



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108424972 B

(45) 授权公告日 2021.11.05

(21) 申请号 201810144640.8

CN 102399877 A, 2012.04.04

(22) 申请日 2013.03.14

CN 102168130 A, 2011.08.31

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 102272331 A, 2011.12.07

申请公布号 CN 108424972 A

EP 2236621 A1, 2010.10.06

(43) 申请公布日 2018.08.21

WO 2006111028 A1, 2006.10.26

(30) 优先权数据

EP 2325646 A2, 2011.05.25

61/621,368 2012.04.06 US

Anna C. Shore等.Detection of

(62) 分案原申请数据

Staphylococcal Cassette Chromosome mec Type XI Carrying Highly Divergent mecA, mecI, mecR1, blaZ, and ccr Genes in Human Clinical Isolates of Clonal Complex 130

201380029724.2 2013.03.14

(73) 专利权人 基因欧姆科技加拿大公司

Methicillin-Resistant Staphylococcus

地址 加拿大,魁北克城

aureus.《ANTIMICROBIAL AGENTS AND

(72) 发明人 C·梅纳德 C·罗杰-达勒姆波特

CHEMOTHERAPY》.2011,第55卷(第8期),3765-3773.

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

A. Huletsky等.New Real-Time PCR Assay for Rapid Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Directly from Specimens Containing a Mixture of Staphylococci.《JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY》.2004,第42卷(第5期),1875-1884.

代理人 王永伟 丁秀云

审查员 夏向东

(51) Int.Cl.

C12Q 1/689 (2018.01)

C12Q 1/14 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

C12R 1/445 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101918593 A, 2010.12.15

权利要求书3页 说明书32页

CN 101680023 A, 2010.03.24

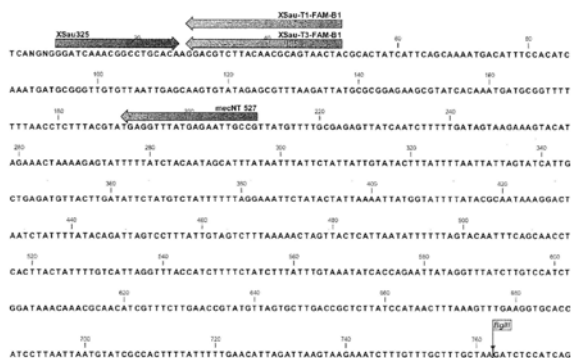
序列表53页 附图1页

(54) 发明名称

用于检测和鉴定MREJ型xxi的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的序列

(57) 摘要

本发明的发明名称是用于检测和鉴定MREJ型xxi的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的序列。本文提供用于检测和鉴定包含多态性SCCmec右侧末端(MREP)型xxi序列的金黄色葡萄球菌菌株的组合物和方法。



1. 检测包括MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) (MRSA) 的试剂盒或组合物, 所述金黄色葡萄球菌包括包含*mecA*同系物基因*mecA*_{LGA251}的葡萄球菌盒染色体*mec* (SCC*mec*) 元件, 所述SCC*mec*盒被插入金黄色葡萄球菌染色体DNA, 从而产生包括SEQ ID NO:1的核苷酸149-774的多态性右侧末端连接 (MREJ) 型xxi序列, 所述多态性右侧末端连接 (MREJ) 型xxi序列包括多态性右侧末端序列和靠近所述多态性右侧末端序列的染色体DNA, 所述试剂盒或组合物包括:

第一扩增引物, 所述第一扩增引物长度在10和45个核苷酸之间, 其中所述第一扩增引物在标准PCR条件下与所述包括SEQ ID NO:1的核苷酸149-774的MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列特异地杂交, 和

第二扩增引物, 所述第二扩增引物长度在10和45个核苷酸之间, 其中所述第二扩增引物在标准PCR条件下与金黄色葡萄球菌的*orfX*基因杂交, 并且其中所述第一和第二扩增引物一起在所述标准PCR条件下在存在包括MREJ型xxi核酸的MRSA的情况下产生对MREJ型xxi核酸的右侧末端连接特异的扩增子。

2. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 进一步包括探针, 其中所述探针与所述MREJ型xxi核酸的扩增子在所述标准PCR条件下特异地杂交。

3. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 进一步包括引物对, 所述引物对特异地与SEQ ID NO:156内的*mecA*序列杂交, 并能扩增SEQ ID NO:156内的*mecA*序列。

4. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 进一步包括引物对, 所述引物对特异地与SEQ ID NO:157内的*mecC*序列杂交, 并能扩增SEQ ID NO:157内的*mecC*序列。

5. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 进一步包括引物对, 所述引物对特异地与SEQ ID NO:158内的*nuc*序列杂交, 并能扩增SEQ ID NO:158内的*nuc*序列。

6. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 进一步包括一种或多种另外的扩增引物, 其中所述一种或多种另外的扩增引物长度在10和45个核苷酸之间, 并且其中所述一种或多种另外的扩增引物与来自MREJ型i至xx MRSA的一种或多种多态性SCC*mec*右侧末端序列特异地杂交。

7. 权利要求6所述的试剂盒或组合物, 其中所述一种或多种多态性SCC*mec*右侧末端序列选自SEQ ID NOs:5至29。

8. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 其中所述第一扩增引物包括SEQ ID NO:2。

9. 权利要求8所述的试剂盒或组合物, 其中所述第二扩增引物包括SEQ ID NO:3。

10. 权利要求9所述的试剂盒或组合物, 进一步包括探针, 其中所述探针包括SEQ ID NO:4或82。

11. 权利要求10所述的试剂盒或组合物, 其中所述探针包括荧光发射体部分和荧光猝灭剂部分。

12. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 其中所述第一扩增引物处于冻干的形式。

13. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 其中所述试剂盒或组合物进一步包括一个或多个另外的扩增引物对, 其中所述一个或多个另外的扩增引物对在所述标准PCR条件下与*nuc*序列特异地杂交, 并且能够产生*nuc*序列的扩增子。

14. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 其中所述试剂盒或组合物被用于进行多重PCR。

15. 权利要求1所述的试剂盒或组合物, 其中所述试剂盒或组合物被用于进行实时PCR。

16. 权利要求1所述的试剂盒或组合物,其中所述试剂盒或组合物进一步包括一个或多个另外的扩增引物对,其中所述一个或多个另外的扩增引物对在所述标准PCR条件下与*mecA*和/或*mecC*序列特异地杂交并能产生*mecA*和/或*mecC*序列的扩增子。

17. 用于非诊断目的的检测包括MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的方法,所述金黄色葡萄球菌包括包含*mecA*同系物基因*mecA*_{LGA251}的葡萄球菌盒染色体*mec*(*SCCmec*)元件,所述*SCCmec*盒被插入金黄色葡萄球菌染色体DNA,从而产生包括SEQ ID NO:1的核苷酸149-774的多态性右侧末端连接(MREJ)型xxi序列,所述多态性右侧末端连接(MREJ)型xxi序列包括多态性右侧末端序列和靠近所述多态性右侧末端的染色体DNA,所述方法包括:

提供测试样品;

将所述样品与第一扩增引物接触,所述第一扩增引物长度在10和45个核苷酸之间,其中所述第一扩增引物在标准PCR条件下与所述包括SEQ ID NO:1的核苷酸149-774的MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列特异地杂交;

将所述样品与长度在10和45个核苷酸之间的第二扩增引物接触,其中所述第二扩增引物在所述标准PCR条件下与金黄色葡萄球菌的*orfX*基因杂交,并且其中所述第一和第二扩增引物一起在所述标准PCR条件下在存在包括MREJ型xxi核酸的MRSA的情况下产生对所述右侧末端连接MREJ型xxi核酸特异的扩增子;和

测定是否所述MREJ型xxi核酸的扩增子在所述接触步骤之后产生。

18. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括将所述样品与一种或多种另外的扩增引物接触,其中所述一种或多种另外的扩增引物长度在10和45个核苷酸之间,并且其中所述一种或多种另外的扩增引物与一种或来自MREJ型i至xx MRSA的多态性*SCCmec*右侧末端序列特异地杂交。

19. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括将所述样品与一种或多种另外的扩增引物对接触,其中所述一种或多种另外的扩增引物对在所述标准PCR条件下与*nuc*序列特异地杂交并能产生*nuc*序列的扩增子。

20. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤包括进行多重PCR。

21. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤包括进行实时PCR。

22. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括将所述样品与一种或多种另外的扩增引物对接触,其中所述一种或多种另外的扩增引物对在所述标准PCR条件下与*mecA*和/或*mecC*序列特异地杂交并能产生*mecA*和/或*mecC*序列的扩增子。

23. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括使所述样品与引物对接触,所述引物对与SEQ ID NO:156内的*mecA*序列特异地杂交并能扩增*mecA*序列。

24. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括使所述样品与引物对接触,所述引物对与SEQ ID NO:157内的*mecC*序列特异地杂交并能扩增*mecC*序列。

25. 权利要求17所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括使所述样品与引物对接触,所述引物对与SEQ ID NO:158内的*nuc*序列特异地杂交并能扩增*nuc*序列。

26. 权利要求17所述的方法,其中所述第一扩增引物包括SEQ ID NO:2。

27. 权利要求26所述的方法,其中所述第二扩增引物包括SEQ ID NO:3。

28. 权利要求26所述的方法,其中所述接触步骤进一步包括使所述样品与探针接触,其

中所述探针包括SEQ ID NO:4或82。

29. 权利要求28所述的方法,其中所述探针包括荧光发射体部分和荧光猝灭剂部分。

用于检测和鉴定MREJ型xxi的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA)的序列

[0001] 本申请是分案申请,原申请的申请日为2013年3月14日、申请号为201380029724.2 (PCT/IB2013/000900)、发明名称为“用于检测和鉴定MREJ型xxi的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的序列”。

[0002] 对序列表、表或计算机程序列表的引用

[0003] 本申请连同电子格式的序列表一起提交。序列表作为名称为GENOM.114A.txt的文件提供,2013年3月14日最后保存,大小为85.6kb。信息以其全部通过引用被并入本文。

[0004] 发明背景

[0005] 领域

[0006] 本文公开的实施方式涉及用于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 检测的分子诊断工具。

[0007] 相关技术

[0008] 凝固酶阳性的物种金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*) 被充分纪录为人机会致病菌 (Murray et al. Eds, 1999, Manual of Clinical Microbiology, 第七版, ASM Press, Washington, D.C.)。金黄色葡萄球菌引起的医院交叉感染是发病率和死亡率的主要原因。金黄色葡萄球菌引起的最常见的感染中的一些涉及皮肤,并且它们包括疖或痈、蜂窝织炎、脓疱病和在多种部位的手术后伤口感染。金黄色葡萄球菌引起的更严重的感染中的一些是菌血症、肺炎、骨髓炎、急性心内膜炎、心肌炎、心包炎、脑炎、脑膜炎、烫伤样皮肤综合征和多种脓肿。葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒是与金黄色葡萄球菌有关的另一种重要的综合征。中毒性休克综合征,一种社区获得性疾病 (community-acquired disease), 也已归于产毒的金黄色葡萄球菌的感染或定居。

[0009] 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 作为医院中主要的临床和流行病学问题出现于20世纪80年代 (Oliveira et al., (2002) Lancet Infect Dis. 2:180-9)。MRSA抵抗所有的β-内酰胺,包括青霉素、头孢菌素、碳青霉烯和单酰胺菌素,它们是治愈金黄色葡萄球菌感染最常使用的抗生素。

[0010] MRSA感染仅可用毒性的和更昂贵的抗生素治疗,其通常用作最后的防御线。由于MRSA可通过人员在患者之间容易地播散,世界上的医院都面对控制MRSA的问题。

[0011] 不久前,知道菌株抗性的唯一方法是进行手动抗菌敏感性试验。抗菌敏感性试验具有许多缺点,包括获得结果之前延长的时间(至少48小时)、缺少再现性、缺少过程标准化和使用者的错误。因此,需要发展快速和简单的MRSA检测和/或鉴定的筛选或诊断试验以减少其传播和提高感染患者的诊断和治疗。

[0012] 对快速和灵敏检测MRSA的组合物和方法存在需求。

[0013] 概述

[0014] 本文公开的实施方式部分基于这样的发现:金黄色葡萄球菌的某些菌株,包括包含mecA同系物基因, mecALGA251的那些菌株,共有位于MRSA核酸SCCmec区右侧末端 (right extremity) 的相同序列,即,多态性右侧末端连接。本文提供可用于检测这些MRSA菌株的方

法和组合物,其是迄今通过常规的商品化基于分子的测定不可检测的。本文还提供组合物和方法,其通常允许除MRSA菌株外的金黄色葡萄球菌的进一步(例如,同时或连续)检测,和/或mecA和/或mecALGA251的进一步检测。

[0015] 因此,本文提供用于检测包含MREJ型xxi序列的MRSA的方法和组合物。一些实施方式提供用于检测具有MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的组合物。MRSA可包括包含mecA同系物(mecALGA251或mecC)的葡萄球菌(*Staphylococcal*)盒染色体mec(SCCmec)元件,其中SCCmec盒被插入金黄色葡萄球菌染色体DNA,从而产生多态性右侧末端连接(MREJ)型xxi序列,其包括来自右侧末端的多态性序列和靠近多态性右侧末端的染色体DNA。组合物可包括第一扩增引物,其长度在10和45个核苷酸之间,并且在标准PCR条件下与MREJ型xxi核酸的多态性右侧末端序列特异地杂交。在一些实施方式中,第一扩增引物在所述标准PCR条件下与SEQ ID NO:1的核酸序列或其互补物特异地杂交。

[0016] 本文公开的组合物可进一步包括长度在10和45个核苷酸之间的第二扩增引物,其在标准PCR条件下与位于距SCCmec元件进入染色体DNA的插入点1千碱基内的金黄色葡萄球菌染色体序列特异地杂交。优选,第一和第二扩增引物在标准PCR条件下存在包括MREJ型xxi核酸的MRSA的情况下一起产生MREJ型xxi核酸右侧末端连接的扩增子。因此,在一些实施方式中,第二扩增引物在标准PCR条件下与orfX特异地杂交。本文公开的组合物可进一步包括探针,例如,包括荧光发射体部分和荧光猝灭剂部分的寡核苷酸探针,其在标准PCR条件下与MREJ型xxi核酸的扩增子特异地杂交。

[0017] 本文公开的组合物可包括一种或多种长度在10和45个核苷酸之间的另外的扩增引物,其与一种或多种来自MREJ型i至xx MRSA的多态性SCCmec右侧末端序列,即,与一种或多种选自SEQ ID NOs:5至29的多态性SCCmec右侧末端序列特异地杂交。

[0018] 方法和组合物还可包括另外的寡核苷酸,即,其被配置以特异地扩增mecA和/或mecALGA251/mecC序列,和/或其被配置以特异地扩增金黄色葡萄球菌特异性序列。

[0019] 因此,一些实施方式提供组合物,其中第一扩增引物与SEQ ID NO:2至少80%相同。在一些实施方式中,组合物可包括第二扩增引物,其与SEQ ID NO:3至少80%相同。在一些实施方式中,组合物可包括探针,其中探针与SEQ ID NO:4或82至少80%相同。

[0020] 在一些实施方式中,本文公开的组合物以干燥形式,例如,冻干的或类似形式提供。

[0021] 本文还提供用于检测包括MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和用于检测MREJ型xxi核酸的方法,其中金黄色葡萄球菌包括包含mecA同系物(mecALGA251或mecC)的葡萄球菌盒染色体mec(SCCmec)元件。SCCmec盒可插入金黄色葡萄球菌染色体DNA,从而产生多态性右侧末端连接(MREJ)型xxi序列,其包括来自右侧末端(MREP序列)的多态性序列和靠近多态性右侧末端的染色体DNA。因此,在一些实施方式中,方法可包括以下步骤:提供测试样品;将样品与长度在10和45个核苷酸之间的第一扩增引物接触,所述第一扩增引物在标准PCR条件下与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列特异地杂交;其中接触在这样的条件下进行,其中如果包括MREJ型xxi核酸的金黄色葡萄球菌存在于样品中,那么MREJ型xxi核酸的mec右侧末端连接的扩增子产生。方法还可包括测定接触步骤之后MREJ型xxi核酸扩增子是否产生的步骤。在一些实施方式中,第一扩增引物在所述标准PCR条件下与SEQ ID NO:1的核酸序列特异地杂交。

[0022] 在一些实施方式中,方法可包括将样品与长度在10和45个核苷酸之间的第二扩增引物接触,所述第二扩增引物在标准PCR条件下与金黄色葡萄球菌的orfX基因杂交,其中所述第一和第二扩增引物在标准PCR条件下在存在MREJ型xxi核酸的情况下一起产生MRSA的SCCmec右侧末端连接的SCCmec右侧末端连接(MREJ)区序列的扩增子。

[0023] 本发明的方法,进一步包括将样品与探针接触,其中所述探针在标准PCR条件下与MREJ型xxi核酸的SCCmec右侧末端连接(MREJ)区序列的扩增子特异地杂交。在一些实施方式中,探针包括荧光发射体部分和荧光猝灭剂部分。

[0024] 在一些实施方式中,接触步骤还包括将样品与一种或多种另外的扩增引物接触,其中所述一种或多种另外的扩增引物长度在10和45个核苷酸之间,与来自MREJ型i至xx MRSA的一个或多态性SCCmec右侧末端序列特异地杂交。在一些实施方式中,接触步骤还包括将样品与一种或多种长度在10和45个核苷酸之间的另外的扩增引物接触,所述扩增引物特异地杂交和被配置以产生mecA序列、mecC序列和/或金黄色葡萄球菌特异性序列的扩增子。金黄色葡萄球菌特异性序列的非限制的实例包括但不限于,nuc序列、rRNA序列、femB序列、Sa442序列等。然而技术人员将容易理解,对金黄色葡萄球菌独特的任何序列均可用于本文描述的实施方式。

[0025] 因此,本文描述的方法的接触步骤可包括进行核酸扩增反应,如PCR、链置换扩增(SDA)、例如多置换扩增(MDA)、环介导的等温扩增(LAMP)、连接酶链反应(LCR)、免疫扩增、基于核酸序列的扩增(NASBA)、自主序列复制(3SR)或滚环扩增。在一些优选实施方式中,方法包括进行多重PCR。在一些优选实施方式中,方法包括进行实时PCR。

[0026] 附图简述

[0027] 图1显示类型xxi MREJ区的序列。还显示本文描述的实施方式中公开的引物和探针。

[0028] 详细描述

[0029] 应当理解,上述一般的描述和下面详细的描述都只是示例和说明的,并且不意欲限制当前教导的范围。在该申请中,单数的使用包括复数,除非另外特别说明。同样,“包括(comprise)”、“含有(contain)”和“包括(include)”,或那些根词的改变,例如不限于,“包括(comprises)”、“含有(contained)”和“包括(including)”也不意欲受限。“或”的使用指“和/或”,除非另外说明。术语“和/或”指之前和之后的术语可一起或分开采用。为了说明目的,但不作为限制,“X和/或Y”可指“X”或“Y”或“X和Y”。

[0030] 不论何时本文提供值的范围,该范围意欲包括起始值和端值和其间的任何值或值范围,除非另外特别说明。例如,“0.2至0.5”指0.2、0.3、0.4、0.5;其间的范围如0.2-0.3、0.3-0.4、0.2-0.4;其间的增量如0.25、0.35、0.225、0.335、0.49;其间的增量范围如0.26-0.39;等。

[0031] 本文所用的部分标题仅用于组织的目的并且不被解释为以任何方式限制描述的主题。该申请中引用的所有文献和相似材料——包括,但不限于,专利、专利申请、文章、书、论文和互联网网页,不管这样的文献和相似材料的格式,都以其全部通过引用被清楚地并入,用于任何目的。在并入的文献和相似材料中的一个或多个以与该申请中术语的定义矛盾的方式限定或使用术语的情况下,以该申请为准。虽然目前的教导与多种实施方式连起来描述,但是不期望目前的教导受限于这样的实施方式。相反,目前的教导包括多种备选、

改变和等同物,如本领域技术人员所将理解的。

[0032] 本文提供用于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)提高的检测的组合和方法,特别地,检测包含mecA同系物基因的金黄色葡萄球菌,如CC130或cc130金黄色葡萄球菌菌株的方法。金黄色葡萄球菌中的甲氧西林抗性是由于编码青霉素结合蛋白2a(PBP-2a)、耐 β -内酰胺的转肽酶的mecA基因的基因产物。mecA不存在于甲氧西林-敏感的金黄色葡萄球菌,但是广泛分布于葡萄球菌的其它种类,包括凝固酶阴性的葡萄球菌、(CoNS),如表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、溶血性葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*)、头葡萄球菌(*Staphylococcus capitis*)、腐生葡萄球菌(*S.saprophyticus*)、缓慢葡萄球菌(*S.lentus*)、溶血性葡萄球菌(*S.hominus*)、孔氏葡萄球菌(*S.cohnii*)、海豚葡萄球菌(*S.delphini*)、木糖葡萄球菌(*S.xylosus*)、蝇葡萄球菌(*S.muscae*)、施氏葡萄球菌(*S.schleiferi*)、凝结葡萄球菌(*S.coagulans*)和其它的。mecA基因高度保守(Ubukata et al.,1990,Antimicrob.Agents Chemother.34:170-172)。在耐甲氧西林葡萄球菌中,mecA存在于称作葡萄球菌盒染色体mec(SCCmec)的遗传元件,其插入葡萄球菌的染色体。

[0033] SCCmec盒长度范围为20kb至超过60kb,并包括除mecA基因外的位点特异性重组酶基因和转座因子。SCCmec盒在金黄色葡萄球菌染色体DNA内称作“attBsc”的固定位置插入,其位于称作“orfX”的开放阅读框架的3'末端。Huletsky et al.(2004) J.Clin.Microbiol.42(5):1875-1884。MRSA菌株已基于SCCmec盒的组构被分类(称作“SCCmec分类”)。不同的SCCmecs已根据它们的重组酶基因,和mecI和mecR基因的遗传组构——其是mecA的调节子——分类。

[0034] 用于检测和鉴定MRSA的许多分子测定包括mecA基因的检测。然而,由于mecA还在CoNS中发现,所以单独mecA的检测不足以确定MRSA的存在,因为耐甲氧西林CoNS也将检测阳性。为了解决该问题,已发展了这样的测定,其中除mecA外,还检测金黄色葡萄球菌特异性基因。参见,Schuenck et al.,Res.Microbiol.,(2006),in press,Shittu et al.,(2006),Diagn Microbiol Infect Dis.Jul 17,Grisold et al.,(2006),Methods Mol.Biol.345:79-89,Costa et al.,(2005),Diag.Microbiol.and Infect.Dis,51:13-17,Mc Donald et al.,(2005),J.Clin.Microbiol.,43:6147-6149,Zhang et al.,(2005),J.Clin.Microbiol.43:5026-5033,Hagen et al.(2005),Int J Med Microbiol.295:77-86,Maes,et al.(2002) J.Clin.Microbiol.40:1514-1517,Saito et al.,(1995) J.Clin.Microbiol.33:2498-2500;Ubukata et al.,(1992) J.Clin.Microbiol.30:1728-1733;Murakami et al.,(1991) J.Clin.Microbiol.29:2240-2244;Hiramatsu et al.,(1992) Microbiol.Immunol.36:445-453)。此外,Levi和Towner(2003),J.Clin.Microbiol.,41:3890-3892和Poulsen et al.(2003),J Antimicrob Chemother.,51:419-421描述利用EVIGENETMMRSA检测试剂盒,检测凝固酶阴性葡萄球菌中和金黄色葡萄球菌中甲氧西林抗性。

[0035] 然而,因为mecA基因广泛分布在金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌中,上面描述的每个方法不能在含有甲氧西林-敏感的金黄色葡萄球菌(“MSSA”)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌的样品,和只含有MRSA的样品或具有甲氧西林-敏感性金黄色葡萄球菌和MRSA的样品之间区分。

[0036] 为了解决该问题,Hiramatsu等发展了对MRSA特异的基于PCR的测定,其利用与

SCCmec型I-III的DNA的右侧末端杂交的引物结合对金黄色葡萄球菌染色体特异的引物,其对应SCCmec整合位点右侧上的核苷酸序列。(美国专利6,156,507,在下文中“507专利”)。最近,Zhang et al., (2005), J.Clin.Microbiol.43:5026-5033描述了将SCCmec型I至V MRSA分成亚型的多重测定。其它葡萄球菌种类(例如,表皮葡萄球菌和溶血性葡萄球菌)中包围SCCmec整合位点的核苷酸序列不同于金黄色葡萄球菌中发现的那些,因此利用与SCCmec的右侧末端和金黄色葡萄球菌染色体杂交的寡核苷酸的多重PCR测定具有对MRSA检测特异的优点。

[0037] ‘507专利中描述的PCR测定还引起SCCmec DNA的“MREP分型”(mec右侧末端多态性)的发展(Ito et al., (2001) Antimicrob. Agents Chemother.45:1323-1336;Hiramatsu et al., (1996) J. Infect. Chemother.2:117-129)。MREP分型方法利用这样的事实:三种MREP类型的核苷酸序列在邻近三种类型SCCmec中整合位点的SCCmec DNA右侧末端不同。

[0038] 术语“MREJ”指mec右侧末端连接<<mec右侧末端连接>>。MREJ区核酸序列长度为大约1千碱基(kb),包括SCCmec右侧末端以及细菌染色体DNA至SCCmec整合位点右侧的序列。被分类为MREP型i-iii的菌株对应MREJ型i-iii。MREJ型iv至xx先前已被Huletsky et al., (2004), J.Clin.Microbiol.42:1875-1884;国际专利申请PCT/CA02/00824,美国专利申请2008/0227087表征。

[0039] 最近,Garcia-Alvarez等报道了通过核糖体RNA分析被证实是金黄色葡萄球菌的细菌菌株,并且利用常规的抗生素敏感性试验,其显示甲氧西林抗性。Garcia-Alvarez et al. (2011) Lancet 11:595-603。然而,令人惊讶奇地,利用上面描述的测定——其依赖mecA的检测或已知MREJ区的检测,这些菌株测试为MRSA阴性。测定特异性受限于识别MREJ区。Garcia-Alvarez等证明菌株包含新的mecA同系物,其与已知mecA基因共有有限的同源性,即,在氨基酸水平63%的同一性和在DNA水平70%的同一性,说明依赖mecA基因检测的测定不能检测这些MRSA。mecA同系物称作mecALGA251,本文也称作mecC。因为利用MREJ扩增的测定也不能检测mecALGA251 MRSA菌株中的任何一种,所以mecALGA251 MRSA菌株将被不正确地鉴定为假阴性。诊断和鉴定MRSA中的该错误可对患者健康结果具有严重影响。

[0040] 进一步分析金黄色葡萄球菌的这样几个菌株:利用标准的抗生素敏感性试验测试为耐甲氧西林阳性,然而利用常规的商品化分子测定检测为MRSA。菌株列在下面的表1中。

[0041] 表1

	金黄色葡萄球菌菌株命名	来源国
[0042]	IDI-6112	法国
	IDI-6113	法国
	IDI-6121	英国

[0043]

IDI-6122	英国
IDI-6123	英国
IDI-6125	英国
IDI-6126	英国
IDI-6127	英国
IDI-6128	英国
IDI-6129	英国
IDI-6130	英国
IDI-6131	英国
IDI-6132	英国
IDI-6133	英国
IDI-6134	英国
IDI-6135	英国
IDI-6136	英国
IDI-6137	英国
IDI-6138	英国
IDI-6139	英国
IDI-6140	英国
IDI-6141	英国
IDI-6142	英国
IDI-6143	英国
IDI-6144	英国
IDI-6145	英国
IDI-6146	英国
IDI-6147	丹麦
IDI-6148	丹麦
IDI-6149	丹麦
IDI-6150	丹麦
IDI-6151	丹麦
IDI-6152	丹麦
IDI-6153	丹麦
IDI-6154	丹麦
IDI-6155	丹麦
IDI-6156	丹麦

[0044]

IDI-6157	丹麦
IDI-6158	丹麦
IDI-6159	丹麦
IDI-6160	丹麦
IDI-6161	丹麦
IDI-6162	丹麦
IDI-6163	丹麦
IDI-6164	丹麦
IDI-6165	丹麦
IDI-6166	丹麦
IDI-6167	丹麦
IDI-6168	法国
IDI-6170	法国
IDI-6171	法国
IDI-6208	德国
IDI-6209	德国
IDI-6211	德国
IDI-6213	德国
IDI-6214	德国
IDI-6215	德国
IDI-6216	德国
IDI-6217	德国
IDI-6218	德国
IDI-6219	德国
IDI-6220	德国
IDI-6221	德国

[0045] 如本文所描述的,本公开部分地基于令人惊讶的发现:大多数分析的包含mecA同系物基因,mecALGA251/mecC的MRSA菌株共有相同的MREJ序列。基于该令人惊讶的发现,本文提供用于提高的检测MRSA的组合物和方法。本文公开的组合物和方法有利地允许mecALGA251 MRSA菌株的可靠和快速的检测和鉴定。

[0046] 寡核苷酸

[0047] 根据本文公开的一些实施方式,提供寡核苷酸,例如扩增引物和/或序列特异性探针。如本文所用,术语“引物”和“探针”包括,但不限于寡核苷酸。优选,本文公开的寡核苷酸引物和/或探针长度可以在8和45个核苷酸之间。例如,引物和或探针长度可以为至少8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45或更多个核苷酸。引物和/或探针可以以任何合适的

形式提供,例如,包括与固体载体结合、液体的和冻干的。本文公开的引物和探针序列可被修饰以在5' 或3' 末端或两个末端含有另外的核苷酸。然而,技术人员将理解,扩增引物(不必是探针)3' 末端的另外碱基通常与模板序列互补。本文公开的引物和探针序列还可被修饰以去除在5' 或3' 末端的核苷酸。技术人员将理解,为了起到扩增的作用,引物或探针将具有如本文公开的最小的长度和退火温度。

[0048] 寡核苷酸引物和探针可在退火温度结合它们的靶,退火温度是小于解链温度(T_m)的温度。如本文所用,“ T_m ”和“解链温度”是可互换的术语,其指50%的双链多核苷酸分子群体变得分离成单链的温度。计算多核苷酸的 T_m 的公式在本领域众所周知。例如, T_m 可通过以下方程计算: $T_m = 69.3 + 0.41 \times (G+C) \% - 50/L$,其中L是探针的核苷酸长度。杂合的多核苷酸的 T_m 还可利用1M盐中杂交测定采用的并通常用于计算PCR引物的 T_m 的公式来估计: $[(A+T数) \times 2^\circ C + (G+C数) \times 4^\circ C]$ 。参见,例如,C.R.Newton et al.PCR,2nd ed.,Springer-Verlag (New York:1997),p.24。其它更复杂的计算存在于本领域,其针对 T_m 的计算考虑结构以及序列特性。寡核苷酸的解链温度可取决于寡核苷酸引物或探针与结合序列之间的互补性,并取决于盐条件。在一些实施方式中,本文提供的寡核苷酸引物或探针具有50mM KCl、10mM Tris-HCl缓冲液中小于约90°C的 T_m ,例如约89°C、88、87、86、85、84、83、82、81、80、79、78、77、76、75、74、73、72、71、70、69、68、67、66、65、64、63、62、61、60、59、58、57、56、55、54、53、52、50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39°C或更低,包括列出的值的任何两个之间的范围。

[0049] 如下面所进一步详细讨论的,在一些实施方式中,本文公开的引物,例如,扩增引物,可作为扩增引物对提供,例如,包括正向引物和反向引物(第一扩增引物和第二扩增引物)。优选,正向和反向引物具有差别不超过10°C的 T_m ,例如,其差别小于10°C、小于9°C、小于8°C、小于7°C、小于6°C、小于5°C、小于4°C、小于3°C、小于2°C或小于1°C。

[0050] 引物和探针序列可以通过寡核苷酸序列内具有核苷酸置换(相对于靶序列)来修饰,只要寡核苷酸含有足够的互补性以与靶核酸序列特异地杂交。以该方式,至少1、2、3、4或达约5个核苷酸可被置换。如本文所用,术语“互补的”指两条多核苷酸链的两个区域之间或同一多核苷酸链的两个区域之间的序列互补性。如果多核苷酸的第一区与相同或不同的多核苷酸的第二区互补,当两个区以反向平行方式排列时,第一区的至少一个核苷酸能与第二区的碱基碱基配对。因此,不需要两个互补的多核苷酸在每一个核苷酸位置都碱基配对。“完全互补的”指第一多核苷酸与第二多核苷酸100%或“完全”互补,并因此在每一个核苷酸位置形成碱基对。“部分互补的”还指第一多核苷酸不是100%互补的(例如,90%或80%或70%互补的)并在一个或多个核苷酸位置含有错配的核苷酸。在一些实施方式中,寡核苷酸包括通用碱基。

[0051] 如本文所用,术语“杂交”参考互补的(包括部分互补的)多核苷酸链的配对使用。杂交和杂交强度(即,多核苷酸链之间结合的强度)受本领域众所周知的许多因素影响,包括多核苷酸之间的互补性程度、涉及的条件的严格性——其受这样的条件影响,如盐浓度、形成的杂合体的解链温度、其它组分的存在(例如,聚乙二醇的存在或缺乏)、杂交链的克分子浓度和多核苷酸链的G:C含量。在一些实施方式,例如,提供超过一个寡核苷酸的实施方式中,设计寡核苷酸以便一个寡核苷酸的 T_m 在另一个寡核苷酸的 T_m 的2°C以内。核酸杂交的广泛指导在Tijssen(1993)Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular

Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes, Part I, 第二章 (Elsevier, New York); 和 Ausubel et al, eds. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, Chapter 2 (Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York) 中发现。参见 Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York)。如本文所进一步讨论的, 术语“特异性杂交 (specific hybridization)”或“特异地杂交 (specifically hybridizes)”指在通常用于核酸扩增的条件下, 多核苷酸, 例如, 寡核苷酸引物或探针或类似物与靶序列, 如样品中将被定量的序列、阳性对照靶核酸序列或类似物杂交, 但不与无关序列杂交。

[0052] 在一些实施方式中, 引物和/或探针包括与在寡核苷酸序列的全部长度中与靶核酸序列杂交的寡核苷酸。这样的序列可称作相对于彼此“完全互补的”。当寡核苷酸被称作相对于本文的核酸序列“基本上互补的”, 两个序列可完全互补, 或它们可在杂交之后形成错配, 但是保持在如下面所讨论的严格条件或标准的核酸扩增条件下杂交的能力。如本文所用, 术语“基本上互补的”指两个核酸之间的互补性, 例如, 寡核苷酸的互补区和靶序列。互补性不需要是完全的; 两个核酸之间可存在任何数目的碱基对错配。然而, 如果错配数目太大, 以至于杂交可能在甚至最不严格的杂交条件下发生, 那么序列不是基本上互补的序列。当本文中两个序列被称作“基本上互补的”, 它指序列彼此充分互补, 在选择反应条件下杂交。核酸互补性和足以获得特异性的杂交严格性的关系在本领域众所周知, 并在下面参考序列同一性、解链温度和杂交条件而进一步描述。因此, 基本上互补的序列可用于本文公开的任何检测方法。这样的探针可以, 例如, 完全互补或可含有1个至许多个错配, 只要杂交条件足以允许, 例如靶序列和非靶序列之间的区别。因此, 基本上互补的序列指与参考序列相比, 百分比同一性范围在100、99、98、97、96、95、94、93、92、91、90、89、88、87、86、85、84、83、82、81、80、75、70或更少、或两者之间的任何数的序列。例如, 与寡核苷酸杂交的靶序列相比, 本文公开的寡核苷酸可含有1、2、3、4、5或更多的错配和/或简并的碱基, 条件是寡核苷酸能与靶序列在, 例如, 标准的核酸扩增条件下特异性杂交。

[0053] 因此, 通过实例, 术语“严格的杂交条件”可指以下中的任何一个或二个: a) 在约45℃ 6×SSC, 之后是在0.2×SSC、0.1% SDS中在65℃一次或多次清洗, 和b) 400mM NaCl、40mM PIPES pH 6.4、1mM EDTA, 50℃或70℃持续12-16小时, 之后清洗。在一些实施方式中, 术语“严格条件”可指标准核酸扩增 (例如, PCR) 条件。

[0054] 在一些实施方式中, 样品与一组扩增引物在标准核酸扩增条件下接触, 扩增条件在下面被进一步详细讨论。对于PCR技术的评论, 包括如应用到临床微生物学的标准核酸扩增条件如PCR条件, 参见DNA Methods in Clinical Microbiology, Singleton P., Dordrecht出版; Boston: Kluwer Academic, (2000) Molecular Cloning to Genetic Engineering White, B.A. Ed. in Methods in Molecular Biology 67: Humana Press, Totowa (1997) 和“PCR Methods and Applications”, 1991至1995 (Cold Spring Harbor Laboratory Press)。“核酸扩增条件”和“PCR条件”的非限制的实例包括本文引用的参考文献中公开的条件, 如, 例如, 50mM KCl、10mM Tris-HCl (pH 9.0)、0.1% Triton X-100、2.5mM MgCl₂、退火温度72℃; 或4mM MgCl₂、100mM Tris、pH 8.3、10mM KCl、5mM (NH₄)₂SO₄、0.15mg BSA、4% Trehalose, 具有59℃的退火温度, 或50mM KCl、10mM Tris-HCl (pH 9.0)、0.1% Triton X-100、2.5mM MgCl₂, 具有55℃的退火温度, 或类似条件。

[0055] 本文描述的引物可利用本领域已知的技术制备,包括,不限于,适当序列的克隆和消化和直接化学合成。可用于制备本文描述的引物的化学合成方法,包括,但不限于,Narang et al.(1979)Methods in Enzymology 68:90描述的磷酸三酯法、Brown et al.(1979)Methods in Enzymology 68:109公开的磷酸二酯法、Beaucage et al.(1981)Tetrahedron Letters 22:1859公开的二乙基氨基磷酸酯和美国专利号4,458,066中描述的固体载体法。本文还考虑应用自动化的寡核苷酸合成仪来制备本文描述的合成的寡核苷酸引物。

[0056] 因此,一些实施方式涉及组合物,其包括与具有MREJ型xxi序列的MRSA菌株中多态性SCCmec右侧末端序列特异地杂交(例如,在标准核酸扩增条件,例如,标准PCR条件和/或严格杂交条件下)的寡核苷酸(例如,扩增引物和探针)。例如,在一些实施方式中,提供组合物,其包括与存在于SEQ ID NO:1的多态性SCCmec右侧末端序列或其互补物,例如,在SEQ ID NO:1的1至164位置内的核苷酸,或其互补物特异地杂交的寡核苷酸。与MREJ型xxi的多态性SCCmec右侧末端序列——包括SEQ ID NO:1内的多态性右侧末端序列——特异地杂交的示例的寡核苷酸提供在SEQ ID NO:2或其互补物中。因此,本文提供与SEQ ID NO:2或其互补物基本上互补的寡核苷酸,以及相对于SEQ ID NO:2或其互补物,含有1、2、3、4或更多错配或通用核苷酸的寡核苷酸,例如,包括与SEQ ID NO:2或其互补物至少80%相同(例如至少81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的寡核苷酸。

[0057] 在一些实施方式中,组合物和方法可包括寡核苷酸,例如,扩增引物或序列特异性探针,其与除MREJ型xxi外MREJ区内的一种或多种多态性右侧末端序列特异地杂交。因此,一些实施方式提供寡核苷酸,例如,扩增引物或序列特异性探针,其与选自如下的一个或多个MREJ区内的多态性右侧末端序列特异地杂交(在标准核酸扩增条件和/或严格杂交条件下):MREJ型i区、MREJ型ii区、MREJ型iii区、MREJ型iv区、MREJ型v区、MREJ型vi区、MREJ型vii区、MREJ型viii区、MREJ型ix区、MREJ型x区、MREJ型xi区、MREJ型xii区、MREJ型xiii区、MREJ型xiv区、MREJ型xv区、MREJ型xvi区、MREJ型xvii区、MREJ型xviii区、MREJ型xix区、和MREJ型xx区。

[0058] 在一些实施方式中,组合物和方法可包括寡核苷酸,例如,扩增引物,其与mecA序列或其片段特异地杂交,并能产生mecA序列或其片段的扩增子。因此,一些实施方式包括寡核苷酸,例如,扩增引物,其与SEQ ID NO:156内的序列特异地杂交,并能产生SEQ ID NO:156内的序列的扩增子。一些实施方式包括寡核苷酸,例如,扩增引物,其与mecC序列,例如,SEQ ID NO:157内的序列,或其片段特异地杂交,并能产生mecC序列,例如,SEQ ID NO:157内的序列,或其片段的扩增子。一些实施方式包括寡核苷酸,例如,扩增引物,其与金黄色葡萄球菌特异序列特异地杂交,并能产生金黄色葡萄球菌特异序列的扩增子。例如,一些实施方式提供寡核苷酸,其与nuc序列(例如,来自SEQ ID NO:158的序列)、femB序列(例如,来自SEQ ID NO:159的序列)、Sa442序列(例如,来自Martineau,et al.1998,J.Clin.Microbiol.36(3):618-623)(SEQ ID NO:160)特异地杂交,并能产生nuc序列(例如,来自SEQ ID NO:158的序列)、femB序列(例如,来自SEQ ID NO:159的序列)、Sa442序列(例如,来自Martineau,et al.1998,J.Clin.Microbiol.36(3):618-623)(SEQ ID NO:160)的扩增子。

[illegible]

特异性寡核苷酸(例如扩增引物和序列特异性探针)在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下与MREJ型xix区的多态性右侧末端序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如扩增引物和序列特异性探针)在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下与MREJ型xx区的多态性右侧末端序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如,扩增引物和/或序列特异性探针)与mecA序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如,扩增引物和/或序列特异性探针)与mecC序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如,扩增引物和/或序列特异性探针)与nuc序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如,扩增引物和/或序列特异性探针)与Sa442序列特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性寡核苷酸(例如,扩增引物和/或序列特异性探针)与femB序列特异地杂交。

[0060] 与本文公开的实施方式相关的示例性MREJ区序列包括,例如:

MREJ型	SEQ ID NO(或多个)中示例的:
i	5
ii	6
iii	7
iv	8
v	9
vi	10
vii	11
viii	12
ix	13
x	14
xi	15、16和17
xii	18
xiii	19、20、21
xiv	22
xv	23
xvi	24
xvii	25
xviii	26和27
xix	28
xx	29
xxi	1

[0062] 除了上面讨论的SEQ ID NO:2的寡核苷酸——其与MREJ型xxi区内多态性右侧末端序列特异地杂交,用于本文公开的实施方式的对MREJ区序列内一个或多个多态性序列,或对金黄色葡萄球菌染色体DNA序列特异的寡核苷酸包括,但不限于以下:

	SEQ ID NO
对以下特异的:	
MREJ 型 xi 引物	30
MREJ 型 xi 引物	31
MREJ 型 xii 引物	32
MREJ 型 xii 引物	33
MREJ 型 ix、xiii、xiv 引物	34
MREJ 型 xv 引物	35
MREJ 型 xv 引物	36
MREJ 型 xv 引物	37
MREJ 型 xv 引物	38
MREJ 型 i、ii 和 xvi 引物	39
MREJ 型 xvii 引物	40
MREJ 型 xvii 引物	41
MREJ 型 xvii 引物	42
MREJ 型 xviii 引物	43
MREJ 型 xix 引物	44
MREJ 型 xx 引物	45
[0063] orfX	46
orfX r	47
orfX	49
orfX	50
orfX	51
orfX	52
orfX	53
orfX	54
orfX	55
orfX	56
orfX	57
orfX	58
orfX	59
orfX	60
orfX	61
orfX	62
orfX	63
orfX	64
MREJ 型 i 和 ii	65

MREJ 型 i 和 ii	66
MREJ 型 i 和 ii	67
MREJ 型 ii	68
MREJ 型 ii	69
MREJ 型 iii	70
MREJ 型 iii	71
MREJ 型 iii	72
MREJ 型 iv	73
MREJ 型 v	74
MREJ 型 vi	75
MREJ 型 vi	76
MREJ 型 vii	77
MREJ 型 vii	78
MREJ 型 viii	79
MREJ 型 viii	80
MREJ 型 ix	81
MREJ 型 x	83
[0064] nuc	161
nuc	162
nuc	163
nuc	164
nuc	165
nuc	166
nuc	167
nuc	168
nuc	169
nuc	170
nuc	171
nuc	172
Sa442	173
Sa442	174
femB	175
femB	176
mecA	177
mecA	178
mecA	179
mecC	180

	mecC	181
	mecC	182
	mecC	183
[0065]	mecA	184
	mecA	185
	mecA	186
	mecC	187

[0066] 除了上述的,熟练的技术人员将理解本文公开的组合物和方法可包括用于除上面本文提到的那些外的多种MRSA菌株中SCC_{mec}序列的右侧末端区的特异性检测的引物和/或探针。通过实例,在一些实施方式中,本文公开的组合物和方法包括序列,例如,国际专利申请公开号W0 08/080620中描述的引物和/或探针,包括其变体和其互补物。因此,本文公开的组合物和方法可包括下面列出的引物和/或探针:

[0067] 表2

	SEQ ID NO:	序列 (5'-3')
	84	GCA ATT CAC ATA AAC CTC ATA TGT TC
	85	ACC TCA TAT GTT CTG ATA CAT TCA
	86	GCA ATT CAC ATA AAC CTC ATA T
	87	CAT AAC AGC AAT TCA CAT AAA CCT C
	88	TAA CAG CAA TTC ACA TAA ACC T
	89	CGC TAT TAT TTA CTT GAA ATG AAA GAC
	90	CTT GAA ATG AAA GAC TGC GGA
	91	TTG CTT CAC TAT AAG TAT TCA GTA TAA AGA ATT TAC TTG AAA TGA AAG ACT GCG
	92	ATT TAC TTG AAA TGA AAG ACT GCG
[0068]	93	AAA GAA TAT TTC GCT ATT ATT TAC TTG AA
	94	TCA GTA TAA AGA ATA TTT CGC TAT TAT TT
	95	TGA AAT GAA AGA CTG CGG AG
	96	AAC CTC ATA TGT TCT GAT ACA TTC AAA
	97	TAT GTC AAA AAT CAT GAA CCT CAT TAC T
	98	CAT AAC AGC AAT TCA CAT AAA CCT C
	99	GAC TGC GGA GGC TAA CT
	100	ATC CCT TTA TGA AGC GGC
	101	TGA AAT GAA AGA CTG CGG AG
	102	GCA AGG TAT AAT CCA ATA TTT CAT ATA TGT
	103	AGT TCC ATA ATC AAT ATA ATT TGT ACA GT
	104	ACA TCG TAT GAT ATT GCA AGG TA
	105	CTT TCA TTC TTT CTT GAT TCC ATT AG

[0069]

106	CAC TCT ATA AAC ATC GTA TGA TAT TGC
107	TTC TTA ATT TAA TTG TAG TTC CAT AAT CAA
108	AAT TAT ACA CAA CCT AAT TTT TAG TTT TAT
109	AAT TTT TAG TTT TAT TTA TGA TAC GCT TC
110	ACA CAA CCT AAT TTT TAG TTT TAT TTA TGA
111	TTT ATT AAA CAC TCT ATA AAC ATC GTA TGA
112	TCA CAT CTC ATT AAA TTT TTA AAT TAT ACA C
113	CCA CAT CTC ATT AAA TTT TTA AAT TAT ACA C
114	ATA TTA TAC ACA ATC CGT TTT TTA GTT TTA
115	ACA CAA TCC GTT TTT TAG TTT TAT TTA TG
116	TTC TAA TTT ATT TAA CAT AAA ATC AAT CCT
117	CAA TCC TTT TTA TAT TTA AAA TAT ATT ATA CAC
118	AAG TCG CTT TGC CTT TGG GTC A
119	TAC AAA GTC GCT TTG CCT TTG GGT CA
120	GGC CGT TTG ATC CGC CAA T
121	AAG TCG CTT TGC CCT TGG GTA
122	AAG TCG CTT TGC CCT TGG GT
123	AAG TCG CTT TGC CCT TGG GTC A
124	AAG TCG CTT TGC CCT TGG G
125	CAA GAA TTG AAC CAA CGC AT
126	CAA TGA CGA ATA CAT AGT CGC TTT GCC CTT
127	CGT TTG ATC CGC CAA TGA CGA
128	GCC AAT CCT TCG GAA GAT AGC A
129	ATT AAC ACA ACC CGC ATC
130	GTC GCT TTG CCC TTG GGT C
131	TCG CTT TGC CCT TGG GTC AT
132	GGC CGT TTG ATC CGC CAA T
133	GTC CTT GTG CAG GCC GTT TGA T
134	CTT GGG TCA TGC GTT GGT TCA ATT
135	CGA ATA CAA AGT CGC TTT GCC CTT GGG
136	ATG CGT TGG TTC AAT TCT TG
137	GCG TTG GTT CAA TTC TTG GG
138	ACC CAA GGG CAA AGC GAC TT
139	GGT AAT GCG TTG GTT CAA TTC TTG
140	ACA AAG TCG CTA TGC CCT TGG GTC A
141	CTT TCC TTG TAT TTC TAA TGT AAT GAC TG
142	TTG ATG TGG GAA TGT CAT TTT GCT GAA
143	GCG TTG GTT CAA TTC TTG GGC CAA T

[0070]

144	GTT GGT TCA ATT CTT GGG CCA ATC CTT CG
145	CGA ATA CAA AGT CGC TTT GCC CTT GG
146	GCC AAT GAC GAA TAC AAA GTC GCT TTG CC
147	TGG GCC AAT CCT TCG GAA GAT AGC A
148	ATG CGT TGG TTC GAT TCT TG
149	CAT GCG TTG GTT CGA TTC TTG
150	AAG TCG CTT TGC CCT TGG G
151	CAT GCG TTG GTT CGA TTC TTG
152	AAG TCG CTT TGC CCT TGG GTC AT
153	TGC TCA ATT AAC ACA ACC CGC ATC A
154	GCC GCG CTG CTC AAT TAA CAC AAC CCG CGC GGC
155	GCC GCG CAT GCG TTG GTT CAA TTC TGC GCG GC

[0071] 因此,在示例的实施方式中,提供用于检测包括MREJ_{xxi}和选自MREJ型i-xx的一种或多种MREJ型的MRSA的方法和组合物。例如,一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性和金黄色葡萄球菌染色体DNA特异性寡核苷酸提供包括型i、ii、iii和xxi MREJ核酸的MRSA的检测和/或鉴定。一些实施方式利用如本文所描述的MREJ特异性寡核苷酸的组合提供包括型i、ii、iii、iv和xxi MREJ序列的MRSA的检测和/或鉴定。一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性寡核苷酸的组合提供包括型i、ii、iii、iv、v、vii和xxi MREJ核酸的MRSA的检测。一些实施方式提供利用本文公开的MREJ特异性寡核苷酸的组合包括型i、ii、iii、iv、v、vii和xxi MREJ核酸的MRSA的鉴定。一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性寡核苷酸的组合提供包括型i、ii、iii、iv、v、vii和xxi MREJ核酸的MRSA的检测。一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性寡核苷酸的组合提供包括型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、ix、xiii、xiv和xxi核酸的MRSA的检测。一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性寡核苷酸的组合提供包括型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、ix、xiii、xiv和xxi核酸的MRSA的鉴定。一些实施方式利用本文公开的MREJ特异性组合提供包括型i、ii、iii、iv、vii、xvi和xxi核酸的MRSA的检测和/或鉴定。

[0072] 探针

[0073] 在一些实施方式中,提供序列特异性探针。探针包括,但不限于如本文所描述的寡核苷酸。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与靶序列,如MREJ型xxi区核酸序列特异地杂交。例如,在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与SEQ ID NO:1、或其互补物、或其子序列(例如,SEQ ID NO:1内区域的扩增子)特异地杂交。在一些实施方式中,序列特异性探针与本文公开的正向引物和反向引物的结合部位两侧的核苷酸序列特异地杂交,并且与本文公开的正向引物和反向引物的结合部位两侧的核苷酸序列完全或基本上互补。在一些实施方式中,序列特异性探针包括SEQ ID NO:2或3的至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸,以便序列特异性探针与本文公开的扩增引物的结合部位重叠。

[0074] 在一些实施方式中,提供与orfX杂交的序列特异性探针。在一些实施方式中,提供与mecA杂交的序列特异性探针。在一些实施方式中,提供与mecC杂交的序列特异性探针。在一些实施方式中,提供与nuc杂交的序列特异性探针。在一些实施方式中,提供与femB杂交

的序列特异性探针。在一些实施方式中,提供与Sa442杂交的序列特异性探针。

[0075] 熟练的技术人员将容易理解可一起提供同源的扩增引物对和序列特异性探针。即,在提供与特定序列特异性杂交并产生特定序列的扩增子的扩增引物的实施方式中,本文公开的实施方式还可包括序列特异性探针,其与扩增子杂交并且对扩增子特异。

[0076] 在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xxi区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型i区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型ii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型iii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型iv区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型v区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型vi区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型vii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型viii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型ix区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型x区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xi区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xiii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xiv区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xv区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xvi区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xvii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xviii区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xix区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREJ型xx区多态性右侧末端序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与mecA序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本

文公开的序列特异性探针与mecC序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与nuc序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与femB序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与Sa442序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。

[0077] 在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与位于距SCCmec元件进入染色体DNA的插入点1千碱基内的金黄色葡萄球菌染色体序列特异地杂交。例如,在一些实施方式中,提供序列特异性探针,其与金黄色葡萄球菌orfX序列在核酸扩增的标准条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。在一些实施方式中,提供序列特异性探针,其与orfSA0022在核酸扩增的标准条件下杂交。在一些实施方式中,本文公开的序列特异性探针与MREP序列,例如,MREP型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、viii、ix、x、xi、xii、xiii、xiv、xv、xvi、xvii、xviii、xix、xx或xxi序列特异地杂交。在一些实施方式中,提供一个以上的序列特异性探针。例如,在一些实施方式中,提供与MREP型xxi序列特异地杂交的序列特异性探针,连同一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、十五、十六、十七、十八、十九或二十或更多个序列特异性探针。

[0078] 在一些实施方式中,寡核苷酸探针可包括可检测的部分。例如,在一些实施方式中,本文公开的寡核苷酸探针可包括放射性标记。放射性标记的非限制的实例包括³H、¹⁴C、³²P和³⁵S。在一些实施方式中,寡核苷酸探针可包括一种或多种非放射的可检测的标记或部分,包括但不限于配体、荧光团、化学发光剂、酶和抗体。与探针一起使用的其它可检测的标记——其可使得本发明方法的灵敏度增加——包括生物素和放射-核苷酸。对普通技术人员将变得明显的是特定标记的选择指示它结合探针的方式。例如,寡核苷酸探针用一种或多种染料标记,以便与模板核酸杂交之后,产生荧光可检测的变化。虽然非特异性染料对于一些应用可能是期望的,但是序列特异性探针可提供更精确的扩增测量。序列特异性探针的一个构型可包括与荧光团连接的探针的一端和与猝灭剂连接的探针的另一端。当探针未杂交时,它可保持茎-环构型,其中荧光团被猝灭剂淬灭,因此阻止荧光团发荧光。当探针与模板核序列杂交时,它被线性化,使荧光团远离猝灭剂,并因此允许荧光团发荧光。序列特异性探针的另一个构型可包括与FRET对的第一荧光团连接的第一探针和与FRET对的第二荧光团连接的第二探针。第一探针和第二探针可被配置以当第一探针和第二探针与相同的扩增子杂交时与在充分近端内的扩增子序列杂交以允许FRET引起的能量传递。

[0079] 在一些实施方式中,序列特异性探针包括如本文所公开的与荧光团结合的寡核苷酸。在一些实施方式中,探针与两个或更多荧光团结合。荧光团的实例包括:氧杂蒽染料,例如,荧光素和罗丹明染料,如异硫氰酸荧光素(FITC)、2-[乙氨基]-3-(乙亚氨基(ethylimino))-2-7-二甲基-3H-氧杂蒽(xanthene)-9-基]苯甲酸乙酯单氢氯化物(R6G)(发射波长范围为约500至560nm的响应辐射)、1,1,3,3,3',3'-六甲基吲哚二碳花青碘化物Hexamethylindodicarbocyanine iodide(HIDC)(发射波长范围为约600至660nm的响应辐射)、6-羧基荧光素(通常称作缩写FAM和F)、6-羧基-2',4',7',4,7-六氯荧光素(HEX)、6-羧基-4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基荧光素(JOE或J)、N,N,N',N'-四甲基-6-羧基罗丹明(TAMRA或T)、6-羧基-X-罗丹明(ROX或R)、5-羧基罗丹明-6G(R6G5或G5)、6-羧基罗丹明-6G

(R6G或G6)和罗丹明110;花青染料、例如Cy3、Cy5和Cy7染料;香豆素类,例如,伞形酮;苯甲亚胺染料,例如Hoechst33258;菲啶染料,例如德克萨斯红;胡米胺染料;吡啶染料;咪唑染料;吩噻嗪染料;卟啉染料;聚甲炔染料,例如花青染料如Cy3(发射波长范围为约540至580nm的响应辐射)、Cy5(发射波长范围为约640至680nm的响应辐射)等;BODIPY染料和喹啉染料。感兴趣的特异性荧光团包括:苡、香豆素、二乙基氨基香豆素、FAM、荧光素氯三嗪(Fluorescein Chlorotriazinyl)、荧光素、R110、伊红、JOE、R6G、HIDC、四甲基罗丹明、TAMRA、丽丝胺、ROX、Naphthofluorescein、德克萨斯红、Naphthofluorescein、Cy3和Cy5和类似物。

[0080] 在一些实施方式中,探针与猝灭剂结合。猝灭剂可吸收电磁辐射和将其消散为热,因此保持黑暗。实例猝灭剂包括Dabcyl、NFQ's,如BHQ-1或BHQ-2(Biosearch)、IOWA BLACK FQ(IDT)和IOWA BLACK RQ(IDT)。在一些实施方式中,选择猝灭剂以与荧光团配对,以吸收荧光团发射的电磁辐射。用于本文公开的组合物和方法的荧光团/猝灭剂对在本领域众所周知,并可被找到,例如,在万维网网址molecular-beacons.org/download/marras, mmb06%28335%293.pdf获得的S.Marras, "Selection of Fluorophore and Quencher Pairs for Fluorescent Nucleic Acid Hybridization Probes"中被描述。

[0081] 在一些实施方式中,荧光团与探针的第一端连接,猝灭剂与探针的第二端连接。结合可包括共价结合,并可任选地包括位于探针和荧光团或猝灭剂之间的至少一个连接分子。在一些实施方式中,荧光团与探针的5'端连接,猝灭剂与探针的3'端连接。在一些实施方式中,荧光团与探针的3'端连接,猝灭剂与探针的5'端连接。可用于定量核酸扩增的探针的实例包括分子信标、SCORPION™探针(Sigma)、TAQMAN™探针(Life Technologies)等。用于本文公开的实施方式的其它核酸检测技术包括,但不限于纳米颗粒探针技术(参见, Elghanian, et al. (1997) Science 277:1078-1081.)和Amplifluor探针技术(参见, 美国专利号:5,866,366;6,090,592;6,117,635;和6,117,986)。

[0082] 本文公开的一些实施方式提供探针,其与MREJ型xxi序列,或MREJ型xxi序列的扩增子,例如,SEQ ID NO:1,或其子序列特异地杂交。因此,本文公开的一些实施方式提供探针,其利用扩增引物SEQ ID NOs:2和3与来自包括SEQ ID NO:1的模板扩增的扩增子杂交。仅通过实例,在一些实施方式中,探针可包括SEQ ID NO:4的序列,基本上由SEQ ID NO:4的序列组成,或由SEQ ID NO:4的序列组成,或提供其变体。在一些实施方式中,探针包括如本文所描述的荧光团和/或猝灭剂。在一些实施方式中,探针可包括SEQ ID NO:82的序列,基本上由SEQ ID NO:82的序列组成,或由SEQ ID NO:82的序列组成,或提供其变体。在一些实施方式中,探针包括如本文所描述的荧光团和/或猝灭剂。在优选实施方式中,探针可包括SEQ ID NO:4或SEQ ID NO:82、或其变体,荧光团6-羧基荧光素("FAM")与探针的5'端连接,猝灭剂IOWA BLACK Black-hole Quencher®2(IDT)("BHQ")与探针的3'端连接。

[0083] 试剂盒

[0084] 本文还提供试剂盒。本文公开的试剂盒、引物和探针可用于在体外和/或原位应用中检测和/或鉴定MREJ型xxi的MRSA(并且,在一些实施方式中,另外检测和/或鉴定MREJ型i-xx中一种或多种的MRSA)。例如,考虑试剂盒可与任何先前描述的引物/探针组合使用,用于检测MREJ型i至xx的MRSA。还考虑本文公开的诊断试剂盒、引物和探针可单独使用或与适合检测和/或鉴定微生物的任何其它测定组合使用,适合检测和/或鉴定微生物的任何其它

测定包括但不限于：基于核酸检测的任何测定、任何免疫测定、任何酶测定、任何生物化学测定、任何溶菌测定、任何血清学测定、任何差异培养基、任何富集培养基、任何选择培养基、任何特异性测定培养基、任何鉴定培养基、任何计数培养基、任何细胞株、特异性细胞系上的任何培养和动物上的任何感染性测定。

[0085] 因此，在一些实施方式中，本文公开的试剂盒将包括寡核苷酸，其与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列（例如，SEQ ID NO:1或其互补物）在标准核酸扩增条件和/或严格杂交条件下特异地结合。例如，在一些实施方式中，本文公开的试剂盒将包括寡核苷酸（例如，第一扩增引物），其包括SEQ ID NO:2或其变体，基本上由SEQ ID NO:2或其变体组成，或由SEQ ID NO:2或其变体组成。在一些实施方式中，试剂盒还可包括一种或多种另外的寡核苷酸，例如，第二扩增引物如寡核苷酸，其包括SEQ ID NO:3或其变体，基本上由SEQ ID NO:3或其变体组成，或由SEQ ID NO:3或其变体组成，其连同第一扩增引物将产生MREJ型xxi序列的多态性右侧末端连接的扩增子。在一些实施方式中，试剂盒还可包括如本文所描述的探针。例如，在一些实施方式中，试剂盒可包括寡核苷酸探针，其包括SEQ ID NO:4或其变体，基本上由SEQ ID NO:4或其变体组成，或由SEQ ID NO:4或其变体组成。

[0086] 在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的试剂盒可包括一种或多种寡核苷酸，其与MREJ型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、viii、ix、x、xi、xii、xiii、xiv、xv、xvi、xvii、xviii、xix或xx内SCCmec多态性右侧末端序列（MREP）的一种或多种特异地结合。在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的可包括一种或多种寡核苷酸，其与mecA序列特异地结合。在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的试剂盒可包括一种或多种寡核苷酸，其与mecC序列特异地结合。在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的试剂盒可包括一种或多种寡核苷酸，其与nuc序列特异地结合。在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列的多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的试剂盒可包括一种或多种寡核苷酸，其与金黄色葡萄球菌-特异性核苷酸序列，例如，femB序列特异地结合。在一些实施方式中，除了与MREJ型xxi序列多态性右侧末端序列在标准扩增条件下特异地结合的寡核苷酸外，本文公开的试剂盒可包括与Sa442序列特异地结合的一种或多种寡核苷酸。

[0087] 在一些实施方式中，提供含有试剂和组合物以进行本文描述的方法的试剂盒。这样的试剂盒可包括载体，其被区划，其中严格限制地接收一个或多个容器，如管或管形瓶。容器之一可含有至少一种未标记的或本文公开的可检测的标记的引物或探针。引物或引物可以以冻干形式存在或必要时存在于适当的缓冲液中。一个或多个容器可含有一种或多种将用于，例如，核酸扩增反应的酶或试剂。这些酶可单独存在或以混合物存在，以冻干形式存在或存在于适当的缓冲液中。用于如本文所公开的核酸扩增反应的示例性酶包括，但不限于，FASTSTART™Taq DNA聚合酶、APTATAQ™DNA聚合酶（Roche）、KLENTAQ 1™DNA聚合酶（AB peptides Inc.）、HOTGOLDSTAR™DNA聚合酶（Eurogentec）、KAPATAQ™HotStart DNA聚合酶、KAPA2G™Fast HotStart DNA聚合酶（Kapa Biosystemss）、PHUSION™Hot Start DNA聚合酶（Finnzymes）或类似的酶。

[0088] 另外,本文公开的试剂盒可包括进行本文公开的方法必需的所有另外的成分,如缓冲液、提取试剂、酶、吸管、板、核酸、三磷酸核苷、滤纸、凝胶材料、转移材料、放射自显影供应物等。

[0089] 在一些实施方式中,试剂盒包括另外的试剂,其是必需的或方便的和/或期望的,包括在本文公开的方法期间制备的反应混合物中,其中这样的试剂包括:一种或多种聚合酶;含水缓冲介质(制备的或以其组成组分存在,其中组分中的一种或多种可预混合或所有组分可分开)和类似物。试剂盒的各种试剂组分可存在于单独的容器,或可以全部预先组合成试剂组合物,用于与模板核酸组合。

[0090] 除了以上组分,在一些实施方式中,试剂盒还可包括实施本文公开的方法的说明书。这些说明书可以以多种形式存在于试剂盒,其一种或多种可存在于试剂盒中。这些说明书可存在的一种形式是作为合适的介质或衬底上印刷的信息,例如,信息印刷在其上的一张或多张纸,试剂盒的包装中、包装插件中等印刷的信息。然而另一种手段将是计算机可读的介质,例如,磁盘、CD等,信息也被记录在其上。然而可存在的另一种手段是网站地址,其可通过互联网来使用以在移动的位置访问信息。任何方便的手段可存在于试剂盒中。

[0091] 方法

[0092] 本文提供方法,用于检测、鉴定和/或定量来自样品的具有MREJ型xxi核酸的MRSA的。在一些实施方式中,方法包括将待被分析的样品与寡核苷酸接触的步骤,所述寡核苷酸与SCCmec MREJ型xxi区的多态性右侧末端序列在标准核酸扩增条件和/或严格杂交条件下特异地杂交。

[0093] 在一些实施方式中,待被测试具有SCCmec MREJ型xxi区的MRSA存在的样品在进行本文公开的方法之前进行。例如,在一些实施方式中,在进行本文公开的方法之前,样品可被分离、浓缩或经历多种其它处理步骤。例如,在一些实施方式中,在使样品与如本文所公开的寡核苷酸接触之前,样品可被处理以从样品分离核酸。如本文所用,短语“分离核酸”指从一种或多种细胞组分的核酸的纯化。熟练的技术人员将理解,处理以从中“分离核酸”的样品可包括除核酸外的组分和杂质。在一些实施方式中,本文公开的方法在样品上进行,无需体外培养样品。在一些实施方式中,本文公开的方法在样品上进行,在将样品与如本文所公开的寡核苷酸接触之前无需从样品分离核酸。

[0094] i. 基于非扩增的方法

[0095] 在一些实施方式中,寡核苷酸包括可检测的部分,如本文别处所描述的,并且可检测寡核苷酸与SCCmec MREJ型xxi区的多态性右侧末端序列的特异性杂交,例如,通过直接或间接的方法。因此,针对包括MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的检测和/或鉴定的一些实施方式包括以下步骤:提供测试样品;和将样品与接触,所述寡核苷酸探针与SCCmec MREJ型xxi区的多态性右侧末端序列在标准核酸扩增条件和/或严格杂交条件下特异地杂交,其中所述寡核苷酸探针长度在10和45个核苷酸之间,并包括可检测的部分,其中如果包括MREJ型xxi序列的金黄色葡萄球菌存在于样品中,那么接触在允许引物与MREJ型xxi序列的mec右侧末端连接的特异杂交的条件下进行。可测定与MREJ型xxi序列(如果存在于正被测试的样品中)的mec右侧末端连接特异地结合的探针的存在和/或量,其中结合的探针指示样品中具有SCCmec MREJ型xxi序列的MRSA的存在。在一些实施方式中,结合的探针的量用于测定样品中具有SCCmec MREJ型xxi序列的MRSA的量。

[0096] 相似地,在一些实施方式中,基于非扩增的方法可用于检测另外的核苷酸序列。例如,在一些实施方式中,本文公开的方法可包括基于非扩增的方法检测除MREJ型xxi序列外其它MREJ序列,例如,MREJ型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、viii、ix、x、xi、xii、xiii、xiv、xv、xvi、xvii、xviii、xix或xx中的一种或多种或其任何组合的存在和/或量的应用。在一些实施方式中,本文公开的方法可包括基于非扩增的方法检测除MREJ(或MREP)型xxi序列外mecA序列的存在的存在的应用。在一些实施方式中,本文公开的方法可包括基于非扩增的方法检测除MREJ(或MREP)型xxi序列外mecC序列的存在的存在的应用。在一些实施方式中,本文公开的方法可包括基于非扩增的方法检测除(MREP)MREJ型xxi序列外金黄色葡萄球菌特异性序列,如nuc序列、femB序列、Sa442序列、16S rRNA序列或类似序列存在的应用。因此,在示例的实施方式中,本文提供用于MREJ型xxi、i、ii、iii、iv、vii、mecA、mecC和nuc序列同时检测的方法和组合物。

[0097] 测定步骤可利用本领域技术人员已知的任何方法实现,包括但不限于,接触步骤之后原位杂交。杂合双链(即,特异地结合来自MREJ型xxi区的多态性右侧末端序列的探针的)的检测可通过许多方法来进行。通常,杂合双链分离自未杂交的核酸,然后检测与双链体结合的标记。这样的标记指本领域标准使用的放射性的、荧光的、生物的或酶学的标签或标记。标记可结合到寡核苷酸探针或来自生物样品的核酸。本领域技术人员将理解清洗步骤可用于洗掉过量样品/靶核酸或寡核苷酸探针(以及未结合的结合物,当可适用时)。另外,标准的异种测定形式适合利用存在于寡核苷酸引物和探针上的标记检测杂合子。

[0098] 因此,根据一些实施方式,本文公开的方法可包括,例如利用本领域公认的方法,ELISA(例如,以浸渍片形式、多孔形式或类似形式)。

[0099] ii. 基于扩增的方法

[0100] 在一些实施方式中,用于检测和/或鉴定包括MREJ型xxi核酸的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的方法包括以下步骤:提供测试样品;和将样品与寡核苷酸探针接触,寡核苷酸探针与SCCmec MREJ型xxi区的多态性右侧末端序列在标准核酸扩增条件和/或严格杂交条件下特异性杂交,其中寡核苷酸探针长度在10和45个核苷酸之间。

[0101] 在一些实施方式中,样品在标准扩增条件,或如果包括MREJ型xxi序列的金黄色葡萄球菌存在于样品中,允许引物与MREJ型xxi序列的mec右侧末端多态性序列(MREP序列)特异性杂交和延伸的条件下接触。因此,方法包括特异性扩增来自样品的MREJ型xxi核酸,例如,以产生包括MREJ型xxi序列的mec右侧末端连接的扩增子或扩增产物的步骤。在一些实施方式中,样品在标准扩增条件,或允许引物对,例如,与mec右侧末端多态性序列(MREP序列)杂交的第一引物和与邻近SCCmec右侧末端的金黄色葡萄球菌染色体序列,即,orfX杂交的第二引物特异杂交的条件下接触,以产生跨SCCmec-染色体连接的扩增子。一些实施方式提供方法以通过在标准扩增条件,或允许引物对,例如,与mec右侧末端多态性序列(MREP序列)杂交的第一引物和与邻近SCCmec右侧末端的金黄色葡萄球菌染色体序列,即,orfX杂交的第二引物特异杂交的条件下接触样品以产生跨SCCmec-染色体连接的扩增子而产生SCCmec右侧末端连接序列数据。

[0102] 在一些实施方式中,样品,例如,与MREJ型xxi特异性寡核苷酸(一个或多个)接触的同时(如在多重PCR中)或与MREJ型xxi特异的寡核苷酸(一个或多个)接触连续地,在相同的标准扩增条件下与另外的引物接触,所述另外的引物允许一种或多种另外的MREJ型序

列,例如,MREJ型i、ii、iii、iv、v、vi、vii、viii、ix、x、xi、xii、xiii、xiv、xv、xvi、xvii、xviii、xix或xx序列中的一个或多个的特异性扩增。在一些实施方式中,样品,例如,与MREJ型xxi特异的寡核苷酸(一个或多个)接触的同时(多重PCR)或与MREJ型xxi特异的寡核苷酸(一个或多个)接触连续地,在相同的标准扩增条件下与另外的引物接触,所述另外的引物允许mecA和/或mecC序列的特异性扩增。在一些实施方式中,样品,例如,与MREJ型xxi特异的寡核苷酸(一个或多个)接触的同时(如在多重PCR中)或与MREJ型xxi特异的寡核苷酸(一个或多个)接触连续地,在相同的标准扩增条件下与另外的引物接触,所述另外的引物允许对金黄色葡萄球菌(金黄色葡萄球菌特异性序列)独特的一个或多个序列,如nuc、femB、Sa442等的特异性扩增。因此,在一些实施方式中,样品与对MREJ型xxi、i、ii、iii、iv、v、vii、ix、xiii、xiv和xxi序列,以及mecA、mecC和nuc序列特异的引物接触。

[0103] 在一些实施方式中,方法包括特异类型的序列(例如,MREJ型xxi序列)的鉴定。例如,在包括只有MREJ型xxi序列特异扩增的在实施方式中,扩增子的存在或缺乏指示样品中MREJ型xxi序列的存在或缺乏。在一些实施方式中,方法包括另外序列,例如,MREJ序列、mec序列、金黄色葡萄球菌特异性序列和类似序列的多重特异性扩增,连同MREJ型xxi序列特异性扩增。在包括多重扩增的实施方式中,在一些实施方式中,方法可包括特异序列的鉴定或检测,例如,通过利用只与一个扩增子杂交的序列特异性探针。在一些实施方式中,方法不区分扩增之后存在于样品中不同的可能的扩增子的一些或全部。例如,在一些实施方式中,与orfX杂交的序列特异性探针可用于检测一种或多种MREJ类型的扩增子的存在。在一些实施方式中,方法包括扩增产物的检测,没有特定序列的特异性检测。

[0104] 用于靶核酸特异扩增的几种方法在本领域已知,并用于本文公开的实施方式。扩增方法的非限制的实例包括聚合酶链反应(PCR;参见Saiki et al.,1985,Science230:1350-1354,通过引用并入本文)、连接酶链反应(LCR;参见Wu et al.,1989,Genomics 4:560-569;Barringer et al.,1990,Gene 89:117-122;Barany,1991,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:189-193,其所有通过引用并入本文)、转录介导的扩增(TMA;参见Kwoh et al.,1989,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:1173-1177,通过引用并入本文)、自主序列复制(3SR;参见Guatelli et al.,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:1874-1878,通过引用并入本文)、滚环扩增(RCA)、基于核酸序列的扩增(NASBA)、Q β 复制酶系统(Lizardi et al.,1988,BioTechnology 6:1197-1202,通过引用并入本文)和包括嗜热的SDA(tSDA)的链置换扩增(SDA;参见Walker et al.,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:392-396;Walker et al.,1992,Nuc.Acids.Res.20:1691-1696;和EP 0 497272,其所有通过引用并入本文))。

[0105] 在多种实施方式中,本文公开的方法用于检测临床样品中SCCmec MREJ型xxi核酸或序列的存在。例如,在一些实施方式中,本文公开的方法用于检测和鉴定具有型xxi MREJ区的金黄色葡萄球菌样品——具有处于生理学范围内的细菌浓度(即,采集自感染细菌的对象的样品中的细菌浓度)。因此,样品可被直接筛选而无需分离、浓缩或扩展(例如,培养)细菌群体以检测具有MREJ型xxi核酸的MRSA的存在。在多种实施方式中,本文公开的方法能检测来自样品的具有MREJ型xxi核酸的MRSA的存在,所述样品具有约1CFU/ml、10CFU/ml、100CFU/ml、 1×10^3 CFU/ml、 1×10^3 CFU/ml、约 1×10^4 CFU/ml、约 1×10^5 CFU/ml或约 1×10^6 CFU/ml或两者之间的任何数的细菌浓度。

[0106] 在一些实施方式中,本文描述的方法,方法包括进行PCR或qPCR以产生扩增子。很多不同的PCR和qPCR程序在本领域已知和在下面在本文例证,并可直接应用或利用目前描述的用于检测和/或鉴定样品中具有MREJ型xxi核酸的MRSA的组合物被改变而用于使用。

[0107] 通常,在PCR中,靶多核苷酸序列通过利用至少一个寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对进行的反应而扩增。引物(一个或多个)与靶核酸的互补区特异地杂交,DNA聚合酶延伸引物(或多个)以扩增靶序列。在足以提供基于聚合酶的核酸扩增产物的条件下,一个大小的核酸片段在反应产物(为扩增产物的靶多核苷酸序列)中占优势。重复扩增循环以增加单个靶多核苷酸序列的浓度。反应可在通常用于PCR的任何热循环仪中进行。然而,优选的是具有实时荧光测量能力的循环仪,例如,SMARTCYCLER® (Cepheid,Sunnyvale,CA)、ABI PRISM7700® (Applied Biosystems,Foster City,CA)、ROTOR-GENE™; (Corbett Research,Sydney,Australia)、LIGHTCYCLER® (Roche Diagnostics Corp,Indianapolis,IN)、ICYCLER® (Biorad Laboratories,Hercules,CA)和MX4000® (Stratagene,La Jolla,CA)。

[0108] 一些实施方式提供包括定量PCR (qPCR) (也称作实时PCR) 的方法。qPCR可提供定量测量,还提供减少的时间和污染的益处。如本文所用,“定量PCR”(或“实时qPCR”)指当它发生时直接监测PCR扩增的过程而无需反应产物的重复取样。在qPCR中,当反应产物产生时,它们可通过发信号机制(例如,荧光)监测并在信号升高在本底水平之上之后但在反应达到平顶之前追踪。需要获得荧光可检测的或“阈”水平(本文称作循环阈值或“CT”)的循环数直接随着在PCR过程开始的可扩增靶浓度而变化,赋予信号强度的测量以提供样品中靶核酸的量的实时测量。

[0109] 建立PCR和qPCR的方法对本领域技术人员来说众所周知。反应混合物最低限度地包括模板核酸(例如,如存在于测试样品中,除了在如下面所描述的阴性对照的情况下)和寡核苷酸引物和/或探针,连同合适的缓冲液、盐和类似物,和适当浓度的核酸聚合酶。如本文所用,“核酸聚合酶”指催化三磷酸核苷聚合的酶。通常,该酶将启动在与靶序列退火的引物3'端的合成和将沿着模板以5'-方向进行,直到合成终止。适当的浓度包括在目前描述的方法中催化该反应的一个浓度。用于本文公开的方法的已知DNA聚合酶包括,例如,大肠杆菌(E.coli)DNA聚合酶I、T7 DNA聚合酶、嗜热栖热菌(Thermus thermophilus) (Tth) DNA聚合酶、嗜热脂肪芽孢杆菌(Bacillus stearothermophilus) DNA聚合酶、嗜热高温球菌(Thermococcus litoralis) DNA聚合酶、嗜热水生菌(Thermus aquaticus) (Taq) DNA聚合酶和强烈火球菌(Pyrococcus furiosus) (Pfu) DNA聚合酶、FASTSTART™Taq DNA聚合酶、APTA^{TA}Q™DNA聚合酶(Roche)、KLENTAQ 1™DNA聚合酶(AB peptides Inc.)、HOTGOLDSTAR™DNA聚合酶(Eurogentec)、KAPATAQ™HotStart DNA聚合酶、KAPA2G™Fast HotStart DNA聚合酶(Kapa Biosystemss)、PHUSION™Hot Start DNA聚合酶(Finnzymes)、或类似的酶。

[0110] 除了以上组分,本方法的反应混合物包括引物、探针和脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs)。

[0111] 通常反应混合物将进一步包括四种不同类型的dNTP——对应四种天然存在的核苷碱基,即,dATP、dTTP、dCTP和dGTP。在本发明的方法中,每种dNTP将通常以约10至5000μM,通常约20至1000μM、约100至800μM、或约300至600μM范围的量存在。

[0112] 反应混合物可进一步包括含水缓冲介质,其包括单价离子来源、二价阳离子来源和缓冲剂。可利用任何方便的单价离子来源,如氯化钾、乙酸钾、乙酸铵、谷氨酸钾、氯化铵、硫酸铵和类似物。二价阳离子可以是镁、锰、锌和类似物,其中阳离子将通常是镁。可利用任何方便的镁阳离子来源,包括氯化镁、乙酸镁等。存在于缓冲液中的镁的量范围可以是0.5至10mM,并可以是约1至约6mM、或约3至约5mM。可存在于缓冲液中的代表性的缓冲剂或盐包括Tris、Tricine、HEPES、MOPS等,其中缓冲剂的量范围将通常是约5至150mM,通常约10至100mM,并且更通常约20至50mM,其中在某些优选实施方式中,缓冲剂将以足以提供约6.0至9.5范围的pH,例如,pH 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0或9.5的量存在。可存在于缓冲介质中的其它的剂包括螯合剂,如EDTA、EGTA和类似物。在一些实施方式中,反应混合物可包括BSA,或类似物。此外,在一些实施方式中,反应可包括冷冻保护剂,如海藻糖,特别地当试剂作为主混合物提供时,其可被超时储存。

[0113] 在制备反应混合物中,多种组成组分可以以任何方便的顺序混合。例如,缓冲液可以与引物、聚合酶混合,然后是模板核酸,或所有的多种组成组分可同时混合以产生反应混合物。

[0114] 可选地,商业上可获得的预混合的试剂可用于本文公开的方法,根据制造者的指导,或被修改以改进反应条件(例如,需要时,缓冲液浓度、阳离子浓度或dNTP浓度的修改),包括,例如,TAQMAN® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)、OMNIMIX®或SMARTMIX® (Cepheid)、IQ® #8482; Supermix (Bio-Rad Laboratories)、LIGHTCYCLER® FastStart (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 或BRILLIANT® QPCR Master Mix (Stratagene, La Jolla, CA)。

[0115] 反应混合物可经历引物延伸反应条件(“足以提供基于聚合酶的核酸扩增产物的条件”),即,利用模板链作为模板,通过将核苷酸加到引物分子末端而允许聚合酶介导的引物延伸的条件。在许多实施方式种,引物延伸反应条件是扩增条件,该条件包括多个反应循环,其中每个反应循环包括:(1) 变性步骤、(2) 退火步骤和(3) 聚合步骤。如下面所讨论的,在一些实施方式中,扩增程序不包括退火专用的特定的时间,而只包括变性和延伸专用的特定的时间。反应循环数将根据正进行的应用而变化,但是通常将是至少15,更通常至少20并可高达60或更高,其中不同的循环数通常将是约20至40的范围。对于进行超过约25,通常超过约30个循环的方法,可方便或期望的将另外的聚合酶引入反应混合物,以便保持适合酶法引物延伸的条件。

[0116] 变性步骤包括将反应混合物加热到升高的温度和将混合物保持在升高的温度,持续足够使存在于反应混合物中的任何双链或杂交核酸分离的一段时间。为了变性,反应混合物的温度通常将升高到和保持在约85至100℃,通常约90至98℃和更通常约93至96℃的温度范围,持续约3至120sec,通常约3sec范围的一段时间。

[0117] 变性之后,反应混合物可经历这样的条件,其对于与存在于混合物(如果存在)的模板核酸的引物退火和对于以利用引物与之杂交的核酸作为模板,引物以5'至3'方向延伸的方式,核苷酸聚合到引物末端是足够的,即,足够酶法产生引物延伸产物的条件。在一些实施方式中,退火和延伸过程发生在相同的步骤中。将反应混合物降低以达到这些条件的温度通常将被选择以提供最佳效率和特异性,并通常将是约50至85℃,通常约55至70℃和更通常约60至68℃的范围。在一些实施方式中,退火条件可保持约15sec至30min,通常约

20sec至5min、或约30sec至1分钟或约30秒范围的一段时间。

[0118] 该步骤可任选地包括退火步骤和延伸步骤中每个之一,改变和优化每个步骤的温度和时间长度。在两步退火和延伸中,允许退火步骤如上进行。引物与模板核酸退火之后,反应混合物将进一步经历足以提供如上核苷酸与引物末端聚合的条件。为了达到聚合条件,反应混合物的温度通常将升高到或保持在约65至75℃,通常约67至73℃的温度范围,并保持约15sec至20min,通常约30sec至5min范围的一段时间。在一些实施方式中,本文公开的方法不包括单独的退火和延伸步骤。而是,所述方法包括变性和延伸步骤,没有针对退火特别专用的任何步骤。

[0119] 以上变性、退火和延伸的循环可利用自动化的装置,通常称作热循环仪进行。可利用的热循环仪在本文别处以及在美国专利号5,612,473;5,602,756;5,538,871;和5,475,610中被描述,其公开通过引用被并入本文。

[0120] 本文描述的方法还可用于基于非PCR的应用以检测靶核酸序列,其中这样的靶可被固定到固体载体上。将核酸序列固定到固体载体上的方法在本领域已知并在以下中被描述:Ausubel et al, eds. (1995) Current Protocols in Molecular Biology (Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY), 和制造者提供的程序,例如,对于膜:Pall Corporation, Schleicher & Schuell; 对于磁珠:Dynal; 对于培养板:Costar, Nalgenunc; 对于珠阵列平台:Luminex和Becton Dickinson; 并且,对于根据本文提供的实施方式有用的其他载体,CPG, Inc.

[0121] 对于多种试剂的精确量和对于PCR条件或导致相似的扩增或检测/定量结果的其它合适的扩增程序(例如,缓冲条件、循环时间等)的改变对于本领域的技术人员来说是已知的并被认为是相等的。在一个实施方式中,受试者qPCR检测具有检测样品中小于50个拷贝(优选少于25个拷贝、更优选少于15个拷贝、仍热更优选少于10个拷贝,例如5、4、3、2或1个拷贝)的靶核酸(即,MREJ型xxi核酸)的灵敏度。

[0122] 对照

[0123] 本文公开的测定可任选地包括对照。本文公开的PCR或qPCR反应可含有多种对照。这样的对照可包括“无模板”阴性的对照,其中引物、缓冲液、酶(一种或多种)和其它必需试剂(例如,MgCl₂、核苷酸等)在缺少加入的测试样品的情况下循环。这确保试剂不被与引物反应的多核苷酸和产生假的扩增产物的多核苷酸污染。除了“无模板”对照,阴性对照还可包括与反应中包括的非特异性靶核酸扩增反应,或可以是利用样品制备(从核酸提取到扩增制备)的任何或全部步骤而不加入测试样品(例如,每个步骤不利用测试样品或利用已知不含耐碳青霉烯的微生物的样品)而制备的样品。

[0124] 在一些实施方式中,本文公开的方法可包括阳性对照,例如,以确保方法和试剂如所期望的进行。阳性对照可包括与本文公开的MREJ型xxi靶核酸无关的已知靶。扩增之前,阳性对照核酸(例如,以线性化或非线性化的质粒的形式)可加入扩增反应。单个反应可含有阳性对照模板、阴性对照或样品模板,或单个反应可含有样品模板和阳性对照。优选,阳性对照将包括与来自本文公开的MREJ型xxi序列的MREJ型xxi正向和反向扩增引物基本上互补的序列,以便用于扩增MREJ型xxi序列的扩增引物对在相同的测定条件下也将扩增对照核酸。在一些实施方式中,产生自阳性对照模板核酸的扩增子大于靶扩增子。优选,除与正向和反向引物互补或基本上互补的阳性对照核酸中的序列外,阳性对照核酸将不与本文

公开的靶扩增子/MREJ型xxi序列共享实质的相似性。换言之,在正向和反向引物外,阳性对照扩增子与阳性对照多核苷酸同一性优选小于80%、小于70%、小于60%、小于50%、小于40%、小于30%、小于20%,并且甚至更优选,小于10%,例如,当利用NCBI BLAST ALIGN工具比较序列同一性时。

[0125] 阳性和/或阴性对照可用于设置参数,在该参数内测试样品将被分类为具有或不具有MRSA——具有MREJ型xxi序列。例如,在qPCR反应中,扩增子在阳性对照样品中被检测的循环阈值可用于设置用于将样品分类为“阳性”的阈值,扩增子在阴性对照样品中被检测的循环阈值可用于设置用于将样品分类为“阴性”的阈值。来自单个反应的CT可用于每个对照,可使用平行测定的样品的中间值或平均值。在再一个实施方式中,可使用历史对照值。针对阴性和阳性对照中每个的检测的最低水平通常设置在跨多个反应的平均CT的95%置信区间的较低端。该值可根据诊断测定的需要而调整。

[0126] 优选,PCR对照应在与测试样品相同的时间,在相同的扩增反应中,利用相同的试剂进行。

[0127] 一些实施方式提供扩增反应期间,例如,实时,靶扩增产物的同一性和/或量的测定。例如,一些实施方式涉及测量,例如,与靶扩增子核酸和/或阳性对照扩增子(例如,如通过荧光所指示的)特异性结合的探针。在一些实施方式中,不是利用序列特异性寡核苷酸探针,而是所述方法可利用非序列特异性探针,其与双链核酸,例如,嵌入剂或类似物特异性结合。当未结合时嵌入剂具有相对低的荧光,在与双链核酸结合之后具有相对高的荧光。像这样,嵌入剂可用于监测核酸扩增反应期间双链核酸的积累。非特异性染料的实例包括嵌入剂如SYBR Green ITM(分子探针)、碘化丙啶、溴乙啶、LC绿、SYTO9、EVAGREEN®荧光染料、CHROMOFY®、BEB0等,其在存在双链核酸的情况下发荧光和产生可检测的信号。测量可在扩增反应的每个循环期间指定的点,例如,在每个延伸步骤之后(在每个变性步骤之前)进行。不管是否使用序列特异性寡核苷酸探针或非序列特异性寡核苷酸探针,与靶扩增子核酸和/或阳性对照扩增子特异结合的探针的量的测量可在每个循环自始至终连续地进行。

[0128] 可选地,在一些实施方式中,扩增子(例如,靶和/或阳性对照)的同一性/量可在扩增反应结束之后利用标准的分子技术包括(例如)DNA印迹法、点印迹法等来证实。

实施例

[0129] 提供以下实施例以显示该技术可应用的特定的情形和背景,并不意欲限制本发明的范围和该公开中包括的权利要求。

[0130] 实施例1:来自临床样品的MREJ型XXI MRSA的检测和鉴定

[0131] 进行qPCR反应以检测和鉴定具有MREJ型xxi核酸的MRSA。临床样品利用Amies液体拭子(Copan Diagnostics, Inc)从患者采集。

[0132] 利用BD基因O_{hm}TMLysis试剂盒(Becton Dickinson)根据制造者的指导任选地从临床样品分离DNA。分离的DNA样品与引物接触,所述引物在标准扩增条件下与金黄色葡萄球菌种类特异性orfX序列和与MREJ型xxi多态性右侧末端序列,即,SEQ ID NOs:2和3每种0.2-0.7μM,特异地杂交。0.3μM dNTPs (Roche)、4mM MgCl₂ (SIGMA)、2.8单位 FASTSTART® Taq聚合酶 (Roche)、100mM Tris, pH 8.3 (EMD)、10mM KCl (Laboratoire Mat)、5mM (NH₄)₂SO₄

(SIGMA)、0.15mg/mL BSA (SIGMA) 4%海藻糖 (SIGMA)。反应还包括分子信标探针,其与可检测的MREJ型xxi的右侧末端连接的扩增产物特异性杂交,并且其包括可检测的部分,该可检测的部分在BD MAXTM (Becton Dickinson)、SMARTCYCLER[®] (Cepheid) 设备、或配置用于在FAM、德克萨斯红和Tet通道加入反应混合物的实时PCR的其它设备上可检测。

[0133] PCR在BD MAXTM (Becton Dickinson) 或SMARTCYCLER[®] (Cepheid) 中利用与下面相同的循环参数进行:

阶段	状态	温度 (°C)	Sec	光学
1	保持	95	900	关
[0134] 2	重复 45 次	95	1 - 5	关
		56 - 58	9、10 或 15	开
		72	10 - 20	关

[0135] FAM、德克萨斯红和TET通道中的循环阈值 (CT) 利用BD MAXTM或 SMARTCYCLER[®] 软件来测定。

[0136] 实施例2:来自临床样品的MREJ型I-XXI MRSA的多重检测

[0137] 进行多重扩增反应以检测具有MREJ型i-vii、ix、xiii、xiv和xxi中任一种的MRSA的存在。临床样品利用Amies液体拭子 (Copan Diagnostics, Inc) 从患者采集。

[0138] 利用BD基因0hmTM裂解试剂盒 (Becton Dickinson) 根据制造者的指导任选地从临床样品分离DNA。分离的DNA样品与引物接触,所述引物在标准扩增条件下与金黄色葡萄球菌种类特异性orfX序列和与MREJ型i-vii、ix、xiii、xiv和xxi多态性右侧末端序列,即,0.2-0.7μM SEQ ID NOs:2、3、39、77和81的每一种,特异地杂交。0.3μM dNTPs (Roche)、4mM MgCl₂ (SIGMA)、2.8单位FASTSTART[®] Taq聚合酶 (Roche)、100mM Tris, pH 8.3 (EMD)、10mM KCl (Laboratoire Mat)、5mM (NH₄)₂SO₄ (SIGMA)、0.15mg/mL BSA (SIGMA) 4%海藻糖 (SIGMA)。反应还包括分子信标探针,其与可检测的MREJ型xxi的右侧末端连接的扩增产物特异性杂交,并且其包括可检测的部分,该可检测的部分在BD MAXTM (Becton Dickinson)、SMARTCYCLER[®] (Cepheid) 设备、或配置用于在FAM、德克萨斯红和Tet通道加入反应混合物的实时PCR的其它设备上可检测,即,SEQ ID NO:4。

[0139] PCR在BD MAXTM (Becton Dickinson) 或SMARTCYCLER[®] (Cepheid) 中利用与下面相同的循环参数进行:

阶段	状态	温度 (°C)	Sec	光学
1	保持	95	900	关
[0140] 2	重复 45 次	95	1 - 5	关
		56 - 58	9、10 或 15	开
		72	10 - 20	关

[0141] FAM、德克萨斯红和TET通道中的循环阈值 (CT) 利用BD MAXTM或 SMARTCYCLER[®] 软件来测定。CT用于测定MREJ型i-vii、xvi、ix、xiii、xiv和xxi中任一种的MRSA是否存在。

[0142] 实施例3:MREJ型XXI序列与mecA同系物,MECc相关

[0143] 针对分离自牛或人宿主的MRSA的51个分离群进行MREJ型xxi区和mecC基因的PCR扩增。

[0144] 分离群列表提供在下面的表中:

[0145]

菌株	MREJ 型 (通过测序证实)	宿主	地点	MREJ 型
IDI6121	xxi	牛	萨默塞特, 英格兰	xxi
IDI6122	xxi	牛	萨默塞特, 英格兰	xxi
IDI6123	xxi	牛	伯里圣埃德蒙兹, 英格兰	xxi
IDI6124	未知	牛	兰福德, 英格兰	未知
IDI6125	xxi	牛	伯里圣埃德蒙兹, 英格兰	xxi
IDI6126	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi

[0146]

IDI6127	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6128	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6129	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6130	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6131	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6132	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6133	xxi	牛	萨坦伯宁顿, 英格兰	xxi
IDI6134	xxi	牛	瑟斯克, 英格兰	xxi
IDI6135	xxi	人	泰赛德, 苏格兰	xxi
IDI6136	xxi	人	洛锡安, 苏格兰	xxi
IDI6137	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6138	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6139	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6140	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6141	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6142	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6143	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6144	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6145	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6146	xxi	人	苏格兰	xxi
IDI6147	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6148	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6149	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6150	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6151	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6152	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6153	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6154	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6155	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6156	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6157	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6158	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6159	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6160	xxi	人	丹麦	xxi

[0147]

IDI6161	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6162	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6163	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6164	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6165	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6166	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6167	xxi	人	丹麦	xxi
IDI6168	xxi	人	法国, 艾克斯普罗旺斯	xxi
IDI6170	xxi	人	法国, 里摩日	xxi
IDI6171	xxi	人	法国, 艾克斯普罗旺斯	xxi

[0148] 利用BD基因0hmTM裂解试剂盒(Becton Dickinson)根据制造者的指导自上述已知包含mecC的临床样品分离DNA。PCR反应如下制备:SEQ ID NOs:182、183和187每种0.2-0.7μM、0.3μM dNTPs (Roche)、4mM MgCl₂ (SIGMA)、2.8单位FASTSTART[®] Taq聚合酶 (Roche)、100mM Tris, pH 8.3 (EMD)、10mM KCl (LaboratoireMat)、5mM (NH₄)₂SO₄ (SIGMA)、0.15 mg/mL BSA (SIGMA) 4%海藻糖 (SIGMA)。

[0149] 反应利用FAM通道在BD MAX[®]系统上进行。

[0150] 数据表明, 51种包含mecC基因的MRSA菌株中的50种含有MREJ型xxi序列, 因此利用MREJ型xxi序列, 提供mecC MRSA菌株检测的高度普遍性的证据。

[0151] 已经总体描述了本发明, 进一步的理解可参考具体的实施例而获得, 所述实施例由本文提供, 仅用于说明目的, 并不意欲受限制。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 基因欧姆科技加拿大公司
- [0003] C.梅纳德
- [0004] C.罗杰-达勒姆波特
- [0005] <120> 用于检测和鉴定MREJ型xxi的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的序列
- [0006] <130> GENOM.114W0
- [0007] <150> 61/621368
- [0008] <151> 2012-04-06
- [0009] <160> 187
- [0010] <170> FastSEQ for Windows Version 4.0
- [0011] <210> 1
- [0012] <211> 772
- [0013] <212> DNA
- [0014] <213> 金黄色葡萄球菌
- [0015] <220>
- [0016] <223> n= c, a, t, or g
- [0017] <220>
- [0018] <221> misc_feature
- [0019] <222> 4, 6
- [0020] <223> n = A,T,C or G
- [0021] <400> 1
- [0022] tcangnggga tcaaacggcc tgcacaagga cgtcttaca cgcagtaact acgcactatc 60
- [0023] attcagcaaa atgacatttc cacatcaa at gatgcgggtt gtgttaattg agcaagtgtg 120
- [0024] tagagcggtt aagattatgc gcggagaagc gtatcacaaa tgatgcgggtt tttttaacct 180
- [0025] ctttacgtat gaggtttatg agaattgccg ttatgttttg cgagagttat caatcttttt 240
- [0026] gatagtaaga aagtacatag aaactaaaag agtattttta tctacaatag catttataat 300
- [0027] ttattctatt attgtatact tattttaatt attagtatca ttgctgagat gttacttgat 360
- [0028] attctatgtc tatttttttag gaaattctat actattaaaa ttatggtatt ttatacgcaa 420
- [0029] taaaggacta atctatttta tacagattag tcctttattg tagtctttta aaactagtta 480
- [0030] ctcathtaata ttttttagta caatttcagc aacctcactt actattttgt cattaggttt 540
- [0031] accatctttt ctatctttat ttgtaaatat caccagaatt ataggtttat cttgtccatc 600
- [0032] tggataaaca aagcgaacat cgtttcttga accgtatgtt agtgcttgac cgctcttatac 660
- [0033] cataacttta aagtttgaag gtgcaccatc cttaattaat gtatcgccac ttttattttt 720
- [0034] gaacattaga ttaagtaaga aatctttgtt tgctttgcta agatctccat ca 772
- [0035] <210> 2
- [0036] <211> 21
- [0037] <212> DNA
- [0038] <213> 人工序列
- [0039] <220>
- [0040] <223> 合成寡核苷酸
- [0041] <400> 2

[0042]	cggcaattct cataaacctc a 21
[0043]	<210> 3
[0044]	<211> 19
[0045]	<212> DNA
[0046]	<213> 人工序列
[0047]	<220>
[0048]	<223> 合成寡核苷酸
[0049]	<400> 3
[0050]	ggatcaaacg gcctgcaca 19
[0051]	<210> 4
[0052]	<211> 24
[0053]	<212> DNA
[0054]	<213> 人工序列
[0055]	<220>
[0056]	<223> 合成寡核苷酸
[0057]	<400> 4
[0058]	tagttactgc gttgtaagac gtcc 24
[0059]	<210> 5
[0060]	<211> 3050
[0061]	<212> DNA
[0062]	<213> 金黄色葡萄球菌
[0063]	<220>
[0064]	<223> 合成寡核苷酸
[0065]	<400> 5
[0066]	tcgtgccatt gatgcagagg gacatacatt agatatttgg ttgcgtaagc aacgagataa 60
[0067]	tcattcagca tatgcgttta tcaaagctct cattaacaa tttggtaaac ctcaaaaggt 120
[0068]	aattacagat caggcacctt caacgaagg agcaatggct aaagtaatta aagcttttaa 180
[0069]	acttaaacct gactgtcatt gtacatcgaa atatctgaat aacctcattg agcaagatca 240
[0070]	ccgtcatatt aaagtaagaa agacaaggta tcaaagtatc aatacagcaa agaatacttt 300
[0071]	aaaaggtatt gaatgtattt acgctctata taaaaagaac cgcaggtctc ttcagatcta 360
[0072]	cggattttcg ccatgccacg aaattagcat catgctagca agttaagcga acactgacat 420
[0073]	gataaattag tggttagcta tattttttta ctttgcaaca gaaccgaaaa taatctcttc 480
[0074]	aatttatatt tatatgaatc ctgtgactca atgattgtaa tatctaaaga tttcagttca 540
[0075]	tcatagacaa tgttcttttc aacatttttt atagcaaatt gattaaataa attcttctaat 600
[0076]	ttctcccggt tgatttcact accatagatt atattatcat tgatatagtc aatgaataat 660
[0077]	gacaaattat cactcataac agtcccaacc cttttatttt gatagactaa ttatcttcat 720
[0078]	cattgtaaaa caaattacac ctttaaaatt taactcaact taaatatcga caaattaaaa 780
[0079]	aacaataaaa ttacttgaat attattcata atatattaac aactttatta tactgctctt 840
[0080]	tatatataaa atcattaata attaaacaag ctttaaaata tttaactttt ttgtgattat 900
[0081]	tacacattat cttatctgct ctttatcacc ataaaaatag aaaaaacaag attcctaaag 960
[0082]	aatataggaa tcttgtttca gactgtggac aaactgattt tttatcagtt agcttattta 1020
[0083]	gaaagtttta tttaaattac agtttctatt tttattagat cacaatttta ttttagctct 1080

[0084]	tgttcaagta atcatttttc gccaaaaact ttatactgaa tagctttctac attaaatact	1140
[0085]	ttgtcaatga gatcatctac atcttttaaat tcagaataat ttgcatatgg atctataaaa	1200
[0086]	taaaattgtg gttctttacc ggaaacatta aatattctta atattaaata tttctgctta	1260
[0087]	tattctttca tagcaaacat ttcatttagc gacataaaaa atggttcctc aatactagaa	1320
[0088]	gatgtagatg ttttaatttc aataaatttt tctacagctt tatctgtatt tgttgatca	1380
[0089]	aaagctacta aatcatagcc atgaccgtgt tgagagcctg gattatcatt taaaatattc	1440
[0090]	ctaaactgtt ctttcttate ttctgtctatt ttattatcaa ttagctcatt aaagtaattt	1500
[0091]	agcgctaatt tttctccaac ttaccggtt aattttattct ctttatttga tttttcaatt	1560
[0092]	tctgaatcat ttttagtagt ctttgataca ctttttttat attttggaat tattccttta	1620
[0093]	gggtcttcca cttccttgag tgtcttatct ttttgtgctg ttctaatttc ttcaatttcg	1680
[0094]	ctgtcttccct gtatttcgtc tatgtatttg accaagctat cataggatgt ttttgtaact	1740
[0095]	tttgaagcta attcattaaa tagttctaaa aatttcttta aatcctctag catatcttct	1800
[0096]	tctgtgaatc cttcattcaa atcataatat ttgaatcita ttgatccatg agaatacct	1860
[0097]	gatggataat cattttttta atcataagat gaatctttat tttctgcgta ataaaatctt	1920
[0098]	ccagtattaa attcatttga tgtaatatat ttattgagtt cggaagataa agttaatgct	1980
[0099]	ctttgttttg cagcattttt atccccgga aacatatcac ttatctttga ccatecttga	2040
[0100]	ttcaaagata agtatatgcc ttctccttcc ggatgaaaaa gatataccaa ataatatcca	2100
[0101]	tcctttgttt cttttgttat attctcatca tatattgaaa tccaaggaac tttactatag	2160
[0102]	ttcccagtag caaccttccc tacaactgaa tatttatctt cttttatatg cacttttaac	2220
[0103]	tgcttgggta acttatcatg gactaaagtt ttatatagat cacctttatc ccaatcagat	2280
[0104]	tttttaacta cattattggt acgtttctct ttaattaatt taaggacctg cataaagttg	2340
[0105]	tctatcattt gaaattccct cctattataa aatatattat gtctcatttt cttcaatatg	2400
[0106]	tacttattta tattttaccg taatttacta tatttagttg cagaaagaat tttctcaaag	2460
[0107]	ctagaacttt gcttcactat aagtattcag tataaagaat atttcgctat tatttacttg	2520
[0108]	aaatgaaaga ctgcggagge taactatgtc aaaaatcatg aacctcatta cttatgataa	2580
[0109]	gcttctctc gcataatctt aaatgctctg tacacttggt caattaacac aaccgcac	2640
[0110]	atttgatgtg ggaatgtcat tttgctgaat gatagtgcgt agttactgcg ttgtaagacg	2700
[0111]	tcctttgtgca ggccgtttga tccgccaatg acgaaaacaa agtcgctttg cccttgggtc	2760
[0112]	atgcgttggt tcaattcttg ggccaatcct tcggaagata gcacttttcc ttgtatttct	2820
[0113]	aatgtaatga ctgtggattg tggtttgatt ttggctagta ttctgttgcc ttctttttct	2880
[0114]	tttacttgct caatttcttt gtcactcata ttttctggtg ctttttcgtc tggaacttct	2940
[0115]	atgatgtcta tcttggtgta tgggcctaaa cgtttttcat attctgctat ggcttgcttc	3000
[0116]	caatatttct cttttagttt ccctacagct aaaatggtga ttttcatgtc	3050
[0117]	<210> 6	
[0118]	<211> 3050	
[0119]	<212> DNA	
[0120]	<213> 金黄色葡萄球菌	
[0121]	<400> 6	
[0122]	acctcattga gcaagatcac cgtcatatta aagtaagaaa gacaaggtat caaagtatca	60
[0123]	atacagcaaa gaatacttta aaaggatttg aatgtattta cgctctatat aaaaagaacc	120
[0124]	gcaggtctct tcagatctac ggattttcgc catgccacga aattagcatc atgctagcaa	180
[0125]	gttaagcgaa cactgacatg ataaattagt ggttagctat atttttttac tttgcaacag	240

[0126]	aaccgaaaat aatctcttca atttatTTTT ataggaatcc tgtgactcaa tgattgtaat	300
[0127]	atctaaaagat ttcagttcat catagacaat gttcttttca acatttttta tagcaaattg	360
[0128]	attaaaataaa ttctctaatt tctcccgttt gatttcacta ccatagatta tattatcatt	420
[0129]	gatatagtca atgaataatg acaaattatc actcataaca gtcccaaccc ctttcttttg	480
[0130]	atagactaat tatcttcac cttgtaaaac aaattacacc ctttaaattt aactcaactt	540
[0131]	aaatatcgac aaattaaaaa acaataaaaat tacttgaata ttattcataa tatattaaca	600
[0132]	actttattat actgctcttt atatataaaa tcattaataa ttaaacaagc cttaaaatat	660
[0133]	ttaacttttt tgtgattatt acacattatc ttatctgtc tttatcacca taaaaataga	720
[0134]	aaaaacaaga ttcctaaaga atataggaat cttgtttcag actgtggaca aactgatttt	780
[0135]	ttatcagtta gcttatttag aaagttttat ttaaattaca gtttctattt ttattagatc	840
[0136]	acaattttat tttagctctt gttcaagtaa tcatttttcg ccaaaaactt tatactgaat	900
[0137]	agcttctaca ttaaataactt tgtcaatgag atcatctaca tctttaaatt cagaataatt	960
[0138]	tgcatatgga tctataaaat aaaattgtgg ttctttaccg gaaacattaa atattcttaa	1020
[0139]	tattaaatat ttctgcttat attctttcat agcaaacatt tcatttagcg acataaaaaa	1080
[0140]	tggttcctca atactagaag atgtagatgt tttaatttca ataaattttt ctacagcttt	1140
[0141]	atctgtattt gttggatcaa aagctactaa atcatagcca tgaccgtgtt gagagcctgg	1200
[0142]	attatcattt aaaatatcc taaactgttc tttcttatct tcgtctattt tattatcaat	1260
[0143]	tagctcatta aagtaattta gcgctaattt ttctccaact ttaccggta atttattctc	1320
[0144]	tttatttgat ttttcaattt ctgaatcatt tttagtagtc ttgatacac cttttttata	1380
[0145]	ttttggaatt attccttttag gtgcttcac ttctttgagt gtcttatctt tttgtgctgt	1440
[0146]	tctaatttct tcaatttgc tgtcttctcg tatttcgtct atgctattga ccaagctatc	1500
[0147]	ataggatgtt tttgtaactt ttgaagctaa ttcattaaat agttctaaaa atttctttaa	1560
[0148]	atcctctagc atactctctt ctgtgaatcc ttcattcaaa tcataatatt tgaatcttat	1620
[0149]	tgatccatga gaatatcctg atggataatc atttttttaa tcataagatg aatctttatt	1680
[0150]	ttctgcgtaa taaaatcttc cagtattaaa ttcatttgat gtaatatatt tattgagttc	1740
[0151]	ggaagataaa gttaatgtc tttgttttgc agcattttta tcccgcggaa acatatcact	1800
[0152]	tatctttgac catccttgat tcaaagataa gtatatgcct tctcctccg gatgaaaaag	1860
[0153]	atataccaaa taatatccat cttttgttcc ttttgttata ttctcatcat atattgaaat	1920
[0154]	ccaaggaact ttactatagt tcccagtagc aaacctccct acaactgaat atttatcttc	1980
[0155]	ttttatatgc acttttaact gcttgggtaa cttatcatgg actaaagttt tatatagatc	2040
[0156]	acctttatcc caatcagatt ttttaactac attattggta cgtttctctt taattaattt	2100
[0157]	aaggacctgc ataaagtgtg ctatcatttg aaattccctc ctattataaa atatatattg	2160
[0158]	tctcattttc ttcaatatgt acttatttat attttaccgt aatttactat atttagttgc	2220
[0159]	agaaagaatt ttctcaaagc tagaactttg cttcactata agtattcagt ataaagaata	2280
[0160]	tttcgctatt atttacttga aatgaaagac tgcggaggct aactatgtca aaaatcatga	2340
[0161]	acctcattac ttatgataag cttcttaaaa acataacagc aattcacata aacctcatat	2400
[0162]	gttctgatac attcaaaatc cttttatgaa gcggctgaaa aaaccgcac atttatgata	2460
[0163]	tgtcttccca cgcataatct taaatgctct atacacttgc tcaattaaca caaccgcac	2520
[0164]	catttgatgt gggaatgtca ttttgcgtga tgatagtgc tagttactgc gttgtaagac	2580
[0165]	gtccttgtgc aggccgtttg atccgccaat gacgaataca aagtcgcttt gcccttgggt	2640
[0166]	catgcgttgg ttcaattctt gggccaatcc ttcggaagat agcatcttcc cttgtatttc	2700
[0167]	taatgtaatg actgtggatt gtggtttaat tttggctagt attcgttggc cttctttttc	2760

[0168] ttttacttgc tcaatttctt tgtcgtcat attttctggt gctttttcgt ctggaacttc 2820
 [0169] tatgatgtct atcttggtgt atgggcctaa acgtttttca tattctgcta tggcttgctt 2880
 [0170] ccaatatctt tcttttagtt tccctacagc taaatggtg attttcatgt cgtttggtcc 2940
 [0171] tccaaattgt tatcaacttt ccagttatcc acaagttatt aacttggtca cactgttccc 3000
 [0172] tcttattata ccaatatctt ttgcagtttt tgatattttc ctgacattta 3050
 [0173] <210> 7
 [0174] <211> 1256
 [0175] <212> DNA
 [0176] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0177] <400> 7
 [0178] ttcagaaaaa tgattaatgt gtttcaataa aatctctcct tctttgtgaa catattcatt 60
 [0179] tttatactaa ttaataataat ttccaaaaaa gtttctgttt aaaagtgaag aatattattt 120
 [0180] accgtttgac ttaaactctt aatatatagg tgtttatatg tatcattttg cgccaatttg 180
 [0181] aataaacggg aatcaagtct gtttctgagt ttatttcaac tttcttatag taaacattgt 240
 [0182] cttaatatga tgaacttcaa taaaactttc cctatgcccc ataaaatttt ctcaaaatca 300
 [0183] aaaataacat accttacaac ttttaccgtc gatatcaatt gctcttttct taatttagga 360
 [0184] ttgctttcaa attttgact ataacgtgaa actacttttc cttctttata attaaaattt 420
 [0185] actaattcac aatcattttt acttccattt acaaaaacat ccactgttcc taacacaaaa 480
 [0186] tctaataaac ttctttttat taatcgtagg cattgtatat ttctttcat tctttcttga 540
 [0187] ttccattagt ttaaatttaa aatttcatcc atcaatttct taatttaatt gtagttccat 600
 [0188] aatcaatata atttgtacag ttattatata ttctagatca tcaatagttg aaaaatgggt 660
 [0189] tattaaacac tctataaaca tcgtatgata ttgcaaggta taatccaata tttcatatat 720
 [0190] gtaattcttc cacatctcat taaattttta aattatacac aacctaat ttagttttat 780
 [0191] ttatgatacg cttctccacg cataatctta aatgctctgt acacttggtc aattaacaca 840
 [0192] acccgcatca tttgatgtgg gaatgtcatt ttgctgaatg atagtgcgta gttactgcgt 900
 [0193] tgtaagacgt ccttgtgcag gccgtttgat ccgccaatga cgaatacaaa gtcgctttgc 960
 [0194] ccttggttca tgcgttggtt caattcttgg gccaatcctt cggaagatag catctttcct 1020
 [0195] tgtatttcta atgtaatgac tgttgattgt ggtttgattt tggctagtat tcgttggcct 1080
 [0196] tctttttctt ttacttctc aatttctttg tcgtcatat tttctggtgc ttttctgtct 1140
 [0197] ggaacttcta tgatgtctat cttggtgtat gggcctaaac gtttttcata ttctgctatg 1200
 [0198] gcttgcctcc aatatttctc ttttagtttc cctacagcta aaatggtgat tttcat 1256
 [0199] <210> 8
 [0200] <211> 2122
 [0201] <212> DNA
 [0202] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0203] <400> 8
 [0204] ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa cgtttaggcc 60
 [0205] catacaccaa gatagacatc atagaagtcc cagacgaaaa agcaccagaa aatatgagcg 120
 [0206] acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc aaaatcaaac 180
 [0207] cacaatcaac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc gaaggattgg 240
 [0208] cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc gtcattggcg 300
 [0209] gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctacgcacta tcattcagca 360

[0210]	aaatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagtg tacagagcat	420
[0211]	ttaagattat gcgtggagaa gcgtaccaca aatgatgcgg ttttttatcc agttttttgt	480
[0212]	ttaatgaaca aggtaaatta cgagataata ttgaagaaa acaataaagt agagatggat	540
[0213]	ttccatatcc tcttttagtag cggtttttat ctgtaaggtt tattaataat taaataaata	600
[0214]	ggcgggatag ttatatatag cttattaatg aaagaatatg attattaatt tagtattata	660
[0215]	ttttaatatt aaaaagaaga tatgaaataa ttattcatac cttccacctt acaataatta	720
[0216]	gttttcaatc gaatattaag attattagta gtcttaaaag ttaagacttc cttatattaa	780
[0217]	tgacctaat tttattttgc ctcatgaatt atctttttat ttctttgata tgtcccaaac	840
[0218]	cacatcgtga tatacactac aataaatatt atgatgaaac taataatatt ctcaaagttc	900
[0219]	agatggaacc aacctgctag aatagcaggt gggaagaata ggattatcat caatataaag	960
[0220]	tgaactacag tctgttttgt tatactccaa tcggtatctg taaatatcaa attaccataa	1020
[0221]	gtaaacaaaa ttccaatcaa tgcccatagt gctacacata ttagcataat aaccgcttca	1080
[0222]	ttaaagtttt cataataaat ttaccacata aaagaatctg gatatagtgg tacatattta	1140
[0223]	tccttgaaa aaaataagtg aagtaatgac agaaatcata agaccagtga acgcaccttt	1200
[0224]	ttgaacagcg tggaataatt tttcatagt gagatggacc attccatttg tttctaactt	1260
[0225]	caagtgatca atgtaattta gattgataat ttctgatttt gaaatacgca cgaatattga	1320
[0226]	accgacaagc tcttcaattt ggtaaagtcg ctgataaagt tttaaagctt tattattcat	1380
[0227]	tgttatcgca tacctgttta tcttctacta tgaactgtgc aatttgttct agatcaattg	1440
[0228]	ggtaaacatg atggttctgt tgcaaagtaa aaaaatatag ctaaccacta atttatcatg	1500
[0229]	tcagtgttcg ctttaactgc tagcatgatg ctaatttcgt ggcatggcga aaatccgtag	1560
[0230]	atctgatgag acctgcggtt ctttttatat agagcgtaaa tacattcaat accttttaaa	1620
[0231]	gtattctttg ctgtattgat actttgatac cttgtcttct ttactttaat atgacggtga	1680
[0232]	tcttgc tcaa tgaggttatt cagatatctt gatgtacaat gacagtcagg tttaagtta	1740
[0233]	aaagctttaa ttactttagc cattgtctacc ttggttgaag gtgcctgac tgtaattacc	1800
[0234]	ttttgagggt taccaaattg tttaatgaga cgtttgataa acgcatatgc tgaatgatta	1860
[0235]	tctcgttgct tacgcaacca aatatcta atgtatgtccct ctgcatcaat ggcacgatat	1920
[0236]	aaatagctcc attttccttt tattttgatg tacgtctcat caatacgcca tttgtaataa	1980
[0237]	gcttttttat gctttttctt ccaaatttga taaaaaattg gggcatattc ttgaacccaa	2040
[0238]	cggtagaccg ttgaatgatg aacgtttaca ccacgttccc ttaatatctt agatatatca	2100
[0239]	cgataactca atgtatatct ta	2122
[0240]	<210>	9
[0241]	<211>	1696
[0242]	<212>	DNA
[0243]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0244]	<400>	9
[0245]	aaagagaaat attggaagca agccatagca gaatatgaaa aacgttttagg ccatacacc	60
[0246]	aagatagaca tcatagaagt tccagacgaa aaagcaccag aaaatatgag tgacaaagaa	120
[0247]	attgagcaag taaaagaaaa agaaggccaa cgaatactag ccaaaatcaa accacaatcc	180
[0248]	acagtcatta cattagaaat acaaggaaag atgctatctt ccgaaggatt ggcccaagaa	240
[0249]	ttgaaccaac gcatgacca agggcaaagc gactttgttt tcgtcattgg cggatcaaac	300
[0250]	ggcctgcaca aggacgtctt acaacgcagt aactacgcac tatcattcag caaaatgaca	360
[0251]	ttcccacatc aatgatgcg ggttgtgtta attgaacaag tgtacagagc atttaagatt	420

[0252]	atgcgaggag aagcatatca taaatgatgc ggttatttca gccgtaattt tataatataa	480
[0253]	agcagagttt attaaatttt aatgattact ttttattaag aattaattct agttgatata	540
[0254]	ttataatgtg aaacacaaaa taataatttg taattgtagg tttataggca tctgtatttg	600
[0255]	gaattttttg tagactattt aaaaaatagt gtatataagt attgagttca tgtattaact	660
[0256]	gtcttttttc atcgttcatc aagtataagg atgtagagat ttgttgata atttcttcgg	720
[0257]	atgtttttta aattatcatt aaattagatg gtatctgac ttgagtttg tttttagtgt	780
[0258]	atgtatattt taaaaaattt ttgattgttg ttatttgact ctcttttaatt ttgacacct	840
[0259]	catcaataaa tgtgttaaat atatcttcat ttgtacttaa atcatcaaaa ttgccaaca	900
[0260]	aatatttgaa cgtctctaaa tcattatgtt tgagttccgt ttgctattc cataattcca	960
[0261]	aaccatttgg tagaaagccc aagctgtgat ttgatctcc ccatatagct gaatttaaat	1020
[0262]	cagtgagttg attaatTTTT tcaacacaga aatgtaattt tggaatgagg aatcgaagtt	1080
[0263]	gttcttctac ttgctgtact tttcttttgt tttcaataaa atttctacac catactgtta	1140
[0264]	tcaaaccgcc aattattgtg cacaatctc caatgattgt agataaaatt gacaatatat	1200
[0265]	tacacacctt tcttagaggt ttattaacat ctatttttga atttaaaatt attactttg	1260
[0266]	tagcgttata acctatttaa cagattagag aaaaattgaa tgatcgattg aagaatttcc	1320
[0267]	aaaataccgt cccatatgag ttgaaggaga tttctatttt cttctgtatt caaatcttg	1380
[0268]	gctttatect ttgctttatt caataaatca tctgagtttt tttcaatatt ttttaataca	1440
[0269]	tctttggcat ttgttttaa tacttttagga tcggaagtta gggcattaga gtttgccaca	1500
[0270]	ttaatcatat tattattaat catttgaatt tgattatctg ataatatctc tgataaccta	1560
[0271]	cgtcatcga ggactttatt aacagtgtct tcaactgtt gttgtgtgat ttgtttatct	1620
[0272]	tgattttgtt taatatctgc aagttgttct ttaatatctg ctatagaagc atttaagct	1680
[0273]	tcactgaat acccat	1696
[0274]	<210>	10
[0275]	<211>	991
[0276]	<212>	DNA
[0277]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0278]	<400>	10
[0279]	accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatactgga agcaagccat agcagaatat	60
[0280]	gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaanaagca	120
[0281]	ccagaaaata tgaactacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
[0282]	ctagccaaaa tcaaacaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
[0283]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggga aagcgacttt	300
[0284]	gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0285]	gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgaa	420
[0286]	caagtgtaca gagcatttaa gattatgcga ggagaagcgt atcataagt atggtaaaaa	480
[0287]	atatgagtaa gtagatgaag agtgaaaatc agattaatta ataataatgt atcaaattta	540
[0288]	aataaagggg tttttaagta tgaatttaag aggtcatgaa aatagactta aatttcatgc	600
[0289]	gaaatatgat gtgacaccta tatcacattt aaaattatta gaaggtcaaa agaaagacgg	660
[0290]	tgaaggcggc atactgacag atagctatta ctgtttttca tacagcttaa aaggtaattc	720
[0291]	taaaaaagtt ttaggtacgt ttaattgttg ttatcatatt gctgaagatt tactaaaatt	780
[0292]	atcaaatcaa gataaattac ctttatttaa cccgtttaaa gtaattaatg aaggtaatca	840
[0293]	attgcagggc gtaacgaata aaggtaattt aaatatattt aggcaagaa aacagtataa	900

[0294] tgaagtggct ttacagcttt caaatgctat taatttaatc ataatttgtt atgaggataa 960
 [0295] tattaaagaa ccactttcaa cgataaaata c 991
 [0296] <210> 11
 [0297] <211> 1282
 [0298] <212> DNA
 [0299] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0300] <400> 11
 [0301] accatttttag ctgtaggga actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
 [0302] gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
 [0303] ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
 [0304] ctagccaaaa tcaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
 [0305] tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcata cccaaggga aagcgacttt 300
 [0306] gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactat 360
 [0307] gcactatcat ttagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
 [0308] caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt accacaaata aaactaaaaa 480
 [0309] atatgagaaa attattaaat tagctcaaat ctttgaagaa taaaaagtga atattaagtt 540
 [0310] tgataattta ggtacaagta aagattaaga atttccatta tttaatacat ggtgtgtaaa 600
 [0311] tcgacttctt tttgtattag atgtttgcag taagcgatgt aaagaagatg ctaataaata 660
 [0312] tgtgaggaat gattacgata ctagataagc ggctaataga atttttttaa gtacatatat 720
 [0313] agacatattt ttcathtagt aaaattttga atttcacttt gctaagacta gtgtctagaa 780
 [0314] atttataatg atttattaac acctatttga aacttaagta taataaatga ttcggatttt 840
 [0315] atttttaata aagacaaact tgaacgtagc aaagtagttt ttatgataaa taataagttt 900
 [0316] taataatgtg acgcttttat ataagcacat tattatgaac aatgtgaatt gagcatctac 960
 [0317] aattacatta ataaatatat aaatgatgat ttaaattcac atatatttat aatacacata 1020
 [0318] ctatatgaaa gttttgatta tccgaataaa tgctaaaatt aataaaataa ttaaaggaat 1080
 [0319] catacttatt atacgtatac gtttagctac tgaactactg gattcatttg gagattctag 1140
 [0320] tagttctttt tcaatctcta aatctaaatc agttttgtaa taaccattaa ttcctaactc 1200
 [0321] ttcatctagc tctgtacttt tttcatcatt tttatctttg ttgatatggt ccattttctc 1260
 [0322] gcctcttttt aatcaagtag aa 1282
 [0323] <210> 12
 [0324] <211> 1530
 [0325] <212> DNA
 [0326] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0327] <400> 12
 [0328] ttagctgtag ggaaactaaa agagaaatat tggaagcaag ccatagcaga atatgaaaaa 60
 [0329] cgtttaggcc catacaccaa gatagacatc atagaagttc cagacgaaaa agcaccagaa 120
 [0330] aatatgagcg acaaagaaat tgagcaagta aaagaaaaag aaggccaacg aatactagcc 180
 [0331] aaaaatcaaac cacaatccac agtcattaca ttagaaatac aaggaaagat gctatcttcc 240
 [0332] gaaggattgg cccaagaatt gaaccaacgc atgaccaag ggcaaagcga ctttgtattc 300
 [0333] gtcatggcg gatcaaacgg cctgcacaag gacgtcttac aacgcagtaa ctatgcacta 360
 [0334] tcatttagca aaatgacatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tgaacaagt 420
 [0335] tatagagcat ttaagattat gcgtggagaa gcataatcata aatgatgcgg ttttttcagc 480

[0336] cgcttcataa aggggggtga tcatatcgga acgtatgagg tttatgagaa ttgctgctat 540
 [0337] gtttttatga agcgtatcat aaatgatgca gtttttgata attttttctt tatcagagat 600
 [0338] ttactaaaa atccctcaa agtttgttt tttcaacttc aactttgaag ggaataaata 660
 [0339] aggaacttat ttatatattat cttttatctc attaatatct atttttttat taataatatt 720
 [0340] ataaatatta aattcttttag aaaagtcact atcactctta ttcttcatac taaacgttat 780
 [0341] taatctaata atatcagcta ctatttcttt aaattctatt gcatcttctt tttataaagt 840
 [0342] agcgctgta tgaacaattt tatttctcat accatagtaa tctttcatal atttttttac 900
 [0343] acaattttta atttcatttag aattatccaa atctagatta tcaattgtct ttaataaatg 960
 [0344] atcattaaca acattagcat acccatatcc aagcttcttt tttatctctt catcacttaa 1020
 [0345] atttcatct aatttataat atctttctaa aaaattgtg ataaaaactt ctaatgcagt 1080
 [0346] ctgaatttgt acaattgcta aattatagtc agatttataa aaagaacgtt caccttttct 1140
 [0347] catagccaaa acataaatat tgctaggatg attattgaaa atattataat tttttttaat 1200
 [0348] atttaataaa tcactttttt tgatagatga atactgatct tcttctatct ttccaggcat 1260
 [0349] gtcaatcatg aaaatactca tctcttttat atttccatct atagtatata ttatataata 1320
 [0350] tggaatactt aatatatccc ctaatgatag ctggtatata ttatgatact gatatttaac 1380
 [0351] gctaataatt ttaataagat tatttagaca attaaattgc ttattaaaaa ttttcgttag 1440
 [0352] actattactt ttctttgatt ccctagaagt agaatttgat ttcaattttt taaactgatt 1500
 [0353] gtgcttgatt attgaagtta tttcaacata 1530
 [0354] <210> 13
 [0355] <211> 1256
 [0356] <212> DNA
 [0357] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0358] <400> 13
 [0359] gctgtaggga aactaaaaga gaaatattgg aagcaagcca tagcagaata tgaaaaacgt 60
 [0360] ttaggcccac acaccaagat agacatcata gaagttccag acgaaaaagc accagaaaat 120
 [0361] atgagcgaca aagaaattga gcaagtaaaa gaaaaagaag gccaacgaat actagccaaa 180
 [0362] attaaaccac aatccacagt cattacatta gaaatacaag gaaagatgct atcttccgaa 240
 [0363] ggattggccc aagaattgaa ccaacgcgat acccaagggc aaagcgactt tgtattcgtc 300
 [0364] attggcggat caaacggcct gcacaaggac gtcttacaac gcagtaacta cgcactatca 360
 [0365] ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgtaattga gcaagtgtat 420
 [0366] agagcattta agattatgcg tggagaagca tatcataaat gatgcggttt tttcagccgc 480
 [0367] ttcataaagg gatattgaat gtatcagaac atatgaggtt tatgtgaatt gctgttatgt 540
 [0368] ttttaagaag catatcataa gtgatgcggt ttttattaat tagttgctaa aaaatgaagt 600
 [0369] atgcaatatt aattattatt aaattttgat atatttaaag aaagattaag tttagggtga 660
 [0370] atgaatggct tatcaaagtg aatatgcatt agaaaatgaa gtacttcaac aacttgagga 720
 [0371] attgaactat gaaagagtaa atatacataa tattaaatta gaaattaatg aatatctcaa 780
 [0372] agaactagga gtgttgaaaa atgaataagc agacaaatac tccagaacta agatttccag 840
 [0373] agtttgatga ggaatggaaa aaaaggaaat taggtgaagt agtaaattat aaaaatggtg 900
 [0374] gttcatttga aagtttagtg aaaaaccatg gtgtatataa actcataact cttaaactctg 960
 [0375] ttaatacaga aggaaagttg tgtaattctg gaaaatatat cgatgataaa tgtgttgaaa 1020
 [0376] cattgtgtaa tgatacttta gtaatgatac tgagcgagca agcaccagga ctagttggaa 1080
 [0377] tgactgcaat tatacctaata aataatgagt atgtactaaa tcaacgagta gcagcactag 1140

[0378] tgcctaaaca atttatagat agtcaatttc tatctaagtt aattaataga aaccagaaat 1200
 [0379] atttcagtgt gagatctgct ggaacaaaag tgaaaaatat ttctaaagga catgta 1256
 [0380] <210> 14
 [0381] <211> 748
 [0382] <212> DNA
 [0383] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0384] <400> 14
 [0385] atcgtttaac gtgtcacatg atgcgataga tccgcaattt tatattttcc ataataacta 60
 [0386] taagaagttt acgattttta cagatacggg ttacgtgtct gatcgtatga aaggtatgat 120
 [0387] acgtggcagc gatgcattta tttttgagag taatcatgac gtcgatatgt tgagaatgtg 180
 [0388] tcgttatcca tggaagacga aacaacgcat tttaggcgat atgggtcatg tatctaata 240
 [0389] ggatgcgggt catgcgatga cagacgtgat tacaggtaac acgaaacgta tttacttatt 300
 [0390] gcatttatca caagataata atatgaaaga tttggcgcgt atgagtgttg gccaaagtatt 360
 [0391] gaacgaacac gatattgata cggaaaaaga agtattgcta tgtgatacgg ataaagctat 420
 [0392] tccaacacca atatatacaa tataaatgag agtcatccga taaagttccg cactgctgtg 480
 [0393] aaacgacttt atcgggtgct tttttatgtt gttggtggga aatggctgtt gttgagtta 540
 [0394] atcggattga ttgaaatgtg taaaataatt cgatattaaa tgtaatttat aaataattta 600
 [0395] cataaaatca aacattttta tataaggatt atgataatat attggtgtat gacagttaat 660
 [0396] ggagggaacg aaatgaaagc tttattactt aaaacaagtg tatggctcgt tttgcttttt 720
 [0397] agtgtgatgg gattatggca tgtctcga 748
 [0398] <210> 15
 [0399] <211> 1100
 [0400] <212> DNA
 [0401] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0402] <400> 15
 [0403] accatttttag ctgtaggga actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
 [0404] gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
 [0405] ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
 [0406] ctagccaaaa ttaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
 [0407] tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggga aagcgacttt 300
 [0408] gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
 [0409] gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgag 420
 [0410] caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaata aaactaaaaa 480
 [0411] ataagttgta tataacttat tttgaaattg gtttaagtata taatatctcc aataaaatgt 540
 [0412] agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
 [0413] caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660
 [0414] ccctttaaaa tgaagctagg agataactta cattatgatt agtaaacaaa taaaggattt 720
 [0415] acgaaagcaa cataattata ctcaagaaga gctagctgaa aaattaaata cttcaagaca 780
 [0416] aacaatttct aaatgggaac aaggtatttc agaaccagac ttaattatgc ttatgcaatt 840
 [0417] gtcacaatta ttttctgtta gtacagacta tctcattaca ggaagtgaca atattattaa 900
 [0418] aaaagataat aaaagctatt atgaaatgaa tttttgggca tttatgtctg aaaaatgggtg 960
 [0419] ggtaattatt attatagtaa tcataatttg tggaacaata ggacaaattt tttcaacta 1020

[0420] atgtaagtat ctctcaaata ttttgggagg ttttattatg aaaatcaaaa aattattaaa 1080
 [0421] gacattatta attattttat 1100
 [0422] <210> 16
 [0423] <211> 1109
 [0424] <212> DNA
 [0425] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0426] <400> 16
 [0427] accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
 [0428] gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
 [0429] ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
 [0430] ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
 [0431] tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggga aagcgacttt 300
 [0432] gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
 [0433] gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
 [0434] caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaaata aaactaaaaa 480
 [0435] ataagttgta tataacttat tttgaaattg gttaagtata tagtatctcc aataaaatgt 540
 [0436] agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
 [0437] caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660
 [0438] ccctttaaaa tgaagctagg agataactta cattatgatt agtaaacaaa taaaggattt 720
 [0439] acgaaaacaa cataattata ctcaagaaga gctagctgaa aaattaaata cttcaagaca 780
 [0440] aacaatttct aaatgggaac aaggtatttc agaaccagac ttaattatgc ttatgcaatt 840
 [0441] gtcacaatta ttttctgtta gtacagacta tctcattaca ggaagtgaca atattattaa 900
 [0442] aaaagataat aaaagctatt atgaaatgaa ttttgggca tttatgtctg aaaaatggtg 960
 [0443] ggtaattatt attatagtaa tcataatttg tggaacaata ggacaaattt tttcaacta 1020
 [0444] atgtaagtat ctctcaaata ttttgggagg ttttattatg aaaatcaaaa aattattaaa 1080
 [0445] gacattatta attattttat tatgttttg 1109
 [0446] <210> 17
 [0447] <211> 1159
 [0448] <212> DNA
 [0449] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0450] <400> 17
 [0451] accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat 60
 [0452] gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca 120
 [0453] ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata 180
 [0454] ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta 240
 [0455] tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggga aagcgacttt 300
 [0456] gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac 360
 [0457] gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa 420
 [0458] caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcgt atcacaaaata aaactaaaaa 480
 [0459] ataagttgta tataacttat tttgaaattg gttaagtata tagtatctcc aataaaatgt 540
 [0460] agttaactta cgataatgct gaactatagc tttgtaaact aaaatgtaaa taattacaat 600
 [0461] caaattgcaa caatatagtt caagaatgct acaatttgag gacagattga tagcattaat 660

[0462]	ccctttaaaa	tgaagctagg	agataactta	cattatgatt	agtaaacaaa	taaaggattt	720
[0463]	acgaaagcaa	cataattata	ctcaagaaga	gctagctgaa	aaattaaata	cttcaagaca	780
[0464]	aacaatttct	aaatgggaac	aaggtatttc	agaaccagac	ttaattatgc	ttatgcaatt	840
[0465]	gtcacaatta	ttttctgtta	gtacagacta	tctcattaca	ggaagtgaca	atattattaa	900
[0466]	aaaagataat	aaaagctatt	atgaaatgaa	tttttgggca	tttatgtctg	aaaaatgggtg	960
[0467]	ggtaattatt	attatagtaa	tcataatttg	tggaacaata	ggacaaattt	tttcaaacta	1020
[0468]	atgtaagtat	ctctcaaata	ttttggggagg	ttttattatg	aaaatcaaaa	aattattaaa	1080
[0469]	gacattatta	attattttat	tatgttttgt	attgtctgtt	attgtgcaaa	atatttcaat	1140
[0470]	gctatggcat attgtgagc 1159						
[0471]	<210> 18						
[0472]	<211> 1125						
[0473]	<212> DNA						
[0474]	<213> 金黄色葡萄球菌						
[0475]	<400> 18						
[0476]	accatttttag	ctgtagggaa	actaaaagag	aaatattgga	agcaagccat	agcagaatat	60
[0477]	gaaaaacgtt	taggcccata	caccaagata	gacatcatag	aagttccaga	cgaaaaagca	120
[0478]	ccagaaaata	tgagcgacaa	agaaattgag	caagtaaaag	aaaaagaagg	ccaacgaata	180
[0479]	ctagccaaaa	tcaaaccaca	atccacagtc	attacattag	aaatacaagg	aaagatgcta	240
[0480]	tcttccgaag	gattggccca	agaattgaac	caacgcatga	ccaaggggca	aagcgacttt	300
[0481]	gtattcgtca	ttggcggatc	aaacggcctg	cacaaggacg	tcttacaacg	cagtaactat	360
[0482]	gcactatcat	ttagcaaaat	gacattccca	catcaaatga	tgcgggttgt	gttaattgaa	420
[0483]	caagtgtata	gagcatttaa	gattatgcgt	ggagaggcgt	atcataaata	aaactaaaaa	480
[0484]	acggattgtg	tataatatat	tttaaataa	aaaaggattg	attttatgtt	aaataaatta	540
[0485]	gaaaatgtta	gttataaatc	attcgataat	tacactagtg	aagatgattt	gactaaagta	600
[0486]	aatatatattt	ttggaagaaa	tgggagtgga	aaaagctcat	taagtgaatg	gttaagaaga	660
[0487]	ctagataatg	aaaaaagtgt	tatctttaat	actggttact	taaaaataa	tattgaagaa	720
[0488]	gttgaagaaa	tagatggtgt	gaatttggtt	attggagaag	aatctataaa	tcatagtgc	780
[0489]	caaattaagc	atttaaatag	cgctataaat	agtttagaaa	attttattac	tcgaaaaaat	840
[0490]	agtgaactta	agcattcaaa	agaaagaatt	tacaataaaa	tgaatatcag	actaaatgaa	900
[0491]	gctagagaaa	gatttgaaat	aggtagtaat	gtggttaagc	agaagaggaa	tgctgacaaa	960
[0492]	gatccagtta	atgcttttta	tagttggaag	aaaaatgcta	acgatataat	tcaagagatg	1020
[0493]	actattgaat	ctttagatga	attagaagaa	agaataacaa	gaaaagaagt	cttattaaat	1080
[0494]	aatataaaaa caccaatttt agcttttgat tataatgatt ttagt 1125						
[0495]	<210> 19						
[0496]	<211> 4149						
[0497]	<212> DNA						
[0498]	<213> 金黄色葡萄球菌						
[0499]	<400> 19						
[0500]	accatttttag	ctgtagggaa	actaaaagag	aaatattgga	agcaagccat	agcagaatat	60
[0501]	gaaaaacgtt	taggcccata	caccaagata	gacatcatag	aagttccaga	cgaaaaagca	120
[0502]	ccagaaaata	tgagcgacaa	agaaattgag	caagtaaaag	aaaaagaagg	ccaacgaata	180
[0503]	ctagccaaaa	ttaaaccaca	atccacagtc	attacattag	aaatacaagg	aaagatgcta	240

[0504]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaagggca aagcgacttt	300
[0505]	gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0506]	gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag	420
[0507]	caagtgtata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagtg atgcggtttt	480
[0508]	tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata	540
[0509]	tttaaagaaa gattaagttt aggggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga	600
[0510]	aatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat	660
[0511]	taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga	720
[0512]	caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag	780
[0513]	gtgaagtagt aaattataaa aatgggtggtt catttgaaag tttagtgaaa aaccatggtg	840
[0514]	tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa	900
[0515]	aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tacttttagta atgatactga	960
[0516]	gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg	1020
[0517]	tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaaacaatt tatagatagt caatttctat	1080
[0518]	ctaagttaat taatagaaac cagaaatatt tcagtgtagg atctgctgga acaaaagtga	1140
[0519]	aaaatatctt taaaggacat gtagaaaact ttaatttttt atctcctaata taaactgaac	1200
[0520]	aacaaaaaat aggtaatctt ttcagcaaac tcgaccgcca gattgagtta gaagaagaga	1260
[0521]	aacttgaact cttagagcaa caaaagcgtg gatataattca gaagattttt tctcaagatt	1320
[0522]	taagatttaa agatgaaaat ggaaacagtt atcctgattg gtctattaaa aagattgaag	1380
[0523]	atatttctaa agttaataaa gggtttactc caaatacaaa aaatgataaa tactgggatg	1440
[0524]	aattaaatga aaattgggta tctatagcag gtatgacaca gaaatatttg tataaaggaa	1500
[0525]	ataaaggaat tactgaaaaa ggtgcatcaa agcatgtaaa agtagataaa gatactctaa	1560
[0526]	taatgagttt taaattgact ttaggtaagt tagctatagt aaaagagcct atctatacaa	1620
[0527]	atgaagctat atgccatttc gtatggaaag aaagtaatgt taatactgag tatatgtact	1680
[0528]	actattttaa ttctataaat ataagtactt ttggtgcaca ggcagttaaa ggagtaacat	1740
[0529]	taaataacga tgcaattaat agtattatag taaagttacc agtgatacaa gaacaaaata	1800
[0530]	aaatagcata ctttttcaat aaattagata aattaattga aaaacaatct tctaaagtag	1860
[0531]	aattattaaa acaacgcaaa caaggatttt tacagaaaat gtttgtttaa ttcttataaa	1920
[0532]	gttctattat gtaaaatatt aaatagagat aacattatga aagcgagccc aagacataaa	1980
[0533]	gtttttgaat aaataaaaaa gataatttct atcaaattaa tatagaaatt gtctttttta	2040
[0534]	taaatttttt gattattttt agctgattga gctgttactt ttcttataat aagtgtctatt	2100
[0535]	agcacaaaat ctagttctct tttggctttg tttattcctc ttacggacat tcgagtga	2160
[0536]	cccattttta ttttattaga agtaatttag gtttgaaccc acctaataaa atatatgagt	2220
[0537]	tattttttta tgctacaaaa tatattcaga tttcaataat gacataaaat aggcattctt	2280
[0538]	atatttacct ttagttaga attgctcttt gagtaatcct tctgttttaa atccttgtga	2340
[0539]	ctcgtatata tgcacagctt ttttgttatt tgtatcaaca tatagataaa ttttgtgcat	2400
[0540]	gtttaatatata tcgaatgcat aatttatcgc tttttcgaat gcgaattttg cataacctt	2460
[0541]	accactgaac tcaggtttta taattatttg tatttcacaa ttacgatgga tgtaattaat	2520
[0542]	ttctactaat tcaacaatac ctacgacttg attttcatct tcaacaataa aacgtctctc	2580
[0543]	tgattcatct aataaatgct tatcaaataa atattgaagt tccgttaagg attcatatgg	2640
[0544]	ttcttcaaac caataagaca taatagaata ttcatattt aattcatgaa caaaaagtaa	2700
[0545]	atcactatac tctaattgctc ttagtttcat aattccactc ccaaaatttt ctcatatatt	2760

[0546]	tgcatataa atataaataa cgaataagtc atcattcact gtgaatactc tattttaaca	2820
[0547]	attcaccaca tactaattct cattttcttg ttattctcga ttattactc ttactatgaa	2880
[0548]	acctataaaa ttctcacatt tgtttgattt aagaataaat acgtcgatag taacaataaa	2940
[0549]	aaaataaata ataaagcatc cctcaccgta aaagtgaagg atgctctagt ttattgaaa	3000
[0550]	tatacatttc attttgtaa ataattatta ataattttt gaaaatcatt attacgtgaa	3060
[0551]	atcttcatag attttatcaa gtatttcttt gccttcaatt gctgtgaagt gatgtacca	3120
[0552]	tctattttta caatcatatg taattttgtg acgctaggta attagtaatt gtgcgtcagt	3180
[0553]	ctgattgtat agtatcaagt ttcatagata atactcttg attttaagt ccactttgac	3240
[0554]	gtgctttaag attgagtata tacataatgt cattgtggaa tgtaaaaaat cctacaaatg	3300
[0555]	ttatttcac tgcaggattt ttaaactctc aagaataaaa atcatcatag gacaactgga	3360
[0556]	ttattgttg gataaataac gtaacaata attaggtact attatttatt ttgttttatt	3420
[0557]	cttttcccta acaaaataaa gaaaagaata aacgcaattg ttaaaaatat gtgtcctaaa	3480
[0558]	ccagcaatac cagcaatagc aggacttaca cttagatctt taatggtaga aataccgttc	3540
[0559]	acgaattgca ttgccacagt aacaagcaca cctaaatggt atatataaaa gaaactgta	3600
[0560]	aacagctttg tatgagttgt taatttgaat tggccctcga taatcatgaa aattaagaac	3660
[0561]	ataattgtac ctactactaa taaatgtgta tgtgtaacat ttaattgaga aaaaccgta	3720
[0562]	aaatcttccg cttttgtcat ttctctataa aatagaccac ttaataaccc taatagtga	3780
[0563]	tagagcgtg aactatacat taatctttc attttaattc cccctatttt taattacgag	3840
[0564]	ataagtatag cggtagttta tgaactgagt atgaacttac aacaaaaaaa ttaatgaagt	3900
[0565]	actttacaat aaactcaatt tatttagatg tggagggacg aaaaaggatt ttagaaaaat	3960
[0566]	aaattaatat atttttattt tgataagtaa taattaataa tatcttgga atcattgtta	4020
[0567]	agtattgttg taatacaatc gtcattcata aaatcttcat agtttttattc aagaatttct	4080
[0568]	tcatcttcca tagatgtgaa atgattagct aaccctttta taatttaagt gtaattgtg	4140
[0569]	aatctaaac	4149
[0570]	<210>	20
[0571]	<211>	1081
[0572]	<212>	DNA
[0573]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0574]	<400>	20
[0575]	accattttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
[0576]	gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
[0577]	ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
[0578]	ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
[0579]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggcca aagcgacttt	300
[0580]	gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0581]	gcactatcat tcagcaaaat gacattcca catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgaa	420
[0582]	caagtgtaca gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagt atgcggtttt	480
[0583]	tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata	540
[0584]	tttaagaaa gattaagttt aggggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga	600
[0585]	aatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat	660
[0586]	taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga	720
[0587]	caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag	780

[0588]	gtgaagtagt aaattataaa aatggtggtt catttgaaag tttagtgaag aaccatggtg	840
[0589]	tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa	900
[0590]	aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tacttttagta atgatactga	960
[0591]	gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg	1020
[0592]	tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaaacaatt tatagatagt caatttctat	1080
[0593]	c	1081
[0594]	<210>	21
[0595]	<211>	1054
[0596]	<212>	DNA
[0597]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0598]	<400>	21
[0599]	accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
[0600]	gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
[0601]	ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
[0602]	ctagccaaaa tcaaaccaca atcaacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
[0603]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggcca aagcgacttt	300
[0604]	gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0605]	gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa	420
[0606]	caagtgata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataagtg atgcggtttt	480
[0607]	tattaattag ttgctaaaaa atgaagtatg caatattaat tattattaaa ttttgatata	540
[0608]	tttaaagaaa gattaagttt aggggtgaatg aatggcttat caaagtgaat atgcattaga	600
[0609]	aaatgaagta cttcaacaac ttgaggaatt gaactatgaa agagtaaata tacataatat	660
[0610]	taaattagaa attaatgaat atctcaaaga actaggagtg ttgaaaaatg aataagcaga	720
[0611]	caaatactcc agaactaaga tttccagagt ttgatgagga atggaaaaaa aggaaattag	780
[0612]	gtgaagtagt aaattataaa aatggtggtt catttgaaag tttagtgaag aaccatggtg	840
[0613]	tatataaact cataactctt aaatctgtta atacagaagg aaagttgtgt aattctggaa	900
[0614]	aatatatcga tgataaatgt gttgaaacat tgtgtaatga tacttttagta atgatactga	960
[0615]	gcgagcaagc accaggacta gttggaatga ctgcaattat acctaataat aatgagtatg	1020
[0616]	tactaaatca acgagtagca gcactagtgc ctaa	1054
[0617]	<210>	22
[0618]	<211>	4353
[0619]	<212>	DNA
[0620]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0621]	<400>	22
[0622]	accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
[0623]	gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
[0624]	ccagaaaata tgagcgacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
[0625]	ctagccaaaa ttaaaccaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
[0626]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggcca aagcgacttt	300
[0627]	gtattcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0628]	gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgag	420
[0629]	caagtgata gagcatttaa gattatgcgt ggagaagcat atcataaatg atgcggtttt	480

[0630]	ttcagccgct tcataaaggg attttgaatg tatcagaaca tatgaggttt atgtgaattg	540
[0631]	ctgttatgtt ttttaagaagc atatcataaa tgatgcggtt ttttcagccg cttcataaag	600
[0632]	ggattttgaa tgtatcagaa catatgaggt ttatgtgaat tgctgttatg tttttaagaa	660
[0633]	gcatatcata agtgatgcgg tttttattaa ttagttgcta aaaaatgaag tatgcaatat	720
[0634]	taattattat taaattttga tatattttaaa gaaagattaa gtttaggggtg aatgaatggc	780
[0635]	ttatcaaagt gaatatgcat tagaaaatga agtacttcaa caacttgagg aattgaacta	840
[0636]	tgaaagagta aatatacata atattaaatt agaaattaat gaatatctca agaactagg	900
[0637]	agtgttgaaa aatgaataag cagacaaata ctccagaact aagatttcca gagtttgatg	960
[0638]	aggaatggaa aaaaaggaaa ttaggtgaag tagtaaatata taaaaatggg ggttcatttg	1020
[0639]	aaagtttagt gaaaaacccat ggtgtatata aactcataac tcttaaactc gttaatacag	1080
[0640]	aaggaaagtt gtgtaattct ggaaaatata tcgatgataa atgtgttgaa acattgtgta	1140
[0641]	atgatacttt agtaatgata ctgagcgagc aagcaccagg actagttgga atgactgcaa	1200
[0642]	ttatacctaa taataatgag tatgtactaa atcaacgagt agcagcacta gtgcctaaac	1260
[0643]	aatttataga tagtcaattt ctatctaagt taattaatag aaaccagaaa tatttcagtg	1320
[0644]	tgagatctgc tggaacaaaa gtgaaaaata tttctaaagg acatgtagaa aactttaatt	1380
[0645]	ttttatctcc taattacact gaacaacaaa aaataggttaa tttcttcagc aaactcgacc	1440
[0646]	gccagattga gttagaagaa gagaaacttg aactcttaga gcaacaaaag cgtggatata	1500
[0647]	ttcagaagat tttttctcaa gatttaagat ttaaagatga aaatggaaac agttatcctg	1560
[0648]	attggtctat taaaaagatt gaagatattt ctaaagttaa taaagggtt actccaaata	1620
[0649]	caaaaaatga taaatactgg gatgaattaa atgaaaattg gttatctata gcaggatga	1680
[0650]	cacagaaata tttgtataaa ggaaataaag gaattactga aaaaggtgca tcaaagcatg	1740
[0651]	taaaagtaga taaagatact ctaataatga gttttaaatt gacttttagt aagttagcta	1800
[0652]	tagtaaaaga gcctatctat acaaatgaag ctatatgcca tttcgtatgg aaagaaagta	1860
[0653]	atgttaatac tgagtatatg tactactatt taaattctat aaatataagt acttttggtg	1920
[0654]	cacaggcagt taaaggagta acattaaata acgatgcaat taatagtatt atagtaaagt	1980
[0655]	taccagtgat acaagaacaa aataaaatag catacttttt caataaatta gataaattaa	2040
[0656]	ttgaaaaaca atcttctaaa gtgaattat taaaacaacg caaacaagga tttttacaga	2100
[0657]	aaatgtttgt ttaattctta taaagtctta ttatgtaaaa tattaaatag agataacatt	2160
[0658]	atgaaagcga gcccaagaca taaagttttt gaataaataa aaaagataat ttctatcaaa	2220
[0659]	ttaatataga aattgtcttt ttataaaatt ttttgattat ttttagctga ttgagctgtt	2280
[0660]	acttttctta taataagtgc tatttagcaca aatcctagtt ctcttttggc tttgtttatt	2340
[0661]	cctcttacgg acattcgagt gaaaccatt ttaattttat tagaagtaat ttaggtttga	2400
[0662]	accacctaa ataaatatat gagttatttt tttatgctac aaaatatatt cagatttcaa	2460
[0663]	taatgacata aaataggcat ctttatattt accttttagt tagaattgct ctttgagtaa	2520
[0664]	tccttctgtt ttaaatcctt gtgactcgta tatatgcaca gcttttttgt tatctgtatc	2580
[0665]	aacatataga taaattttgt gcatgtttaa tatatcgaat gcataattta tcgctttttc	2640
[0666]	gaatgcgaat tttgcataac ctttaccact gaactcaggt ttaataatta tttgtatttc	2700
[0667]	acaattacga tggatgtaat taatttctac taattcaaca atacctacga cttgattttc	2760
[0668]	atcttcaaca ataaaacgtc tctctgatc atctaataaa tgcttatcaa ataaatattg	2820
[0669]	aagttccgtt aaggattcat atggttcttc aaaccaataa gacataatag aatattcatt	2880
[0670]	atttaattca tgaacaaaaa gtaaatcact atactctaag gctcttagtt tcataattcc	2940
[0671]	actcccaaaa ttttctcata tatttgcatt ataaatataa ataacgaata agtcatcatt	3000

[0672]	cactgtgaat actctatittt aacaattcac cacatactaa ttctcatttt cttgttattc	3060
[0673]	tcgattttatt actcttacta tgaacctat aaaatttctca catttgtttg tattaagaat	3120
[0674]	aaatacgtcg atagtaacaa taaaaaata aataataaag catccctcac cgtaaaagt	3180
[0675]	aaggatgctc tagttttatt gaaatataca ttctattttg ttaaataatt attaataata	3240
[0676]	ttttgaaaat cattattacg tgaatcttc atagatttta tcaagtattt ctttgccttc	3300
[0677]	aattgctgtg aagtgtgtg ccaatctatt tttaaatca tatgtaattt tgtgacgcta	3360
[0678]	ggtaattagt aattgttcgt cagtctgatt gtatagtatc aagtttcata gataatactc	3420
[0679]	tttgatttta atgtccactt tgacgtgctt taagattgag tatatacata atgtcattgt	3480
[0680]	ggaatgttaa aaatcctaca aatgtttatt catctgcagg atttttaaat ctccaagaat	3540
[0681]	aaaaatcatc ataggacaac tggattattg ttggataaa taacgtaaac aataattagg	3600
[0682]	tactattatt tatttttgtt tattcttttt cctaacaaaa taaagaaaag aataaacgca	3660
[0683]	attgttaaaa atatgtgtcc taaaccagca ataccagcaa tagcaggact tacacttaga	3720
[0684]	tctttaatgg tagaaatacc gtccacgaat tgcattgcca cagtaacaag cacacctaaa	3780
[0685]	tggtatatat aaaagaaact gttaaacagc ttgtatgag ttgttaattt gaattggccc	3840
[0686]	tcgataatca tgaataata gaacataatt gtacctagta ctaataaatg tgtatgtgtg	3900
[0687]	acatttaatt gagaaaaacc gctaaaatct tccgttttg tcatctctct ataaaataga	3960
[0688]	ccacttaata accctaata tagtatagagc gctgaactat acattaatct ttctatttta	4020
[0689]	attcccccta ttttaatta cgagataagt atagcggtag tttatgaact gagtatgaac	4080
[0690]	ttacaacaaa aaaattaatg aagtacttta caataaactc aattttattag atggtggagg	4140
[0691]	gacgaaaaag gatttttaga aaataaatta atatattttt attttgataa gtaataatta	4200
[0692]	ataatatctt ggaaatcatt gttaagtatt gttgtaatac aatcgtcatt cataaaatct	4260
[0693]	tcatagattt tatcaagaat ttcttcatct tcgatagatg tgaaatgatt agctaaccct	4320
[0694]	tttataattt aagtgttaatt tgtgaatcta aac	4353
[0695]	<210>	23
[0696]	<211>	2031
[0697]	<212>	DNA
[0698]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0699]	<400>	23
[0700]	accatttttag ctgtagggaa actaaaagag aaatattgga agcaagccat agcagaatat	60
[0701]	gaaaaacgtt taggcccata caccaagata gacatcatag aagttccaga cgaaaaagca	120
[0702]	ccagaaaata tgagtacaa agaaattgag caagtaaaag aaaaagaagg ccaacgaata	180
[0703]	ctagccaaaa tcaaacaca atccacagtc attacattag aaatacaagg aaagatgcta	240
[0704]	tcttccgaag gattggccca agaattgaac caacgcatga cccaaggcca aagcgacttt	300
[0705]	gttttcgtca ttggcggatc aaacggcctg cacaaggacg tcttacaacg cagtaactac	360
[0706]	gcactatcat tcagcaaaat gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gttaattgaa	420
[0707]	caagtgtaca gagcatttaa gattatgcga ggagaagcgt atcacaataa aaactaaaaa	480
[0708]	atagattgtg tataatataa aaggagcgga tttatattaa aactttgaat tcaaaaatta	540
[0709]	ttgaaaggga agctacctta gaaattgaat ctatggcaac taatacattg aaaataaacc	600
[0710]	cggatattaa ttcaaagat acaaaaatgt ctttcgatgg agaattggaa gtgtatgatt	660
[0711]	ctgaaaattt gagtaaaaaa aatttcgttg gaaaaataca agttcaagtt aaaggaaagg	720
[0712]	aagtagctaa aagaggaggt aaggttatc atcgaagtaa tgtcaaaatg aatgatttaa	780
[0713]	aggcatacca acgagaaggt ggtgtgtatt actttgtcgt gtatttaatc gttgagaata	840

[0714]	aaaaagttgt tgagaagcag gtttatggta aacaattaca tcaattagat ttacaatttt	900
[0715]	tactgcaaaa aaagcagaaa agcgtcacta taaaaatgta tgaaattgaa aatgaaaaaa	960
[0716]	ttttatataa taattgcgta aaatatataa atgaaaagag attacaaaat caagtaggtc	1020
[0717]	aagttaaagt aaagaacata gaaaaagctt tatcatatat agctacacct gaaaatattg	1080
[0718]	tgatggatca tagaggttta ccattaaatg atttttatgg ctatataaaa attaattcat	1140
[0719]	ctgaattaga tgtaactata ccagatggag tattaagtat ggaaaaagta aaaagagtga	1200
[0720]	acaaaaagca gataataaaa gaaggcaagt tattatttga aggtatggta ggtattgaaa	1260
[0721]	cttcaaagga gtccatctct ataactatag atgatatttt caaaattcaa acatttgaaa	1320
[0722]	gtgataacaa aagtatatat acaatgttac catttaaaaa attaaatata gccgaacaat	1380
[0723]	cttttaagtgt tataaacgaa ttgtcgaaag gcggcgaatt ctttttggat caaatccaat	1440
[0724]	tagtaatcca accttttgaa attaatatta ttgaaataaa agaaacaata aataagttga	1500
[0725]	atattaaatt atcagagtat agtaacttgc tttcgtttga tgtgagtcta aaatctacag	1560
[0726]	aatttgataa gcagatgaat gagataaaag gtttattaga attattggaa tataaaaatt	1620
[0727]	ttaaagattt taaaatgcat aataatggat actataaaat gaagttttgt ggaaaattta	1680
[0728]	tattattatt taaagacaat acatcattgt ataatgtcta ctctaattgac tttgtagata	1740
[0729]	gatttgaggc tgttacaaaa gaaagagttg tacagatgcc aattgtttac acattaacaa	1800
[0730]	gagatatgat tgtagatgta ctgaattttg atataaatgt tattaaagaa tgtattgaat	1860
[0731]	cagataaaat tgctattcaa tctgacatta aatgggagaa attaaataac tttgcattag	1920
[0732]	aattaatcgc agcctatgat gaaactcaaa gaaccgattt attagaatta gctgaatatg	1980
[0733]	tattaaataa tttgctgaat tttgataatg ataaaatatt tatgaactta a	2031
[0734]	<210>	24
[0735]	<211>	818
[0736]	<212>	DNA
[0737]	<213>	金黄色葡萄球菌
[0738]	<400>	24
[0739]	aattattggaa gcaagccata gcagaatatg aaaaacgttt aggcccatat accaagatag	60
[0740]	acatcataga agttccagac gaaaaagcac cagaaaatat gagcgacaaa gaaattgagc	120
[0741]	aagtgtatag agcatttaag attatgcgtg gagaagcata tcataaatga tgcggttttt	180
[0742]	tcagccgctt cataaaggga ttttgaatgt atcagaacat atgaggttta tgtgaattgc	240
[0743]	tgttatgttt ttaagaagct tatcataagt aatgaggttc atgatttttg acatagttag	300
[0744]	cctccgcagt ctttcatttc aagtaaataa tagcgaaata ttcttttatac tgaatactta	360
[0745]	tagtgaagca aagttctagc tttgagaaaa ttctttctgc aactaaatat agtaaattac	420
[0746]	ggtaaaatat aaataagtac atattgaaga aaatgagaca taatatattt tataatagga	480
[0747]	gggaatttca aatgatagac aactttatgc aggtccttaa attaattaaa gagaaacgta	540
[0748]	ccaataatgt agttaaaaaa tctgattggg ataaagggtga tctatataaa actttagtcc	600
[0749]	atgataagtt acccaagcag ttaaaagtgc atataaaaga agataaatat tcagttgtag	660
[0750]	ggaaggttgc tactgggaac tatagtaaag ttccttggat ttcaatatat gatgagaata	720
[0751]	taacaaaaga aacaaaggat ggatattatt tggtatatct ttttcatccg gaaggagaag	780
[0752]	gcataacttt atcttgaatc aaggatggtc aaagataa	818
[0753]	<210>	25
[0754]	<211>	1073
[0755]	<212>	DNA

[0756]	<213> 金黄色葡萄球菌	
[0757]	<400> 25	
[0758]	tattggaagc aagccatagc agaatatgaa aaacgttttag gcccatcac caagatagac	60
[0759]	atcatagaag ttccagacga aaaagcacca gaaaatatga gcgacaaaga aattgagcaa	120
[0760]	gtaaaagaaa aagaaggcca acgaatacta gccaaaatca aaccacaatc cacagtcatt	180
[0761]	acattagaaa tacaaggaaa gatgctatct tccgaaggat tggcccaaga attgaaccaa	240
[0762]	cgcatgaccc aagggcaaag cgactttgta ttcgtcattg gcggatcaaa cggcctgcac	300
[0763]	aaggacgtct tacaacgcag taactatgca ctatcattta gcaaatgac attcccacat	360
[0764]	caaatgatgc gggttgtgtt aattgaacaa gtgtatagag catttaagat tatgcgtgga	420
[0765]	gaggcgtatc ataagtgatg cttgttagaa tgatttttaa caatatgaaa tagctgtgga	480
[0766]	agcttaaaca atttgtttat ctaagtactt atttaataat tgattgaact gtgattggca	540
[0767]	ccagctgtc tggtaaattg agaagttggg ttttggagcg tataaatgat agaattaata	600
[0768]	taaaattcaa tttgaggagt aggagattat gtcgaatata aaaacaacac tagagacgtc	660
[0769]	cgtaggacta gaaaaagaca acgataagct atttgattat ataactgaat tagagattca	720
[0770]	aaacacgcct gaaaaccggg aagcaaaagt tgttattgaa gaaaggttac ataaagaata	780
[0771]	taaatatgaa ttagatcaaa tgacaccaga gtatggaata caaaaaggca gtgttagaat	840
[0772]	aggtcatgca gatgttgtaa tatttcatga ttctaaagat aaatctcaag agaattataa	900
[0773]	aataatagta gagtgtaaaa gaaagaatcg cagggatggt attgaacaat taaaaacata	960
[0774]	tcttcaggg tgtgagctcg cagaatacgg cgtttggttt aatggagaag atatagtata	1020
[0775]	tataaaacga ttgaaaaaag caccacattg gaaaacagta tttaatatat cga	1073
[0776]	<210> 26	
[0777]	<211> 756	
[0778]	<212> DNA	
[0779]	<213> 金黄色葡萄球菌	
[0780]	<400> 26	
[0781]	tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgtaattga gcaagtgtat agagcattta	60
[0782]	agattatgcg tggagaagcg tatcacaat aaaactaaaa aatagggtgc gcataatata	120
[0783]	attagaaagg aattagacat aaattaggag tccttcacag aatagcgaag gactccatt	180
[0784]	aaatatatta tgggtgaaag aaatcacaaa tcaatatata tacttaatac catatattaa	240
[0785]	cttgactat tataaagtac gacatcagta ttaggtatca ctttgaacac atgaatttca	300
[0786]	ttatcacttt tattattcac aaaaaatttt ccaattctca attactgaat tatgtgtata	360
[0787]	catgttgta aaaattaata aaggatattt atgtttgttt aaagcatatc acaagtgatg	420
[0788]	cggtttttta taaagattta cttgttagtg attttgataa aaatgcttaa tactatttca	480
[0789]	ataatatgta tttaaaaatt agattaatag tatttaactt caaatggcct cgtataaact	540
[0790]	catagcaaat taacgtaaat caatgaaata aaatgaaaac aatttcaaga atacattata	600
[0791]	aacataaagt atacaaaaaa taaatgagcg tatttggtta aacgtatata ctcatTTTTA	660
[0792]	ttaaattaat ttattatatt ttacgattgt tatttatgaa attaacaat tccatttttg	720
[0793]	atagtgaat taaaagcttt atcacttatt attgat	756
[0794]	<210> 27	
[0795]	<211> 771	
[0796]	<212> DNA	
[0797]	<213> 金黄色葡萄球菌	

[0798] <400> 27
 [0799] tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgtaattga gcaagtgtat agagcattta 60
 [0800] agattatgcg tggagaagcg tatcacaat aaaactaaaa aataggttgc gcataatata 120
 [0801] attagaaagg aattagacat aaattaggag tccttcacag aatagcgaag gactccatt 180
 [0802] aaatatatta tgggtgtaaag aaatcacaaa tcaatatata tacttaatac catatatata 240
 [0803] cttgtactat tataaagtac gacatcagta ttaggtatca ctttgaacac atgaatttca 300
 [0804] ttatcacttt tattattcac aaaaaatttt ccaattctca attactgaat tatgtgtata 360
 [0805] catgttgta aaaattaata aaggatattt atgtttgttt aaagcatatc acaagtgatg 420
 [0806] cggtttttta taaagattta cttgttagtg attttgataa aaatgcttaa tactatttca 480
 [0807] ataatatgta tttaaaaatt agattaatag tatttaactt caaatggcct cgtataaact 540
 [0808] catagcaaat taacgtaaat caatgaaata aaatgaaaac aatttcaaga atacattata 600
 [0809] aacataaagt atacaaaaaa taaatgagcg tatttgttta aacgtatata ctcattttta 660
 [0810] ttaaattaat ttattatatt ttacgattgt tatttatgaa attaacaat tccatttttg 720
 [0811] atagtgaat taaaagcttt atcacttatt attgataatt ttgactgcat c 771
 [0812] <210> 28
 [0813] <211> 680
 [0814] <212> DNA
 [0815] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0816] <400> 28
 [0817] ttcagcaaaa tgacattccc acatcaaatg atgcgggttg tgtaattga acaagtgtac 60
 [0818] agagcattta agattatgcg tggagaagcg tatcataagt agcggaggag ttttttacct 120
 [0819] tgtgacttat cataaagtac gatgtttatg taagtatta tcattattta agcaggtttt 180
 [0820] tcaaattaaa taataacaag aataaaatgc acttagcgac attgaaattt attaacttag 240
 [0821] taaactaata gatttataga aaattttatt tgcaagggga taattttgaa aagtagtatt 300
 [0822] ttctatcttt ccataatata ttgtaattac aacggagggg atattgtgat gaagtgtata 360
 [0823] gataaaacgt gggtagcta ttataaagaa ttagctgata agttaacaga ttatcaaaat 420
 [0824] aaacgttatg aattaattga aatagtgaag gaagtatata aaaaaacggg aataaaattc 480
 [0825] cctacttttag caagtataa tgtattgatg gacatagatc cttttacaat atttgcatta 540
 [0826] tttataaaaa attccatgag agaaactaat aaggtaaaaa tattaacaga attagcttcg 600
 [0827] gaattgaata ttaagtccaa aattccgtca gtttttgaca gtattccaac agtcaataat 660
 [0828] ctgaatgcta catattataa 680
 [0829] <210> 29
 [0830] <211> 1119
 [0831] <212> DNA
 [0832] <213> 金黄色葡萄球菌
 [0833] <400> 29
 [0834] gacattccca catcaaatga tgcgggttgt gtttaattgag caagtgtata gagcatttaa 60
 [0835] gattatgcgt ggagaggcgt atcataagta aaactaaaaa attctgtatg aggagataat 120
 [0836] aatttggagg gtgttaaatg gtggacatta aatccacgtt cattcaatat ataagatata 180
 [0837] tcacgataat tgcgcatata acttaagtag tagctaacag ttgaaattag gccctatcaa 240
 [0838] attggtttat atctaaaatg attaatatag aatgcttctt tttgtcctta ttaaattata 300
 [0839] aaagtaactt tgcaatagaa acagttattt cataatcaac agtcattgac gtagctaagt 360

[0840] aatgataaat aatcataaat aaaattacag atattgacaa aaaatagtaa atataccaat 420
[0841] gaagtttcaa aagaacaatt ccaagaaatt gagaatgtaa ataataaggt caaagaattt 480
[0842] tattaagatt tgaaagagta tcaatcaaga aagatgtagt tttttaataa actatttgga 540
[0843] aaataattat cataatttaa aaactgacaa tttgcgagac tcataaaatg taataatgga 600
[0844] aatagatgta aaatataatt aaggggtgta atatgaagat taatatttat aaatctattt 660
[0845] ataattttca ggaaacaaat acaaattttt tagagaatct agaatcttta aatgatgaca 720
[0846] attatgaact gcttaatgat aaagaacttg ttagtgattc aaatgaatta aaattaatta 780
[0847] gtaaagttaa tatacgtaaa aaagacaaaa aactattaga ttggcaatta ttaataaaga 840
[0848] atgtatacct agatactgaa gaagatgaca atttattttc agaatccggt catcattttg 900
[0849] atgcaatatt atttctcaaa gaagatacta cattacaaaa taatgtatat attatacctt 960
[0850] ttggacaagc atatcatgat ataaataatt tgattgatta tgacttcgga attgattttg 1020
[0851] cagaaagagc aatcaaaaat gaagacatag ttaataaaaa tgtaattttt tttcaacaaa 1080
[0852] acaggcttaa agagattggt aattatagaa ggaatagtg 1119
[0853] <210> 30
[0854] <211> 24
[0855] <212> DNA
[0856] <213> 人工序列
[0857] <220>
[0858] <223> 合成寡核苷酸
[0859] <400> 30
[0860] caaattgtag cattcttgaa ctat 24
[0861] <210> 31
[0862] <211> 26
[0863] <212> DNA
[0864] <213> 人工序列
[0865] <220>
[0866] <223> 合成寡核苷酸
[0867] <400> 31
[0868] ctattgttcc acaaattatg attact 26
[0869] <210> 32
[0870] <211> 24
[0871] <212> DNA
[0872] <213> 人工序列
[0873] <220>
[0874] <223> 合成寡核苷酸
[0875] <400> 32
[0876] ctcccatctt ttccaaaaaa tata 24
[0877] <210> 33
[0878] <211> 26
[0879] <212> DNA
[0880] <213> 人工序列
[0881] <220>

[0882] <223> 合成寡核苷酸
[0883] <400> 33
[0884] cttcttttct tgttattctt tcttct 26
[0885] <210> 34
[0886] <211> 24
[0887] <212> DNA
[0888] <213> 人工序列
[0889] <220>
[0890] <223> 合成寡核苷酸
[0891] <400> 34
[0892] taatttcctt tttttccatt cctc 24
[0893] <210> 35
[0894] <211> 24
[0895] <212> DNA
[0896] <213> 人工序列
[0897] <220>
[0898] <223> 合成寡核苷酸
[0899] <400> 35
[0900] gagcggattt atattaaaac tttg 24
[0901] <210> 36
[0902] <211> 24
[0903] <212> DNA
[0904] <213> 人工序列
[0905] <220>
[0906] <223> 合成寡核苷酸
[0907] <400> 36
[0908] gttgccatag attcaatttc taag 24
[0909] <210> 37
[0910] <211> 20
[0911] <212> DNA
[0912] <213> 人工序列
[0913] <220>
[0914] <223> 合成寡核苷酸
[0915] <400> 37
[0916] cgaggagaag cgtatcacao 20
[0917] <210> 38
[0918] <211> 27
[0919] <212> DNA
[0920] <213> 人工序列
[0921] <220>
[0922] <223> 合成寡核苷酸
[0923] <400> 38

[0924] agttgccata gattcaattt ctaaggt 27
[0925] <210> 39
[0926] <211> 29
[0927] <212> DNA
[0928] <213> 人工序列
[0929] <220>
[0930] <223> 合成寡核苷酸
[0931] <400> 39
[0932] gtcaaaaatc atgaacctca ttacttatg 29
[0933] <210> 40
[0934] <211> 19
[0935] <212> DNA
[0936] <213> 人工序列
[0937] <220>
[0938] <223> 合成寡核苷酸
[0939] <400> 40
[0940] caccctgcaa gatatgttt 19
[0941] <210> 41
[0942] <211> 22
[0943] <212> DNA
[0944] <213> 人工序列
[0945] <220>
[0946] <223> 合成寡核苷酸
[0947] <400> 41
[0948] cgtggagagg cgtatcataa gt 22
[0949] <210> 42
[0950] <211> 22
[0951] <212> DNA
[0952] <213> 人工序列
[0953] <220>
[0954] <223> 合成寡核苷酸
[0955] <400> 42
[0956] gctccaaaac ccaacttctc aa 22
[0957] <210> 43
[0958] <211> 25
[0959] <212> DNA
[0960] <213> 人工序列
[0961] <220>
[0962] <223> 合成寡核苷酸
[0963] <400> 43
[0964] aatggaattt gttaatttca taaat 25
[0965] <210> 44

[0966] <211> 23
[0967] <212> DNA
[0968] <213> 人工序列
[0969] <220>
[0970] <223> 合成寡核苷酸
[0971] <400> 44
[0972] ttccgaagct aattctgtta ata 23
[0973] <210> 45
[0974] <211> 25
[0975] <212> DNA
[0976] <213> 人工序列
[0977] <220>
[0978] <223> 合成寡核苷酸
[0979] <400> 45
[0980] ttccgaagtc ataatcaatc aaatt 25
[0981] <210> 46
[0982] <211> 23
[0983] <212> DNA
[0984] <213> 人工序列
[0985] <220>
[0986] <223> 合成寡核苷酸
[0987] <400> 46
[0988] gccaaaatca aaccacaatc cac 23
[0989] <210> 47
[0990] <211> 23
[0991] <212> DNA
[0992] <213> 人工序列
[0993] <220>
[0994] <223> 合成寡核苷酸
[0995] <400> 47
[0996] gccaaaatca aaccacaatc aac 23
[0997] <210> 48
[0998] <211> 23
[0999] <212> DNA
[1000] <213> 人工序列
[1001] <220>
[1002] <223> 合成寡核苷酸
[1003] <400> 48
[1004] accacgaatg ttgctgcta atg 23
[1005] <210> 49
[1006] <211> 36
[1007] <212> DNA

[1008]	<213> 人工序列
[1009]	<220>
[1010]	<223> 合成寡核苷酸
[1011]	<400> 49
[1012]	cgcttgccac atcaaatgat gcgggttggtg caagcg 36
[1013]	<210> 50
[1014]	<211> 36
[1015]	<212> DNA
[1016]	<213> 人工序列
[1017]	<220>
[1018]	<223> 合成寡核苷酸
[1019]	<400> 50
[1020]	cccacccac atcaaatgat gcgggttggtg ggtggg 36
[1021]	<210> 51
[1022]	<211> 37
[1023]	<212> DNA
[1024]	<213> 人工序列
[1025]	<220>
[1026]	<223> 合成寡核苷酸
[1027]	<400> 51
[1028]	cccgcgcgta gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37
[1029]	<210> 52
[1030]	<211> 48
[1031]	<212> DNA
[1032]	<213> 人工序列
[1033]	<220>
[1034]	<223> 合成寡核苷酸
[1035]	<400> 52
[1036]	cgaccggatt cccacatcaa atgatgcggg ttgtgttaat tccggtcg 48
[1037]	<210> 53
[1038]	<211> 37
[1039]	<212> DNA
[1040]	<213> 人工序列
[1041]	<220>
[1042]	<223> 合成寡核苷酸
[1043]	<400> 53
[1044]	cccgcgcrtg gttactrcgt tgtaagacgt ccgcggg 37
[1045]	<210> 54
[1046]	<211> 29
[1047]	<212> DNA
[1048]	<213> 人工序列
[1049]	<220>

[1050]	<223> 合成寡核苷酸
[1051]	<400> 54
[1052]	ccccgtagtt actgcgttgt aagacgggg 29
[1053]	<210> 55
[1054]	<211> 37
[1055]	<212> DNA
[1056]	<213> 人工序列
[1057]	<220>
[1058]	<223> 合成寡核苷酸
[1059]	<400> 55
[1060]	cccgcgcata gttactgcgt tgtaagacgt ccgcggg 37
[1061]	<210> 56
[1062]	<211> 37
[1063]	<212> DNA
[1064]	<213> 人工序列
[1065]	<220>
[1066]	<223> 合成寡核苷酸
[1067]	<400> 56
[1068]	cccgcgcgta gttactacgt tgtaagacgt ccgcggg 37
[1069]	<210> 57
[1070]	<211> 19
[1071]	<212> DNA
[1072]	<213> 人工序列
[1073]	<220>
[1074]	<223> 合成寡核苷酸
[1075]	<400> 57
[1076]	ggatcaaacg gcctgcaca 19
[1077]	<210> 58
[1078]	<211> 21
[1079]	<212> DNA
[1080]	<213> 人工序列
[1081]	<220>
[1082]	<223> 合成寡核苷酸
[1083]	<400> 58
[1084]	atcaaattgat gcgggttgtg t 21
[1085]	<210> 59
[1086]	<211> 19
[1087]	<212> DNA
[1088]	<213> 人工序列
[1089]	<220>
[1090]	<223> 合成寡核苷酸
[1091]	<400> 59

[1092] tcattggcgg atcaaacgg 19
[1093] <210> 60
[1094] <211> 22
[1095] <212> DNA
[1096] <213> 人工序列
[1097] <220>
[1098] <223> 合成寡核苷酸
[1099] <400> 60
[1100] acaacgcagt aactacgcac ta 22
[1101] <210> 61
[1102] <211> 22
[1103] <212> DNA
[1104] <213> 人工序列
[1105] <220>
[1106] <223> 合成寡核苷酸
[1107] <400> 61
[1108] taactacgca ctatcattca gc 22
[1109] <210> 62
[1110] <211> 22
[1111] <212> DNA
[1112] <213> 人工序列
[1113] <220>
[1114] <223> 合成寡核苷酸
[1115] <400> 62
[1116] acatcaaag atgcgggttg tg 22
[1117] <210> 63
[1118] <211> 22
[1119] <212> DNA
[1120] <213> 人工序列
[1121] <220>
[1122] <223> 合成寡核苷酸
[1123] <400> 63
[1124] tcaaagatg cgggttggtg ta 22
[1125] <210> 64
[1126] <211> 24
[1127] <212> DNA
[1128] <213> 人工序列
[1129] <220>
[1130] <223> 合成寡核苷酸
[1131] <400> 64
[1132] caaatgatgc ggggttggtt aatt 24
[1133] <210> 65

[1134] <211> 29
[1135] <212> DNA
[1136] <213> 人工序列
[1137] <220>
[1138] <223> 合成寡核苷酸
[1139] <400> 65
[1140] gtcaaaaatc atgaacctca ttacttatg 29
[1141] <210> 66
[1142] <211> 28
[1143] <212> DNA
[1144] <213> 人工序列
[1145] <220>
[1146] <223> 合成寡核苷酸
[1147] <400> 66
[1148] ctatgtcaaa aatcatgaac ctcattac 28
[1149] <210> 67
[1150] <211> 23
[1151] <212> DNA
[1152] <213> 人工序列
[1153] <220>
[1154] <223> 合成寡核苷酸
[1155] <400> 67
[1156] ggaggctaac tatgtcaaaa atc 23
[1157] <210> 68
[1158] <211> 27
[1159] <212> DNA
[1160] <213> 人工序列
[1161] <220>
[1162] <223> 合成寡核苷酸
[1163] <400> 68
[1164] gctgaaaaaa ccgcatcatt trtgrrta 27
[1165] <210> 69
[1166] <211> 27
[1167] <212> DNA
[1168] <213> 人工序列
[1169] <220>
[1170] <223> 合成寡核苷酸
[1171] <400> 69
[1172] gctgaaaaaa ccgcatcatt tatgata 27
[1173] <210> 70
[1174] <211> 29
[1175] <212> DNA

[1176] <213> 人工序列
[1177] <220>
[1178] <223> 合成寡核苷酸
[1179] <400> 70
[1180] atttcatata tgtaattcct ccacatctc 29
[1181] <210> 71
[1182] <211> 29
[1183] <212> DNA
[1184] <213> 人工序列
[1185] <220>
[1186] <223> 合成寡核苷酸
[1187] <400> 71
[1188] ttttagtttta tttatgatac gcttctcca 29
[1189] <210> 72
[1190] <211> 25
[1191] <212> DNA
[1192] <213> 人工序列
[1193] <220>
[1194] <223> 合成寡核苷酸
[1195] <400> 72
[1196] ctctataaac atcgtatgat attgc 25
[1197] <210> 73
[1198] <211> 29
[1199] <212> DNA
[1200] <213> 人工序列
[1201] <220>
[1202] <223> 合成寡核苷酸
[1203] <400> 73
[1204] caaatattat ctcgtaattt accttggtc 29
[1205] <210> 74
[1206] <211> 29
[1207] <212> DNA
[1208] <213> 人工序列
[1209] <220>
[1210] <223> 合成寡核苷酸
[1211] <400> 74
[1212] ctctgcttta tattataaaa ttacggctg 29
[1213] <210> 75
[1214] <211> 22
[1215] <212> DNA
[1216] <213> 人工序列
[1217] <220>

[1218]	<223> 合成寡核苷酸
[1219]	<400> 75
[1220]	ttcgttcct ccattaactg tc 22
[1221]	<210> 76
[1222]	<211> 22
[1223]	<212> DNA
[1224]	<213> 人工序列
[1225]	<220>
[1226]	<223> 合成寡核苷酸
[1227]	<400> 76
[1228]	tcaccgtctt tcttttgacc tt 22
[1229]	<210> 77
[1230]	<211> 27
[1231]	<212> DNA
[1232]	<213> 人工序列
[1233]	<220>
[1234]	<223> 合成寡核苷酸
[1235]	<400> 77
[1236]	cactttttat tcttcaaaga tttgagc 27
[1237]	<210> 78
[1238]	<211> 28
[1239]	<212> DNA
[1240]	<213> 人工序列
[1241]	<220>
[1242]	<223> 合成寡核苷酸
[1243]	<400> 78
[1244]	atggaaattc ttaatcttta cttgtacc 28
[1245]	<210> 79
[1246]	<211> 23
[1247]	<212> DNA
[1248]	<213> 人工序列
[1249]	<220>
[1250]	<223> 合成寡核苷酸
[1251]	<400> 79
[1252]	cagcaattcw cataaacctc ata 23
[1253]	<210> 80
[1254]	<211> 27
[1255]	<212> DNA
[1256]	<213> 人工序列
[1257]	<220>
[1258]	<223> 合成寡核苷酸
[1259]	<400> 80

[1260] acaaactttg aggggatttt tagtaaa 27
[1261] <210> 81
[1262] <211> 24
[1263] <212> DNA
[1264] <213> 人工序列
[1265] <220>
[1266] <223> 合成寡核苷酸
[1267] <400> 81
[1268] tgataagcca ttcatcacc ctaa 24
[1269] <210> 82
[1270] <211> 24
[1271] <212> DNA
[1272] <213> 人工序列
[1273] <220>
[1274] <223> 合成寡核苷酸
[1275] <400> 82
[1276] tagttactgt gttgtaagac gtcc 24
[1277] <210> 83
[1278] <211> 26
[1279] <212> DNA
[1280] <213> 人工序列
[1281] <220>
[1282] <223> 合成寡核苷酸
[1283] <400> 83
[1284] ctactatgaa ctgtgcaatt tgttct 26
[1285] <210> 84
[1286] <211> 26
[1287] <212> DNA
[1288] <213> 人工序列
[1289] <220>
[1290] <223> 合成寡核苷酸
[1291] <400> 84
[1292] gcaattcaca taaacctcat atgttc 26
[1293] <210> 85
[1294] <211> 24
[1295] <212> DNA
[1296] <213> 人工序列
[1297] <220>
[1298] <223> 合成寡核苷酸
[1299] <400> 85
[1300] acctcatatg ttctgataca ttca 24
[1301] <210> 86

[1302]	<211> 22
[1303]	<212> DNA
[1304]	<213> 人工序列
[1305]	<220>
[1306]	<223> 合成寡核苷酸
[1307]	<400> 86
[1308]	gcaattcaca taaacctcat at 22
[1309]	<210> 87
[1310]	<211> 25
[1311]	<212> DNA
[1312]	<213> 人工序列
[1313]	<220>
[1314]	<223> 合成寡核苷酸
[1315]	<400> 87
[1316]	cataacagca attcacataa acctc 25
[1317]	<210> 88
[1318]	<211> 22
[1319]	<212> DNA
[1320]	<213> 人工序列
[1321]	<220>
[1322]	<223> 合成寡核苷酸
[1323]	<400> 88
[1324]	taacagcaat tcacataaac ct 22
[1325]	<210> 89
[1326]	<211> 27
[1327]	<212> DNA
[1328]	<213> 人工序列
[1329]	<220>
[1330]	<223> 合成寡核苷酸
[1331]	<400> 89
[1332]	cgctattatt tacttgaaat gaaagac 27
[1333]	<210> 90
[1334]	<211> 21
[1335]	<212> DNA
[1336]	<213> 人工序列
[1337]	<220>
[1338]	<223> 合成寡核苷酸
[1339]	<400> 90
[1340]	cttgaaatga aagactgcgg a 21
[1341]	<210> 91
[1342]	<211> 54
[1343]	<212> DNA

- [1344] <213> 人工序列
[1345] <220>
[1346] <223> 合成寡核苷酸
[1347] <400> 91
[1348] ttgcttcact ataagtattc agtataaaga atttacttga aatgaaagac tgcg 54
[1349] <210> 92
[1350] <211> 24
[1351] <212> DNA
[1352] <213> 人工序列
[1353] <220>
[1354] <223> 合成寡核苷酸
[1355] <400> 92
[1356] atttacttga aatgaaagac tgcg 24
[1357] <210> 93
[1358] <211> 29
[1359] <212> DNA
[1360] <213> 人工序列
[1361] <220>
[1362] <223> 合成寡核苷酸
[1363] <400> 93
[1364] aaagaatatt tcgctattat ttacttgaa 29
[1365] <210> 94
[1366] <211> 29
[1367] <212> DNA
[1368] <213> 人工序列
[1369] <220>
[1370] <223> 合成寡核苷酸
[1371] <400> 94
[1372] tcagtataaa gaatatttcg ctattattt 29
[1373] <210> 95
[1374] <211> 20
[1375] <212> DNA
[1376] <213> 人工序列
[1377] <220>
[1378] <223> 合成寡核苷酸
[1379] <400> 95
[1380] tgaaatgaaa gactgcggag 20
[1381] <210> 96
[1382] <211> 27
[1383] <212> DNA
[1384] <213> 人工序列
[1385] <220>

[1386]	<223> 合成寡核苷酸
[1387]	<400> 96
[1388]	aacctcatat gttctgatac attcaaa 27
[1389]	<210> 97
[1390]	<211> 28
[1391]	<212> DNA
[1392]	<213> 人工序列
[1393]	<220>
[1394]	<223> 合成寡核苷酸
[1395]	<400> 97
[1396]	tatgtcaaaa atcatgaacc tcattact 28
[1397]	<210> 98
[1398]	<211> 25
[1399]	<212> DNA
[1400]	<213> 人工序列
[1401]	<220>
[1402]	<223> 合成寡核苷酸
[1403]	<400> 98
[1404]	cataacagca attcacataa acctc 25
[1405]	<210> 99
[1406]	<211> 17
[1407]	<212> DNA
[1408]	<213> 人工序列
[1409]	<220>
[1410]	<223> 合成寡核苷酸
[1411]	<400> 99
[1412]	gactgcggag gctaact 17
[1413]	<210> 100
[1414]	<211> 18
[1415]	<212> DNA
[1416]	<213> 人工序列
[1417]	<220>
[1418]	<223> 合成寡核苷酸
[1419]	<400> 100
[1420]	atccctttat gaagcggc 18
[1421]	<210> 101
[1422]	<211> 20
[1423]	<212> DNA
[1424]	<213> 人工序列
[1425]	<220>
[1426]	<223> 合成寡核苷酸
[1427]	<400> 101

[1428] tgaaatgaaa gactgcggag 20
[1429] <210> 102
[1430] <211> 30
[1431] <212> DNA
[1432] <213> 人工序列
[1433] <220>
[1434] <223> 合成寡核苷酸
[1435] <400> 102
[1436] gcaaggtata atccaatatt tcatatatgt 30
[1437] <210> 103
[1438] <211> 29
[1439] <212> DNA
[1440] <213> 人工序列
[1441] <220>
[1442] <223> 合成寡核苷酸
[1443] <400> 103
[1444] agttccataa tcaatataat ttgtacagt 29
[1445] <210> 104
[1446] <211> 23
[1447] <212> DNA
[1448] <213> 人工序列
[1449] <220>
[1450] <223> 合成寡核苷酸
[1451] <400> 104
[1452] acatcgtatg atattgcaag gta 23
[1453] <210> 105
[1454] <211> 26
[1455] <212> DNA
[1456] <213> 人工序列
[1457] <220>
[1458] <223> 合成寡核苷酸
[1459] <400> 105
[1460] ctttcattct ttcttgattc cattag 26
[1461] <210> 106
[1462] <211> 27
[1463] <212> DNA
[1464] <213> 人工序列
[1465] <220>
[1466] <223> 合成寡核苷酸
[1467] <400> 106
[1468] cactctataa acatcgtatg atattgc 27
[1469] <210> 107

[1470] <211> 30
[1471] <212> DNA
[1472] <213> 人工序列
[1473] <220>
[1474] <223> 合成寡核苷酸
[1475] <400> 107
[1476] ttcttaattt aattgtagtt ccataatcaa 30
[1477] <210> 108
[1478] <211> 30
[1479] <212> DNA
[1480] <213> 人工序列
[1481] <220>
[1482] <223> 合成寡核苷酸
[1483] <400> 108
[1484] aattatacac aacctaatTT ttagttttat 30
[1485] <210> 109
[1486] <211> 29
[1487] <212> DNA
[1488] <213> 人工序列
[1489] <220>
[1490] <223> 合成寡核苷酸
[1491] <400> 109
[1492] aatttttagt tttatttatg atacgcttc 29
[1493] <210> 110
[1494] <211> 30
[1495] <212> DNA
[1496] <213> 人工序列
[1497] <220>
[1498] <223> 合成寡核苷酸
[1499] <400> 110
[1500] acacaacctt atttttagtt ttatttatga 30
[1501] <210> 111
[1502] <211> 30
[1503] <212> DNA
[1504] <213> 人工序列
[1505] <220>
[1506] <223> 合成寡核苷酸
[1507] <400> 111
[1508] ttatttaaac actctataaa catcgatatga 30
[1509] <210> 112
[1510] <211> 31
[1511] <212> DNA

- [1512] <213> 人工序列
[1513] <220>
[1514] <223> 合成寡核苷酸
[1515] <400> 112
[1516] tcacatctca ttaaattttt aaattataca c 31
[1517] <210> 113
[1518] <211> 31
[1519] <212> DNA
[1520] <213> 人工序列
[1521] <220>
[1522] <223> 合成寡核苷酸
[1523] <400> 113
[1524] ccacatctca ttaaattttt aaattataca c 31
[1525] <210> 114
[1526] <211> 30
[1527] <212> DNA
[1528] <213> 人工序列
[1529] <220>
[1530] <223> 合成寡核苷酸
[1531] <400> 114
[1532] atattataca caatccgttt tttagtttta 30
[1533] <210> 115
[1534] <211> 29
[1535] <212> DNA
[1536] <213> 人工序列
[1537] <220>
[1538] <223> 合成寡核苷酸
[1539] <400> 115
[1540] acacaatcgc ttttttagtt ttatttatg 29
[1541] <210> 116
[1542] <211> 30
[1543] <212> DNA
[1544] <213> 人工序列
[1545] <220>
[1546] <223> 合成寡核苷酸
[1547] <400> 116
[1548] ttctaattta tttaacataa aatcaatcct 30
[1549] <210> 117
[1550] <211> 33
[1551] <212> DNA
[1552] <213> 人工序列
[1553] <220>

[1554] <223> 合成寡核苷酸
[1555] <400> 117
[1556] caatcctttt tatatttaaa atatattata cac 33
[1557] <210> 118
[1558] <211> 22
[1559] <212> DNA
[1560] <213> 人工序列
[1561] <220>
[1562] <223> 合成寡核苷酸
[1563] <400> 118
[1564] aagtcgcttt gcctttgggt ca 22
[1565] <210> 119
[1566] <211> 26
[1567] <212> DNA
[1568] <213> 人工序列
[1569] <220>
[1570] <223> 合成寡核苷酸
[1571] <400> 119
[1572] tacaaagtcg ctttgccttt ggggtca 26
[1573] <210> 120
[1574] <211> 19
[1575] <212> DNA
[1576] <213> 人工序列
[1577] <220>
[1578] <223> 合成寡核苷酸
[1579] <400> 120
[1580] ggccgtttga tccgccaat 19
[1581] <210> 121
[1582] <211> 21
[1583] <212> DNA
[1584] <213> 人工序列
[1585] <220>
[1586] <223> 合成寡核苷酸
[1587] <400> 121
[1588] aagtcgcttt gcccttgggt a 21
[1589] <210> 122
[1590] <211> 20
[1591] <212> DNA
[1592] <213> 人工序列
[1593] <220>
[1594] <223> 合成寡核苷酸
[1595] <400> 122

[1596] aagtcgcttt gcccttgggt 20
[1597] <210> 123
[1598] <211> 22
[1599] <212> DNA
[1600] <213> 人工序列
[1601] <220>
[1602] <223> 合成寡核苷酸
[1603] <400> 123
[1604] aagtcgcttt gcccttgggt ca 22
[1605] <210> 124
[1606] <211> 19
[1607] <212> DNA
[1608] <213> 人工序列
[1609] <220>
[1610] <223> 合成寡核苷酸
[1611] <400> 124
[1612] aagtcgcttt gcccttggg 19
[1613] <210> 125
[1614] <211> 20
[1615] <212> DNA
[1616] <213> 人工序列
[1617] <220>
[1618] <223> 合成寡核苷酸
[1619] <400> 125
[1620] caagaattga accaacgcat 20
[1621] <210> 126
[1622] <211> 30
[1623] <212> DNA
[1624] <213> 人工序列
[1625] <220>
[1626] <223> 合成寡核苷酸
[1627] <400> 126
[1628] caatgacgaa tacatagtcg ctttgcctt 30
[1629] <210> 127
[1630] <211> 21
[1631] <212> DNA
[1632] <213> 人工序列
[1633] <220>
[1634] <223> 合成寡核苷酸
[1635] <400> 127
[1636] cgtttgatcc gccaatgacg a 21
[1637] <210> 128

[1638] <211> 22
[1639] <212> DNA
[1640] <213> 人工序列
[1641] <220>
[1642] <223> 合成寡核苷酸
[1643] <400> 128
[1644] gccaatcctt cggaagatag ca 22
[1645] <210> 129
[1646] <211> 18
[1647] <212> DNA
[1648] <213> 人工序列
[1649] <220>
[1650] <223> 合成寡核苷酸
[1651] <400> 129
[1652] attaacacaa cccgcatac 18
[1653] <210> 130
[1654] <211> 19
[1655] <212> DNA
[1656] <213> 人工序列
[1657] <220>
[1658] <223> 合成寡核苷酸
[1659] <400> 130
[1660] gtcgctttgc cttgggtc 19
[1661] <210> 131
[1662] <211> 20
[1663] <212> DNA
[1664] <213> 人工序列
[1665] <220>
[1666] <223> 合成寡核苷酸
[1667] <400> 131
[1668] tcgctttgcc cttgggtcat 20
[1669] <210> 132
[1670] <211> 19
[1671] <212> DNA
[1672] <213> 人工序列
[1673] <220>
[1674] <223> 合成寡核苷酸
[1675] <400> 132
[1676] ggccgtttga tccgccaat 19
[1677] <210> 133
[1678] <211> 22
[1679] <212> DNA

[1680]	<213> 人工序列
[1681]	<220>
[1682]	<223> 合成寡核苷酸
[1683]	<400> 133
[1684]	gtccttgtgc aggccgtttg at 22
[1685]	<210> 134
[1686]	<211> 24
[1687]	<212> DNA
[1688]	<213> 人工序列
[1689]	<220>
[1690]	<223> 合成寡核苷酸
[1691]	<400> 134
[1692]	cttgggtcat gcgttggttc aatt 24
[1693]	<210> 135
[1694]	<211> 27
[1695]	<212> DNA
[1696]	<213> 人工序列
[1697]	<220>
[1698]	<223> 合成寡核苷酸
[1699]	<400> 135
[1700]	cgaatacaaaa gtcgctttgc ccttggg 27
[1701]	<210> 136
[1702]	<211> 20
[1703]	<212> DNA
[1704]	<213> 人工序列
[1705]	<220>
[1706]	<223> 合成寡核苷酸
[1707]	<400> 136
[1708]	atgcgttggg tcaattcttg 20
[1709]	<210> 137
[1710]	<211> 20
[1711]	<212> DNA
[1712]	<213> 人工序列
[1713]	<220>
[1714]	<223> 合成寡核苷酸
[1715]	<400> 137
[1716]	gcgttggttc aattcttggg 20
[1717]	<210> 138
[1718]	<211> 20
[1719]	<212> DNA
[1720]	<213> 人工序列
[1721]	<220>

[1722]	<223> 合成寡核苷酸
[1723]	<400> 138
[1724]	acccaagggc aaagcgactt 20
[1725]	<210> 139
[1726]	<211> 24
[1727]	<212> DNA
[1728]	<213> 人工序列
[1729]	<220>
[1730]	<223> 合成寡核苷酸
[1731]	<400> 139
[1732]	ggtaatgcgt tggttcaatt cttg 24
[1733]	<210> 140
[1734]	<211> 25
[1735]	<212> DNA
[1736]	<213> 人工序列
[1737]	<220>
[1738]	<223> 合成寡核苷酸
[1739]	<400> 140
[1740]	acaaagtcgc tatgcccttg ggtca 25
[1741]	<210> 141
[1742]	<211> 29
[1743]	<212> DNA
[1744]	<213> 人工序列
[1745]	<220>
[1746]	<223> 合成寡核苷酸
[1747]	<400> 141
[1748]	ctttccttgt atttctaattg taatgactg 29
[1749]	<210> 142
[1750]	<211> 27
[1751]	<212> DNA
[1752]	<213> 人工序列
[1753]	<220>
[1754]	<223> 合成寡核苷酸
[1755]	<400> 142
[1756]	ttgatgtggg aatgtcattt tgctgaa 27
[1757]	<210> 143
[1758]	<211> 25
[1759]	<212> DNA
[1760]	<213> 人工序列
[1761]	<220>
[1762]	<223> 合成寡核苷酸
[1763]	<400> 143

[1764] gcgttggttc aattcttggg ccaat 25
[1765] <210> 144
[1766] <211> 29
[1767] <212> DNA
[1768] <213> 人工序列
[1769] <220>
[1770] <223> 合成寡核苷酸
[1771] <400> 144
[1772] gttggttcaa ttcttgggcc aatccttcg 29
[1773] <210> 145
[1774] <211> 26
[1775] <212> DNA
[1776] <213> 人工序列
[1777] <220>
[1778] <223> 合成寡核苷酸
[1779] <400> 145
[1780] cgaatacaaaa gtcgctttgc ccttgg 26
[1781] <210> 146
[1782] <211> 29
[1783] <212> DNA
[1784] <213> 人工序列
[1785] <220>
[1786] <223> 合成寡核苷酸
[1787] <400> 146
[1788] gccaatgacg aatacaaagt cgctttgcc 29
[1789] <210> 147
[1790] <211> 25
[1791] <212> DNA
[1792] <213> 人工序列
[1793] <220>
[1794] <223> 合成寡核苷酸
[1795] <400> 147
[1796] tgggccaatc ctteggaaga tagca 25
[1797] <210> 148
[1798] <211> 20
[1799] <212> DNA
[1800] <213> 人工序列
[1801] <220>
[1802] <223> 合成寡核苷酸
[1803] <400> 148
[1804] atgcgttggc tcgattcttg 20
[1805] <210> 149

[1806]	<211> 21
[1807]	<212> DNA
[1808]	<213> 人工序列
[1809]	<220>
[1810]	<223> 合成寡核苷酸
[1811]	<400> 149
[1812]	catgcgttgg ttcgattctt g 21
[1813]	<210> 150
[1814]	<211> 19
[1815]	<212> DNA
[1816]	<213> 人工序列
[1817]	<220>
[1818]	<223> 合成寡核苷酸
[1819]	<400> 150
[1820]	aagtcgcttt gcccttggg 19
[1821]	<210> 151
[1822]	<211> 21
[1823]	<212> DNA
[1824]	<213> 人工序列
[1825]	<220>
[1826]	<223> 合成寡核苷酸
[1827]	<400> 151
[1828]	catgcgttgg ttcgattctt g 21
[1829]	<210> 152
[1830]	<211> 23
[1831]	<212> DNA
[1832]	<213> 人工序列
[1833]	<220>
[1834]	<223> 合成寡核苷酸
[1835]	<400> 152
[1836]	aagtcgcttt gcccttgggt cat 23
[1837]	<210> 153
[1838]	<211> 25
[1839]	<212> DNA
[1840]	<213> 人工序列
[1841]	<220>
[1842]	<223> 合成寡核苷酸
[1843]	<400> 153
[1844]	tgctcaatta acacaaccg catca 25
[1845]	<210> 154
[1846]	<211> 33
[1847]	<212> DNA

[1848]	<213> 人工序列	
[1849]	<220>	
[1850]	<223> 合成寡核苷酸	
[1851]	<400> 154	
[1852]	gccgcgctgc tcaattaaca caacccgcgc ggc 33	
[1853]	<210> 155	
[1854]	<211> 32	
[1855]	<212> DNA	
[1856]	<213> 人工序列	
[1857]	<220>	
[1858]	<223> 合成寡核苷酸	
[1859]	<400> 155	
[1860]	gccgcgcatg cggttggttca attctgcgcg gc 32	
[1861]	<210> 156	
[1862]	<211> 2123	
[1863]	<212> DNA	
[1864]	<213> 金黄色葡萄球菌	
[1865]	<400> 156	
[1866]	ctccatatca caaaaattat aacattatit tgacataaat actacatttg taatatacta 60	
[1867]	caaatgtagt cttatataag gaggatattg atgaaaaaga taaaaattgt tccacttatt 120	
[1868]	ttaatagttg tagttgtcgg gtttggtata tatttttatg cttcaaaaga taaagaaatt 180	
[1869]	aataatacta ttgatgcaat tgaagataaa aatttcaaac aagtttataa agatagcagt 240	
[1870]	tatatitcta aaagcgataa tgggtgaagta gaaatgactg aacgtccgat aaaaatatat 300	
[1871]	aatagtttag gcgttaaaga tataaacatt caggatcgta aaataaaaaa agtatctaaa 360	
[1872]	aataaaaaac gagtagatgc tcaatataaa attaaaacaa actacggtta cattgatcgc 420	
[1873]	aacgttcaat ttaattttgt taaagaagat ggtatgtgga agtttagattg ggatcatagc 480	
[1874]	gtcattattc caggaatgca gaaagaccaa agcatacata ttgaaaattt aaaatcagaa 540	
[1875]	cgtggtaaaa ttttagaccg aaacaatgtg gaattggcca atacaggaac agcatatgag 600	
[1876]	ataggcatcg ttccaaagaa tgtatctaaa aaagattata aagcaatcgc taaagaacta 660	
[1877]	agtatttctg aagactatat caaacaacaa atggatcaaa attgggtaca agatgatacc 720	
[1878]	ttcgttcac ttaaaaccgt taaaaaatg gatgaatatt taagtgattt cgcaaaaaaa 780	
[1879]	tttcatctta caactaatga aacagaaagt cgtaactatc ctctagaaaa agcgacttca 840	
[1880]	catctattag gttatgttgg tcccattaac tctgaagaat taaaacaaaa agaataataa 900	
[1881]	ggctataaag atgatgcagt tatttgtaaa aagggactcg aaaaacttta cgataaaaaa 960	
[1882]	ctccaacatg aagatggcta tcgtgtcaca atcgttgacg ataatagcaa tacaatcgca 1020	
[1883]	catacattaa tagagaaaaa gaaaaaagat ggcaaagata ttcaactaac tattgatgct 1080	
[1884]	aaagttcaaa agagtattta taacaacatg aaaaatgatt atggctcagg tactgctatc 1140	
[1885]	cacctcaaa caggtgaatt attagcaatt gtaagcacac cttcatatga cgtctatcca 1200	
[1886]	tttatgtatg gcatgagtaa cgaagaatat aataaattaa ccgaagataa aaaagaacct 1260	
[1887]	ctgctcaaca agttccagat tacaacttca ccaggttcaa ctcaaaaaat attaacagca 1320	
[1888]	atgattgggt taaataacaa aacattagac gataaaacaa gttataaaat cgatggtaaa 1380	
[1889]	ggttggtcaaa aagataaatc ttgggggtgtg tacaacgtta caagatatga agtggtaaat 1440	

[1890]	ggtaatatcg acttaaaaca agcaatagaa tcatcagata acattttctt tgctagagta	1500
[1891]	gcactcgaat taggcagtaa gaaatttgaa aaaggcatga aaaaactagg tgttggtgaa	1560
[1892]	gatatacca gtagtatcc attttataat gctcaaattt caaacaaaaa tttagataat	1620
[1893]	gaaatattat tagctgattc aggttacgga caaggtgaaa tactgattaa cccagtacag	1680
[1894]	atcctttcaa tctatagcgc attagaaaat aatggcaata ttaacgcacc tcacttatta	1740
[1895]	aaagacacga aaaacaaagt ttggaagaaa aatattattt ccaaagaaaa tatcaatcta	1800
[1896]	ttaactgatg gtatgcaaca agtcgtaa ataaacacata aagaagatat ttatagatct	1860
[1897]	tatgcaaaact taattggcaa atccggtact gcagaactca aaatgaaaca aggagaaact	1920
[1898]	ggcagacaaa ttgggtggtt tatatcatat gataaagata atccaaacat gatgatggct	1980
[1899]	attaatgtta aagatgtaca agataaagga atggctagct acaatgcaa aatctcaggt	2040
[1900]	aaagtgtatg atgagctata tgagaacggt aataaaaaat acgatataga tgaataacaa	2100
[1901]	aacagtgaag caatccgtaa cga	2123
[1902]	<210>	157
[1903]	<211>	1998
[1904]	<212>	DNA
[1905]	<213>	金黄色葡萄球菌
[1906]	<400>	157
[1907]	ttactgatct atatcaaatt gagtttttcc attatcatat aaatcatcat aaacttttcc	60
[1908]	agatatagta gcattatagc tggccatccc tttattttga acgtctttta cattaatcgc	120
[1909]	cattaacata ttaggattat ttttattata tgaaacaaac caacctattt gtcttccagt	180
[1910]	ttccccctga ttcattttta attctgctgt gccagattta ccaataattc gggcataatt	240
[1911]	tttgtatata tcatccctat gtgttttatt aactacacgt tccataccat tagttaatat	300
[1912]	atctatgtct tttttaggta taatatcttt tttccatatt tgagattttg ttttacgtaa	360
[1913]	aacatgagga tttgtatat ttcggttatt ttctaaagca ctgtatattg ataaaatttg	420
[1914]	tatagggttt actagtatct cgccttgccc atatcctgaa tctgctaata atatttcatt	480
[1915]	ttttaaatta ctatttgaga tttgtgcttt ataaaaggga taatcactcg ggatattttc	540
[1916]	accgattccc aaatcttgca taccttgctc aaattttttg gctcctaatt ctaatgcaat	600
[1917]	gcgggcaaaa aatatgttgt ctgatgattc tattgcttgc tttaaatcga tattgccgtc	660
[1918]	tactacttta aatcttgtga tattataaatt acccatgat gcacttttt gccaacctt	720
[1919]	accataaata tcaaaattag tatttttgtc tagtttattt tcttttaagg ctataataga	780
[1920]	tgtaatatatt ttttgggttg aacctggtga tgtagtgatt tgaaatttgt tgagcaaagg	840
[1921]	ctctttttta ttgttagtta atttacggtg gtcattattg cttaatccat tcatgaatgg	900
[1922]	ataaacatcg tacgatggg tacttaccaa agctaaaatt tctccagttt ttggttgtaa	960
[1923]	tgctgtacca gatccatcgt catttttcat atgtttataa atactttctt gtactctagc	1020
[1924]	atctatagtt aaatgaagat cttttccgtt ttcagccttt ttctccaata atgtgtctaa	1080
[1925]	aggtttattg tcataagtat ttgcaatgga taccttaaaa ccatcagtgt tttgcaattg	1140
[1926]	tttatcatag aggcgttcta agcctttttt tccaataaca gtatttttgc tatagtttct	1200
[1927]	aaattgctta ctttttaact cgtcagaatt aattggaccc acataaccta aaaggtgtac	1260
[1928]	tgttgcttcg ttcaatggat aaacacggct ttttatagtg tttattttgta aattgtatga	1320
[1929]	tttaattaat ttgtctatat attcatcttg tttattttatc tttttaattg gtacaaatga	1380
[1930]	atctggctga acccattttt gattaacttt attggttata gcttttgat caatttgtaa	1440
[1931]	gtcacgagca atatcatcat atttttcttt gggtgttttg ttagggacaa taccgatttc	1500

[1932]	atatgtat ttt ccagtttttag ctaattctat accattttcta tctttttat tgcctcgctc	1560
[1933]	tgatttttaat gttttctatat taattttctg tccatttttc aaaccaggta ctattacgctc	1620
[1934]	tggtctccaa tctaatttcc aatgcttata ttcataaata aagttttaatt gtgtattacg	1680
[1935]	tcgtatagtt ccataattttg tatatatgtt atattttaaca tcaacttgct ttttatcttt	1740
[1936]	tccagttttt ttaatttcat gattagtaat ttttaagtta ttgacactta aatcttttgta	1800
[1937]	aattttttta ttctatctca caattttctc ttctccatat gccagtttag atttttctga	1860
[1938]	actattttta tatacttcgt tatagtttcc tttttcaata gaactaattg ttttctcaat	1920
[1939]	atcgctcatct ttgaataacc aagttattat aatcataatt agtaaaagaa ctagcacact	1980
[1940]	aatataaatt tttttcat	1998
[1941]	<210>	158
[1942]	<211>	686
[1943]	<212>	DNA
[1944]	<213>	金黄色葡萄球菌
[1945]	<400>	158
[1946]	atgacagaat acttattaag tgctggcata tgtatggcaa ttgtttcaat attacttata	60
[1947]	gggatggcta tcagtaatgt ttcgaaaggg caatacgcaa agaggttttt ctttttcgct	120
[1948]	actagttgct tagtgtaac tttagttgta gtttcaagtc taagtagctc agcaaatgca	180
[1949]	tcacaaacag ataacggcgt aaatagaagt ggttctgaag atccaacagt atatagtga	240
[1950]	acttcaacta aaaaattaca taaagaacct gcgacattaa ttaaagcgat tgatgggtgat	300
[1951]	acggttaaat taatgtacaa aggtcaacca atgacattca gactattatt agttgataca	360
[1952]	cctgaaacaa agcatcctaa aaaaggtgta gagaaatatg gccctgaagc aagtgcat	420
[1953]	acgaaaaaaaa tggtagaaaa tgcaataaaa attgaagtcg agtttgacaa aggtcaaaga	480
[1954]	actgataaat atggacgtgg cttagcgtat atttatgctg atggaaaaat ggtaaacgaa	540
[1955]	gctttagttc gtcaaggctt ggctaaagtt gcttatgttt ataaacctaa caatacacat	600
[1956]	gaacaacttt taagaaaaag tgaagcacia gcgaaaaaag agaaattaaa tatttgagc	660
[1957]	gaagacaacg ctgattcagg tcaata	686
[1958]	<210>	159
[1959]	<211>	686
[1960]	<212>	DNA
[1961]	<213>	金黄色葡萄球菌
[1962]	<400>	159
[1963]	atgacagaat acttattaag tgctggcata tgtatggcaa ttgtttcaat attacttata	60
[1964]	gggatggcta tcagtaatgt ttcgaaaggg caatacgcaa agaggttttt ctttttcgct	120
[1965]	actagttgct tagtgtaac tttagttgta gtttcaagtc taagtagctc agcaaatgca	180
[1966]	tcacaaacag ataacggcgt aaatagaagt ggttctgaag atccaacagt atatagtga	240
[1967]	acttcaacta aaaaattaca taaagaacct gcgacattaa ttaaagcgat tgatgggtgat	300
[1968]	acggttaaat taatgtacaa aggtcaacca atgacattca gactattatt agttgataca	360
[1969]	cctgaaacaa agcatcctaa aaaaggtgta gagaaatatg gccctgaagc aagtgcat	420
[1970]	acgaaaaaaaa tggtagaaaa tgcaataaaa attgaagtcg agtttgacaa aggtcaaaga	480
[1971]	actgataaat atggacgtgg cttagcgtat atttatgctg atggaaaaat ggtaaacgaa	540
[1972]	gctttagttc gtcaaggctt ggctaaagtt gcttatgttt ataaacctaa caatacacat	600
[1973]	gaacaacttt taagaaaaag tgaagcacia gcgaaaaaag agaaattaaa tatttgagc	660

[1974]	gaagacaacg ctgattcagg tcaata 686
[1975]	<210> 160
[1976]	<211> 442
[1977]	<212> DNA
[1978]	<213> 金黄色葡萄球菌
[1979]	<400> 160
[1980]	gatcaatctt tgtcggtaga cgatattctt cagcactaaa taaacgctca ttgcgcattt 60
[1981]	tataaatgaa tgttgataac aatgttgat tatctactga aatctcatta cgttgcatcg 120
[1982]	gaaacattgt gttctgtatg taaaagccgt cttgataatc tttagtagta ccgaagctgg 180
[1983]	tcatacgaga gttatatattt ccagccaaaa cgatattttt ataatcatta cgtgaaaaag 240
[1984]	gtttcccttc attatcacac aaatatatta gcttttcagt ttctatatca actgtagctt 300
[1985]	ctttatccat acgttgaata attgtacgat tctgacgcac catcttttgc acaccttta 360
[1986]	tgttatttgt tttaaaagca tgaataagtt tttcaacaca acgatgtgaa tcttctaaga 420
[1987]	agtcaccgta aaatgaagga tc 442
[1988]	<210> 161
[1989]	<211> 24
[1990]	<212> DNA
[1991]	<213> 人工序列
[1992]	<220>
[1993]	<223> 合成寡核苷酸
[1994]	<400> 161
[1995]	acagaatact tattaagtgc tggc 24
[1996]	<210> 162
[1997]	<211> 27
[1998]	<212> DNA
[1999]	<213> 人工序列
[2000]	<220>
[2001]	<223> 合成寡核苷酸
[2002]	<400> 162
[2003]	gtttcaatat tacttatagg gatggt 27
[2004]	<210> 163
[2005]	<211> 24
[2006]	<212> DNA
[2007]	<213> 人工序列
[2008]	<220>
[2009]	<223> 合成寡核苷酸
[2010]	<400> 163
[2011]	ctgatggaaa aatggtaaac gaag 24
[2012]	<210> 164
[2013]	<211> 22
[2014]	<212> DNA
[2015]	<213> 人工序列

[2016]	<220>
[2017]	<223> 合成寡核苷酸
[2018]	<400> 164
[2019]	atggaaaaat ggtaaacgaa gc 22
[2020]	<210> 165
[2021]	<211> 22
[2022]	<212> DNA
[2023]	<213> 人工序列
[2024]	<220>
[2025]	<223> 合成寡核苷酸
[2026]	<400> 165
[2027]	tgctgagcta cttagacttg aa 22
[2028]	<210> 166
[2029]	<211> 22
[2030]	<212> DNA
[2031]	<213> 人工序列
[2032]	<220>
[2033]	<223> 合成寡核苷酸
[2034]	<400> 166
[2035]	gcatttgctg agctacttag ac 22
[2036]	<210> 167
[2037]	<211> 25
[2038]	<212> DNA
[2039]	<213> 人工序列
[2040]	<220>
[2041]	<223> 合成寡核苷酸
[2042]	<400> 167
[2043]	gttggtcatg tgtattgtta ggttt 25
[2044]	<210> 168
[2045]	<211> 22
[2046]	<212> DNA
[2047]	<213> 人工序列
[2048]	<220>
[2049]	<223> 合成寡核苷酸
[2050]	<400> 168
[2051]	ttattgacct gaatcagcgt tg 22
[2052]	<210> 169
[2053]	<211> 30
[2054]	<212> DNA
[2055]	<213> 人工序列
[2056]	<220>
[2057]	<223> 合成寡核苷酸

- [2058] <400> 169
[2059] cgaaacatta ctgatagccca tccctataag 30
[2060] <210> 170
[2061] <211> 40
[2062] <212> DNA
[2063] <213> cgcaccgaaa cattactgat agccatccct ataaggtgcgArtific
[2064] <220>
[2065] <223> 合成寡核苷酸
[2066] <400> 170
[2067] cgcaccgaaa cattactgat agccatccct ataaggtgcg 40
[2068] <210> 171
[2069] <211> 29
[2070] <212> DNA
[2071] <213> 人工序列
[2072] <220>
[2073] <223> 合成寡核苷酸
[2074] <400> 171
[2075] acataagcaa ctttagccaa gccttgacg 29
[2076] <210> 172
[2077] <211> 41
[2078] <212> DNA
[2079] <213> 人工序列
[2080] <220>
[2081] <223> 合成寡核苷酸
[2082] <400> 172
[2083] cgcgcaacat aagcaacttt agccaagcct tgacgtgcg g 41
[2084] <210> 173
[2085] <211> 30
[2086] <212> DNA
[2087] <213> 人工序列
[2088] <220>
[2089] <223> 合成寡核苷酸
[2090] <400> 173
[2091] aatctttgtc ggtacacgat attcttcacg 30
[2092] <210> 174
[2093] <211> 30
[2094] <212> DNA
[2095] <213> 人工序列
[2096] <220>
[2097] <223> 合成寡核苷酸
[2098] <400> 174
[2099] cgtaatgaga tttcagtaga taatacaaca 30

[2100]	<210> 175
[2101]	<211> 20
[2102]	<212> DNA
[2103]	<213> 人工序列
[2104]	<220>
[2105]	<223> 合成寡核苷酸
[2106]	<400> 175
[2107]	ttacagagtt aactgttacc 20
[2108]	<210> 176
[2109]	<211> 20
[2110]	<212> DNA
[2111]	<213> 人工序列
[2112]	<220>
[2113]	<223> 合成寡核苷酸
[2114]	<400> 176
[2115]	atacaaatcc agcacgtct 20
[2116]	<210> 177
[2117]	<211> 19
[2118]	<212> DNA
[2119]	<213> 人工序列
[2120]	<220>
[2121]	<223> 合成寡核苷酸
[2122]	<400> 177
[2123]	tkggaccmac ataacctaa 19
[2124]	<210> 178
[2125]	<211> 20
[2126]	<212> DNA
[2127]	<213> 人工序列
[2128]	<220>
[2129]	<223> 合成寡核苷酸
[2130]	<400> 178
[2131]	ggaccacat aacctaaaag 20
[2132]	<210> 179
[2133]	<211> 20
[2134]	<212> DNA
[2135]	<213> 人工序列
[2136]	<220>
[2137]	<223> 合成寡核苷酸
[2138]	<400> 179
[2139]	ctaacaaaac acccaaagaa 20
[2140]	<210> 180
[2141]	<211> 23

[2142]	<212> DNA
[2143]	<213> 人工序列
[2144]	<220>
[2145]	<223> 合成寡核苷酸
[2146]	<400> 180
[2147]	cctgaatctg ctaataatat ttc 23
[2148]	<210> 181
[2149]	<211> 20
[2150]	<212> DNA
[2151]	<213> 人工序列
[2152]	<220>
[2153]	<223> 合成寡核苷酸
[2154]	<400> 181
[2155]	tcaccaggtt caacccaaaa 20
[2156]	<210> 182
[2157]	<211> 21
[2158]	<212> DNA
[2159]	<213> 人工序列
[2160]	<220>
[2161]	<223> 合成寡核苷酸
[2162]	<400> 182
[2163]	ggccatatcc tgaatctgct a 21
[2164]	<210> 183
[2165]	<211> 23
[2166]	<212> DNA
[2167]	<213> 人工序列
[2168]	<220>
[2169]	<223> 合成寡核苷酸
[2170]	<400> 183
[2171]	gcaagcaata gaatcatcag aca 23
[2172]	<210> 184
[2173]	<211> 27
[2174]	<212> DNA
[2175]	<213> 人工序列
[2176]	<220>
[2177]	<223> 合成寡核苷酸
[2178]	<400> 184
[2179]	ttggtacaaa tgaatctggc tgaaccc 27
[2180]	<210> 185
[2181]	<211> 26
[2182]	<212> DNA
[2183]	<213> 人工序列

[2184]	<220>
[2185]	<223> 合成寡核苷酸
[2186]	<400> 185
[2187]	tgcttcgttc aatggataaa cacggc 26
[2188]	<210> 186
[2189]	<211> 26
[2190]	<212> DNA
[2191]	<213> 人工序列
[2192]	<220>
[2193]	<223> 合成寡核苷酸
[2194]	<400> 186
[2195]	tggttcctaa tgctaatagca atgcgg 26
[2196]	<210> 187
[2197]	<211> 27
[2198]	<212> DNA
[2199]	<213> 人工序列
[2200]	<220>
[2201]	<223> 合成寡核苷酸
[2202]	<400> 187
[2203]	cgcattgca ttagcattag gagccaa 27

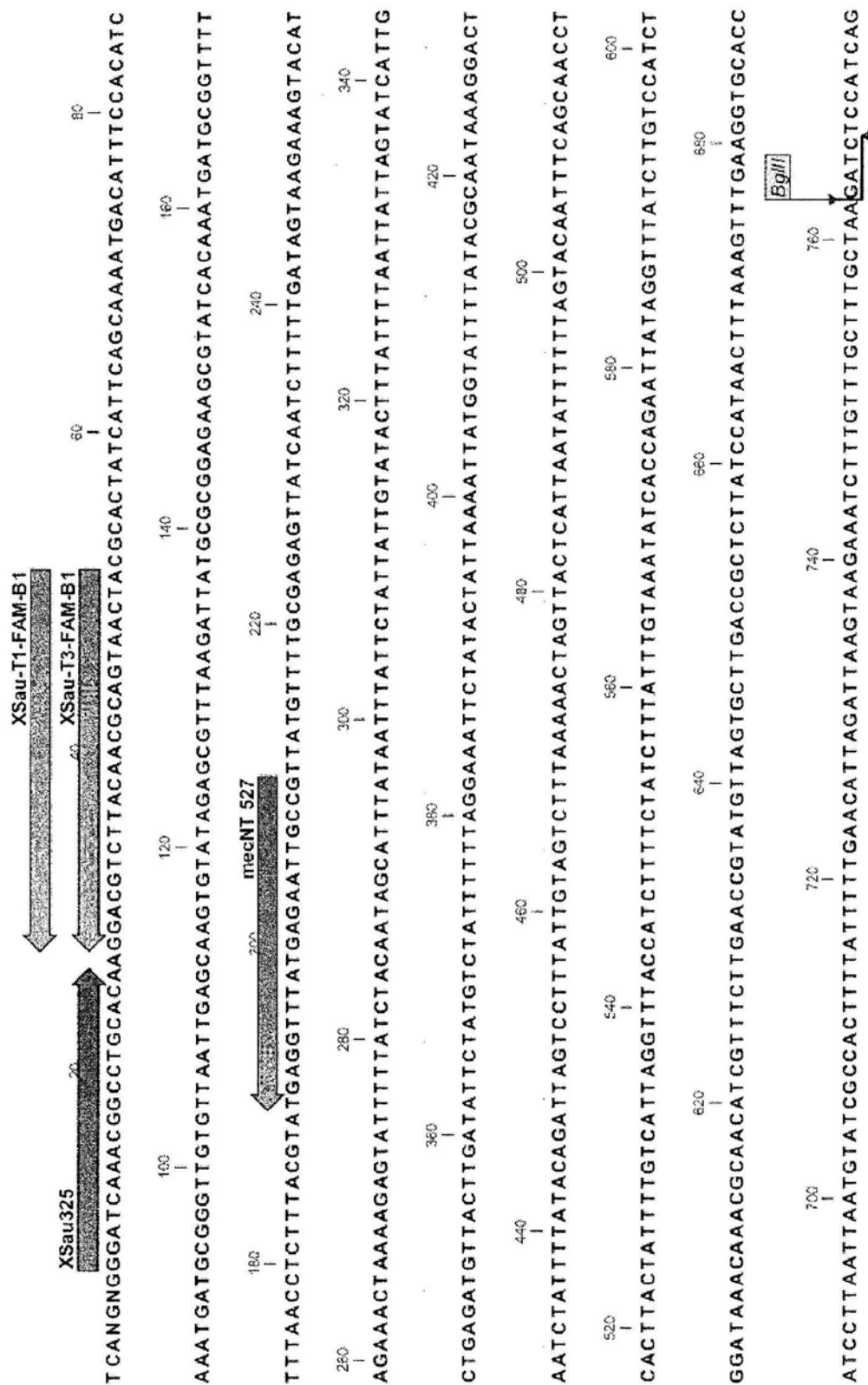


图1