggcctggg acagaggctg	29820

atctctgcct aactgagctc acctctcttc cctctctccc tgactggtta gattttctag	29880
gtgactgttc cctgatgac acaagcccg cgggccccag cagtgttttag aggggttgtt	29940
gactcacgag atgacattcc tgctgatgtg tgcatgccc tgggtggat gaatgataaa	30000
tgaaacagc gcttttaact ttgaaacca ctttctctt cttgttagcc aagacactat	30060
ttgaattggc tgcagagtct gatgtgtcca cagccattga cttttcaga caagccggcc	30120
tggcaatca tctctctgga agtgagcggg tgacctcct ggctccccg aattctgtat	30180
tcaaaggtaa catggggaag gcatccctgt tagattgtcc ctggaggcag cttccccacc	30240
cctgtcacct ccacaacact ctccgattta cagcacccca tgggacatta gaacttcac	30300
tcagctcaac caaaagcaga tgtgacttca gcagaaactt cagaggctct gtgtttcat	30360
taggcagtgc agagaatgcc ttgggggagc cgttctcag aactcaagac ttgacatctg	30420
ggaggcagcc gttcctcaga actcaagact tgacatctgg gagagcagag cattcccttg	30480
ctttctatt tgcagggtca cttgccaatg tatagtcaag aggtcagagt gaggttacag	30540
ctgagctgca gccccaggaa ggcagagaag ggggccaagt tgtgtgcgtg cctgcccttc	30600
cctcttaggg caaaactcca aacacccttg attatctgga tcttctttaa ttctccatag	30660
aagataccag atgttaagga atattggcag cttcacttgg tttctcaatc cctgtttcca	30720
aactcaagga gggatgggct ttttactgt atttatctct catcactctc ttcattgcag	30780
gagcacatct ctctggacct aaccatcacc ctttcttgta gatggaacct ctccaattga	30840
tgccataca aggaatttgc ttcggaacca cataattaaa gaccagctgg cctctaagta	30900
tctgtacat ggacagacct tggaaactct gggcggaaca aaactgagag tttttgttta	30960
tcgtaatgta agttctgggt cctaaatcat gctcctggga agctccttac tgtgggactt	31020
gtattagtgt aaaaaaaaaa gtctcctaata agcaggagtt tgcatgagaa ctggttgctg	31080
acaaggaagg aaataatttc tggaaaatat agataacaaa atgagatcct gcagaaggat	31140
tggaatctct tttctggag gcctttgaga ataaaccaca caattatcca acctgtattg	31200
tgaaggaata agtccttctt gaattcagga attaacacct gggaggaggg atggagtcca	31260
gactctttct gagcttatga gaagagaagc ccctaaact aaaatacagc cctccttgg	31320
ccaaaagggt cttctctct tctgtgtat cttctttgtt ttcaaacca acagttaccc	31380
tggaaatcaa aaaggaagta caactcaaca tagctcttgc ctgggacca ccagccat	31440
ttggctaag atggttatca tctgttaaac aaagaaataa ataatgggt tcaacgtatt	31500
tatttcaaca ttgtcaatgg acctcatgtg taactgatat tctcattatg ggacctctgt	31560

gtgactttat tggggcctct ctaaccgttc tttccttaag gaagaccatt tattgtttta	31620
tttcctggag aaaatacatc attttatccc agccttaata acccatccca gtgtatactc	31680
cttcactctc atggataatg accctgctac atgctctgaa caaatcagga ggcccctcgt	31740
ggaagtataa ccagtccttt ctttctctgt cctcttctg tgcagagcct ctgcattgag	31800
aacagctgca tcgcggccca cgacaagagg gggaggtacg ggaccctgtt cacgatggac	31860
cgggtgctga ccccccaat ggggactgtc atggatgtcc tgaagggaga caatcgcttt	31920
aggtaattag ttccatcccc ggggtggagct tctgccaggt ggtcatgctg gagtgggatg	31980
tggggcccca gctatttgtc aagctttctt ctaccttggg gattcaatta acactagcag	32040
tgcactgctg cgaccttcca gacttgggat ggggaaaagg caagggtcgc cttgaaagct	32100
tacattggga agaagggtta cttctaagag tgtaatcttc acatgcatgg gaagcaggga	32160
ggggggacta catttttatg actgaagtgc aaggaaaaca tcacctctc attgtaaagc	32220
tccaagttag ccaagagcac atagtttaca gtgcacgatg agcctctcac tctctgcga	32280
glatctgttt attgcaactg aagcaccctt gtgagtttgt tttcttggcc ggctatctcc	32340
atttctgact tgctcattca ctttggggtg ctgtcatatt gaatgtttcc ctgtcactga	32400
cttcagccac ctgcacaagg gcttggagac cacaccctc tgccctccca gaatcatatc	32460
cctggaggct cagctagtct ctgggtcagc catacctctg ccttttctt tccctccttt	32520
ctcctgtggc ctctgacgtc tggccattta acagagctta gcatttttgc tgggtggaga	32580
gagctggagc ctggaatcac tccctctttg tgcatacgga gggcatgaaa accaaggtgt	32640
gtgcattcca gtggcctgga ctctactatc ctcagtgggt aggtatttaa ggaaaatacc	32700
tctcagcgtg gtgaggatatt taaggaaaat acctgttgac aggtgacatt ttctgtgtgt	32760
glatctacag catgctggta gctgccatcc agtctgcagg actgacggag accctcaacc	32820
gggaaggagt ctacacagtc tttgtcctca caaatgaagc cttccgagcc ctgccaccaa	32880
gagaacggag cagactcttg ggtaaagacc aacttaagta cacgtctcca tttttctaaa	32940
gtagtgatcc ctgagggcc cagcagcaaa cagttggcac atcaaggatt gacttgaagg	33000
gattttatga caagactatt agtgaaagag tgggcggggac taaaggaact agcaaaggat	33060
gaggccaacc agggactagc aaccttggga agcctttact acccctaggc ctgggggaat	33120
gggaggatga gagcaggaac caggagggtc atgagccttg gacaaggga cagaacagca	33180
gccagagcca tgtcagcca gccactgtca gaacctgca agggggacca ctcagcgccc	33240
cagcctccct ctgagacagt tgccatctgg gtctcttgtt ggctgatgag agagcaggag	33300
ggagcccact gatgcagttc atagagctca gcctcctggg caggaaaccg ggcagagagg	33360
agtagaaaag aattaagggt ggctgagacc agcccagtc ctgaggcacg tttcccactg	33420

gagacctatg agcacagtga taataaagcc agttacctgc actgactatc cctccagaca 33480
aaagctttcc caagaagtta gtcattggctc tgagagatct agttgaggat gtttggcagg 33540
ggatctagtg gttacgggtg gctaagaaaa atgaggaagg taagagtatc ttgcagcctg 33600
tgttgggagg attaaatagg atgccacaca cagggccagg cagacagcct ggtcagtaat 33660

agccatgacg atgggggcgg ggggagcagg aatgggagtt gcagtgttta gctcagatgc 33720
atgcctgtga gagatgcttc cactctcaca gaaagatgag accaaggaaa aggaggagga 33780
agaggaagga ccttgacaaa ccttggggcc cacattgtct acacctccct tctgtctcta 33840
gagcagaata gaaagttcag gttgcaggca gctctaagtt gaattcgtgt cctgtttaat 33900
tttctttatt gctaaatgaa tgcctgtgtc tgtgatgctg acgtatgttc ctaaggagag 33960
gggagaagtt cattctgaac ataaactttt catcctctct ctgtccagca agaattggaat 34020
attccccaag tggcctgagc cagcttggct ttctttttgt tttcaattat gtgggagttg 34080

aggaggggga tgggaaaagc ttcccaaaca caccctcccc caggcctgag gcacccttg 34140
gggacagaga gtgttagagg ttggtacagg tgtagagat attgaaagga catcccatgc 34200
accccagggg ctggtgtggc tctgtacttc caggcaatat tttgtggaag gggaaccttg 34260
tcagctccag gtgttgatg tttgaaaatc agttggtacc cagtggctcc atcctctggc 34320
aggcatgtgg atttgtcaat aaccaagtga actctccaaa ataagttaaa acttctctcc 34380
ttctcagttt caagatgctg gaaatagctg ttcataagcc ctggggaaat ttageccttt 34440
ggctggtaat gggagtatcc gagatgagag ggcagctgga aactttcgga atgacctccc 34500

acacttaatt tgggaaatgc ctctgcacct ttatgggcaa ccagatgcct gccccagttg 34560
ctggagacac tgatgtgggc tgaaaggaat gctgagacgt gacgaggaga gatgctgcgg 34620
agggaatata cccctcagcc ctgacctcat cggtccatg gctcctccac agtacagctg 34680
tctactcttt taagttctcc cttcaggaaa tagccatctc aaacagaatg tgcatttgag 34740
ggcagaatgt gtaaataattg cactactgtg ttataaccgt caggagccat gctgatgatg 34800
aaacgtccca gatgccggtg ctggaaggt ccttggcttt ccaagcaaat atttatctca 34860
tggaacatg agtcatactc acagaggagt atggattaac tccttctcag cagccaggga 34920

gcccagcatc ccagacagca tatttaacc agaggccaac tgactgctgg ggcagatttg 34980
tggtcatgaa catgtgcttt gtgtcctctg accattagac agattgtggg tcacaacgtt 35040
gagtatacag tgggagctta ataagtgtt attccctggg cagggagttc ttcatttcag 35100
gggtgaccac ttacatcttc tctctgggc cctccttgac caggctaatt accattcttg 35160
ggattaacte tatctcttt tccgcaacc tgcaggagat gccaaggaac ttgccaacat 35220
cctgaaatac cacattggtg atgaaatcct ggtagcgga ggcatcgggg ccctggtgcg 35280

gctaaagtct ctccaaggtg acaagctgga agtcagcttg gtaagtgtcc tgcaaatcaa	35340
aggctggcta aatttcccca gggcagggct ccaggacata tctcaccccc aggatggaat	35400
tatacacaca caaccttcaa gttgcagccc gaatctctga gtgtaattcg tccaaagaaa	35460
aagagaaaag agaagaggggt cttcagggaa atcaagttag atcatagtta gacatgagta	35520
agaacttcca gatttacaag ggaatagagc atctgatttg gcatctgaga gaggttatta	35580
gattttcctt ctcttaagga ggtttaggc aactagttag gtgactgaag agatcagttt	35640
glactcacac catcccccc cccaaacca gggcttcact gagttgtacc atgaaccaga	35700
ccatccaag aggttttttg agttctgaca ctgtctctgt gaggcttccc ttgtctgca	35760
cattgatgat ataactttgt aactgcacta agagtgttcc taaagcagat agccagccga	35820
gtccagaaa tctccctggc tgcacctgca gaggccactg acccctctgt ggagggaccg	35880
ctcttcagtg tgtggctggc ttctactctc tgtctctctc tcttggctct cagccatcca	35940
ttgtcacca gtttctcacg aggagcatag gaagatatgc atgtaggag gtaggcacgg	36000
ggatgacttg tttgacttta gcaggtcatt caagaatctc ctgcacctg gtttcagatg	36060
ctgggtcct gtctgtcaca ggcttctgtg cctctaccc ccttgagttt gtcacatggc	36120
ccttcaggaa ggctgagat agatttgccc tgggtgggcc tcctatgaga aaatcttaag	36180
tgaggcacc aggcaaatg gaaagagcct ttgcccaga gcaggaagcc tgtcttccat	36240
ttccagctgt tccacctact tagcttaaaa gaggcacttc gcctgtcttc agtctcagtc	36300
tcagtctct ctctgtgga atgggacaat aatattact ctcttatca tacactgctg	36360
tgaggactga gtggatcaca caaaaagca ttatgtaaat tgcaaagtgc taaatccaca	36420
caggagattt gaattaatcc accacactga aggtctgtca agggcagga ctgtttcatt	36480
caccagagta tccccagct aacacaggac ttggcatatg aaaagtgttc agtaggccgg	36540
gtgcagtggc tcatgcctgt aatcccagca ctttgggagg ccaaagtggg cggatcatct	36600
gaggtcagga gttcaagtc agcctggcca acgtggtgaa accacatctc tactaaaaat	36660
acaaaattag ctgggcgtgg tggcacatgc ctgtaatcac agctactctg gaggtgagg	36720
caggagaatc acttgaacct aggagcgga ggttgcagtg agtcgagatc atgccactgc	36780
actccagcct gggcgacaag attgaaactc catctcaaaa acaaagaaca aggaaaaaaa	36840
cgaactgt tcagtaaca ctgtctgaat gaataaaata aatatataa tgtataaata	36900
aatgctctac ttcaaccac tactctgttt ttcttttaga aaaacaatgt ggtgagtgtc	36960
aacaaggagc ctgttgcga gcctgacatc atggccacaa atggcgtggt ccatgtcatc	37020

accaatgttc tgcagcctcc aggttaagtgt cgcatcccca ctgactctgc agccagtcct	37080
tttcttcattg tggcagttgg tggagagaag aaaaactgtt ctaacaatg atgagaataa	37140
catgtaattg tgatagttaa actgtgccta tgtgactgat tgcagagtga attgggagct	37200
gttggttttg aatgcaccac actaaggaat gtgaggacac attgctcttt gcggagtgtc	37260
ccagctatat tagctccctc cggacacagc ccagttttct gtattcgcgt ggatgctgtc	37320
cgcgcatc ccagcactcc tcttacagca tctcacctca gtgtatgttc ctigcctcca	37380
gtgcagttga acctcagtc tgcctctcct catgtgtgca ttcaccttcc ttggtgctct	37440
ctcccatgg gccaaagtct accatgagtt atgaaacatt atggagaaaa catgtctttg	37500
gaaatgtgag ccagaaagcc caccagtgc cctcagtcac ggttggtatg aatgacatgc	37560
taatggtttc actctggcca aacctgcctt tttttctctc ttcagccaac agacctcagg	37620
aaagagggga tgaacttgca gactctgcgc ttgagatctt caaacaagca tcagcgtttt	37680
ccagggttaag atgcctgcta ggtttgcgcc tagcctgagc agcctcaggt cctctgtttg	37740
ggccatagag gagcctctcc agccccgtc ttccttggtc gctccccagg gctctcttaa	37800
aacttctccc cactccact gaggcatact cagccccagc ctgtgtcaaa ttcagagtaa	37860
agaaccaagg caactccctg gctttcatgg gccaaagcgc aggctttcac accgaggcct	37920
ctgagcctca gatcatgggg aagtcactgc tggagagaac agacatagct ctggaagcca	37980
tctgccaag agggcagccc atcccaagt catcttacag tggccaggcc tgccctgagc	38040
cggggcctct gggctactct tctgtgtcc atggcattgc ccatcctggg tgaggctggg	38100
gctctcctgg gcactgtatg tattctggat acagggatac tgggctcgt atgtgtgtgg	38160
agccatccct tcttgcccc agccccacct cctctcaaa cctctctgg ctctttctga	38220
gcttctttc ctgctcccca gcttgcccag tgctcagtc ccacttggc tcttttgcta	38280
cttcgggtca ggtggagcct cttgggaatg tgaagtgcct tacagaaaga ttgcacttca	38340
agaggagagg ctgcaggagg ccatcctaaa ccagaggcc tggagcttac tgtgtcactt	38400
tacttttgta cacaggggtc tcttagtg cctcgagaag gattcttggc cctgagcttc	38460
tactctgag gccacctctg tgcagcccca gctccctcaa ctctaggctg tagtctcagt	38520
gggaaagcct ggcttggggg tctcctagga atgtccacct gaaggcacac ttgatagggg	38580
cttgacaaac ttatgtctgc caaggccacc tgaggaactc cctggtgcct ataagttcca	38640
ccttccctt cctctctc gccccagcat tttttctgag taggggtggc aatgggcaaa	38700
gccattgtca taagcagttg caggtataac tttactaga aaacctgaca ccttgtgttt	38760
tctttcaggc ttcccagagg tctgtgcgac taggtgagtc tggcttgggt ttgaagtcat	38820
tgagacctg tttaggcctt accccaagc aagccaagc ctgccatctg ctgtatatag	38880

ataagaacat catggtgcag taaaagaagc ctggcctttg gagtcagaac agcagggtga	38940
cttgggggtca gaccagagc accccatttc ctctctgtga agatgaggat aataagagta	39000
acaacctttt aggggttaagg tgagttttca gcttaggaag tctgggaata ttgcaaaggg	39060
cttggcagga acccatggtg aggatctagt tccaagtga taggtacaga aaaccagaac	39120
atcgggcctt gagtaaagag tgaagtttca caaaccacaa agcacctgct atgtgcagga	39180
gagcatggca gaaggaggct gcttggccct ggtccttgag attctgacag tgtcctagac	39240
agacatgggg agatctgcac ctatttgacg ttaccaactt ctctttttca gcccctgtct	39300
atcaaaagtt attagagagg atgaagcatt agcttgaagc actacaggag gaatgcacca	39360
cggcagctct ccgccaattt ctctcagatt tccacagaga ctgtttgaat gttttcaaaa	39420
ccaagtatca cactttaatg tacatgggcc gcaccataat gagatgtgag ccttgtgcat	39480
gtgggggagg agggagagag atgtactttt taaatcatgt tccccctaaa catggctgtt	39540
aaccactgc atgcagaaac ttggatgtca ctgcctgaca ttactttcca gagaggacct	39600
atcccaaatg tggaattgac tgcctatgcc aagtccttgg aaaaggagct tcagtattgt	39660
ggggctcata aaacatgaat caagcaatcc agcctcatgg gaagtcctgg cacagttttt	39720
glaaagccct tgcacagctg gaaaaatggc atcattataa gctatgagtt gaaatgttct	39780
gtcaaatgtg tctcacatct acacgtggct tggaggcttt tatggggccc tgtccaggta	39840
gaaaagaaat ggtatgtaga gcttagattt cctattgtg acagagccat ggtgtgtttg	39900
taataataaa accaaagaaa catacgtcct gtgtgcatgg tacagtgtgc tgacctgagg	39960
ccgtcatgct cctccacacc tcaattctgc tctggagaag ctacagaaagg agccccgagg	40020
gatggttttg gggagattcc agcagccagc cctcagacag ccagacagct catgggggtt	40080
tgagcctgtc ttigccaaac aggtttttat ttaccctcc tccggtcctg gggtttcaag	40140
ttttcagtgt tgccttcacc ccgcacttta ttctcttat tacttggaag taccttcct	40200
ccagcatggt gatcccctgc ctgtgtgctg gacttttgag tcctcagcac caacctgtga	40260
agtggttgcc agcataatcc cattatgcag atgaggagac caaggcccag ggaagggaga	40320
accaccagca gcacgtaaaa tagctgagct gggactggaa ctacacctc ctgactctca	40380
gigaccacca ctgacaacag cataagtcca ggttttccag gccatcccc tctgtgccaa	40440
cccacattca gattcttcc ccggctcccg taatctctgg catctagaat atctcagga	40500
ctctgagagg tgatatcatg tggttgtggt gccattgccc cctacctgtg tggcctgggg	40560
ccagtcatgt gacctccag ggtctctct tctgtaatag ggagatgacc gtcacatcta	40620
cttcattgggt ccatcgtgag gatgaaatga gatgatctat ataaaatgct tggtaaca	40680
ttaggtggcc ttatttttat cctgccgtct gggactgctc aggatcaatg cgccagagag	40740

cctttatttg tgcctttccc acaggtgggc tggcccactt tcctagagaa tgggacagac 40800

 ctcttccca cccacacca tctctgccaa ggctgattca ctccagcagg cggagctcat 40860
 ttcacttcat ggaaccaatg acccaaagat atatccccag cactactgct ggtcagtcca 40920
 ctgctgctgg gaatacagca atggtagtgg cagacagagg cctctctta aatagcttcc 40980
 agtctgagga aagagagata tgacatcaat ccattaaaat cattcatcca ttggttccac 41040
 aaatatttgt tgagggctac ctatgtgcac ccccatgtta gacctgggg aatagacatg 41100
 tcattctcat gaggcttctc tactgatggg ggggaagaga attgtcaacc agataatggc 41160
 actacagcct gtgtgttctt agtgactctg aggatagcac tgtggttctg tgacagataa 41220

 tgaaggattt ggaagcagga atgcccagga gctcccagaa gtgggaagag atgagaggaa 41280
 tggaaggaac ttacctgaag gtgaaggcat caggctaggg gaccaaggga gaaggtgtcc 41340
 tgagaggtaa ggcttaacct tgggtgtgaa ttcagtcccc gtcactctcc catagctctg 41400
 tctgtctgtt cccacctccc ctgcagccat gcgggcttgg gcggctagtg agggccttgc 41460
 tcatgtctgg taccctatgc tatgtttcac tttagcacc taaaatacac aactgcact 41520
 ttaccaagat gacctggaa accaaagagg tgatcagcat aagttttaaa gaccttaaa 41580
 tttaaagtaa aaactactac aggatccatt ataaatgcca aactaaga tgtgtgttc 41640

 cagttctccc ctacatttgt cctgccact cctgccctg actttgcccc acccctagt 41700
 aatgtgggct cactctatg ctccaaactc tcctggaga gaaatcctcc ctgtggttga 41760
 ggacaaggcg cagccttccc ctcccacaa agaaggtcag attccctttt ttggttccca 41820
 accatccata ccccttcttt tctcatgaag actcgggcta agcattcatt agggctgcca 41880
 tctggaggat ggaccttag agctgagggg ccagactgt gtgt 41924

<210> 62

<211> 683

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Met Ala Leu Phe Val Arg Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu

1	5	10	15
Gly	Pro	Ala	Ala
Thr	Leu	Ala	Gly
Pro	Ala	Lys	Ser
Pro	Tyr	Gln	Leu
20	25	30	
Val	Leu	Gln	His
Ser	Arg	Leu	Arg
Gly	Arg	Gln	His
Gly	Pro	Asn	Val
35	40	45	

Cys Ala Val Gln Lys Val Ile Gly Thr Asn Arg Lys Tyr Phe Thr Asn
 50 55 60
 Cys Lys Gln Trp Tyr Gln Arg Lys Ile Cys Gly Lys Ser Thr Val Ile

 65 70 75 80
 Ser Tyr Glu Cys Cys Pro Gly Tyr Glu Lys Val Pro Gly Glu Lys Gly
 85 90 95
 Cys Pro Ala Ala Leu Pro Leu Ser Asn Leu Tyr Glu Thr Leu Gly Val
 100 105 110
 Val Gly Ser Thr Thr Thr Gln Leu Tyr Thr Asp Arg Thr Glu Lys Leu
 115 120 125
 Arg Pro Glu Met Glu Gly Pro Gly Ser Phe Thr Ile Phe Ala Pro Ser

 130 135 140
 Asn Glu Ala Trp Ala Ser Leu Pro Ala Glu Val Leu Asp Ser Leu Val
 145 150 155 160
 Ser Asn Val Asn Ile Glu Leu Leu Asn Ala Leu Arg Tyr His Met Val
 165 170 175
 Gly Arg Arg Val Leu Thr Asp Glu Leu Lys His Gly Met Thr Leu Thr
 180 185 190
 Ser Met Tyr Gln Asn Ser Asn Ile Gln Ile His His Tyr Pro Asn Gly

 195 200 205
 Ile Val Thr Val Asn Cys Ala Arg Leu Leu Lys Ala Asp His His Ala
 210 215 220
 Thr Asn Gly Val Val His Leu Ile Asp Lys Val Ile Ser Thr Ile Thr
 225 230 235 240
 Asn Asn Ile Gln Gln Ile Ile Glu Ile Glu Asp Thr Phe Glu Thr Leu
 245 250 255
 Arg Ala Ala Val Ala Ala Ser Gly Leu Asn Thr Met Leu Glu Gly Asn

 260 265 270
 Gly Gln Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Ile
 275 280 285
 Pro Ser Glu Thr Leu Asn Arg Ile Leu Gly Asp Pro Glu Ala Leu Arg

290 295 300
 Asp Leu Leu Asn Asn His Ile Leu Lys Ser Ala Met Cys Ala Glu Ala
 305 310 315 320
 Ile Val Ala Gly Leu Ser Val Glu Thr Leu Glu Gly Thr Thr Leu Glu

 325 330 335
 Val Gly Cys Ser Gly Asp Met Leu Thr Ile Asn Gly Lys Ala Ile Ile
 340 345 350
 Ser Asn Lys Asp Ile Leu Ala Thr Asn Gly Val Ile His Tyr Ile Asp
 355 360 365
 Glu Leu Leu Ile Pro Asp Ser Ala Lys Thr Leu Phe Glu Leu Ala Ala
 370 375 380
 Glu Ser Asp Val Ser Thr Ala Ile Asp Leu Phe Arg Gln Ala Gly Leu

 385 390 395 400
 Gly Asn His Leu Ser Gly Ser Glu Arg Leu Thr Leu Leu Ala Pro Leu
 405 410 415
 Asn Ser Val Phe Lys Asp Gly Thr Pro Pro Ile Asp Ala His Thr Arg
 420 425 430
 Asn Leu Leu Arg Asn His Ile Ile Lys Asp Gln Leu Ala Ser Lys Tyr
 435 440 445
 Leu Tyr His Gly Gln Thr Leu Glu Thr Leu Gly Gly Lys Lys Leu Arg

 450 455 460
 Val Phe Val Tyr Arg Asn Ser Leu Cys Ile Glu Asn Ser Cys Ile Ala
 465 470 475 480
 Ala His Asp Lys Arg Gly Arg Tyr Gly Thr Leu Phe Thr Met Asp Arg
 485 490 495
 Val Leu Thr Pro Pro Met Gly Thr Val Met Asp Val Leu Lys Gly Asp
 500 505 510
 Asn Arg Phe Ser Met Leu Val Ala Ala Ile Gln Ser Ala Gly Leu Thr

 515 520 525
 Glu Thr Leu Asn Arg Glu Gly Val Tyr Thr Val Phe Ala Pro Thr Asn
 530 535 540

Glu Ala Phe Arg Ala Leu Pro Pro Arg Glu Arg Ser Arg Leu Leu Gly
 545 550 555 560
 Asp Ala Lys Glu Leu Ala Asn Ile Leu Lys Tyr His Ile Gly Asp Glu
 565 570 575
 Ile Leu Val Ser Gly Gly Ile Gly Ala Leu Val Arg Leu Lys Ser Leu

 580 585 590
 Gln Gly Asp Lys Leu Glu Val Ser Leu Lys Asn Asn Val Val Ser Val
 595 600 605
 Asn Lys Glu Pro Val Ala Glu Pro Asp Ile Met Ala Thr Asn Gly Val
 610 615 620
 Val His Val Ile Thr Asn Val Leu Gln Pro Pro Ala Asn Arg Pro Gln
 625 630 635 640
 Glu Arg Gly Asp Glu Leu Ala Asp Ser Ala Leu Glu Ile Phe Lys Gln

 645 650 655
 Ala Ser Ala Phe Ser Arg Ala Ser Gln Arg Ser Val Arg Leu Ala Pro
 660 665 670
 Val Tyr Gln Lys Leu Leu Glu Arg Met Lys His
 675 680