



(10) 授权公告号 CN 110945126 B

(45) 授权公告日 2024. 04. 26

(21) 申请号 201880033645.1

(22) 申请日 2018.04.10

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110945126 A

(43) 申请公布日 2020.03.31

(30) 优先权数据
62/483,588 2017.04.10 US
62/573,537 2017.10.17 US
62/624,661 2018.01.31 US
62/624,660 2018.01.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.11.21

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/026962 2018.04.10

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/191304 EN 2018.10.18

(73) 专利权人 阿维利诺美国实验室股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 C.赵-沈

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002
专利代理师 曹雯

(51) Int.Cl.

C12N 15/11 (2006.01)
C12P 19/34 (2006.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)

(56) 对比文件

CN 105899681 A, 2016.08.24
JP 2013502215 A, 2013.01.24
US 2009305394 A1, 2009.12.10
US 2012208196 A1, 2012.08.16
US 2014243222 A1, 2014.08.28
US 5962332 A, 1999.10.05

Li Zeng et al..TGFBI Gene Mutation
Analysis of Clinically Diagnosed Granular
Corneal Dystrophy Patients Prior to PTK:
A Pilot Study from Eastern China.
《Scientific Reports》.2017,第7卷1-5.

Cerys J. Evans et al..Genotype-
Phenotype Correlation for TGFBI Corneal
Dystrophies Identifies p.(G623D) as a
Novel Cause of Epithelial Basement
Membrane Dystrophy.《IOVS》.2016,第57卷(第
13期),5407-5414. (续)

审查员 唐亚丽

权利要求书2页 说明书27页
序列表32页 附图12页

(54) 发明名称

用于与角膜营养不良有关的等位基因的多
重检测的方法

(57) 摘要

本公开提供了一种用于检测受试者中角膜
营养不良的方法,其包括反应混合物,所述反应
混合物包含一种或多种标记的探针,所述探针包
含突变的TGFBI核苷酸序列;所述反应混合物还
包含至少一个扩增引物对,用于扩增来自受试者
的生物样品的TGFBI基因序列;并检测选自TGFBI
基因中的G623D,M502V,R124S,A546D,H572R和
H626R突变的1、2、3、4、5或6个突变,其中检测包

括使用标记的检测探针检测一个或多个突变。本
发明还提供了包含反应混合物的反应试剂盒。



[接上页]

(56) 对比文件

Florence Niel-Butschi et al..Genotype-phenotype correlations of TGFBI p.Leu509Pro, p.Leu509Arg, p.Val613Gly, and the allelic association of p.Met502Val-p.Arg555Gln mutations.《Molecular Vision》.2011,第17卷1192-1202.

Juan Carlos Zenteno et al..Clinical and genetic features of TGFBI-linked corneal dystrophies in Mexican population: Description of novel

mutations and novel genotype-phenotype correlations.《Experimental Eye Research》.2009,第89卷172-177.

R. LAKSHMINARAYANAN et al..Clinical and Genetic Aspects of the TGFBI-associated Corneal Dystrophies.《THE OCULAR SURFACE》.2014,第12卷(第4期),234-251.

Connie Chao-Shern et al..Evaluation of TGFBI corneal dystrophy and molecular diagnostic testing.《Eye》.2019,第33卷874-881.

1. 用于检测在受试者中角膜营养不良的反应混合物,
所述反应混合物包含标记TGFBIG623D探针,所述标记TGFBIG623D探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:36所示;以及标记TGFBIM502V探针,所述标记TGFBIM502V探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:30所示;
所述反应混合物还包含:
(a) 相应的正向引物,所述相应的正向引物的核苷酸序列分别如SEQ ID NO:10和12所示;和
(b) 相应的反向引物,所述相应的反向引物的核苷酸序列分别如SEQ ID NO:16和18所示。
2. 根据权利要求1所述的反应混合物,还包含相应的标记探针,所述相应的标记探针包含正常核苷酸序列,其中所述正常核苷酸序列分别如SEQ ID NO:24和33所示。
3. 根据权利要求1或2所述的反应混合物,其中所述标记探针是荧光标记的。
4. 根据权利要求1或2所述的反应混合物,其中所述标记探针中的每一种包含不同的探针,并且独立地用VIC、FAM、ABY或JUN标记。
5. 根据权利要求1或2所述的反应混合物,还包含至少一种扩增引物对,所述扩增引物对用于从来自所述受试者的生物样品中扩增TGFBFI基因序列。
6. 反应试剂盒,包含 (a) 根据权利要求1-5中任一项所述的反应混合物,和 (b) 与所述反应混合物分开的用于选自R124S、A546D、H572R和H626R的一种或更多种TGFBFI突变的一种或更多种标记探针。
7. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,其中所述一种或更多种标记探针选自包含SEQ ID NO:19、25、20、26、21、27、23、29、50和54的核苷酸序列的标记探针。
8. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,其中所述反应试剂盒包含标记TGFBFI R124S探针,所述标记TGFBFI R124S探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:19或25所示。
9. 根据权利要求8所述的反应试剂盒,还包含:
(a) 相应的正向引物,所述相应的正向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:7所示;和
(b) 相应的反向引物,所述相应的反向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:13所示。
10. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,其中所述反应试剂盒包含标记TGFBIA546D探针,所述标记TGFBIA546D探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:20或26所示。
11. 根据权利要求10所述的反应试剂盒,还包含:
(a) 相应的正向引物,所述相应的正向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:8所示;和
(b) 相应的反向引物,所述相应的反向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:14所示。
12. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,其中所述反应试剂盒包含标记TGFBFI H572R探针,所述标记TGFBFI H572R探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:21或27所示。
13. 根据权利要求12所述的反应试剂盒,还包含:
(a) 相应的正向引物,所述相应的正向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:9所示;和
(b) 相应的反向引物,所述相应的反向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:15所示。
14. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,其中所述反应试剂盒包含标记TGFBFI H626R探针,所述标记TGFBFI H626R探针的核苷酸序列如SEQ ID NO:23、29、50或54所示。
15. 根据权利要求14所述的反应试剂盒,还包含:

- (a) 相应的正向引物,所述相应的正向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:11或41所示;和
- (b) 相应的反向引物,所述相应的反向引物的核苷酸序列如SEQ ID NO:17或47所示。

16. 根据权利要求6所述的反应试剂盒,还包含第三扩增引物组。

17. 根据权利要求1至5中任一项所述的反应混合物在制备反应试剂盒中的用途,所述反应试剂盒用于检测受试者角膜营养不良。

用于与角膜营养不良有关的等位基因的多重检测的方法

技术领域

[0001] 本申请一般涉及用于检测或诊断角膜营养不良的探针,以及检测或诊断角膜营养不良的方法。

背景技术

[0002] 实时PCR可以用于检测具有基本上相同序列的核酸序列之间的差异。通过使用差异化标记的荧光核酸探针,例如与野生型序列结合的探针和与突变序列结合的探针,可以快速且可靠地检测到人基因组中的单核苷酸变化。这种分辨力已被应用于医学诊断,其中单核苷酸多态性(SNP),即在蛋白质的编码和/或非编码序列内发现的单碱基变化,与人疾病相关。

[0003] 然而,实时PCR分析高度依赖于高质量样品的收集和分离。较差的样品收集和/或分离需要使用更长的测定条件和更大量的实时PCR试剂,这两者导致成本增加和生产率降低。此外,实时PCR单核苷酸多态性检测测定的失败可能导致需要收集额外的样品,造成甚至更大的时间和资源损失。

[0004] 因此,非常需要导致改进的样品收集和分离的方法,该方法提高测定的总体成功率,减少了测定所需的试剂并减少了以后收集额外样品的需要。此外,用于使用更少量样品材料进行实时PCRSNP检测测定的方法还将减少与高质量样品的收集和分离相关的挑战。

[0005] 角膜是眼睛前部的无血管透明组织,其开始将光聚焦到视网膜上的过程并占约眼睛光强度的三分之二。许多遗传疾病影响角膜的清晰度,并且按受影响的角膜层将其分类为后部、基质或浅表。常染色体显性遗传(AD)、X连锁隐性遗传(XR)和常染色体隐性遗传(AR)的遗传模式已被观察到,并且在许多情况下,疾病的基因座已被定位并已经确定了致病基因。研究最多的角膜营养不良是由位于染色体5q31.1上的转化生长因子 β -诱导的基因(TGFBI)中的常染色体显性错义突变引起的那些,该基因编码细胞外基质蛋白,该细胞外基质蛋白被认为通过介导细胞粘附、迁移、增殖和分化在生理和病理反应中起关键作用。迄今为止,在人基因突变数据库(HGMD)中报告了62种TGFBI突变,导致一系列不同的具有角膜淀粉样蛋白和非淀粉样蛋白沉积的上皮间质角膜营养不良,包括1型颗粒状角膜营养不良(GCD1)和2型颗粒状角膜营养不良(GCD2,以前被称为Avellino角膜营养不良)、上皮基底膜营养不良(EBMD)、网格状角膜营养不良(LCD)、Reis-Bücklers角膜营养不良(Reis-Bücklers corneal dystrophy,RBCD)和Thiel-Behnke角膜营养不良(Thiel-Behnke corneal dystrophy,TBCD)。不同的TGFBI突变可以导致特定的角膜营养不良,并且在两个突变热点R124和R555上已证明了基因型-表型的相关性。

[0006] 激光原位角膜磨镶术(LASIK)是一种手术程序,为近视(近视)、远视(远视)和散光提供视力矫正。切割并折叠角膜上皮中的薄皮瓣,并通过激光对暴露的基质层进行整形以改变其角膜聚焦力。小切口透镜切除术(SMILE)是一种矫正近视的侵入性较小的手术。通过激光在上皮层上制造小切口,去除一小块基质(透镜)以对基质进行整形。激光光学角膜切削术(PRK)和光治疗性角膜切削术(PTK)外科手术通过去除角膜表面的混浊和表面不规则

来影响视力矫正或治疗多种眼部疾病。这些侵入性角膜外科手术在基质层中引起伤口,这导致TGFB1的表达上调,导致携带TGFB1突变的个体的角膜内角膜淀粉样蛋白沉积,从而导致与角膜营养不良有关的病理。LASIK禁忌于患有颗粒状角膜营养不良(GCD)的个体。可商购的基因测试可以在TGFB1基因内检测与五种较常见类型的角膜营养不良有关的最常见的突变:2型颗粒性角膜营养不良的R124H、1型网格状角膜营养不良的R124C、Reis-Buckler角膜营养不良的R124L、1型颗粒状角膜营养不良的R555W、Thiel-Behnke角膜营养不良的R555Q。这五种突变基因测试最初是针对韩国和日本人群设计的,大多数TGFB1角膜营养不良病例被诊断为由R124H突变引起的GCD2。在韩国和日本,该测试主要用作屈光外科手术前的筛查工具。然而,在美国和欧洲,该测试既用于筛查屈光外科手术候选者,也作为角膜营养不良疾病临床诊断的确认性测试。

[0007] 鉴于上述背景,在本领域需要的是在多种人群和地理位置中审查不同TGFB1突变的患病率以改进用于全世界不同人群的基因测试。

发明内容

[0008] 在一个方面,本公开内容提供了用于在受试者中检测角膜营养不良的反应混合物,所述反应混合物包含标记探针,所述标记探针包含选自SEQ ID NO:25-30、36和54的突变核苷酸序列。所述反应混合物还可以包含相应的标记探针,所述相应的探针包含选自SEQ ID NO:19-24、33和50的正常核苷酸序列。在一些实施方案中,所述标记探针由选自SEQ ID NO:25-30、36和54的突变核苷酸序列组成;和/或相应的标记探针由选自SEQ ID NO:19-24、33和50的正常核苷酸序列组成。在另一些实施方案中,所述反应混合物包含标记TGFB1 G623D探针,其包含SEQ ID NO:33或36的核苷酸序列;以及标记TGFB1 M502V探针,其包含SEQ ID NO:24或30的核苷酸序列。在又一些实施方案中,标记TGFB1 G623D探针包含SEQ ID NO:36的核苷酸序列;并且标记TGFB1 M502V探针包含SEQ ID NO:30的核苷酸序列。

[0009] 在一些实施方案中,所述标记探针是荧光标记的。在另一些实施方案中,所述标记探针中的每一种包含不同的探针。在又一些实施方案中,标记探针中的每一种包含不同的探针独立地用VIC、FAM、ABY或JUN标记。

[0010] 在一些实施方案中,所述反应混合物还包含至少一种扩增引物对,所述扩增引物对用于从来自受试者的生物样品中扩增TGFB1基因序列。在另一些实施方案中,所述反应混合物包含(a)相应的正向引物,其包含选自SEQ ID NO:7-12和41的核苷酸序列;以及(b)相应的反向引物,其包含选自SEQ ID NO:13-18和47的核苷酸序列。当反应混合物包含包含SEQ ID NO:33或36的核苷酸序列的标记TGFB1 G623D探针以及包含SEQ ID NO:24或30的核苷酸序列的标记TGFB1 M502V探针时,该反应混合物还可以包含(a)相应的正向引物,其包含SEQ ID NO:10和12; (b)应的反向引物;以及 (b)相应的反向引物,其包含SEQ ID NO:16和18。

[0011] 在一个方面,本公开内容提供了反应试剂盒,其包含本文所述的反应混合物。在一个方面,所述反应试剂盒包含反应混合物,所述反应混合物包含用于TGFB1基因中的G623D和M502V突变的检测探针。在一些实施方案中,反应试剂盒还包含用于TGFB1基因中的R124S、A546D、H572R和H626R突变的一种或更多种检测探针。在一个方面,本公开内容提供了反应试剂盒,其包含本文所述的反应混合物和用于选自R124S、A546D、H572R和H626R的一种或更

多种TGFB1突变的一种或更多种标记探针。在一些实施方案中,一种或更多种标记探针与反应混合物分开。在另一些实施方案中,所述一种或更多种标记探针选自包含或由SEQ ID NO:19、25、20、26、21、27、23、29、50和54的核苷酸序列组成的标记探针。在又一些实施方案中,所述反应试剂盒包含标记TGFB1 R124S探针,所述标记TGFB1 R124S探针包含SEQ ID NO:19或25的核苷酸序列。在又一些实施方案中,所述反应试剂盒包含标记TGFB1 A546D探针,所述标记TGFB1 A546D探针包含SEQ ID NO:20或26的核苷酸序列。在又一些实施方案中,所述反应试剂盒包含标记TGFB1 H572R探针,所述标记TGFB1 H572R探针包含SEQ ID NO:21或27的核苷酸序列。在又一些实施方案中,所述反应试剂盒包含标记TGFB1 H626R探针,所述标记TGFB1 H626R探针包含SEQ ID NO:23、29、50或54的核苷酸序列。在又一些实施方案中,反应试剂盒还包含另外的扩增引物组。在又一些实施方案中,反应试剂盒还包含扩增包含R124S突变的TGFB1基因的第三扩增引物组、扩增包含A546D突变的TGFB1基因的第四扩增引物组、扩增包含H572R突变的TGFB1基因的第五扩增引物组、和/或扩增包含H626R突变的TGFB1基因的第六扩增引物组。

[0012] 在一个方面,本公开内容提供了一种用于检测角膜营养不良的方法,包括检测选自以下的一种、两种、三种、四种、五种或六种突变: TGFB1基因中的G623D、M502V、R124S、A546D、H572R和H626R突变。在一些实施方案中,检测包括对TGFB1基因进行测序。在另一些实施方案中,检测包括使用标记检测探针检测突变。

[0013] 在一个方面,本公开内容提供了一种用于检测角膜营养不良的方法,所述方法包括: (A-1) 使用包含至少第一扩增引物对和具有至少两种检测探针的组的反应混合物从来自受试者的生物样品中扩增第一TGFB1基因序列; (B-1) 将具有至少两种检测探针的组中的第一检测探针和第二检测探针分别与具有G623D突变的第一TGFB1基因序列和具有M502V突变的第二TGFB1基因序列杂交; 以及 (C-1) 基于所述第一检测探针和所述第二检测探针分别与所述第一TGFB1基因序列和所述第二TGFB1基因序列的杂交来检测TGFB1基因序列中的一种、两种或更多种突变。在一些实施方案中,所述方法还包括 (A-2) 从生物样品中扩增第三TGFB1基因序列,其中所述反应混合物还包含用于第三TGFB1突变的第三标记探针,所述第三TGFB1突变选自R124S、A546D、H572R和H626R; (B-2) 将所述第三标记探针与所述第三TGFB1基因序列杂交; (C-2) 基于所述第三检测探针与所述第三TGFB1基因序列的杂交来检测所述第三TGFB1基因序列中的突变。

附图说明

[0014] 图1A示出了具有多种TGFB1突变的已报道病例的世界地图。每个区域或国家/地区上的气泡包含已报道的病例信息,例如种族、突变和病例编号。该图示出了除了研究能力有限或语言出版困难的地区之外,全世界报道的TGFB1突变病例。南美报道的病例很少,非洲或俄罗斯未发现任何病例报道。图1B示出了指向英国的红色箭头作为气泡中包含的信息的示例。左侧的图例示出了已报道的突变、种族和每种已报道突变的总病例数。

[0015] 图2提供了按地理区域的比较。在1600多个已报道病例中,对具有五种突变、六种另外的突变和提出的扩展11种突变组的原始基因测试进行了建模。在欧洲和亚洲之间具有五种突变的可用基因测试的检出率非常接近。

[0016] 图3提供了从最高到最低对已报道病例中的五种最常见突变进行了排名的表。此

外,它从高到低列出了六种另外的突变的病例数。

[0017] 图4提供了示出了R124C、R555W、R124H、R555Q和R124L的可用基因测试的理论结果的表。该测试检测出通过Moorfield角膜营养不良研究鉴定的68个TGFB1 CD队列中的90%。该表还示出了通过文献研究鉴定的六种另外的突变的结果。它们将检出率提高了7%,使在英国的整体检出率达到了97%。

[0018] 图5A至图5C提供了实施例中使用的靶标、引物和探针的示例性序列。

[0019] 图6A和图6B示出了使用M502V和G623D TGFB1探针的实施例4的鉴别图结果。

具体实施方式

[0020] I. 引言

[0021] 本公开内容至少部分基于反应混合物、反应试剂盒的发现以改进对角膜营养不良的检测。

[0022] 在亚洲,已报道的TGFB1角膜营养不良的患病率在韩国为870中之一,在中国为416之一。亚洲的近视率很高,Holden等进行的研究预测,到2050年,与全球患病率的49.8%相比,亚太人群的近视患病率是所有人中最高的,为66.4%。由于这些亚洲人群中近视患病率高,LASIK视力矫正外科手术的使用一直在增加,并且预计将持续增加。由于亚洲人群中已知的TGFB1突变患病率和高近视率,在该地区突变测试是很重要的;随后,在亚太人群中开始引入了五种突变基因测试。

[0023] 自从Folberg等于1988年对TGFB1突变作为颗粒状角膜营养不良的原因进行首次描述以来,我们对该疾病的认识和了解稳步增长。最常见的R124和R555突变被充分记录,并且正在更严密地检查另外的突变,以了解下一级常见变体。本公开内容提供了关于多种TGFB1角膜营养不良的文献报道的综述,以了解该疾病的患病率。这种疾病的全球患病率未知;然而,这种疾病的结果使人衰弱。最终的治疗方法是角膜移植,这种疾病的复发性通常需要随后的角膜移植,这些对于患者和眼科医生而言都是创伤大且代价高昂的。因此,通过分子诊断测试进行预防和预筛查以检测突变是关键。

[0024] 在一些实施方案中,一个目的是在屈光外科手术之前的预筛查测试中提供增强的测试能力。另一个目的是缩小从基因测试与临床诊断得到的检出率之间的差距。

[0025] II. 选择定义

[0026] 如本文中所使用的术语“发明”或“本发明”不旨在限制本发明的任一特定实施方案,而是一般地适用于权利要求书和说明书中描述的本发明的任何和所有实施方案。

[0027] 如本文中所使用的,除非上下文另外明确指出,单数形式的词语包含复数含义。因此,例如,提及“方法”包括本文描述的类型的一种或更多种方法和/或步骤,在阅读本公开内容后,这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0028] 如本文中所使用的,术语“多态性”及其变体是指在不同基因组或个体之间或之中存在两个或更多个替代基因组序列或等位基因。术语“基因突变”或“基因变异”及其变体包括多态性。

[0029] 如本文中所使用的,术语“单核苷酸多态性”(“SNP”)及其变体是指在等位基因之间变化的一个核苷酸的位点。单核苷酸多态性(SNP)是单个碱基变化或点突变,但也包括所谓的“插入/缺失”突变(核苷酸的插入或缺失),导致个体之间的基因变异。SNP占所有人基

因变异的约90%，在30亿个碱基的人基因组中每100至300个碱基出现一次。SNP可以出现在基因组的编码或非编码区域。编码区中的SNP可以改变或不改变蛋白质产物的氨基酸序列。非编码区中的SNP可以改变启动子或加工位点，并且可能影响基因转录和/或加工。有关个人在目标基因组区域中是否具有特定SNP的认知可以提供足够的信息以开发针对多种疾病的诊断、预防和治疗应用。在一些实施方案中，本公开内容涉及编码区中的SNP的检测，该编码区中的SNP改变了氨基酸序列，导致来自TGFB1基因的产物的氨基酸序列的突变。例如，本公开内容涉及引起TGFB1基因中的G623D、M502V、R124S、A546D、H572R、H626R、G623D、R124S、H403Q、R124C和/或R124H突变的SNP的检测。

[0030] 术语“引物”及其变体是指在PCR反应中充当DNA合成的起始点的寡核苷酸。引物的长度通常为约15至约35个核苷酸，并与与靶序列互补的区域杂交。

[0031] 术语“探针”及其变体（例如，检测探针）是指在PCR反应中与靶核酸杂交的寡核苷酸。靶序列是指待分析的核酸区域并且包含目标多态性位点。

[0032] 除非另有定义，否则本文中所使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文所述的那些类似或等同的任何方法和材料都可以用于本发明的实践或测试中，但是本文具体描述了方法和材料的多个实施方案。

[0033] III. 反应混合物

[0034] 在一个方面，本公开内容提供了用于在受试者中检测角膜营养不良的反应混合物，该反应混合物包含用于检测TGFB1中的突变的检测探针。在一些实施方案中，检测探针检测引起本文所述的氨基酸突变的SNP。在一个方面，本公开内容提供了用于在受试者中检测角膜营养不良的反应混合物，该反应混合物包含选自SEQ ID NO:25-30、36和54的突变核苷酸序列。反应混合物还包含相应的标记探针，该相应的标记探针包含选自SEQ ID NO:19-24、33和50的正常核苷酸序列。在一些实施方案中，标记探针由选自SEQ ID NO:25-30、36和54的突变核苷酸序列组成；和/或相应的标记探针由选自SEQ ID NO:19-24、33和50的正常核苷酸序列组成。在另一些实施方案中，反应混合物包含标记TGFB1 G623D探针，其包含SEQ ID NO:33或36的核苷酸序列；和标记TGFB1 M502V探针，其包含SEQ ID NO:24或30的核苷酸序列。在又一些实施方案中，标记TGFB1 G623D探针包含SEQ ID NO:36的核苷酸序列；以及标记TGFB1 M502V探针包含SEQ ID NO:30的核苷酸序列。

[0035] 在一些实施方案中，反应混合物还包含至少一种扩增引物对，该扩增引物对用于从受试者的生物样品中扩增TGFB1基因序列。在另一些实施方案中，反应混合物包含(a) 相应的正向引物，其包含选自SEQ ID NO:7-12和41的核苷酸序列；以及(b) 相应的反向引物，其包含选自SEQ ID NO:13-18和47的核苷酸序列。当反应混合物包含包含SEQ ID NO:33或36的核苷酸序列的标记TGFB1 G623D探针以及包含SEQ ID NO:24或30的核苷酸序列的标记TGFB1 M502V探针时，反应混合物还可以包含(a) 包含SEQ ID NO:10和12的相应的正向引物；(b) 包含SEQ ID NO:16和18的相应的反向引物。

[0036] 在一些实施方案中，标记探针是荧光标记的。在另一些实施方案中，标记探针中的每一种包含不同的探针。在又一些实施方案中，标记探针中的每一种独立地用VIC、FAM、ABY或JUN标记。

[0037] IV. 诊断试剂盒

[0038] 在一个方面,将本文所述的任何或所有试剂包装到诊断试剂盒中。这种试剂盒包括本文所述的任何和/或所有引物、探针、缓冲液和/或其他试剂的任何组合。

[0039] 在一个方面,本公开内容提供了反应试剂盒,其包含用于检测TGFI基因中的R124S、A546D、H572R、H626R、G623D和M502V突变的引物组、检测探针和/或试剂。在一个方面,本公开内容提供了反应试剂盒,其包含用于与单独的反应混合物一起检测TGFI基因中的G623D和M502V突变的引物组、检测探针和/或试剂,该单独的反应混合物包含用于检测G623D和M502V的引物组、探针和/或试剂的组合。在一些实施方案中,反应试剂盒还包含用于检测选自R124S、A546D、H572R和H626R的一种、两种、三种或四种TGFI突变的一种、两种、三种或四种引物组、检测探针和/或试剂。在另一些实施方案中,反应试剂盒还包含用于检测选自G623D、R124S、H403Q、R124C和R124H的一种、两种、三种、四种或五种TGFI突变的一种、两种、三种、四种或五种引物组、检测探针和/或试剂。

[0040] 在一个方面,本公开内容提供了反应试剂盒,其包含上述反应混合物和一种或更多种另外的试剂。在一些实施方案中,反应试剂盒还包含用于检测选自R124S、A546D、H572R和H626R的一种、两种、三种或四种TGFI突变的一种、两种、三种或四种引物组、标记探针和/或试剂。在一些实施方案中,用于检测选自R124S、A546D、H572R和H626R的一种、两种、三种或四种TGFI突变的一种、两种、三种或四种引物组、标记探针和/或试剂与试剂盒中的反应混合物是分开的。在另一些实施方案中,反应试剂盒包含选自以下的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17种标记探针:包含SEQ ID NO:19-24、33、50、25-30、36和54的核苷酸序列的标记探针。在又一些实施方案中,反应试剂盒包含标记TGFI R124S正常探针,其包含SEQ ID NO:19的核苷酸序列;和/或标记TGFI R124S突变探针,其包含SEQ ID NO:25的核苷酸序列。在另一些实施方案中,反应试剂盒包含标记TGFI A546D正常探针,其包含SEQ ID NO:20的核苷酸序列;和/或标记TGFI A546D突变探针,其包含SEQ ID NO:26的核苷酸序列。在又一些实施方案中,反应试剂盒包含标记TGFI H572R正常探针,其包含SEQ ID NO:21的核苷酸序列;和/或标记TGFI H572R突变探针包含SEQ ID NO:27的核苷酸序列。在另一些实施方案中,反应试剂盒包含包含SEQ ID NO:23或50的核苷酸序列的标记TGFI H626R正常探针,和/或包含SEQ ID NO:29或54的核苷酸序列的标记TGFI H626R突变探针。在另一些实施方案中,反应试剂盒不包括其中将TGFI G623D探针单独保存或未与TGFI M502V探针混合的试剂盒。在另一些实施方案中,反应试剂盒还包含另外的扩增引物组。在又一些实施方案中,反应试剂盒还包含扩增包含R124S突变的TGFI基因的第三扩增引物组、扩增包含A546D突变的TGFI基因的第四扩增引物组、扩增包含H572R突变的TGFI基因的第五扩增引物组、和/或用于扩增包含H626R突变的TGFI基因的第六套扩增引物。在本文中,包含R124S突变的TGFI基因可以是指包含导致TGFI蛋白产物中的R124S突变的SNP的TGFI基因。

[0041] 在另一些实施方案中,反应试剂盒还包含一种、两种、三种、四种或五种引物组、检测探针和/或试剂以检测选自G623D、R124S、H403Q、R124C和R124H的一种、两种、三种、四种或五种TGFI突变。

[0042] 在一些实施方案中,试剂盒中的试剂作为冻干粉包含在内。在一些实施方案中,试剂盒中的试剂作为带有重构说明的冻干粉包含在内。在一些实施方案中,试剂盒中的试剂作为液体包含在内。在一些实施方案中,试剂被包含在塑料和/或玻璃小瓶或其他合适的容

器中。在一些实施方案中,引物和探针全部包含在试剂盒内的单独容器中。在一些实施方案中,引物一起包装在一个容器中,探针包装在另一容器中。在一些实施方案中,引物和探针一起包装在单个容器中。

[0043] 在一些实施方案中,试剂盒还包含对照gDNA和/或DNA样品。在一些实施方案中,所包含的对照DNA样品为具有G623正常序列的TGFB1样品和/或具有M502正常序列的TGFB1样品。在一些实施方案中,所包含的对照DNA样品对应于所检测的突变,包括R124S、A546D、H572R和H626R。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R124C、R124H、R124L、R555W、R555Q和/或H626P的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R124C、R124H、R124L、R555W和/或R555Q的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R124C、R124H和/或R124L的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R555W和/或R555Q的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R124C的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常DNA的对照DNA样品和对应于R124H的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R124L的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常DNA的对照DNA样品和对应于R555W的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于R555Q的突变DNA样品。在一些实施方案中,包含对应于TGFB1 R124正常的对照DNA样品和对应于H626P的突变DNA样品。

[0044] 在一些实施方案中,对照DNA样品的浓度为5ng/ μ L、10ng/ μ L、20ng/ μ L、30ng/ μ L、40ng/ μ L、50ng/ μ L、60ng/ μ L、70ng/ μ L、80ng/ μ L、90ng/ μ L、100ng/ μ L、110ng/ μ L、120ng/ μ L、130ng/ μ L、140ng/ μ L、150ng/ μ L、160ng/ μ L、170ng/ μ L、180ng/ μ L、190ng/ μ L或200ng/ μ L。在一些实施方案中,对照DNA样品的浓度为50ng/ μ L、100ng/ μ L、150ng/ μ L或200ng/ μ L。在一些实施方案中,对照DNA样品的浓度为100ng/ μ L。在一些实施方案中,对照DNA样品具有相同浓度。在一些实施方案中,对照DNA样品具有不同的浓度。

[0045] 在一些实施方案中,试剂盒还可以包含缓冲液,例如GTXpress TAQMAN®试剂混合物或任何等效缓冲液。在一些实施例中,缓冲液包括本文所述的任何缓冲液。

[0046] 在一些实施方案中,试剂盒还可以包含用于克隆的试剂,例如载体(包括例如M13载体)。

[0047] 在一些实施方案中,试剂盒还包含用于纯化DNA的试剂。

[0048] 在一些实施方案中,试剂盒还包含使用试剂盒检测受试者的角膜营养不良的说明书。在一些实施方案中,这些说明书包含本文所述的协议的各个方面。

[0049] V. 核酸分析

[0050] 在一个方面,本公开内容提供了一种用于检测角膜营养不良的方法,该方法包括检测TGFB1基因中的选自G623D、M502V、R124S、A546D、H572R和H626R的TGFB1突变的一种、两种、三种、四种、五种或六种TGFB1突变。在一些实施方案中,该方法还可以包括检测选自G623D、R124S、H403Q、R124C和R124H的一种、两种、三种、四种或五种TGFB1突变。

[0051] 在一些实施方案中,检测包括对TGFB1基因进行测序。在另一些实施方案中,检测包括使用标记检测探针检测突变。

[0052] 在一个方面,本公开内容提供了一种用于检测角膜营养不良的方法,该包括:(A-1)使用包含至少第一扩增引物对和具有至少两种检测探针的组的反应混合物从受试者的生物样品中扩增第一TGFB1基因序列;(B-1)将具有至少两种检测探针的组中的第一检测探针和第二检测探针分别与具有G623D突变的第一TGFB1基因序列和具有M502V突变的第二TGFB1基因序列杂交;(C-1)基于第一检测探针和第二检测探针分别与第一TGFB1基因序列和第二TGFB1基因序列的杂交来检测TGFB1基因序列中的一种、两种或更多种突变。在一些实施方案中,该方法还包括(A-2)从生物样品中扩增第三TGFB1基因序列,其中反应混合物还包含用于第三TGFB1突变的第三标记探针,该第三TGFB1突变选自R124S、A546D、H572R和H626R;(B-2)将第三标记探针与第三TGFB1基因序列杂交;以及(C-2)基于第三检测探针与第三TGFB1基因序列的杂交来检测第三TGFB1基因序列中的突变。

[0053] 在一些实施方案中,本文的方法还包括分离基因组样品。在一些实施方案中,该方法包括提供来自受试者的细胞样品。在另一些实施方案中,受试者可以为人。在一些实施方案中,通过使患者的细胞表面与能够将细胞可逆地固定在基质上的基质接触来收集细胞。

[0054] 所公开的方法适用于从多种样品获得的多种细胞类型。在一些实施方案中,与所公开的方法一起使用的细胞类型包括但不限于上皮细胞、内皮细胞、结缔组织细胞、骨骼肌细胞、内分泌细胞、心肌细胞、尿细胞、黑素细胞、角质形成细胞、血细胞、白细胞。白细胞层、毛细胞(包括例如发根细胞)和/或唾液细胞。在一些实施方案中,细胞为上皮细胞。在一些实施方案中,细胞是囊下-血管周围的(上皮1型)、苍白的(上皮2型)、中级的(上皮3型);深色的(上皮4型)、未分化的(上皮5型)、和大髓的(上皮类型6)。在一些实施方案中,细胞为颊上皮细胞(例如,使用颊交换收集的上皮细胞)。在一些实施方案中,在所公开的方法中使用的细胞样品包括以上鉴定的细胞类型的任何组合。在一些实施方案中,所提供的细胞是颊上皮细胞。

[0055] 在一些实施方案中,有利地以无创方式收集样品,并且本身样品收集由任何人在任何地方完成。例如,在一些实施方案中,样品是在医师办公室内、受试者的家中或在进行或将要进行LASIK手术的场所中收集的。在一些实施方案中,患者、患者的医生、护士或医师助理或其他临床人员收集样品。

[0056] 用于分析样品(包括例如但不限于基因组DNA(gDNA)样品)的SNP的多种方法是本领域已知的,并且可以包括PCR方法,例如实时PCR分析、微阵列分析、杂交分析和核酸序列分析以及本领域技术人员已知的分析核酸组成的其他各种方法。参见,例如分子克隆(三卷集,冷泉港实验室出版社,2012)和实验室指南手册(遗传学和基因组学;分子生物学;2003-2013)。

[0057] a. 实时PCR

[0058] 关于实时PCR测定的设计,几个部分被调整,包括在两个引物侧翼并随后被扩增的DNA片段(通常被称为扩增子),使用的两种引物以及一种或更多种检测探针。

[0059] 实时PCR依赖于与短多核苷酸(被称为“检测探针”)缀合的荧光染料的视觉发射,这以序列特异性方式与基因组等位基因相关。在实时PCR测定中可以通过缀合和检测以不同波长发出荧光的探针区分仅单个核苷酸不同的实时PCR探针。发现实时PCR用于检测应用(诊断应用)、定量应用和基因分型应用。

[0060] 本领域公开了多种用于进行实时PCR的相关方法,包括依赖于TAQMAN®探针

的测定(美国专利号5,210,015和5,487,972,以及Lee等.,*Nucleic Acids Res.*21:3761-6, 1993)、分子信标探针(美国专利号5,925,517和6,103,476,以及Tyagi和Kramer, *Nat.Biotechnol.*14:303-8,1996)、自探测扩增子(蝎子)(美国专利号6,326,145,以及Whitcombe等,*Nat.Biotechnol.*17:804-7,1999)、Amplisensor(Chen等, *Appl.Environ.Microbiol.*64:4210-6,1998)、Amplifluor(美国专利号6,117,635,以及Nazarenko等,*Nucleic Acids Res.*25:2516-21,1997)、置换杂交探针(Li等,*Nucleic Acids Res.*30:E5,2002)、DzyNA-PCR(Todd et al.,*Clin.Chem.*46:625-30,2000)、荧光限制酶检测(Cairns等,*Biochem.Biophys.Res.Comm.*318:684-90,2004)和邻近的杂交探针(美国专利号6,174,670以及Wittwer等,*Biotechniques* 22:130-1,134-8,1997)。

[0061] 在一个方面,本公开内容涉及对引起TGFBI基因中的G623D、M502V、R124S、A546D、H572R、H626R、G623D、R124S、H403Q、R124C和/或R124H突变的SNP的检测。在一些情况下,实时PCR可以导致检测多种基因突变,包括例如但不限于SNP。在一些实施方案中,基于使用通过使用束缚的淬灭部分的荧光分子的分子内淬灭,采用实时PCR检测特定基因候选物中的SNP。因此,根据一些示例性的实施方案,实时PCR方法还包括使用分子信标技术。分子信标技术利用具有内部淬灭的荧光团的发夹状分子,其荧光通过与目标DNA靶标结合而恢复(参见,例如,R.等*Nat.Biotechnol.*14:303-308,1996)。在一些实施方案中,分子信标探针与积累的PCR产物的结合增加用于特异性检测基因组DNA中存在的SNP。

[0062] 许多合适的基因分型程序之一是TAQMAN®等位基因鉴别测定。在该测定的一些情况下,利用在探针的5'端标记有荧光报告染料并且在探针的3'端标记有淬灭染料的寡核苷酸探针。淬灭剂与完整探针的接近使报告基因的荧光保持较低。在PCR反应期间,DNA聚合酶的5'核酸酶活性切割探针,并分离出染料和淬灭剂。这导致报告基因的荧光增加。通过监测报告染料荧光的增加直接检测PCR产物的积累。仅当探针与靶标杂交并在PCR期间扩增时,DNA聚合酶的5'核酸酶活性才切割报告基因和淬灭剂之间的探针。仅当存在特定的SNP等位基因时,探针才被设计为跨越靶SNP位置并与核酸分子杂交。

[0063] 作为示例,为了扩增位于TGFBI基因外显子4上的与Avellino角膜营养不良有关的SNP,如美国专利公开号2012/0077200中描述的构建正向PCR引物对和反向PCR引物对,其公开内容通过引用并入本文。

[0064] b. 实时PCR循环

[0065] 实时PCR方法包括多个步骤或循环作为扩增方法的一部分。这些循环包括使双链核酸变性,使靶基因组DNA序列的正向引物、反向引物和检测探针退火,以及从退火的正向引物和反向引物合成(即复制)第二链DNA。这三个步骤的过程在本文中被称作循环。

[0066] 在一些实施方案中,采用约10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60个循环。在一些实施方案中,采用约10至约60个循环、约20至约50个循环或约30至约40个循环。在一些实施方案中,采用40个循环。

[0067] 在一些实施方案中,使双链核酸变性步骤在约80℃至100℃、约85℃至约99℃、约90℃至约95℃的温度下进行约1秒至约5秒、约2秒至约5秒、或约3秒至约4秒。在一些实施方案中,使双链核酸变性步骤在95℃的温度下进行约3秒。

[0068] 在一些实施方案中,使靶基因组DNA序列的正向引物、反向引物和检测探针退火步骤在约40℃至约80℃、约50℃至约70℃、约55℃至约65℃下进行约15秒至约45秒、约20秒至

约40秒、约25秒至约35秒。在一些实施方案中,使靶基因组DNA序列的正向引物、反向引物和检测探针退火步骤在约60℃下进行约30秒。

[0069] 在一些实施方案中,从退火的正向引物和反向引物合成(即复制)第二链DNA在约40℃至约80℃、约50℃至约70℃、约55℃至约65℃下进行约15秒至约45秒、约20秒至约40秒、约25秒至约35秒。在一些实施方案中,使靶基因组DNA序列的正向引物、反向引物和检测探针退火步骤在约60℃下进行约30秒。

[0070] 在一些实施方案中,发现将约1μL、约2μL、约3μL、约4μL或约5μL的根据本文所述的方法制备的基因组DNA样品与仅约0.05μL、约0.10μL、约0.15μL、约0.20μL、约0.25μL或约0.25μL的30X、35X、40X、45X、50X或100X实时PCR测定混合物和蒸馏水结合以形成PCR主混合物。在一些实施方案中,PCR主混合物的最终体积为约1.5μL、约2.5μL、约5μL、约6μL、约7μL、约8μL、约9μL、约10μL、约11μL、约12μL、约13μL、约14μL、约15μL、约16μL、约17μL、约18μL、约19μL或约20μL或更多。在一些实施方案中,发现将2μL的如上所述制备的基因组DNA样品与仅约0.15μL的40X实时PCR测定混合物和2.85μL蒸馏水结合以形成PCR主混合物。

[0071] 尽管本文描述了示例性反应,但是本领域技术人员理解如何基于探针设计来改变温度和时间。此外,本方法预期上述时间和温度的任意组合。

[0072] c. PCR引物和引物设计

[0073] 在一些实施方案中,在实验室背景下测试和设计引物。在一些实施方案中,通过基于计算机的电子(in silico)方法设计引物。引物序列基于待扩增的扩增子序列或靶核酸序列。与长的扩增子相比,短的扩增子通常更有效地复制并导致更有效的扩增。

[0074] 在设计引物中,技术人员将理解需要基于设计的引物的GC和AT含量以及二级结构考虑因素(GC含量增加可导致二级结构增加),考虑解链温度(T_m ;使引物-靶标双链体的一半解离并变成单链的温度,并且是双链体稳定性的指示; T_m 增加表明稳定性增加)。可以使用本领域已知的多种方法来计算 T_m ,并且本领域技术人员将容易理解多种用于计算 T_m 的此类方法。此类方法包括例如但不限于在线工具(如在万维网promega.com/techserv/tools/biomath/calcul.htm上可获得的 T_m 计算器)中可获得的方法。引物特异性由其完整序列与3'端序列(由Taq聚合酶延长的部分)结合限定。在一些实施方案中,3'端应具有在靶序列中其他任何地方都找不到的至少5至7个独特的核苷酸,以帮助减少错误引发和错误的扩增产物产生。正向引物和反向引物通常以相似的效率与靶标结合。在一些情况下,可使用工具(例如如NCBI BLAST,万维网ncbi.nlm.nih.gov上)进行比对并辅助引物设计。

[0075] 引物设计的另外的方面是引物复杂度或语言序列复杂度(参见,Kalendar R,等(Genomics, 98(2):137-144(2011))。具有较大语言序列复杂度的引物(例如核苷酸布置和组成)通常更有效。在一些实施方案中,使用语言序列复杂度计算方法来搜索比较序列之间的保守区用以检测低复杂度区域,包括简单的序列重复、不完美的正向或反向重复、多嘌呤或多嘧啶三链cDNA结构和四链结构(例如G-四倍体)。在一些实施方案中,使用字母容量L-gram法(alphabet-capacity L-gram method)沿着整个序列长度进行语言复杂度(LC)测量(参见,A.Gabrielian,A.Bolshoy,Computer&Chemistry 23:263-274(1999)和Y.L.Orlov,V.N.Potapov,Complexity:an internet resource for analysis of DNA sequence complexity,Nucleic Acids Res.32:W628-W633(2004)),并且计算为序列中1至L个字长的观察范围(xi)的总和除以该序列长度的预期(E)值的总和。一些富含G的(和富含C的)核酸

序列折叠成含有G四倍体的堆叠的四链DNA结构(参见,万维网quadruplex.org)。在一些情况下,这些四倍体是由两个或四个DNA分子的分子间缔合(包含两个G碱基的序列的二聚化)或含有四个鸟嘌呤单元的单链的分子间折叠形成(参见,P.S.Ho,PNAS,91:9549-9553(1994);I.A.Il'icheva,V.L.Florent'ev,Russian Journal of Molecular Biology 26:512-531(1992);D.Sen,W.Gilbert,Methods Enzymol.211:191-199(1992);P.A.Rachwal,K.R.Fox,Methods 43:291-301(2007);S.Burge,G.N.Parkinson,P.Hazel,A.K.Todd,K.Neidle,Nucleic Acids Res.34:5402-5415(2006);A.Guédin,J.Gros,P.Alberti,J.Mergny,Nucleic Acids Res.38:7858-7868(2010);O.Stegle,L.Payet,J.L.Mergny,D.J.MacKay,J.H.Leon,Bioinformatics 25:i374-i382(2009));在一些情况下,由于其语言复杂度低(对于(TTAGGG)₄,LC=32%),这些被引物设计消除。

[0076] 这些方法包括关于CG含量和解链温度的各种生物信息学工具,用以在具有GC偏移、(G-C)/(G+C)、AT偏移、(A-T)/(A+T)、CG-AT偏移、(S-W)/(S+W)或嘌呤-嘧啶(R-Y)/(R+Y)偏移的序列中进行模型分析,并且提供用于确定语言序列复杂度概况的工具。例如,在n的滑动窗口中的GC偏移(其中n为正整数),根据公式(G-C)/(G+C)用一个碱基的步长计算碱基,其中G为鸟嘌呤的总数和C为窗口中所有序列的胞嘧啶的总数(Y.Benita,等,Nucleic Acids Res.31:e99(2003))。正的GC偏移值表示G碱基过量,而负的GC偏移值表示C碱基过量。类似地,计算序列中的其他偏移。在一些实施方案中,采用此类方法及其他方法来确定引物复杂度。

[0077] 根据一些非限制示例性的实施方案,使用核酸外切酶引物(TAQMAN®探针)进行实时PCR。在这些实施方案中,引物利用热稳定的聚合酶(例如Taq)的5'核酸外切酶活性来切割扩增反应中存在的双标记探针(参见,例如,Wittwer,C.等,Biotechniques 22:130-138,1997)。尽管与PCR产物互补,但是该测定法中使用的引物探针与PCR引物不同,并且被能够荧光的分子和能够猝灭荧光的分子双重标记。当探针完整时,DNA探针内的荧光信号的分子内猝灭导致几乎没有信号。当在扩增期间通过Taq的核酸外切酶活性释放荧光分子时,猝灭大大降低,从而导致荧光信号增加。荧光探针的非限制性实例包括6-羧基-荧光素部分等。示例性的猝灭剂包括Black Hole Quencher 1部分等。

[0078] 示例性的引物包括但不限于本文所述的那些。在美国专利公开号20120077200中也找到用于所公开的方法的引物,其出于所有目的通过引用并入本文。在一些实施方案中,用于本公开内容的方法的PCR引物包括但不限于图5B和5C的表中列出的以下那些,并且发现用于TGFBI基因检测。可以使用万维网primerdigital.com/tools/PrimerAnalyser.html计算每种引物的生物物理参数。

[0079] 在一些实施方案中,用于所公开的方法的实时PCR引物的语言序列复杂度为至少70%、至少72%、至少75%、至少77%、至少80%、至少82%、至少85%、至少88%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少99%。

[0080] d.检测探针的设计和检测探针

[0081] 本领域技术人员通常使用的检测探针包括但不限于水解探针(也被称为TAQMAN®探针、5'核酸酶探针或双标记探针)、杂交探针和Scorpion引物(其在一分子中结合引物和检测探针)。在一些实施方案中,探针被设计成具有比引物更高的T_m,以促进有效的信号产生。使用本领域已知的多种方法中的任一种来计算T_m,并且本领域技术人员

将容易理解此类用于计算 T_m 的各种方法;因此,此类方法包括例如在线工具中可获得的方法,例如在万维网promega.com/techserv/tools/biomath/calc11.htm上可获得的计算器。

[0082] 在一些实施方案中,检测探针含有各种修饰。在一些实施方案中,检测探针包括经修饰的核酸残基,例如但不限于2'-O-甲基核糖核苷酸修饰、硫代磷酸酯骨架修饰、二硫代磷酸酯骨架修饰、氨基磷酸酯骨架修饰、甲基磷酸酯骨架修饰、3'端磷酸酯修饰和/或3'烷基取代。

[0083] 在一些实施方案中,由于修饰,检测探针对靶序列的亲合力增加。此类检测探针包括具有增加长度的检测探针以及含有化学修饰的检测探针。此类修饰包括但不限于2'-氟(2'-脱氧-2'-氟-核苷)修饰、LNA(锁核酸)、PNA(肽核酸)、ZNA(拉链核酸)、吗啉代、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯、聚阳离子共轭物和2'-苈修饰。在一些实施方案中,检测探针含有一种或更多种修饰,包括2'氟修饰(又名2'-脱氧-2'-氟-核苷)、LNA(锁核酸)、PNA(肽核酸)、ZNA(拉链核酸)、吗啉代、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯和/或聚阳离子共轭物。

[0084] 在一些实施方案中,检测探针含有可检测的部分,例如本文所述的那些以及本领域技术人员已知的任何可检测的部分。此类可检测的部分包括例如但不限于荧光标记和化学发光标记。此类可检测的部分的实例还可以包括FRET对的成员。在一些实施方案中,检测探针含有可检测的实体。

[0085] 荧光标记的实例包括但不限于ABY、JUN、AMCA、DEAC(7-二乙基氨基香豆素-3-羧酸)、7-羟基-4-甲基香豆素-3、7-羟基香豆素-3、MCA(7-甲氧基香豆素-4-乙酸)、7-甲氧基香豆素-3、AMF(4'-(氨基甲基)荧光素)、5-DTAF(5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素)、6-DTAF(6-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素)、6-FAM(6-羧基荧光素;又名FAM,包括TAQMAN® FAM™)、TAQMAN VIC®、5(6)-FAM尸胺、5-FAM尸胺、5(6)-FAM乙二胺、5-FAM乙二胺、5-FITC(FITC异构体I;荧光素5-异硫氰酸酯)、5-FITC尸胺、荧光素-5-马来酰亚胺、5-IAF(5-碘乙酰氨基荧光素)、6-JOE(6-羧基-4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基荧光素)、5-CR110(5-羧基罗丹明110)、6-CR110(6-羧基罗丹明110)、5-CR6G(5-羧基罗丹明6G)、6-CR6G(6-羧基罗丹明6G)、5(6)-去氧罗丹明6G尸胺、5(6)-羧基罗丹明6G乙二胺、5-ROX(5-羧基-X-罗丹明)、6-ROX(6-羧基-X-罗丹明)、5-TAMRA(5-羧四甲基罗丹明)、6-TAMRA(6-羧基四甲基罗丹明)、5-TAMRA尸胺、6-TAMRA尸胺、5-TAMRA乙二胺、6-TAMRA乙二胺、5-TMR C6马来酰亚胺、6-TMR C6马来酰亚胺、TR C2马来酰亚胺;TR尸胺、5-TRITC、G异构体(四甲基罗丹明5-异硫氰酸酯)、6-TRITC、R异构体(四甲基罗丹明-6-异硫氰酸酯)、丹酰尸胺(5-二甲基氨基萘-1-(N-(5-氨基戊基))磺酰胺)、EDANS C2马来酰亚胺、氟胺、NBD和吡咯甲烷(pyrromethene)及其衍生物。

[0086] 化学发光标记的实例包括但不限于与Southern Blot和Western Blot方案一起使用的那些标记(参见,例如Sambrook和Russell,《分子克隆:实验室手册》(第3版)(2001),通过引用整体并入本文)。实例包括但不限于-(2'-螺金刚烷)-4-甲氧基-4-(3"-磷酰氧基)苯基-1,2-二噁烷(AMPPD)、吡啶酯和金刚烷基稳定的1,2-二噁烷及其衍生物。

[0087] 在一些实施方案中,标记探针用于在扩增期间在经扩增的区域内杂交。可以修饰探针以避免它们充当扩增的引物。可以用两种荧光染料标记检测探针,一种荧光染料能够猝灭另一种染料的荧光。一种染料附着探针的5'端,另一种染料附着在内部位点,因此当探针处于非杂交状态时发生猝灭。

[0088] 通常,实时PCR探针由参与荧光共振能量转移(FRET)的染料对(报告染料和受体染料)组成,由此受体染料猝灭报告染料的发射。通常,荧光标记的探针提高扩增子定量的特异性。

[0089] 鉴于本公开内容,如本领域技术人员所确定的,在所公开的方法的一些实施方案中使用的实时PCR还包括使用一种或更多种杂交探针(即,检测探针)。作为非限制性实例,此类杂交探针包括但不限于所述方法中提供的那些中的一种或更多种。示例性探针(例如HEX通道和/或FAM通道探针)是本领域技术人员所理解的。

[0090] 根据一些示例性的实施方案,例如,使用引物设计软件的电子分析并交叉参考保存在美国国家生物技术信息中心(NCBI)的基因和基因组的可用核苷酸数据库,方便地选择检测探针和引物。在一些实施方案中,一些另外的指南可用于选择引物和/或探针。例如,在一些实施方案中,选择引物和探针以使它们靠近在一起但不重叠。在一些实施方案中,引物可以具有相同的(或接近的 T_M) (例如,约58°C至约60°C)。在一些实施方案中,探针的 T_M 比为 T_M 引物所选择的 T_M 高约10°C。在一些实施方案中,探针和引物的长度选择为约17至39个碱基对等。在一些情况下,本领域技术人员在选择合适的引物和/或探针时使用这些和其他指南。

[0091] 用于本发明方法的探针包括但不限于图5B和图5C中列出的以下示例性探针。

[0092] 实施例

[0093] 实施例1:全球文献搜索

[0094] 对HGMD数据库进行询问,发现了62种不同的TGFBI突变。使用HGMD数据库来鉴定其中描述了这些突变的论文,以便构建全球分布图(图1A和图1B)。世界地图中的每个标志包含特定区域或国家/地区中报道的突变概述。概述包括种族、突变以及每种突变报道的病例总数(图1A)。突变在特定人群或地理区域中的分布没有明显差异。南美报道的病例很少,非洲或俄罗斯未发现任何病例报道。该地图可以用于提取特定国家/地区的信息,例如图1B中由红色箭头指示的伦敦。

[0095] 在全球范围内,在超过1,600个病例中报道的75% TGFBI突变由目前通过可用基因测试检测到的五种突变之一组成。尽管可能发表新的TGFBI突变报道,但是相反地,未报道在密码子R124和R555上发现的最常见TGFBI突变。因此,难以在文献中获得对TGFBI营养不良的真实全球检出率的准确评估。

[0096] 基于我们研究中的最高报道病例数的排名,通过将六种突变添加到可用基因测试组中来评价对TGFBI突变检出率的影响。图3的表中示出了五种最常见突变以及为扩展测试提出的六种另外的突变中每一种的报道病例数。值得注意的是,H626R是次于R124L的第四最普遍突变。该发现支持将这种突变纳入诊断TGFBI角膜营养不良的扩展组中。尽管在文献(补充材料)中仅报道了4例与M502V有关的TGFBI角膜营养不良,但是在一个样品中检测到M502V的杂合突变。因此,它包含在扩展组中。

[0097] 从文献报道的病例来看,在现有组中增加6种新突变可以使全球检出率从75%提高到90%(图2)。将另外的突变添加到可用基因测试中理论上使南美的检出率提高32%,北美的提高30%。欧洲和亚洲的检出率均提高13%,也从提出的十一种突变组中获益(图2)。

[0098] 实施例2:全球可用基因测试数据分析

[0099] 自2008年以来,通过可用基因测试在全世界测试了超过600,000个样品;大部分样

品来自韩国和日本,其中测试用于屈光前外科手术筛查。对全球测试数据的分析表明,韩国的检出率为约10,000人中的15人,与报道的870人中的1人患病率¹⁰非常接近。日本的TGFBI突变检出率(10,000人中的3人)低于韩国的。在韩国,该测试作为所有屈光外科手术候选人的常规筛查,而在日本,首先对患者进行严格的临床检查,只有那些未检测到角膜异常的患者才提交进行基因测试的样品。

[0100] 韩国和日本的诊所/医院使用基因测试用于筛查目的,因为它构成屈光外科手术实践指南的一部分。在美国,一些诊所/医院在视力矫正外科手术的术前检查时使用该测试用于筛查,而另一些诊所/医院使用其作为临床诊断的确认,或者如果外科医生对患者角膜中注意到的缺陷有任何疑问的话,用以排除TGFBI突变。欧洲诊所主要利用该测试用于这种类型的临床确认。

[0101] 实施例3:评估具有六种另外的突变的扩展组

[0102] 很少如2016UCLMoorfield角膜营养不良的人群研究对整个TGFBI基因进行Sanger测序。该研究为我们提供了一组数据,基于此来评价增加六种新突变位点以提高给定人群的指出率。简而言之,该研究由91例无关的TGFBI角膜营养不良病例组成,其中68例诊断为上皮间质TGFBI相关性营养不良(RBCD、TBCD、LCD和GCD),23例诊断为双侧上皮基底膜营养不良(EBMD)⁴。对于英国人群,评价了六种TGFBI突变组,以确定这些突变与五种突变基因测试结合是否合适。数据显示,英国人群中的检出率从90%提高到97%(图4中的表)。可以考虑其他候选突变,例如图4的表中的V625D和A620D,以将检出率提高到几乎100%。该发现表明,在可用基因测试中包括六种另外的突变,在提高指出率的同时,仍会错过在英国人群中的一些重要突变。

[0103] 19个具有临床指征(用原始基因测试测试为阴性的)的样品中的16个仍为阴性(占总数的84.2%),而在扩展组中三个测试为阳性(占总数的15.7%)。具有LCD迟发的临床诊断的母子对的WES结果为对杂合TGFBI H626R突变呈阳性。并行实时PCR测试显示相同的杂合H626R突变。发现第三个样品是M502V杂合的。Sanger测序证实了该结果。随后的患者病史揭示患者左角膜上具有非常小的角膜瘢痕。没有角膜营养不良或混浊的家族史。

[0104] 基于文献中的证据,向可用基因测试中增加六种突变使检出率提高15%。这与我们的样品队列(19个样品中的3个)的检测提高15.7%的百分比相吻合。没有检测到地理或人群差异;因此,新提出的六种另外的突变适合在世界范围内用作目前基因测试的增强手段。新的突变大大提高突变检出率。

[0105] 关于扩展组中存在6种另外的突变,19个样品的测试证明扩展基因测试提高TGFBI突变的可检测性。

[0106] 实施例4:突变的多重检测

[0107] 首先,对于如图5B所示的每种突变,将形式1(V1, version 1)引物、具有正常序列的VIC标记探针和具有突变序列的FAM标记探针组合以检测突变。对R124S、A546D、H572R、G623D、H626R和M502V中的每一种的检测是成功的。其次,对于如图5B所示的A546D、H572R和G623D突变中每一种,将V1引物、具有正常序列的ABY标记探针和具有突变序列的JUN标记探针组合以检测突变。仅对G623D突变的检测是成功的。第三,对于如图5C所示的R124S、H626R和M502V突变中每一种,将形式2(V2)引物、具有正常序列的VIC标记探针和具有突变序列的FAM标记探针组合以检测突变。仅对H626R的检测是成功的。第四,对于如图5C所示的A546D、

H572R和G623D突变中每一种,将V2引物、具有正常序列的ABY标记探针和具有突变序列的JUN标记探针组合以检测突变。未正确检测到突变。第五,在单一反应混合物中,将引物和探针混合以检测不同的突变组合。

[0108] 使用以下PCR主混合物体积计算和PCT条件:

[0109] TaqPath ProAmp主混合物体积;每次测试2.5uL

[0110] M502V V1引物正向和反向引物,以及VIC和FAM探针混合物体积;每次测试0.05uL

[0111] G623D 20pM V1引物正向和反向引物体积:每次测试0.05uL

[0112] G623D 50pM V1 ABY探针体积:每次测试0.025uL

[0113] G623D 50pM V1 JUN探针体积:每次测试0.025uL

[0114] 水体积:每次测试2.35uL

[0115] PCR荧光检测扩增循环数及条件:

[0116] 循环次数:40个循环

[0117] 循环条件;

[0118] PCR前读数(保持状态):60.0°C-01:00分钟

[0119] 保温阶段:95.0°C-00:20分钟

[0120] 循环状态:40个循环,95.0°C-00:30分钟

[0121] PCR后读数(保持阶段):60.0°C-01:00分钟

[0122] 在单一反应混合物中用于不同突变组合的引物和探针之外,如图6A和6B所示,仅V1 M502V引物、带有V1 G623D引物的VIC和FAM探针以及ABY和JUN探针在单一反应混合物中成功检测到了两种突变。R124S和A546D以及H626R和H572R的试剂组合无法正确检测到突变。

[0123] 下面示出了GRCh38.p7智人转化生长因子 β 诱导的(TGFBI)、染色体5上的RefSeqGene、NCBI参考序列:NG_012646.1 (SEQ ID NO:61)。

[0124]

```

1  agaggggaaca gaagcatcta ggagagattt ggaaagaaca cctgcaggat cttggtgact
61  gattgcacgt  gggggaccag agagcaggga caggcaaac tgaatgcaag gtttccaacc
121  ttgagcggca  ccacaggcaa gaatgaagaa atgaagaagg ggagctggac gaaagagcca
181  agggatttct  gcatttttga atgaattgct gctgggtggt gtccatttcc ctgaaggcct
241  ttatcctacg  tgcaagaaaa ctcgtgggaa gcagaggaaa ggcatgtgta agccaacaat
301  catctgtggg  catccttcca ctaaagtatt tgaggtcagg caactaaagc aacctcaaaa
361  gtgcctctgg  attcttctta gatattttag ctgagccaaa tcaatgaaac tctcatgaaa
421  aatcggtttc  cctggaaaat gaaattgggt tctaaccaac aagtagcatt tggcaggccc
481  tgattaagaa  agccagtgtt tggagaagt gtgaaaacag ccaagtcatt taagaaacta
541  aacactgggg  cctaattgcca ttctagggtc gcgacggctg ttctgttccc atcaattgca
601  gagcccgaag  cctcaagttt gttttaagtt cctgccatta caaacctgtc gattatccca
661  gcctcccttg  cgggctttga aaagagagaa gaatggaagg tgactgtggc caatttcccc
721  tccctgtcca  gtgtgtggaa gacactgaat atgcaactac tgacctgtg cctgggcatc
781  ttgaaggtct  tccacaaagt gagctgggcc tcagcggaag atgagagttc ctctgtggtc
841  acttcactgg  tacacatttt caggtgtatt tcgtttcttc catgcctaca taaattgaat
901  cctctgttaa  ccacctctga gctcatagct atttaacatg accctgtagt cctgtgcata
961  caaatcacct  tgggatctgg tgaaaatgca gattcagtggt gtcttgggag gttgggaggt
1021  tataagattc  cacgtttctt catgagagct agaaaaata aataaataa taaaaaattt
1081  ttaaattttc  cacatttcta atgaactctg ggggtgtgct gatgatgctg ttttgcagat
1141  cacattttga  gtggcaagac tgtggaaaat ccttgagaaa tcaatccaaa atcccctaaa
1201  tgggtactaca atcacacctt aatgttagta aactgagatg tttcttacct ttatttgtaa

```

[0125]

```
1261 catggaaaaa acaattactg tatatgaagt accatttctaa gttctgtgtg ttacacaagg
1321 gatggcaatt tccccaaaaa tttgattcac atcttttcat ttggatatct cttgccaaaa
1381 ctacacctttt tttctcccta gcaagtcttg gggagctgaa ttttaagagc tctttattta
1441 gctatatggt ggctctgaa aatgattttg actgtatctt ctgtctccat gtatgcccaa
1501 gcatcaccag gaacttttag gagtaaggaa aaggcaggcc tgggtgcagc tgggctgcag
1561 atgccagctc tcccaccaac agggccagaa ccagtttctt tcctaggttc ctttgtgaag
1621 aacttggttg aactactaat ttatcatgat gcataaagct tgtgtcata ccctacagta
1681 ttattttcaa aacctgaatg tttttggtga cttttcatgt gccacaaaat gtaaaagcag
1741 tcatttttta aaaagtgcct gaaaaagtct agtaaagatt cttccaagca agctcactt
1801 tctcctgttt agattgttta atctggaagg aaaaaattct ttctcaatg acagggtttc
1861 tgggtgctctg tgtttgcctg gttggctctg ggtcatctgg ggatggaggg tccctgctct
1921 tacctccagc agcatcactc ttgtctccaa agaagcagca acctcaggtg ggagaatggt
1981 tatactcaca gcattctgct tttcatgttt gaaagagggg atgggtggtg gggcatggat
2041 gtgggatttt aaaaaaatat ctaaaccata aataaagtat tactgcaatc tctttactga
2101 gctcatggaa aaactcaagt catcgaatgt tagttttgca gactggagaa gtgaggtcca
2161 gtgaacttgc ttgacttgcc ctaaactctg ctagagagag agctggaacc agatggcagg
2221 gctcctggcc tcttacatac aaggagcatt tttcctagaa actgcaatgc agccaaattc
2281 tactggtctc aggggaaact tgttctggga gtcagcctga gcttgaatc ctttgggttc
2341 ttcccattat cctatgccaa gcagtcatgc tgaaaccgag aaatgttttg ctttcaataa
2401 atgaaatgag cattttcaga taattatttc tgtagttgct caaaactatc atattgtttc
2461 attgaaccct actatataga acaatgactg gggagaggta ataataataa tagcaatgca
2521 tatttattgg ccattttact tgaattgtat catgtaatct agtttagagt cctgtgaggt
2581 aggttttatt atcctctcta tgaggttgaa taacttgccc aagaccacac agctaggaag
2641 tagaaagact ggtatttgaa cccatcttct ccttttcttc tccttctctc tcctcctctc
2701 ttccaacacc tgctcccaag gaagctcatc cagtgcata ctttagctac cacctgctcg
2761 tagtggtgac tcaaactctgc atctccaatc ctcataccta tcctgagctc aagacctttg
2821 aatatagctc cctcctgtcc atccctctct gaaatgcagg tggcttgctc acacataatg
2881 tgaacacaaa tggagcactc tcctcacaca ccaaagtgtg caccttcacc acgtgccca
2941 gcacaggcat cccttctctc cagctatgag cctcgagggt agctctactc cccctcccta
3001 accctgcatg cccaaggggt ttccaagtct aatcaatgct accactaaaa tctcccatac
3061 acctgttccc tctctctcac tagcttgatc actcccatg caggccctca gttgctttat
3121 gctctcagta ggccctcctc cagtgccac actctctccc ttctcctcc caccttcttt
3181 ctaccagagt tctaacctct ccaagcccg cttgtctttt tctttccctg gctgccatcc
3241 taactcgccc ctctccttct cagacaagct tctacatgct actcatctct ccatcaaacc
3301 accatattcg ggctttggcc atctgctctc cacagccaag tccccagtg cctctctgct
3361 tctgacacag tgaaagccat tcagatctgt cttggtggca gcattcctca ctttgagcag
3421 cgccctccta ctaggatacc cctccttgac tacaaccca cattctctac ttctgggct
3481 cttctgtcac tggaggatga ctcccagtg tgaatcttca tcccgctcc ctcactcaag
3541 cccccgatcc tcatatccag ctttatctc atgggatgct tcaccaggat gagtcataag
3601 cacctcagac tcaggggtgc ccaaaccact catctacctg gcaagcctgc actctgcatg
3661 tgcctcattc tgaacatggc accatcacct gctgcaatgt ccagaccaca aacaccctac
3721 aatatccttg actctccttt ctccccttct ccctgtatac agactccaaa ttctattgag
3781 actattacct cctacacccc tcacatttgc ccagccttcc ccatctctgc ctctaccacc
3841 atagtccaag ctctcccatg gtcccttctt ggttacctgt tcttcttgcc tccttaagcc
3901 tctcatgaca ctggccatgt cacttgcttc caccatcac ccgctaggct cttagtggga
3961 gtctggggcc tgctaccctc ctccccttct tccctaccct tgactccacc tccctgtgct
4021 tcagccaacc agataaactg agtttctgta atgcatgcct cagtttacct gattaactca
4081 ttttcatctt tcaggcctca gagcaggat caccctgtca gggccagggt cctcttctta
4141 gctcccaaag ccccgctac tcttcatgga acatcattgg cttgggctac ggatcttccc
4201 aaattggagc tttttcacia agggcttagg tctcactcat tctattaatc catctgtgtc
4261 tccccagggc tagcagtgcc aagtaactga caggtgatta atagatgctt gggtaagtat
4321 cacctcttta ccatgtgaca atttgtttac ctgccttgag ctccctcagg gcaggactct
4381 tgcctttgca gaatctatct ggcaggtaact gttgcagaga tgtttactga agaagggaa
4441 gaattagtac caaggtgagg accccaccct tccccacggg ctccaaaagc agcttagagc
4501 ccaacaaaac ctgccccaca ttttggcgt ttctgtggat cacacgattt actcatctgt
4561 ctttcaatga gcatgacagg tggggtgggg gtggagggat tagagattga ggagctgggg
4621 aggggtggtca gctcctgggg tgcagaaaca agtctgatgg gccatggtgt tctgggaatc
4681 agcactgcct cccctcacc ctccctgcag tgtttttag cctcaagatc agtgaggga
4741 tcttcggggc ccagcatgc aggaccgaag cccccgagac agctgtccct cagtcccaag
4801 gtccccattt ggaagcagcc acaggaggcc taagggacct atacccttg tttgaggaag
4861 actgtggcga gggagagagg gagggagggc tggcagtgag ggcaagggct gggaaaactg
```

[0126]

```
4921 agcacgggca cagtgcggga gcgggtgggt gccaggggca gccaggggcg cacgggttgg
4981 gaggcgccag gcggcccgcc ctctctgcac ggcccgcccg agcttccccg cccctggcgt
5041 ccgctccctc ccgctcgcag cttacttaac ctggcccggg cggcggaggg gctctcactt
5101 ccctggagcc gcccgccttg ccgtcggctg ctactcgcct cgggtgcgct cgtcccgcctc
5161 catggcgctc ttcgtgcggc tgctggctct cgccctggct ctggccctgg gccccgcgc
5221 gaccctggcg ggtcccgcga agtcgcccta ccagctgggt ctgcagcaca gcaggtccg
5281 gggccgccag cacgggtaag ccgagccgcc tggccagggg ctgcggaagg tcaggtagtc
5341 ggggctcgga gcgcaagccg ctgggggcat tgaactgggc tgggggcgca ggggacaaag
5401 cccgaactaa aaaccttgca gcatggagcg ctgggacacc agccctgcac gcggtggaag
5461 gagagaggga gggaggtgga ggacctgga gggaaagcgg gagcccgcg cttttagaaa
5521 gggagtgggg aagtggacca gagactttcg acgcaggcca agagcctgag acggacagcg
5581 ctttcagctt ctctcccag ccactgcaga aaggggaaa tggcaactct ttggcataa
5641 tcaccgtggg aggttgccaa gggcaaagcc caccagcag tacacctatt ccaaccagc
5701 caggcccccg gccagcgact ccagacaaga acctgggcca cacacggtgg cagcatctaa
5761 ggtgccccag gctcctgtgc tcctggccag gccctgact cagacactgc tggcaccga
5821 cactgctctc tgggtacagc aagggcaatg tggcacttct tgcctgccc gatgaagagc
5881 agggaatgc actgggccc ctacacact gttcaaattg ggaaactgag tcctgagtgg
5941 ttccactttc ccacagtcct gaagtgtgca ctggagccag gattggagtc tgtcttaaa
6001 taatagctgg gttttagaat gtaggacact atcattgcag gaattcctt gagacctga
6061 agatgtgttg gctttaggag acaaaactca gcagaaggct tggctgata gtggccctaa
6121 tactgacca ggcagaggca ggcaacatt ctacctcaa aaccaggcca tacctgcgtc
6181 acaaataccc aggttttgc gcagcttcca gcctacctgg ttgcaccaac tcttttttca
6241 taactaggta aaactatata tgagtagaat cttgtagtga ctctcagag gaagcctaaa
6301 taccatcggt gtctggcggt cacaccaca agcaatgcc aaacctcaa gagactgggc
6361 agatctgtgc tcaaatcaaa actcattgtt ggggtgata gattgactt cacaggccct
6421 gaaagtcttg gctccttgca ctaggagtgc tctgggtacg ggtacaggct gccccttgta
6481 gggcatagtt gctcctgttt cctctacttg tggctttatg gtctaggcct ttcaggagt
6541 tgggctctg gcggagagg cctgtggga ccatcttg gcacatctgg ccacctgca gactgaaatc
6601 aaaccaggcc tggctgcaac ctcaacacc tcctggaaag aggagaatac tggggatatc
6661 ctggggtctt tctggaagt ggagaatcag ctttgacttg ggcagtgtgc agaataagat
6721 gaggggggat gtcagaaaga tgagagggat atgaggcctc aacatcaaaa tgcaagcacc
6781 tggcattttt attatctctg cccacctctc cgttgggtct tctgcctttc ctgccaatga
6841 attgtgttat gtttgggtgc ctcaatttgc ctaggagggt tctatttctt ctgtatcttc
6901 gccactaagt caggagaaga tccttatagc atgccctgca acagtgtcac ctgtaagggc
6961 atctctctgc acagccacag tgaaggatcc tcaaaggat tgagggcttt ccatcaagag
7021 ccactcttac agcaaacctc tttcccttca gagccagaa gactgctgac cagctggaaa
7081 acagggtttt tttcttaaat gcagatgctc ttgattatga gttccagata ttagatcaac
7141 ttccccacca taccctgca ggcaaagcct cttaattagc ttctgcagc acagctggaa
7201 aggcctattg taatctgtga tgggcagagt aatctaagaa gtcacaggag caccctgtc
7261 ccagtagaat ctggatgctg aggcacatga acctggcaa aatggttgca ggcacagttg
7321 tatttactct gatctaactg tccctgttaa tgccacagg ctgcctggcc tggcacacag
7381 ggctgtggcg ccttgtgcaa atggataacg ttgttctagc tccagccttt cattcaaagt
7441 gaaaactgtt agaaaggga ggaaaacttt gctattttta ggaattgtag cgtgctgcct
7501 gatatgaagg aagaaataac agctgtgcct tgcttgtgct cagcactcga ttgccgcttt
7561 tgctttcgac ctaccacaa cacagtgaga tctactgttc atgttccat tttacaggag
7621 gtgaaaactg agcttagtga ggtagagagt gacttagttc agacacagaa tgctgttggg
7681 agagtaataa ctatgatatg gtctcttgac tccagctat atctgtgttg ctataggga
7741 ggggaaaaat aatactgaaa gagaagtaaa aatacaatca cacttccaaa catcaaccac
7801 caaaaactga actgaatttc ctgaagcact tggttttcaa atctaagctg aacatcaatg
7861 ctgttattct tgaggcccag aagcaacttg ctcatctcaa ttaagcttca gcatgaactt
7921 cctatgtaca cagcccaccc acactccccg atgtgagaag gagagggtca cagccgcccc
7981 cagcctctgc tgctgccaca aggacagcag cagtggaaac attcagcaa ggaatgttgg
8041 agccacatcc acaagagact cactgaagat tcgccaaacg cctacggaaa gtggcaggga
8101 attcattgac agtaattgtt tcctgcttga tcagattgaa gagcttctgg gattctgtaa
8161 caataaatag gaccgggggc tggagtatgg ccagcaagga ctcttcagg gttattcagg
8221 gactgtctaa cctgtgaatc ctaggcagca aacagaaacc aggtattcag aaatctggag
8281 gatttgggtc gggccagcta ggactaggga ggcatgggct tctgctggct gtggtccctt
8341 ctccagcctt cacttctctt gtccctagat ccttacatgg attcattaat gctcattgtc
8401 cctcctgggc cactcactt tcacctgttg aacaaaaaac tggccaagag gtgacagtca
8461 tatcaccgca gaagagacag ggagagaaa tgaaggggca gaatggactc caccacaaa
8521 gcctgactct gaatatattga gaattgttca agttcctgca gaggaatcat gatggggaca
```

[0127]

```
8581 gtaggtgtag tttttactgc aatattggtg tcttcttaac aaatacgtg cacatcaagt
8641 gatgtctgtg gatggcattc ttaaagtaac agggaaattg atgttaaaga aatacttcat
8701 cctttgggtg atacctgaag ttctctgagc ttggagggtc tgtgaaagcc ctcagtattg
8761 tttgttttat ttgctttcct ctgacttggtg attcagtcag atgcatgcct gctctggct
8821 caggaagatc aaccctctcc tgactgacca cgcctctcct gactgaccac gtagcacagc
8881 agcttccttt ccctaggggc tcctaataaa gctttcaca tcacctggcc tgagcacagt
8941 ttgggtcagg acttggtata cttgaaaaaa acatgcaaaa ccaaaatcct gtggttctgg
9001 aaaaggcttc ttagcagaac cccagacat ttacactctg ctttttcaca gggctcctga
9061 ggattctttg gatctgggta gtttggggag cagtattttc aacaagttca tttcgtgctc
9121 cttctacacc ctgctgggat gctaggcccc atctagaatg tgaacaacag aacaaggcag
9181 aacacttgct ctcaaggttc tgttgagtgt tagatgcaga gaagagacac cccccacctc
9241 cccgcatcac ttacaggaat tctgtttgga acccaacatc aaataaggac cgtatccact
9301 gtcaaggagt gggaagcagc atgtcatctg ggacattgga gaaaggctcc tgggggaagt
9361 gggacttgag ctgtgatcta agtaataaac aactgagagt taaatgggag agcatcccct
9421 atcagggtcc tgagagcaac cagccatggt ttaaaccagc tataaagcct cgggtttata
9481 ggatagacag taacaatggc ttgtctttgg gagccaagca gctgggtccag gcatgcagag
9541 catgtctgta tggagagctg cctgagagat gcttttggtt acacttatca attgcccagc
9601 tcaaagaagg atatgtacat gaagttacat cagtatgtaa gagagatttt aacaattttt
9661 gcaggggaag ctttcatggg ggctgatggg aatctaggta aacagaacca aagtctaaac
9721 ccaagatata cccagtacca agactgaaat gactctctcc tctatctcta gaaagtcca
9781 gtgaccaag gaggcaaaca cgatgggagt cattaaagtg ggggtggact gctgatcatc
9841 ttctaattc tgctgctttt gttttcagcc ccaacgtgtg tgctgtgcag aaggttattg
9901 gactaatag gaagtacttc accaactgca agcagtggta ccaaaggaaa atctgtggca
9961 aatcaacgtg agtatctgta accagccagg agaccaagct gtatgcacgc tgggtgcagt
10021 tcccagggc ctgggcccagc cttctagaag gtcagggtgc ctaaaaagcc atgaagatgc
10081 atgtgcgaac atgtctggga cctgcgtgct agggagtggc attttttagga agctggccaa
10141 ttttgttttg catttttaag gctgctgaca agacttgag acatttttca gggctggttt
10201 gggtttgcaa gaaacatgaa acactgcgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt tctcaatcct
10261 cataaaataa tacagatatg cagtggagaa gccaccagca tgtgactctg gaaaagaaag
10321 cccattgggtg aatctgtact aaagaatgcc atccctatct tacagtccta aggtaaacac
10381 ccaaaaaaga cttagagcac taaacatatg cagattatga gacagcatag catataatat
10441 ttgcacagac ttcttcattc aaaccctagc tctacctggg ccagctcgatt catctttaga
10501 accctccatt gctttacctg aaaagttcgt ataacaaaag gaccacctt atggggttgt
10561 tacaaggatt gaatgaaata atgtacataa gagactgaat atgggtgcca gcatatatca
10621 gtgctcaata aatgctagct actattatta ttatcaccct agatttgcaa atctagacca
10681 cacaagcaga agtaagagt ccaacggggt gtggaccagt gtgggttaca tagggcttgt
10741 tgatgtctgt ttcagcaagg agggaggcag cttttacccc actgccagc tccctgggtg
10801 aatcagggtg atgttctaac aattctgggg aaacctaata tgttttgga ctgtcaacag
10861 atctcaaagc tggctgtctc ctatagctag gaagatgtgt atgacaaatc tcctgagcca
10921 cttgtgaagg cctgaccttc ctctgtctc catacataat gggatgatta agaaactcta
10981 agccactctc ttaagcactt ttcaatgtta gggattttta agtttattgt tgtgacattg
11041 cttttgagca gacatctcct ccaatttaat agccaactga aagaagagaa aatgctcttt
11101 ccttaaactg tatgtggaaa taaatattcc aatgtgtgac cctgattatg ttaggcaatt
11161 agcaatccta atatgaattg agggaaagtt ggattcatgg cacagctggg gagataccag
11221 cagtccctgg gagcctgtcc agggcagggt catggcagct tgctccatgc ctgattgaca
11281 gccagcctg caagctaaaa gttgagttag ctaggaggac aactgcca gattcagcta
11341 acagacaccc agcgatatc ttgctgctat gaacaaaagg agactatgca aattatacac
11401 caccattctc tccaggatgc ctgacttaaa aaataagaaa aaagatgggc cgggcacagt
11461 ggctcacgcc tgtaatcca acactttggg aggcgagggt gggcggatca caaggtcagg
11521 agacagagac catcctggct aacatgggtg aacccgtct ctactaaaaa aatacaaaaa
11581 tattagcggg cgtgggtggc ggcacctgta gtcccagcta ctggggaggc tgaggcagga
11641 gaatggcgtg aacctgggag gcggagcttg cagttagcca agatcgtgcc actgcagtcc
11701 agcctgggtg acagagttag acaccgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaagaaaac
11761 ctttagtact gattgatttt ttcccatgtg tgtatattat ctactcaaat taacaattaa
11821 ttacttaatt aaacacaaag ccaggcctca cctaattgct tcttggaagg tgaccagagt
11881 gctagtcca agcaaaacaac tcttctatat ctcaagagcc ctgggcttca gagggccatc
11941 ttttttgtaa attcaagttt ctctgaaaaa ggagaccgtt ttatgatgac aagctggcta
12001 cagggtagca tctgccacac tgtttcgggg gtgccgctgg gctgaagcat ttgccagct
12061 agttaacaat agctcgataa cattccctat cagtgtccag gctgagaata ctgtcagtga
12121 tgagtcgcct tggctcttgt acctgtatct ttgtgtgcca ggacaaggca caagcaacag
12181 agctgtgtgt tgccaaaatg ttctctgatga gcaggtcaac ccctcggggg caggtttgga
```

[0128]

```

12241 tatgataatg tggatgatgt gtggcgagc tcccttaccc agtgagcaca aggggagtc
12301 tctaggaaaa ggaagaaatg tctggatgag gtggggagat ggggttcaga gtggactcag
12361 gcaaagcccg atgcccagtc ccagctgttg gcctagtctc acaaagccag aaggatatga
12421 catttacatt caactcttga atttgtggcc actgctttgg gcaacttcaa agagagaaaa
12481 tgaagataga aaaatattat ttgatataaa acttctagga caagagaggc ccttcctgga
12541 acattacatg tagtattagg aaggtggagc tgccctggaa aagatccaga gaactcagag
12601 agaggaagag gtggaacca tctctgttct ttagagagag tcagtaagag tggcttggca
12661 gggctcctgt gtacctgaga ccaagaccag tgaggaggct actgtctgac caccatacgg
12721 tcagaattca gtgccatggg tggtcagggt ggaaagggag aggaactgtc tggctggagt
12781 tgatgttatc ctggggaaag taggtcccta gatgccttta gttgagttag gagcagactg
12841 ggaaatggga gcacagtagt ggttggggca aaaaggactg tctctgcatg aggtccatag
12901 gcagttggaa ttttctcagc aagactccag agaaggaggc tggagcagag gtgtatgttg
12961 ggatgaaaag gagtaaaagta tcatggggga ggaggcagct caggttgtca agggtaaga
13021 aaccagaagg agaatttcac cttggaagca gacaacgggt accaagcata caggggaata
13081 ctttgtggtg agaggtcaca cagagatata ggagccgacc tggtagaca ggagcctgga
13141 gccacctgcc tgcttttgtg agggcccaga ctccactgct atcatcaggt gaagctctgt
13201 tgctgcaca caaaagcttt tctgcattta caaagagaga agggcctgag tttctggtgc
13261 aatgcgtcaa gctgacatat ggactttatt acaggaagtg gttaccagtg ggtccctatt
13321 tagtggctgt tattgtgaat tttattgttc ggaaattcac tttagcattt atttcagatc
13381 ctaaatagca ccggagtgat acaatggcta atcaaacaaa gagggctgtg gggagcagac
13441 agtcagcatc cccctctgtg atttcaggcc ctggtttgat tagtagccat aaaatTTTTT
13501 acgtgtggca ctttgagcaa aggtgcagga aattgtggct aggaagcctg gctgctctc
13561 gacaggcttc ctttgtgcta gccccaggga gaggaggcct atttaacagc caagtccaag
13621 ttgacatcat gggactggaa tagtcatagc aggagctcag acatcataaa cgtggcatag
13681 ggagggctgg tggaggagct agcgggtatg ggtggcagct attcattcca aaagtcttga
13741 aattgtttca cgagcaacac atttcacaag tgcaagccc ttctctggag ccaagatgag
13801 ctggcagagc actcctgttt ctctagtagc aagtgttctt ttgcccaggg gcaaaaatat
13861 taatactcct tcagcactgc attaatgctt aaagatttaa cttttaaaga gatcagctgg
13921 tgcatggtcg agcttttcca tcagctggca gggctttttc agtaggtgtc cttctgggca
13981 gggcactggg gacagctgac gtgaaggtga agaagagctg tcgttttctt cccttatatc
14041 ccacaacctt ggtcccaaga ggaaaaaaa gaagatggtg agaagtcata caagcagacc
14101 ccagaccat actagtgcct ccttctctgt ttcatatccc tgtgcagcca gctgggatct
14161 cttgaataat ctgctctggg ggcactgaga ttggacatac accaaacagc ggagatcgac
14221 caaacgcctc tgttgggagc tgtttcttga ggttctgtc ccattctgta aactaggagg
14281 ctgactagct gacaaggaat tttattctgt tgggtattta catgaacctt tgtgccacct
14341 gggtaagac cctgtggtag gtagaaacat gacttcccaa aaatgtccac atcctaattc
14401 ctaattctgt aaatatattc ccttactgga aaaagagact ttgcagggtg gattaaatta
14461 aggatcataa gagggagaga ttatccagga ttatttgatg agtctaatat aatcatcagg
14521 gtacttaaaa gagggaggca ggtgtgtcct ggtggttcac gcctttaatc ccactctt
14581 gggagactga ggcgagcggg tcacgagac aggagttgga gaccagcctg accaacatgg
14641 tgaactccc cctctagtaa aaaaaaaaaa acaaaaatta gccaggcatg gtggtacaca
14701 cctgtaatcc cagctactca ggaggctgag gcgggagaa tgcttgaacc caggaggcag
14761 aggttgtggt gagctgagat cgcaccactg ccctccagcc tgggcaacag agcaagactc
14821 catctcaaaa aaaaaaaaaa agggaggcag tgggatcaga gtcagagaag gcaacgtgat
14881 gatgaaagct gacatttgag tgatgcaacc acaagccaag gaatgcaggc agcttctcaa
14941 agctggaaag gacgagcaat ggattcttcc ctacagcctc tgtgaggaat gcagcctttg
15001 attttaacc cataaggccg atttctgact ctagcctctg gaattgtaag ataatttga
15061 tgatctcaag ccactaaatt tgtggttaatt tgtcacagaa agcaatggga agccaacaca
15121 ggccttattt gttgacttat agatgcattt ttctttattt caatgtactt ttatcaatgg
15181 tctcatgtag ggtattgctt tcaatgaaga tattaacata gtttcaactt taaggtttat
15241 atctggagtt tctttagaag cttcacaact gaccacttag taaacagtaa gcatctgtta
15301 agtgcttctc atatgtaagt tcattcaatt ctcaaatca cactataaga taaatatgat
15361 tattagccca ttacagatg aggagacagg ctcaaaagac ttttatgcaa cctggtcaaa
15421 gtcattcact ggtaagctga ggaggctgtt ccacttcctt ttgctgcccc cagggggtat
15481 caagcctggc agttagtgtc agcgacttag gagtgaaaca agtgagcagg cctgtaggac
15541 ctggctaaac tgccccaggc ctctgtctac agcctcaaac ctgtggctgt ggggtccaga
15601 gacaaggcct cctcagcatc agagaaggat gcctttgtct cagggtcatc aaccttctcc
15661 aggttgctca cccctgctg taaaggggat cccaagacc gctcatcaga caaggagctt
15721 gggaactgag gagacacagt cagcctccag gagtcccaa aatgccctca catgctgcat
15781 acagattgcc acaataaaag tacatccaca ttctgaagac tctgtcctca tcaccaacca
15841 ggctggcccc tggtaggggc tgtagtgggt gaggcctttg ttggtagaca gtaggttaaa

```

[0129]

```

15901 gcaagccatg attttctatt gggaggcttc agaatacagct cagctgtgtt tccaagacca
15961 ggagggcgaga aagcaaacca tcccaggcaa gcagtccatg ggccatgtca gatgtctaga
16021 cgttatgggt ctgtgtttgc tctgccattc ctctcggaac ctatgatgcc ctgtatgggt
16081 taccttcagt cacaggtgac tggcctacag ggccattcct tgttccaacg acttctcgag
16141 tataattaat ccccaggcat ttacggccag agcagccggc caaatccgtg aagtgcagtg
16201 gttgttttaa attatattaa cttcttgtaa acttatttta gggagagaaa actcagtact
16261 tctctctatc caatcttgag taaaaatgtt agaagggact ggtggagagc ctcccagaca
16321 tccctacaca tagactttgg gttgacatta tctctttgca ccttccttga aactttcttc
16381 taaattaggt gccttcccta atttaggcac cttccagta ctagtctgtg acctgttagg
16441 aaccaggcca cacagcagga gttgagtggc agggagttag cattattgcc tgagctccgc
16501 ctctgtcag atcagcagt gcatagatt ctcatagcag tccgaatact attgtgaact
16561 gtgcgtgtaa gggatctagc ttgtgcattc cttatgagaa tctaattgcc gatgggtctga
16621 gatggaagag ttctatacca aaaccacccc ttccccctgc caccatctgg ggaaatattg
16681 tctaccacga aactgatccc tggtgccaaa aaggttgggg accgctgtcc taagggatct
16741 gctttttctg acctgaggtt tttctttatt agactgtatc tggctgagga gaagcctgaa
16801 gcctttaatc ggaacagctt tggctgatga gattagattc agaaaccaac agattggtct
16861 tttctatgca gggaagccta ggaactgggg ggctatggct gggaagcccc ctattgtttc
16921 catcctttcc tatgttctac ctggaggaat ggcatcagac ccatgcctct gtgattgtc
16981 ccagcccatc caaccacagc atctatgttc tgcctgggac cagggccagg gagcatggca
17041 cactgagctg agtataagga gagtggagca ggccactgcc agcccagaaa attttgggtca
17101 aagttgcctg aaatcttctc agccttcgat tcacagctgc tctctgctgc tctggggcca
17161 tgcagaccag ttcagaaaag agttaatttg ttggggcagt tggaggcagg tggactgcca
17221 gctttgacac cttcccagcc cacaggctgc tgcactgggg ctgaaggcgt ggctaacccc
17281 tgcacaccta gagagtgaac gagatgccag actgggcagc aggaaggcaa gaggattaa
17341 agagagcttc ctggctgaaa gccacactcg gttaaccagg aaaaagccct tggcacgaga
17401 agactcagt gacctgagga ctgagccttg gttgttgggc atgtgctgca taagccatcc
17461 atgtgtgaca gtagagtga gtccagccac tgtgggacat ggggtctgaa agaccacatg
17521 gagaggaaca gtgagtgtg acaagggcta gccttgatca ctttgagac acccctgtg
17581 tctctatgat gtcagacttt ccaaactctgt ctgctatcct ccaaactgtc attttcaaga
17641 gcaatggaaa aaggattgga cttgatggaa tgcagcaaga gtcctaggtc tgttactacc
17701 tacctatgac cttaagaaac tccctcacc ctcagaaacc ttacagcttt ctttctgatt
17761 ctatcctgag ttactctact ccaagctgag acttttctgc ttatagctat ccttctctc
17821 taaaccccca acctccattt ctctggtgt ctttctttac acaccctca gcatacacac
17881 acacctagcc acaggaacca atgagttaat atttgaggag ttggttttct ttgtctctca
17941 atgagatcct ggtgaggcca cttgagctgt tcagctccct tgcgggtatt tggggatgga
18001 actcagaagc caacaatata gaaaaagagt ctttggccag ctttcccagg ggctccatgc
18061 catagagagt actgcacccg tgtgcacagg gggccctgac atgaggactt tgaggataac
18121 actattcctc caactctgct tcagcatctc catggatttt cacacagaca ctttaggaaa
18181 gaaactaagt ttggggggac ttgacctaat cccacatcac agcccagta atacagccct
18241 ggaatttatc acagaaagcc tagaatccca tgcataccc atgcatagc atccctagtc
18301 ctatgggttc aaggcttggg gctctcctcg gatttagctg ggaaaagt ggcagaggtt
18361 cttctctgtc ttctagaaat atggactaga atcgtgagtg tgagattgca agtaactttt
18421 aaaatcatct agtttaactt caccctattt catagaccaa gaaactgaga ccagagagag
18481 aaatggactt tcaagttcac cctgctagtt actgatggat cacaagtcaa atctcctgat
18541 tctagcactg tttctcttac accacaccac ctttgaaagt gtgtcaatca aatcttactt
18601 tagttgcaga ggatgacttt agtttctgaa gataaaattg tgagtcaatc aagatgagtc
18661 ccaagacaat agcctgttta gcccttataa gttcagggat gaaaggtag aaagaaacag
18721 gatggaagga ggactggaga aaaaaacaaa agaggaagga aggaggagga agcaaacagg
18781 aaaaaaaaag aatgtgcata gctgtcact cctcagtcac ttcctgggag cccatttcta
18841 gcaaagtgac agctgcaact cctggccac ctgagcatct tagctgatct gtctctgaaa
18901 caccctctgg agaacagatg aatcaggctt catcttcgct taactaagtc ttccctgaga
18961 cgactccatt taaatgaaca agagcaggat ttcctgggca cactgagagc accttcaga
19021 ggccctcca gagccctaaa gcctgtatct cttccagtcg gcctgtttct ttccctggtga
19081 tgtcattaaa cgccctttga gagtcccaca gtgagcagtt ctgcggtaaa acccgctgca
19141 attaaagtct gagtcctttc ctgtctcaaa gggcatattc atatagaaga aaggaaaagg
19201 aaggactggc tgtttgcatt tggttccagg cctgttgagt agaggtcgtg ctactccac
19261 cgaaggtaga gggtagcctt cagcagaacc tggggatttg gttttaagca agtcttctct
19321 aggtgtgggc tttcagaaca cttccttctc tgcaatatta tttgaaattc tcagtgtttt
19381 agcgttcccc agaattattg ttcgttaaa ctgtgtattt cagatctcca gacagtggtc
19441 actgtttgta tattttcaat ttcaaaccag aaaacaaaag ttcttattga ttactttttt
19501 tatttaaaaa ataaaaagta agtatcttcg taagaggagc tttgttttaa ttttaagtt

```

[0130]

19561	taaaattttga	ttgtgaagac	agagaaaaac	ttgatgattg	tagatatatt	ccctcttttg
19621	gctatttcaat	cagagaacta	gaaaatcatg	agagatttaa	tgaccactgc	ctgatacaca
19681	tatgtgtttt	acagatgagg	aaactgagac	ccagagagat	gatgaaattg	gctgaggatg
19741	gccagctgg	tcagtgaag	actcagagcc	agagctggtg	cagggctctt	tctattcctt
19801	cctgttccct	ttcaggaaca	ctcaccatcg	gctttcctgt	gaataatgtt	gagataaaat
19861	ccttggtgca	ttatgttttc	tagtcacaac	attgactagg	ctgccagagt	cctctgttct
19921	cccagttggt	tggctgtagg	tgttggcagc	cgccaggagc	attctacaga	acagaggagg
19981	agtgagactc	tccttgctca	ggaaaggcag	acctatgact	tagcaaataa	ctcctaagag
20041	gagagtgttt	caccacccat	tcctcttcct	tggctgtgga	ggcaacttag	tggagagggg
20101	ccagatgacc	tgtgaggaa	agtgaagccc	tgccatacac	aatgtatggt	tgtcttggtta
20161	cagagtcatc	agctacgagt	gctgtcctgg	atatgaaaag	gtccctgggg	agaagggctg
20221	tccagcaggt	gaatgaatcc	tccgggcctt	gcctgttggt	gtgggtggaa	gggaatggtg
20281	ggagagagga	gtacccacat	aaaaggcagc	agagtgtgaa	tgggggcagt	ggcacaagga
20341	catggcattc	tcccacgtg	cccactggcc	ccaggctcta	tgcgagggg	tgaggatggg
20401	aagctggaaa	cagcgcat	cctgagctgc	tcctcctggc	ctccttagca	cctcgtgga
20461	gtagactcca	actgtggcct	gtccatgccc	ttcccagcag	gcacaggctc	aggctcaggc
20521	tcttgccctc	tgccctctggc	tgggagtgat	tctaaacaca	tccagcaggg	tcagcctgat
20581	agcccatcag	tttccgatca	gctctgctag	agagccgatg	ggatgtggga	ggaggggggc
20641	actggtgggc	tggcaacccc	aagccatccc	catctccctc	tgtgtctaaa	cttggccctt
20701	tggagtctcg	tagggagaag	agccataggg	caggtgggct	caccagagt	cagcagagag
20761	tcccacaaat	ggttgactg	ggcgaaagac	agcatggcac	ctgtgaattg	tattagagct
20821	ttctttttag	tgctacacac	aagtgcagt	acaggggagt	tagtattttg	ttttaatttt
20881	gaaatagagt	catcttttgg	tatctgctgg	ggattgattc	taggacccat	tctaggatgc
20941	catatcctca	gatgttcaag	tcctgatata	aaagtggat	agtattttgca	tgtaattctat
21001	gcataattct	ccatgtactt	taaatcatct	caagattact	tataatacca	aatataatgt
21061	aaatcctatg	taagtagttg	ttataccctc	ttttaaattt	ttgtattatc	ttttattgta
21121	tttcaaaaaa	tatttttggg	ccatgttttag	ttgaatctgt	gggtgaagaa	cccacagata
21181	cgaagggcc	actgtattgg	ctattttttt	agttaagaat	gtgagactga	ggccaggcgc
21241	agtggctcat	gcctttgatt	ccagcacttt	gggaggccaa	gaggggacga	tcacctgagc
21301	caagaattcg	agaccagcag	cccgtgcaac	atagtggagc	cttgtctctt	aaagattgtg
21361	agactgggct	gggcacgggt	gctcacgcct	gtaatcctag	cactttggga	ggccaaggca
21421	ggtggatcaa	ctgaggctcag	gagtttgaga	tcagcctggc	taacatagtg	aaactctgtc
21481	tctactaaaa	atacaaaaaa	attagctggg	tgtggtgggt	ggcgccata	atcccagcta
21541	ctcaggaggc	tgaggcagga	gaatcgcttg	tatccaggag	gaggagggtg	cagtggagctg
21601	agatagggcc	gttgactctc	agcctgggca	agaagagcaa	aactccatct	caaaaaataa
21661	taaataaata	aataaataaa	tcagtgaact	gagacataac	aggaaggagg	gcaatttggg
21721	tggttccaag	gttccttagag	tatgtgatgg	gagagggttg	tgcgggtggg	gcatggagg
21781	tactgactca	agtggaggga	caggtgggga	aatgggatgg	gaaaagaaga	ttgaccttag
21841	aaggggagct	caacctctga	accctaattt	cagacccttc	aaaatgaata	ttaagctcat
21901	tttgggtctaa	gaaacaaaaa	acaaatgaac	atgaaactca	ttttgggtct	ataaggtctg
21961	agaaacccct	tctaaacttc	aagctgcttt	aagaaataac	attttattac	ctgcaaatat
22021	acacagtact	ttggagattt	ataatagtct	cttattctaa	tagaagccat	tagggaacca
22081	gtttcaataa	acaggtaaat	ctgtgaact	agtttgtaat	taggatatct	gtttccagtg
22141	tccattcctg	cctctgttat	ctaaatgtct	gggaacaaga	gctgtgctct	gctgtgttta
22201	aaatgattaa	aaatcaccaa	ttagttgagt	tcacgtagac	aggcatttga	cttattgagt
22261	tgttttaaga	agactataac	aagccttaag	ccccccagaa	acagcctgtc	tttgggcttt
22321	cccacatgcc	tcctcgtcct	ctccacctgt	agatgtaccg	tgtctctgt	cagagaaggg
22381	aggggtgtgt	tgggctggac	ccccagaggc	catccctcct	tctgtcttct	gctcctgcag
22441	ccctaccact	ctcaaaccct	tacgagaccc	tgggagtctg	tggatccacc	accactcagc
22501	tgtacacgga	ccgcacggag	aagctgaggg	ctgagatgga	ggggcccgcc	agcttcacca
22561	ttctcgcccc	tagcaacgag	gcctgggcct	ccttgccagc	tgtgagatga	cctccgtctg
22621	cccgggggac	tcttatgggg	aactgcctta	cttccccgag	gggtgggcat	gatgaatggg
22681	agtctgcagt	catttcctac	tgtttcagga	agctttctcc	tttaaccctt	agaaaaggct
22741	gtggaacttg	agctaaaata	tgtcttacc	ggttgctgt	aatgcccccc	gttccctact
22801	gggcagaaag	acttgggtgc	ttcctgagga	gggatccttg	gcagaagaga	ggcctgggct
22861	cacgagggct	gagaacatgt	ttcccagagt	tgcaaggacc	catctcttaa	acacagagtc
22921	tgcagccctt	aactgacacc	ctgtccttcc	tcctaggaag	tgctggactc	cctggctcagc
22981	aatgtcaaca	ttgagctgct	caatgccctc	cgctaccata	tgggtggcag	gcgagtcctg
23041	actgatgagc	tgaacacgg	catgaccctc	acctctatgt	accagaattc	caacatccag
23101	atccaccact	atcctaattg	ggtaggggat	ccccagccat	actgcatggc	ccttgggtgca
23161	taatgaaccc	atctctgttc	catgtgtggg	ctggtttctg	gggtttaagc	tgtagacaac

[0131]

23221	ccaccctctt	tgtgcctgct	tctccttggg	ccctctattc	cacagcttgt	ggaaccaca
23281	ttttgctact	gtgtttgaaa	acactgtttt	ctcctcccgg	ggctttggga	ctatgcctct
23341	gttgtgttga	ctgctcatcc	ttgctgcttc	tctgggcaga	ttgtaactgt	gaactgtgcc
23401	cggctgctga	aagccgacca	ccatgcaacc	aacggggtgg	tgcacctcat	cgataagggtc
23461	atctccacca	tcaccaacaa	catccagcag	atcattgaga	tcgaggacac	ctttgagacc
23521	cttcgggtaa	gggactgccc	tgggtggagg	cccaggttgg	ggacacattg	cctcccaaga
23581	ggggcctagc	aggaactctt	ctgcaggaga	ggtagaggat	ggctcctgta	ggggaacata
23641	gagcagggtc	ccctgaatgc	ccttgaacat	ggagaattca	ttgaccgac	attcagcttg
23701	acctaacctg	tgaattcttc	catcttcttt	ataaagtgtt	cccttccttg	cctcccttgg
23761	aaaggtcagt	ggtgtgtggc	tgcagcagca	cagtgtcctc	tgagccctgg	acctgacttg
23821	tggcttccag	aggtggcagt	tcccacatgg	ggtactagaa	taaatggcct	atcaggctgt
23881	gtgtgctttg	ggatcacatg	tccccaccct	aggaccctgg	ttccaacat	acgcatgttc
23941	tcttgagacc	cagaacagca	gagaagccac	cagtgtggac	acagaagtca	aggttctgat
24001	ttccagcctg	gcttctgact	gctctggggc	cgcaggaata	cggttccttc	ccccatgcc
24061	agcagcatt	tgtcttcaaa	ctggaggga	aggcatgttc	ctcttggcaa	cagctgtcca
24121	ggaggaagtg	gaggcaggct	gccctgtcag	ggtttttgcc	ttgattcaag	gagaacttcc
24181	taaccacaaa	ggatacaagt	gggagtggag	cggaccctcc	ctagagatct	ccaacacaga
24241	gagacaaa	cgctggggct	ggctggcact	gacaggcctc	gcagggtgtg	atggctgtta
24301	gctgggagct	tcgctgtcta	agctcctctc	ccatgctttt	cttctgggtt	gctcgaagga
24361	cgggggtctg	caagaaaatg	atgttccac	atagttggca	gcacgtgaac	agcaattgat
24421	ccctttgcat	cacctcctct	tactgtttag	atttggtaaa	tatttcttcc	ttccctcttc
24481	tttggcctca	ttttgccgat	cttctcttct	tataacacat	acttactagg	tacctgtac
24541	ttcccggtg	ggcctatgtg	ccaggagtat	agaggtgaac	aaggaaggca	aagttctatt
24601	ctcagtagag	ctaatactct	atctggagag	agacaacaaa	caaataca	aggtagccag
24661	gggtctgtgat	aatttatgtc	aagtgggcag	gtaaatcggg	agtgacagta	gtgcaggag
24721	gattggaaag	tcaggagatt	ctctctggag	gaggtggctt	ttgatctgca	gcctaaagga
24781	tgagaatggg	tccattatac	aaaatgctgg	ggcaagagca	caccagtag	aggggagagt
24841	aatagcaaag	gctcagggca	ggaagggcaa	gggagaggcc	agtgggtgag	gtcacatgtg
24901	aagggcatac	aatgggcaaa	gacaaggcca	gagtggccag	gcccaatcct	ccaggccttg
24961	cagacctggg	aaagagtgc	tctccatcct	gggagcagca	ggaaaccact	caggccttta
25021	gaagatcctt	ctggcagctg	tgtagagaat	gggtgggtgtg	atccttccat	gcatgggctc
25081	atgtacgtga	ttaccagtaa	ctgtcgagtg	acagtgtgag	gagggctgca	agccatgagt
25141	gtaggcacag	cagacagact	cacctttgtc	tggcgggtgag	atgggggtgg	aagtgtgcca
25201	agttgacctc	ccaaagaaat	gatatttttag	tggagaatg	aatagaatca	gagaagcaaa
25261	gtaagagggg	agagcagaga	ggacagcagg	gacaaggact	tgggggcagg	aagaggaag
25321	gcaggttaag	gacatgaaag	atggccagtc	tggctggagc	tcaggccctc	caaggccttc
25381	tgggggccat	ggtcatgggt	gagcttgggt	ttggcttctg	ttttcgtctt	gggcttctgt
25441	gaaagcctcg	agcccttgcg	gggaaccagt	gaagctgtgt	gtgcatcttc	tgtggggagt
25501	gccagagtct	tcaggagca	ctccatcttc	tctcctcccc	acaggctgct	gtggctgcat
25561	cagggtcaa	cacgatgctt	gaaggtaacg	gccagtacac	gcttttggcc	ccgaccaatg
25621	aggccttcca	gaagatccct	agtgcagctt	tgaaccgtat	cctgggcgac	ccagaagccc
25681	tgagaggtga	gcctcctttg	gctcctgtctg	ctgcctcatt	tgtgcagcta	gattgagccc
25741	aagacctgct	ctgggtccaag	atgaacatag	cacctgccat	gaggtgaccc	tcaggctatc
25801	cactgcagcc	atgggctggg	gtcatcctgt	cctgttgctt	cagctaaccg	tgtctctagc
25861	agccacacta	ctctgagggc	tgactacaga	atccagcagc	ttttgtctgg	gagagctgga
25921	ctgaagagag	gcatagctgg	agacccatag	ctggccctgg	ccagaaacag	ggagagtga
25981	aggctggaat	agccaaggcc	agagcaaggc	taataggtag	agcaacagct	tacagggtgtg
26041	gggttggcag	atactggcac	ccttgaaatg	gattcctcat	gcccacgctt	cactattctt
26101	ctctgtggct	aggggattta	tggataaacc	aaaattacag	ttaaaaacca	gccataggcc
26161	aggcacagt	actcacgcct	ttaatatcag	cactttggga	ggacaagggtg	ggcggtcac
26221	ctgagatctg	gaatttgaga	ccagcctggc	caacatggcg	aaacccatc	tctactaaaa
26281	atacaaaaat	tagctgggca	tgggtgggtgg	cacctgtaat	cccagttact	caggggctga
26341	ggcaggagaa	ccacttgaa	ccaggagggtg	gaggttgca	tgagccaagc	ttgcaccact
26401	gactccagc	ctgggtgaca	cagcgacact	ccgtctcaag	aaaaaaaaa	aaaaaaaaacag
26461	ttatagtagt	caacttttga	ctctccattt	cagatttctg	catgccctcc	tcaatgagct
26521	gctaagttag	gcagtgcatt	gattattgtct	gcaggagagg	gaaggaaggga	gctaaccgtgt
26581	tttcacatgt	tttccttttg	gagatgagaa	aggaggactc	tgccttcccc	ctaccctgcc
26641	cctttctact	ccaggacctc	tgaaggcca	tgagcaca	gctgctgcct	gagtcctctg
26701	aaatgcaggg	tacgccccag	gtctctgatg	taccccaacca	cacttttctc	ctcaaacata
26761	ttccaggatc	acttgatttc	ttttgaatct	atttaaacc	accgtgtcaa	tgtgctatat
26821	aaaatgtcta	atgcatttca	gacaccctat	acatctatac	atttaaagt	ttctccttct

[0132]

```

26881 atctgtgcag ggatgggaaa gggcatatatt ctgaaagcac agatgggaag acgggatttg
26941 ttccgtgtcc aggtgattat ggtacctcta tgcgcctggc cggcactggg gacagaggcc
27001 atgaaaatga atacagcaca gcctttgcct ccaagaaact taagacctag tagaaatggc
27061 aggcctttaa acaggttgtt gggatctgat ttggtgagtg caatgacaga gatactcaca
27121 gcacaaaatg gggaatgagg gcgggcattg ggacacacat agccttaagg ggcccaaagg
27181 cttttagaac tgtattccct attaaaacat gatttgacac gagcacattc tttgctttgg
27241 agacctcaga actccttact ataggccggg catggttata atcccagcac tttgggaagc
27301 caaggcgggc agatcacttg aggctgagag ttcaagacca gcctggccaa catggtaaaa
27361 ccccgctctc actaaaaata caaaaattag ctgggtgtgg tgggtggccac ctgtaatccc
27421 agctactcag gaggctgagg taggagaatc acttgaacct gggaggcaga agttgcaata
27481 agcccgatc atgccactgc actccagcct gggcaacaaa gctagactct ctcaaaagaa
27541 aaaaacaaaa caaaacaaaa caaaacaaaa aaaactcctt attataaact gtaagaaaaa
27601 aaaggccctc acttcgtccc ttttgcaaat ctgccttttc ctactacta accagctggg
27661 tcagattgaa gacacttgtt ttggtgccat cgctgcagac tggaaggagg aggtccttgc
27721 ccacacacca acagtctcct gctgttaccg gcaggttggc aggcaggcag ggcagaagca
27781 gccagggtcg gtggtgtgtc cagtttgaag actagtttcc agccctggcc ctgctcacc
27841 tccaagtggc cctggcaggt tctctacca catcgtggac ttcaccttcc tctctaaaga
27901 agctcaatcc ccaaggcctc attcccatag gccttctcac cctttttctt tccctctggc
27961 tgaatgtggc cagcacgggc ttccaaggcc atcaactcgt ctgcagcagc cccatgcctt
28021 gcagggcctc agagcttccct cctgcctatg acagtgtggt tttggttccc acacttggga
28081 tcagattgaa actcgcctcc gtggtgagaa tatgggacat agagcctcgg tgaccttggg
28141 gagcagcagt ccaggccacc tgctcagcct ggggttgggg ggggctctc ctccttgact
28201 ggtccttgca tttgcctcca tccagcctgt ctgggctctc cgaggcaatg gagaccagca
28261 ggagtcacga tgggtcagga gcccccttg ggctcagcc ctgccctgcc ccctaaagta
28321 gacttggat aagcaataa attattatac ttactattta tgggtgtggt gaatgggatg
28381 gcaaaggcca agtcttactg atcaccaaac cttaagatat atcctggcag ctagtagacc
28441 cttgggctaa atgaacagaa aactggacaa ataaagtgtg cacaataaac tcaaagctgt
28501 catttgtaca cttttcgtct tttcctcata cagtttacct ttttataaag gtgagtagat
28561 ttctaaaatc ccgtggtagg ctctcttgag ttttcttgt atccctgaag ttcagctaca
28621 aataagctaa tctaatacat ttgttgagca tttactctgt tgtcaggccc cgtgccgagt
28681 gctttagggt cagaatttca tgtcatcccc acagcagccc taggagatga atgcaattct
28741 tatgtccact tgactgataa ggaagttagg gttcaaagag gctaaatgac tctcccaggg
28801 tcccacagct ggaaagtggc cacaggggcc cagctggttt tctagggcag caggcagaag
28861 gcgaggagga tctgggccct gtggtgcccc agcctcatct gagggtcctc atctgagaga
28921 acaggatcct cacagcatgg caggctgca agtggtccct gaggttatcg tggagtggac
28981 cctgacttga cctgagtctg tttggacccc agacctgctg aacaaccaca tcttgaagtc
29041 agctatgtgt gctgaagcca tctgtgctgg gctgtctgta gagaccctgg agggcacgac
29101 actggagggt ggctgcagcg gggacatgct cactatcaac ggggaaggcg tcatctccaa
29161 taaagacatc cttagccacca acggggtgat ccaactacat gatgagctac tcatcccaga
29221 ctcaggtagg ccaggcctcc gggggccttg gccctgcctg gccaccatc tcttctgcca
29281 tcttttgtgg cgggggaggg gaaattcaga gatctttggg cgacttccct gctggacc
29341 agctcacagc ttctcgcca ctgcaaatgt gtgggttggt accagactga tgtgtcttga
29401 gcttcaggct tgcaagtgca gtggagaggc agtggggagc tattgaaggg gtctggggac
29461 agactcaatc acagaggcct ttcagaagat ctgcctgctg tgcatgggca aagagggcca
29521 cttgctgacc tcagagcatg tgctttctca gtagtcccc agctgtcccc tggctactga
29581 ccagttaga atgactgaat ggactttggc ttgtgtctca ttaggaatcc tagccccatt
29641 ctagtcttcc agtgagatct gtccatgagt gaaggaatct cacaggaata acaaaaatgc
29701 tcttatgggt gtggttgctg gccttatcta caccacagaa gccatcacac agactgtctt
29761 tcttcccat gttagaatgt gccctgacca agcagcccac agggcctggg acagaggctg
29821 atctctgct aactgagctc acctctctc cctctctcc tgactggtta gattttctag
29881 gtgactgttc ccctgatgac acaagcccg tgggccccag cagtgtttag aggggttgtt
29941 gactcacgag atgacattcc tgctgatgtg tgtcatgccc tggggtggat gaatgataaa
30001 tgaanaacagc gcttttaact tttgaaccca ctttctcctt ccttgtagcc aagacactat
30061 ttgaattggc tgcagagtct gatgtgtcca cagccattga ccttttcaga caagccggcc
30121 tcggcaatca tctctctgga agtgagcggg tgacctcct ggctcccctg aattctgtat
30181 tcaaaggtaa catggggaag gcatccctgt tagattgtcc ctggaggcac cttccccacc
30241 cctgtcacct ccacaacact ctccgattta cagcacccca tgggacatta gaacttccac
30301 tcagctcaac caaaagcaga tgtgacttca gcagaaactt cagaggctct gttgtttcat
30361 taggcagtgc agagaatgcc tttggggagc cgttcctcag aactcaagac ttgacatctg
30421 ggaggcagcc gttcctcaga actcaagact tgacatctgg gagagcagag cattcccttg
30481 cctttctatt tgcagggtca cttgccaatg tatagtcaag aggtcagagt gagggtacag

```

[0133]

30541	ctgagctgca	gccccaggaa	ggcagagaag	ggggccaagt	tgtgtgctgt	cctgcccttc
30601	cctcttaggg	caaaactcca	aacacccttg	attatctgga	tcttctttaa	ttctccatag
30661	aagataccag	atgttaagga	atattggcag	cttcacttgg	tttctcaatc	cctgtttcca
30721	aactcaagga	gggatgggct	ttttcactgt	atttatctct	catcactctc	ttcattgcag
30781	gagcacatct	ctctggacct	aaccatcacc	ctttcttgta	gatggaaccc	ctccaattga
30841	tgcccataca	aggaatttgc	ttcggaaacca	cataattaaa	gaccagctgg	cctctaagta
30901	tctgtacct	ggacagaccc	tggaaactct	ggcgggcaaa	aaactgagag	tttttgttta
30961	tcgtaatgta	agttctgggt	cctaaatcat	gctcctggga	agctccttac	tgtgggacct
31021	gtattagtgt	aaaaaaaaat	gtcctcaata	agcaggagtt	tgcatgagaa	ctgggtgctg
31081	acaaggaagg	aaataatttc	tggaaaatat	agataacaaa	atgagatcct	gcagaaggat
31141	tggaatctct	ttttctggag	gcctttgaga	ataaaccaca	caattatcca	acctgtattg
31201	tgaaggaata	agtccttctt	gaattcagga	attaacacct	gggaggaggg	atggagttca
31261	gactctttct	gagcttatga	gaagagaagc	cccctaaact	aaaatacagc	cctccttggg
31321	ccaaaagggtg	ccttctctct	tctgctgtat	cttctttgtt	ttcaaaccca	acagttaccc
31381	tggaaatcaa	aaaggaagta	caactcaaca	tagctcttgc	ctgggaccaa	ccagaccat
31441	ttggctaaag	atggttatca	tctgttaaac	aaagaaataa	ataaatgggt	tcaacgtatt
31501	tatttcaaca	ttgtcaatgg	acctcatgtg	taactgatat	tctcattatg	ggacctctgt
31561	gtgactttat	tggggcctct	ctaaccgttc	tttcttaag	gaagaccatt	tattgtttta
31621	tttctggag	aaaatacatc	attttatccc	agccttaata	acccatccca	gtgtatactc
31681	cttcatcttc	atggataatg	accctgctac	atgctctgaa	caaatacagga	ggccccctgt
31741	ggaagtataa	ccagtccttt	ctttctctgt	ccctcttctg	tgagagccct	ctgcattgag
31801	aacagctgca	tcgcgccca	cgacaagagc	gggaggtacg	ggaccctgta	cacgatggac
31861	cggtgtctga	cccccccaat	ggggactgtc	atggatgtcc	tgaaggggtt	caatcgcttt
31921	aggtaattag	ttccatcccc	gggtggagct	tctgccagct	ggtcatgctg	gagtgggatg
31981	tggggcccca	gctatttctc	aagctttctt	ctaccttggg	gattcaatta	acactagcag
32041	tgactgctg	cgaccttcca	gacttgggat	ggggaaaagg	caagggtcgc	cttgaaagct
32101	tacattggga	agaagggtta	cttctaagag	tgtaatcttc	acatgcatgg	gaagcaggga
32161	ggggggacta	catttttatg	actgaagtgc	aaggaaaaca	tcaccctctc	attgtaaagc
32221	tccaagttag	ccaagagcac	atagtttaca	gtgcacgatg	agcctctcac	tctctgcgca
32281	gtatctgttt	attgcaactg	aagcaccctt	gtgagtgtgt	tttcttgccc	ggctatctcc
32341	atttctgact	tgctcattca	ccttgggggtg	ctgtcatatt	gaatgtttcc	ctgtcactga
32401	cttcagccac	ctgcacaagg	gcttggagac	cacacccctc	tgccctccca	gaatcatatc
32461	cctggaggct	cagctagtct	ctgggtcagc	catacctctg	ccctttcttt	tccctccttt
32521	ctcctgtggc	ctctgacgtc	tggccattta	acagagctta	gcatttttgc	tgggtggaga
32581	gagctggagc	ctggaatcac	tccctctttg	tgcatacgga	gggcatgaaa	accaagggtg
32641	gtgcattcca	gtggcctgga	ctctactatc	ctcagtgggtg	aggtatttaa	ggaaaatacc
32701	tctcagcgtg	gtgaggtatt	taaggaaaat	acctgttgac	aggtgacatt	tcttgtgtgt
32761	gtatctacag	catgctggta	gctgccatcc	agtctgcagg	actgacggag	acctcaacc
32821	gggaaggagt	ctacacagtc	tttgctccca	caaatagaagc	cttccgagcc	ctgccacca
32881	gagaacggag	cagactcttg	ggtaaagacc	aacttaagta	cacgtctcca	tttttctaaa
32941	gtagtgatcc	ctcagggccc	cagcagcaaa	cagttggcac	atcaaggatt	gacttgaagg
33001	gattttatga	caagactatt	agtgaagag	tggcggggac	taaaggaact	agcaaaggat
33061	gaggccaacc	agggactagc	aaccctggga	agcctttact	acccctaggc	ctgggggaat
33121	gggaggatga	gagcaggaac	cagggaggtc	atgagccttg	gacaagggca	cagaacagca
33181	gccagagcca	tgtgcagcca	gccactgtca	gaaccatgca	agggggacca	ctcagcgccc
33241	cagcctccct	ctcagacagt	tgccatctgg	gtctcttggt	ggctgatgcg	agagcaggag
33301	ggagccact	gatgcagttc	atagagctca	gcctcctggg	caggaaaccg	ggcagagagg
33361	agtagaaaag	aattaagggt	ggctgcgacc	agcccagtca	ctgaggcacg	tttccactg
33421	gagacctatg	agcacagtga	taataaagcc	agttacctgc	actgactatc	cctccagaca
33481	aaagctttcc	caagaagtta	gtcatggctc	tgagagatct	agttgaggat	gtttggcagg
33541	ggatctagtg	gttacgggtg	gctaagaaaa	atgaggaagg	taagagtatc	ttgcagcctg
33601	tgttgggagg	attaaatagg	atgccacaca	cagggccagg	cagacagcct	ggctagtaat
33661	agccatgacg	atggggcgcg	ggggagcagg	aatgggagtt	gcagtgttta	gctcagatgc
33721	atgcctgtga	gagatgcttc	cactctcaca	gaaagatgag	accaaggaaa	aggaggagga
33781	agaggaagga	ccttgacaaa	ccttggggcc	cacattgtct	acacctccct	tcctgctcta
33841	gagcagaata	gaaagttag	gttgacaggca	gctctaagtt	gaattcgtgt	cctgtttaat
33901	tttctttatt	gctaaatgaa	tgccctgtgtc	tgtgatgctg	acgtatgttc	ctaaggagag
33961	gggagaagtt	cattctgaac	ataaactttt	catcctctct	ctgtccagca	agaatggaat
34021	attccccaag	tggcctgagc	cagcttggct	ttctttttgt	tttcaattat	gtgggagttg
34081	aggaggggga	tgggaaaagc	ttcccaacaca	caccctcccc	caggcctgag	gcaccctgg
34141	gggacagaga	gtgttagagg	ttggtacagg	tgtagagat	attgaaagga	catcccatgc

[0134]

34201	accccagggg	ctggtgtggc	tctgtacttc	caggcaatat	tttgtggaag	gggaaccttg
34261	tcagctccag	gttgtggatg	tttgaaaatc	agttgggtacc	cagtggctcc	atcctctggc
34321	aggcatgttg	atthgtcaat	aaccaagtga	actctccaaa	ataagttaaa	acttctctcc
34381	ttctcagttt	caagatgctg	gaaatagctg	ttcataagcc	ctggggaaat	ttagcccttt
34441	ggctggtaat	gggagtatcc	gagatgagag	ggcagctgga	aactttcgga	atgacctccc
34501	acacttaatt	tgggaaatgc	ctctgcacct	ttatgggcaa	ccagatgcct	gccccagttg
34561	ctggagacac	tgatgtgggc	tgaagggaat	gctgagacgt	gacgaggaga	gatgctgcgg
34621	agggaaatc	cccctcagcc	ctgacctcat	cggctccatg	gctcctccac	agtacagctg
34681	tctactcttt	taagttctcc	cttcaggaaa	tagccatctc	aaacagaatg	tgcatttgag
34741	ggcagaatgt	gtaaatattg	cactactgtg	ttataaccgt	caggagccat	gctgatgatg
34801	aaacgtccca	gatgccggtg	ctggaaaggt	ccctggcttt	ccaagcaaat	atthtatctca
34861	tggaaacatg	agtcatactc	acagaggagt	atggattaac	tccttctcag	cagccaggga
34921	gcccagcatc	ccagacagca	tatttaaccc	agaggccaac	tgactgctgg	ggcagatttg
34981	tggcatgaa	catgtgcttt	gtgtcctctg	accattagac	agattgtggg	tcacaacgtt
35041	gagtatacag	tgggagctta	ataagtgtct	attccctggg	cagggaattc	ttcatttcag
35101	gggtgaccac	ttacatcttc	tcctctgggc	cctccttgac	caggctaatt	accattcttg
35161	ggattaactc	tatctccttt	tcctcgcaacc	tgaggagat	gccaaggaa	ttgccaacat
35221	cctgaaatac	cacattggtg	atgaaatcct	ggttagcggg	ggcatcgggg	ccctggtgcg
35281	gctaaagtct	ctccaaggtg	acaagctgga	agtcagcttg	gtaagtgtcc	tgcaaatcaa
35341	aggctggcta	aatttcccca	gggcagggtc	ccaggacata	tctcaccctc	aggatggaat
35401	tatacacaca	caaccttcaa	gttgacggcc	gaatctctga	gtgtaattcg	tccaaagaaa
35461	aagagaaaa	agaagagggt	cttcagggaa	atcaagttag	atcatagtta	gacatgagta
35521	agaacttcca	gatttacaag	ggaatagagc	atctgatttg	gcatctgaga	gaggctatta
35581	gatcttctct	ctcttaagga	gggtgtaggc	aactagtatt	gtgactgaag	agatcagctc
35641	gtactcacac	catcccaccc	cccaaaccac	gggcttcact	gagttgtacc	atgaaccaga
35701	ccatcccaag	aggctttttg	agttctgaca	cttgctctgt	gagccttccc	ttgctctgca
35761	cattgatgat	ataactttgt	aactgcacta	agagtgttcc	taaagcagat	agccagccga
35821	gtctcagaaa	tctccctggc	tgcactctga	gaggccactg	acccctctgt	ggagggaccg
35881	ctcttcagtg	tgtggctggc	ttctactctc	tgctcctctc	tcttggtctt	cagccatcca
35941	ttgtcaccca	gtttctcacg	aggagcatag	gaagatatgc	atgtaggggg	gtaggcacgg
36001	ggatgacttg	tttgacttta	gcagggtcatt	caagaatctc	ctcgacactg	gtttcagatg
36061	ctggggctct	gtctgtcaca	ggcttctgtg	cctcctaccc	ccttgagttt	gtcacatggc
36121	ccttcaggaa	ggcctgagat	agatttgccc	tgggtggggc	tcctatgaga	aaatcttaag
36181	tgaggcaccc	aggcaaaatg	gaaagagcct	tttgcccaga	gcagggaagc	tgtcttccat
36241	ttccagctgt	tcacactact	tagcttaaaa	gaggcacttc	gcctgtcttc	agctcagctc
36301	tcagtctcct	cttctgtgga	atgggacaa	aatatctact	ctccttatca	tacactgctg
36361	tgaggactga	gtggatcaca	caaaaaagca	ttatgtaaat	tgcaaatgac	taaatccaca
36421	caggagattt	gaattaatcc	accacactga	aggtctgtca	agggcaggga	ctgtttcatt
36481	caccagagta	tcctcagctc	aacacaggac	ttggcatatg	aaaagtgttc	agtaggcccg
36541	gtgcagtggc	tcatgcctgt	aatcccagca	ctttgggagg	ccaaagtggg	cggatcatct
36601	gaggtcagga	gttcaagtc	agcctggcca	acgtgggtga	accacatctc	tactaaaaat
36661	acaaaattag	ctgggcgttg	tggcacatgc	ctgtaatcac	agctactctg	gaggtcagg
36721	caggagaatc	acttgaaccc	aggaggcgga	ggttgcagtg	agtcgagatc	atgccactgc
36781	actccagcct	gggcgacaag	attgaaactc	catctcaaaa	acaaagaaca	aggaaaaaaa
36841	cgaaaactgt	tcagttaaaca	cttgctgaat	gaataaaata	aatatataaa	tgtataaata
36901	aatgctctac	tttcaaccac	tactctgttt	ttcttttaga	aaaacaatgt	ggtgagtgtc
36961	aacaaggagc	ctggtgcccga	gcctgacatc	atggccacaa	atggcgtggt	ccatgtcatc
37021	accaatgttc	tgacgcctcc	aggtaagtgt	cgcatcccca	ctgactctgc	agccagtcct
37081	tttcttcatg	tggcagtttg	tggagagaag	aaaaactggt	ctaaacaatg	atgagaataa
37141	catgtaatgt	tgatagttaa	actgtgccta	tgtgactgat	tgacagtgta	attgggagct
37201	gttggttttg	aatgcaccac	actaaggga	gtgaggacac	attgctcttt	gaggagtgtc
37261	ccagctatat	tagctcccct	cggacacagc	ccagttttct	gtattcgcgt	ggatgctgtc
37321	cgcgcatctc	ccagcactcc	tcttacagca	tctcacctca	gtgtatgttc	cttgccctca
37381	gtgcagttga	acctcagtc	tgcctctcct	catgtgtgca	ttcaccttcc	ttggtgctct
37441	ctccccatgg	gccaagtctt	accatgagtt	atgaaacatt	atggagaaaa	catgtctttg
37501	gaaatgtgag	ccagaaagcc	caccagtgc	cctcagtcac	ggttgttatg	aatgacatgc
37561	taatggtttc	actctgggtc	aacctgcctt	ttctttcctc	ttcagccaac	agacctcagg
37621	aaagagggga	tgaacttgca	gactctgcgc	ttgagatctt	caaacaagca	tcagcgtttt
37681	ccagggtaag	atgcctgcta	ggtttgccgc	tagcctgagc	agcctcaggt	cctctgtttg
37741	ggccatagag	gagcctctcc	agccccgtgc	ttccttggtc	gctccccagg	gctctcttaa
37801	aacttctccc	cactcccact	gaggcatcct	cagccccagc	ctgtgtcaaa	ttcagagtaa

[0135]

```
37861 agaaccaagg caactccctg gctttcatgg gccaaagcgc aggctttcac accgaggcct
37921 ctgagcctca gatcatgggg aagtcactgc tggagagaac agacatagct ctggaagcca
37981 tctgcccaag agggcagccc atcccaagtt catcttacag tggccaggcc tgccctgagc
38041 cggggcctct gggtcactct tctgctgtcc atggcattgc ccatcctggg tgaggctggg
38101 gctctcctgg gcactgtatg tattctggat acagggatac tgggctcgct atgtgtgtgg
38161 agccatccct tccttgcccc agccccacct cctctctcaa cctctcttgg ctctttctga
38221 gcttcctttc ctgctcccca gcttgcccag tgctcagtgc cccacttggc tcttttgcta
38281 tctcgggtca ggtggagcct cttgggaatg tgaagtgcct tacagaaaga ttgcacttca
38341 agaggagagg ctgcagggag ccatcctaaa cccagaggcc tggagcttac tgtgtcactt
38401 tacttttgta cacaggggtc tccttagtgc cctcgagaag gattcttggc cctgagcttc
38461 tactcctgag gccacctctg tgcagcccca gctccctcaa ctctaggctg tagtctcagt
38521 gggaaagcct ggcttggggg tctcctagga atgtccacct gaaggcacac ttgatagggg
38581 cttgcacaac ttatgtctgc caaggccacc tgaggaaact cctggtgcct ataagttcca
38641 ccttcccttc gcttccttc cctcttcctc gccccagcta tttttctgag taggggtggc aatgggcaaa
38701 gccattgtca taagcagtgt caggataaac tttcactaga aaacctgaca ccttgtgttt
38761 tctttcaggc ttcccagagg tctgtgagac taggtgagtc tggctgggtt ttgaagtcat
38821 tgcagacctg tttaggcctt accccaagc aagccaagc ctgccatctg ctgtatatag
38881 ataaagaacat catggtgcag taaaagaagc ctggcctttg gagtcagaac agcaggggtga
38941 cttgggggtca gaccagagc accccatttc cttctctgta agatgaggat aataagagta
39001 acaacctttt agggttaagg tgagttttca gcttaggaag tctgggaata ttgcaaaggg
39061 cttggcagga acccatggtg aggatctagt tccaagttga taggtacaga aaaccagaac
39121 atcgggcctt gagtaaaag gtaagtttca caaaccacaa agcacctgct atgtgcagga
39181 gagcatggca gaaggaggct gcttggccct ggtccttgag attctgacag tgtcctagac
39241 agacatgggg agatctgcac ctatttgacg ttaccaactt ctctttttca gccctgtctt
39301 atcaaaagtt attagagagg atgaagcatt agcttgaagc actacaggag gaatgcacca
39361 cggcagctct ccgccaat tctctcagatt tccacagaga ctgtttgaat gttttcaaaa
39421 ccaagtatca cactttaatg tacatgggcc gcaccataat gagatgtgag ccttgtgcat
39481 gtgggggagg agggagagag atgtactttt taaatcatgt tccccataa catggctgtt
39541 aaccacatgc atgcagaaac ttgattgtca ctgcctgaca ttcaactcca gagaggacct
39601 atcccaaatg tggaaattgac tgcctatgcc aagtcctggg aaaaggagct tcagtattgt
39661 ggggctcata aaacatgaat caagcaatcc agcctcatgg gaagtcctgg cacagttttt
39721 gtaaagccct tgcacagctg gagaaatggc atcattataa gctatgagtt gaaatgttct
39781 gtcaaatgtg tctcacatct acacgtggct tggaggcttt tatggggccc tgtccaggta
39841 gaaaagaaat ggtatgtaga gcttagattt cctatttgtg acagagccat ggtgtgtttg
39901 taataataaa accaaagaaa catacgtcct gtgtgcatgg tacagtgtgc tgacctgagg
39961 ccgtcactgc cctccacacc tcaattctgc tctggagaag ctacagaaag ctcacccagg
40021 gatggttttg gggagattcc agcagccagc cctcagacag ccagacagct catgggggtt
40081 tgagcctgtc tttgccaaac aggtttttat ttaccctcc tccggtcctg gggtttcaag
40141 ttttcagtgt tgccttcacc ccgcacttta ttctcttat tacttggaag taccttcctt
40201 ccagcatggt gatccctgc ctgtgtgctg gacttttgag tcctcagcac caacctgtga
40261 agtggttgcc agcataatcc cattatgcag atgaggagac caaggcccag ggaagggaga
40321 accaccagca gcacgtaaaa tagctgagct gggactggaa ctcacacctc ctgactctca
40381 gtgaccacca ctgacaacag cataagtcca ggttttccag gccactcccc tctgtccaa
40441 ccacatttca gattccttcc ccggctcccg taatctctgg catctagaat atcctcagga
40501 ctctgagagg tgatatcatg tggttgtggg gccattgccc cctacctgtg tggcctgggg
40561 ccagtcagtgt gacctcccag ggtctcctct tctgtaatag ggagatgacc gtcacatcta
40621 cttcatgggt ccatcgtgag gatgaaatga gatgatctat ataaaatgct tgggtacaaca
40681 ttagggtggc ttatttttat cctgccgtct gggactgtct aggatcaatg cgccagagag
40741 cctttatttg tgtctttccc acaggtgggc tggccactt tcctagagaa tgggacagac
40801 ctcttcccca cccacacca tctctgccaa ggctgattca ctccagcagg cggagctcat
40861 ttcaactcat ggaaccaatg acccaaagat atatccccag cactactgct ggtcagcca
40921 ctgctgctgg gaatacagca atggtagtgg cagacagagg ccctctctta aatagcttcc
40981 agtctgagga aagagagata tgacatcaat ccattaaaat cattcatcca ttggttccac
41041 aaatatttgt tgagggttac ctatgtgcac ccccatgtta gacctgggg aatagacatg
41101 tcattctcat gaggcttctc tactgatggg ggggaagaga attgtcaacc agataatggc
41161 actacagcct gtgtgttctt agtgactctg aggatagcac tgtggttctg tgacagataa
41221 tgaaggattt ggaagcagga atgccagga gctcccagaa gtgggaagag atgagaggaa
41281 tggaaaggaac ttacctgaag gtgaaggcat caggctaggg gaccaaagga gaaggtgtcc
41341 tgagaggtaa ggcttaacct tgggtgtgaa ttcagttccc gtcactctcc catagctctg
41401 tcctgctgtt cccacctccc ctgcagccat gcgggcttgg gcggctagtg agggccttgc
41461 tcatgctggg tatcctatgc tatgcttcac tttgagcacc taaaatacac aactgcact
```

[0136] 41521 ttaccaagat gacctcgaa accaaagagg tgatcagcat aagttttaaa gacccttaaa
 41581 tttaaagtaa aaatcactac aggatccatt ataaatgcca aacactaaga tgtgtgtttc
 41641 cagttctccc cttcatttgt ccctgccact ccctgccctg actttgcccc accccctagt
 41701 aatgtgggct ccactctatg ctccaaactc tccctggaga gaaatcctcc ctgtggttga
 41761 ggacaaggcg cagccttccc ctcccaccaa agaaggtcag attccctttt ttggttccta
 41821 accatccata ccccttcttt tctcatgaag actcgggcta agcattcatt agggctgcca
 41881 tctggaggat ggacccttag agctgagggg ccagcactgt gtgt

[0137] 下面示出了TGFBI基因蛋白产物(β IG-H3蛋白序列;NCBI参考号NG_012646.1)(SEQ ID NO:62)。

[0138] MALFVRLALALALALGPAATLAGPAKSPYQLVLQHSRLRGRQHGPNVCAVQKVIGTNRKYFTNCKQW
 YQRKICGKSTVISYECCPGYEKVPGEKGC PAALPLSNLYETLG VVGSTTTQLYTDRTEKLRPEMEGPG
 SFTIFAPSNEAWASLPAEVLDSLVS NVNIELLNALRYH MVGRRVLTDELKHGMTLTSMYQNSNIQIHH
 YPNGIVTVNCARLLKADHHATNGV VHLIDK VISTITNNIQIIEIEDTFETLRAAVAASGLNTMLEGN
 GQYTLLAPTNEAFEKIPSETLNRILGDPEALRDLLNNHILKSAMCAEAI VAGLSVETLEGTTLEVGC
 SGM LTINGKAIISNKDILATNGVIHYIDELLIPDSAKTLFELAAESDVSTAIDLFRQAGLGNHLSGSE
 RLTL LAPLNSVFKDGT PPI DAHTRNLLRNHIIKDQLASKYLYHGQTLET LGGKKLRV FVYRNSLCIEN
 SCIAAHDKRGYGT LFTMDRVLTPPMGTVM DV LKGDNRFSMLVAAIQSAGLTETLNREGVYTVFAPTN
 EAFRALPPRERSRL LGDAKELANILKYHIGDEILVSGGIGALVRLKSLQGDKLEVSLKNNVSVNKEP
 VAEPDIMATNGVVHVITNV LQPPANRPQERGDELADSALEIFKQASAFSRASQRSVRLAPVYQKLLER
 MKH

[0139] 所有标题和章节名称仅出于清楚和参考目的使用,并且不应视为以任何方式进行限制。例如,根据本文所述的本发明的精神和范围,本领域技术人员将认识到适当组合来自不同标题的各个方面的有用性。

[0140] 本文所引用的所有参考文献在此通过引用整体并入本文,并且出于相同程度的所有目的,如同每个单独的出版物或专利或专利申请被明确地并单独地指出为出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0141] 如本领域技术人员显而易见的,可以在不脱离本发明的精神和范围的情况下做出本申请的许多修改和变化。本文所述的特定实施方案和实例仅以示例的方式提供,并且本申请仅由所附权利要求书以及权利要求所赋予的等同物的全部范围来限制。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 阿维利诺美国实验室股份有限公司
- [0003] Chao-Shern, Connie
- [0004] <120> 用于与角膜营养不良有关的等位基因的多重检测的方法
- [0005] <130> 070335-5012
- [0006] <150> 62/624,661
- [0007] <151> 2018-01-31
- [0008] <150> 62/624,660
- [0009] <151> 2018-01-31
- [0010] <150> 62/573,537
- [0011] <151> 2017-10-17
- [0012] <150> 62/483,588
- [0013] <151> 2017-04-10
- [0014] <160> 62
- [0015] <170> PatentIn version 3.5
- [0016] <210> 1
- [0017] <211> 100
- [0018] <212> DNA
- [0019] <213> 人工序列
- [0020] <220>
- [0021] <223> R124S靶序列
- [0022] <220>
- [0023] <221> misc_feature
- [0024] <222> (50) .. (50)
- [0025] <223> n为c或a
- [0026] <400> 1
- [0027] acgagaccct ggagtcgttg gatccaccac cactcagctg tacacggacn gcacggagaa 60
- [0028] gctgaggcct gagatggagg ggcccggcag cttcaccatc 100
- [0029] <210> 2
- [0030] <211> 101
- [0031] <212> DNA
- [0032] <213> 人工序列
- [0033] <220>
- [0034] <223> A546D靶序列
- [0035] <220>
- [0036] <221> misc_feature
- [0037] <222> (51) .. (51)
- [0038] <223> n为c或a
- [0039] <400> 2
- [0040] gaccctcaac cggaaggag tctacacagt ctttgctccc acaaatgaag ncttccgagc 60
- [0041] cctgccacca agagaacgga gcagactctt gggtaaagac c 101

[0042]	<210> 3
[0043]	<211> 105
[0044]	<212> DNA
[0045]	<213> 人工序列
[0046]	<220>
[0047]	<223> H572R靶序列
[0048]	<220>
[0049]	<221> misc_feature
[0050]	<222> (53) .. (53)
[0051]	<223> n为a或g
[0052]	<400> 3
[0053]	cttgccaaca tcctgaaata cccaaggaa cttgccaaca tcctgaaata cncattggt 60
[0054]	gatgaaatcc tggtagcgg aggcacgagg gccctggtgc ggcta 105
[0055]	<210> 4
[0056]	<211> 101
[0057]	<212> DNA
[0058]	<213> 人工序列
[0059]	<220>
[0060]	<223> G623D靶序列
[0061]	<220>
[0062]	<221> misc_feature
[0063]	<222> (51) .. (51)
[0064]	<223> n为g或a
[0065]	<400> 4
[0066]	gagtgtcaac aaggagcctg ttgccgagcc tgacatcatg gccacaaatg ncgtggtcca 60
[0067]	tgatcatcacc aatgttctgc agcctccagg taagtgtcgc a 101
[0068]	<210> 5
[0069]	<211> 101
[0070]	<212> DNA
[0071]	<213> 人工序列
[0072]	<220>
[0073]	<223> H626R靶序列
[0074]	<220>
[0075]	<221> misc_feature
[0076]	<222> (50) .. (50)
[0077]	<223> n为a或g
[0078]	<400> 5
[0079]	aaggagcctg ttgccgagcc tgacatcatg gccacaaatg gcgtggtccn tgatcatcacc 60
[0080]	aatgttctgc agcctccagg taagtgtcgc atccccactg a 101
[0081]	<210> 6
[0082]	<211> 121
[0083]	<212> DNA

[0084]	<213> 人工序列
[0085]	<220>
[0086]	<223> M502V靶序列
[0087]	<220>
[0088]	<221> misc_feature
[0089]	<222> (61) .. (61)
[0090]	<223> n为a或g
[0091]	<400> 6
[0092]	cacgacaaga gggggaggta cgggaccctg ttcacgatgg accgggtgct gaccccccca 60
[0093]	ntggggactg tcatggatgt cctgaaggga gacaatcgct ttaggtaatt agttccatcc 120
[0094]	c 121
[0095]	<210> 7
[0096]	<211> 20
[0097]	<212> DNA
[0098]	<213> 人工序列
[0099]	<220>
[0100]	<223> R124S正向引物
[0101]	<400> 7
[0102]	ccaccaccac tcagctgtac 20
[0103]	<210> 8
[0104]	<211> 23
[0105]	<212> DNA
[0106]	<213> 人工序列
[0107]	<220>
[0108]	<223> A546D正向引物
[0109]	<400> 8
[0110]	tctacacagt ctttgctccc aca 23
[0111]	<210> 9
[0112]	<211> 19
[0113]	<212> DNA
[0114]	<213> 人工序列
[0115]	<220>
[0116]	<223> H572R正向引物
[0117]	<400> 9
[0118]	ccaaggaact tgccaacat 19
[0119]	<210> 10
[0120]	<211> 18
[0121]	<212> DNA
[0122]	<213> 人工序列
[0123]	<220>
[0124]	<223> G623D正向引物
[0125]	<400> 10

[0126] ttgccgagcc tgacatca 18
[0127] <210> 11
[0128] <211> 22
[0129] <212> DNA
[0130] <213> 人工序列
[0131] <220>
[0132] <223> H626R正向引物
[0133] <400> 11
[0134] ctgacatcat ggccacaaat gg 22
[0135] <210> 12
[0136] <211> 16
[0137] <212> DNA
[0138] <213> 人工序列
[0139] <220>
[0140] <223> M502V正向引物
[0141] <400> 12
[0142] ggaccgggtg ctgacc 16
[0143] <210> 13
[0144] <211> 19
[0145] <212> DNA
[0146] <213> 人工序列
[0147] <220>
[0148] <223> R124S反向引物
[0149] <400> 13
[0150] tccatctcag gcctcagct 19
[0151] <210> 14
[0152] <211> 19
[0153] <212> DNA
[0154] <213> 人工序列
[0155] <220>
[0156] <223> A546D反向引物
[0157] <400> 14
[0158] ctccgttctc ttggtggca 19
[0159] <210> 15
[0160] <211> 23
[0161] <212> DNA
[0162] <213> 人工序列
[0163] <220>
[0164] <223> H572R反向引物
[0165] <400> 15
[0166] cctccgctaa ccaggatttc atc 23
[0167] <210> 16

[0168]	<211> 23
[0169]	<212> DNA
[0170]	<213> 人工序列
[0171]	<220>
[0172]	<223> G623D反向引物
[0173]	<400> 16
[0174]	tgcagaacat tggatgatgac atg 23
[0175]	<210> 17
[0176]	<211> 20
[0177]	<212> DNA
[0178]	<213> 人工序列
[0179]	<220>
[0180]	<223> H626R反向引物
[0181]	<400> 17
[0182]	ggaggctgca gaacattggt 20
[0183]	<210> 18
[0184]	<211> 18
[0185]	<212> DNA
[0186]	<213> 人工序列
[0187]	<220>
[0188]	<223> M502V反向引物
[0189]	<400> 18
[0190]	ctcccttcag gacatcca 18
[0191]	<210> 19
[0192]	<211> 15
[0193]	<212> DNA
[0194]	<213> 人工序列
[0195]	<220>
[0196]	<223> R124S VIC探针(正常)
[0197]	<400> 19
[0198]	ctccgtgcgg tccgt 15
[0199]	<210> 20
[0200]	<211> 16
[0201]	<212> DNA
[0202]	<213> 人工序列
[0203]	<220>
[0204]	<223> A546D VIC探针(正常)
[0205]	<400> 20
[0206]	ctcggaaggc ttcatt 16
[0207]	<210> 21
[0208]	<211> 18
[0209]	<212> DNA

[0210]	<213> 人工序列
[0211]	<220>
[0212]	<223> H572R VIC探针(正常)
[0213]	<400> 21
[0214]	cctgaaatac cacattgg 18
[0215]	<210> 22
[0216]	<211> 16
[0217]	<212> DNA
[0218]	<213> 人工序列
[0219]	<220>
[0220]	<223> G623D VIC探针(正常)
[0221]	<400> 22
[0222]	cacaaatggc gtggtc 16
[0223]	<210> 23
[0224]	<211> 16
[0225]	<212> DNA
[0226]	<213> 人工序列
[0227]	<220>
[0228]	<223> H626R VIC探针(正常)
[0229]	<400> 23
[0230]	cgtggtccat gtcac 16
[0231]	<210> 24
[0232]	<211> 17
[0233]	<212> DNA
[0234]	<213> 人工序列
[0235]	<220>
[0236]	<223> M502V VIC探针(正常)
[0237]	<400> 24
[0238]	tgacagtccc cattggg 17
[0239]	<210> 25
[0240]	<211> 16
[0241]	<212> DNA
[0242]	<213> 人工序列
[0243]	<220>
[0244]	<223> R124S FAM探针(突变)
[0245]	<400> 25
[0246]	tctccgtgct gtccgt 16
[0247]	<210> 26
[0248]	<211> 16
[0249]	<212> DNA
[0250]	<213> 人工序列
[0251]	<220>

[0252] <223> A546D FAM探针(突变)
[0253] <400> 26
[0254] ctcggaagtc ttcatt 16
[0255] <210> 27
[0256] <211> 18
[0257] <212> DNA
[0258] <213> 人工序列
[0259] <220>
[0260] <223> H572R FAM探针(突变)
[0261] <400> 27
[0262] cctgaaatac cgcattgg 18
[0263] <210> 28
[0264] <211> 17
[0265] <212> DNA
[0266] <213> 人工序列
[0267] <220>
[0268] <223> G623D FAM探针(突变)
[0269] <400> 28
[0270] ccacaaatga cgtgggc 17
[0271] <210> 29
[0272] <211> 14
[0273] <212> DNA
[0274] <213> 人工序列
[0275] <220>
[0276] <223> H626R FAM探针(突变)
[0277] <400> 29
[0278] tgggtccgtgt catc 14
[0279] <210> 30
[0280] <211> 17
[0281] <212> DNA
[0282] <213> 人工序列
[0283] <220>
[0284] <223> M502V FAM探针(突变)
[0285] <400> 30
[0286] tgacagtccc cactggg 17
[0287] <210> 31
[0288] <211> 32
[0289] <212> DNA
[0290] <213> 人工序列
[0291] <220>
[0292] <223> A546D ABY探针(正常) - NN 互补
[0293] <400> 31

[0294] cttggtggca gggctcggaa ggcttcattt gt 32
[0295] <210> 32
[0296] <211> 33
[0297] <212> DNA
[0298] <213> 人工序列
[0299] <220>
[0300] <223> H572R ABY探针(正常) - NN 互补
[0301] <400> 32
[0302] cttgccaaca tcctgaaata ccacattggt gat 33
[0303] <210> 33
[0304] <211> 31
[0305] <212> DNA
[0306] <213> 人工序列
[0307] <220>
[0308] <223> G623D ABY探针(正常) - NN 互补
[0309] <400> 33
[0310] catcatggcc acaaatggcg tggatccatgt c 31
[0311] <210> 34
[0312] <211> 32
[0313] <212> DNA
[0314] <213> 人工序列
[0315] <220>
[0316] <223> A546D JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0317] <400> 34
[0318] cttggtggca gggctcggaa gtcttcattt gt 32
[0319] <210> 35
[0320] <211> 33
[0321] <212> DNA
[0322] <213> 人工序列
[0323] <220>
[0324] <223> H572R JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0325] <400> 35
[0326] cttgccaaca tcctgaaata ccgcattggt gat 33
[0327] <210> 36
[0328] <211> 31
[0329] <212> DNA
[0330] <213> 人工序列
[0331] <220>
[0332] <223> G623D JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0333] <400> 36
[0334] catcatggcc acaaatgacg tggatccatgt c 31
[0335] <210> 37

[0336] <211> 20
[0337] <212> DNA
[0338] <213> 人工序列
[0339] <220>
[0340] <223> R124S正向引物
[0341] <400> 37
[0342] gaccctggag tcgttggatc 20
[0343] <210> 38
[0344] <211> 24
[0345] <212> DNA
[0346] <213> 人工序列
[0347] <220>
[0348] <223> A546D正向引物
[0349] <400> 38
[0350] cgggaaggag tctacacagt cttt 24
[0351] <210> 39
[0352] <211> 21
[0353] <212> DNA
[0354] <213> 人工序列
[0355] <220>
[0356] <223> H572R正向引物
[0357] <400> 39
[0358] tgaaataccc caaggaactt g 21
[0359] <210> 40
[0360] <211> 18
[0361] <212> DNA
[0362] <213> 人工序列
[0363] <220>
[0364] <223> G623D正向引物
[0365] <400> 40
[0366] aggagcctgt tgccgagc 18
[0367] <210> 41
[0368] <211> 22
[0369] <212> DNA
[0370] <213> 人工序列
[0371] <220>
[0372] <223> H626R正向引物
[0373] <400> 41
[0374] ttgccgagcc tgacatcatg gc 22
[0375] <210> 42
[0376] <211> 16
[0377] <212> DNA

[0378]	<213> 人工序列
[0379]	<220>
[0380]	<223> M502V正向引物
[0381]	<400> 42
[0382]	gttcacgatg gaccgg 16
[0383]	<210> 43
[0384]	<211> 18
[0385]	<212> DNA
[0386]	<213> 人工序列
[0387]	<220>
[0388]	<223> R124S反向引物
[0389]	<400> 43
[0390]	cccggcagct tcaccatc 18
[0391]	<210> 44
[0392]	<211> 21
[0393]	<212> DNA
[0394]	<213> 人工序列
[0395]	<220>
[0396]	<223> A546D反向引物
[0397]	<400> 44
[0398]	aagagtctgc tccgttctct t 21
[0399]	<210> 45
[0400]	<211> 24
[0401]	<212> DNA
[0402]	<213> 人工序列
[0403]	<220>
[0404]	<223> H572R反向引物
[0405]	<400> 45
[0406]	gccccgatgc ctccgtaac cagg 24
[0407]	<210> 46
[0408]	<211> 24
[0409]	<212> DNA
[0410]	<213> 人工序列
[0411]	<220>
[0412]	<223> G623D反向引物
[0413]	<400> 46
[0414]	cctggaggct gcagaacatt ggtg 24
[0415]	<210> 47
[0416]	<211> 20
[0417]	<212> DNA
[0418]	<213> 人工序列
[0419]	<220>

[0420]	<223> H626R反向引物
[0421]	<400> 47
[0422]	cacttacctg gaggcgcaga 20
[0423]	<210> 48
[0424]	<211> 18
[0425]	<212> DNA
[0426]	<213> 人工序列
[0427]	<220>
[0428]	<223> M502V反向引物
[0429]	<400> 48
[0430]	agcgattgtc tcccttca 18
[0431]	<210> 49
[0432]	<211> 27
[0433]	<212> DNA
[0434]	<213> 人工序列
[0435]	<220>
[0436]	<223> R124S VIC探针(正常)
[0437]	<400> 49
[0438]	cgacttctcc gtgcggtccg tgtacag 27
[0439]	<210> 50
[0440]	<211> 16
[0441]	<212> DNA
[0442]	<213> 人工序列
[0443]	<220>
[0444]	<223> H626R VIC探针(正常)
[0445]	<400> 50
[0446]	tggcgtggtc catgtc 16
[0447]	<210> 51
[0448]	<211> 17
[0449]	<212> DNA
[0450]	<213> 人工序列
[0451]	<220>
[0452]	<223> M502V VIC探针(正常)
[0453]	<400> 51
[0454]	tccccattgg ggggggt 17
[0455]	<210> 52
[0456]	<211> 40
[0457]	<212> DNA
[0458]	<213> 人工序列
[0459]	<220>
[0460]	<223> R124S FAM探针(突变)
[0461]	<400> 52

[0462] cgacttcgac ttctccgtg ctgtccgtgt acaggtacag 40
[0463] <210> 53
[0464] <211> 16
[0465] <212> DNA
[0466] <213> 人工序列
[0467] <220>
[0468] <223> H626R FAM探针(突变)
[0469] <400> 53
[0470] tggcgtggtc cgtgtc 16
[0471] <210> 54
[0472] <211> 17
[0473] <212> DNA
[0474] <213> 人工序列
[0475] <220>
[0476] <223> M502V FAM探针(突变)
[0477] <400> 54
[0478] tccccactgg ggggggt 17
[0479] <210> 55
[0480] <211> 20
[0481] <212> DNA
[0482] <213> 人工序列
[0483] <220>
[0484] <223> A546D ABY探针(正常) - NN 互补
[0485] <400> 55
[0486] agggctcgga aggttcatt 20
[0487] <210> 56
[0488] <211> 22
[0489] <212> DNA
[0490] <213> 人工序列
[0491] <220>
[0492] <223> H572R ABY探针(正常) - NN 互补
[0493] <400> 56
[0494] acatcctgaa ataccacatt gg 22
[0495] <210> 57
[0496] <211> 16
[0497] <212> DNA
[0498] <213> 人工序列
[0499] <220>
[0500] <223> G623D ABY探针(正常) - NN 互补
[0501] <400> 57
[0502] cacaaatggc gtggtc 16
[0503] <210> 58

[0504]	<211> 20
[0505]	<212> DNA
[0506]	<213> 人工序列
[0507]	<220>
[0508]	<223> A546D JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0509]	<400> 58
[0510]	agggtctgga agtcttcatt 20
[0511]	<210> 59
[0512]	<211> 22
[0513]	<212> DNA
[0514]	<213> 人工序列
[0515]	<220>
[0516]	<223> H572R JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0517]	<400> 59
[0518]	acatcctgaa ataccgcatt gg 22
[0519]	<210> 60
[0520]	<211> 16
[0521]	<212> DNA
[0522]	<213> 人工序列
[0523]	<220>
[0524]	<223> G623D JUN探针(突变) HH 互补(compliment)
[0525]	<400> 60
[0526]	cacaaatgac gtggtc 16
[0527]	<210> 61
[0528]	<211> 41924
[0529]	<212> DNA
[0530]	<213> 智人
[0531]	<400> 61
[0532]	agagggaaca gaagcatcta ggagagattt ggaaagaaca cctgcaggat cttggtgact 60
[0533]	gattgcacgt gggggaccag agagcaggga caggcaaac tgaatgcaag gtttccaacc 120
[0534]	ttgagcggca ccacaggcaa gaatgaagaa atgaagaagg ggagctggac gaaagagcca 180
[0535]	agggatttct gcatttttga atgaattgct gctgggtggt gtccatttcc ctgaaggcct 240
[0536]	ttatcctacg tgcaagaaaa ctctgtggaa gcagaggaaa ggcatgtgta agccaacaat 300
[0537]	catctgtggg catccttcca ctaaagtatt tgaggtcagg caactaaagc aacctcaaaa 360
[0538]	gtgcctcttg attcttctta gatatttttag ctgagccaaa tcaatgaaac tctcatgaaa 420
[0539]	aatcggtttc cctggaaaat gaaattgggt tctaaccaac aagtagcatt tggcaggccc 480
[0540]	tgattaagaa agccagtgtt tggagaagtt gtgaaaacag ccaagtcatt taagaaacta 540
[0541]	aacactgggg cctaattgcca ttctagggtc gcgacggctg ttctgttccc atcaattgca 600
[0542]	gagcccgaag cctcaagttt gttttaagtt cctgccatta caaacctgtc gattatccca 660
[0543]	gcctcccttg cgggctttga aaagagagaa gaatggaagg tgactgtggc caatttcccc 720
[0544]	tccctgtcca gtgtgtggaa gacactgaat atgcaactac tgacctgtg cctgggcatac 780
[0545]	ttgaaggtct tccacaaagt gagctgggcc tcagcggaag atgagagttc ctctgtggtc 840

[0546]	acttcactgg tacacatttt cagggtgtatt tcgtttcttc catgcctaca taaattgaat	900
[0547]	cctctgttaa ccacctctga gctcatagct atttaacatg accctgtagt cctgtgcata	960
[0548]	caaatcacct tgggatctgg tgaatatgca gattcagtgg gtcttgggag gttgggaggt	1020
[0549]	tataagattc cacgtttctt catgagagct agaaaaata aataaataaa taaaaaattt	1080
[0550]	ttaaattttc cacatttcta atgaactctg gggttgtgct gatgatgctg ttttgcagat	1140
[0551]	cacattttga gtggcaagac tgtggaaaat ccttgagaaa tcaatccaaa atcccctaaa	1200
[0552]	tggtactaca atcacacctt aatgttagta aactgagatg tttcttacct ttatttgtaa	1260
[0553]	catggaaaaa acaattactg tatatgaagt accattctaa gttctgtgtg ttacacaagg	1320
[0554]	gatggcaatt ttccccaaa ttgattcac atcttttcat ttggatatct cttgccaaaa	1380
[0555]	ctcacctttt tttctcccta gcaagtcttg gggagctgaa ttttaagagc tctttattta	1440
[0556]	gctatatggg ggctctgaa aatgattttg actgtatctt ctgtctccat gtatgcccaa	1500
[0557]	gcataccagc gaactttagg gagtaaggaa aaggcaggcc tgggtgtcagc tgggctgcag	1560
[0558]	atgccagctc tcccaccaac aggccagaa ccagtttctt tcctaggttc ctttgtgaag	1620
[0559]	aacttgttgg aactactaat ttatcatgat gcataaagct tgttgtcata ccctacagta	1680
[0560]	ttattttcaa aacctgaatg tttttgggta cttttcatgt gccacaaaat gtaaaagcag	1740
[0561]	tcatttttta aaaagtgtt gaaaaagtct agtaaagatt cttccaagca agcctcactt	1800
[0562]	tctcctgttt agattgttta atctggaagg aaaaaattct ttctcaaatg acagggtttc	1860
[0563]	tgggtgctctg tgtttgcctg gttggctctg ggtcatctgg ggatggaggg tccctgctct	1920
[0564]	tacctccagc agcatcactc ttgtctccaa agaagcagca acctcagggtg ggagaatggg	1980
[0565]	tatactcaca gcattctgct tttcatgttt gaaagagggg atgggtgggtg gggcatggat	2040
[0566]	gtgggatttt aaaaaaatat ctaaaccata aataaagtat tactgcaatc tctttactga	2100
[0567]	gctcatggaa aaactcaagt catcgaatgt tagttttgca gactggagaa gtgaggtcca	2160
[0568]	gtgaacttgc ttgacttgcc ctaaactctg ctagagagag agctggaacc agatggcagg	2220
[0569]	gctcctggcc tcttacatac aaggagcatt tttcctagaa actgcaatgc agccaaattc	2280
[0570]	tactggctctc aggggaaact tgttctggga gtcagcctga gcttgaatcc ctttgggttc	2340
[0571]	ttcccattat cctatgccaa gcagtcatgc tgaaccgag aaatgttttg ctttcaataa	2400
[0572]	atgaaatgag cattttcaga taattatttc tgtagttgct caaaactatc atattgtttc	2460
[0573]	attgaaccct actatataga acaatgactg gggagaggta ataataataa tagcaatgca	2520
[0574]	tatttattgg ccattttact tgaattgtat catgtaatct agtttagagt cctgtgaggt	2580
[0575]	aggttttatt atcctctcta tgaggttgaa taacttggcc aagaccacac agctaggaag	2640
[0576]	tagaaagact ggtatttgaa cccatcttct ctttttcttc tcttctctcc tctctctctc	2700
[0577]	ttccaacacc tgctcccaag gaagctcatc cagtgcata ctttagctac cacctgctcg	2760
[0578]	tagtggtgac tcaaactctg atctccaatc ctcatacctc tctgagctc aagacctttg	2820
[0579]	aatatagctc cctcctgtcc atccctcctg gaaatgcagg tggcttggtc acacataatg	2880
[0580]	tgaacacaaa tggagcactc tctcacaca cccaaatgtg caccttcacc agcgtgccca	2940
[0581]	gcacaggcat cccttcctgc cagctatgag cctcgagggt agctctactc cccctcccta	3000
[0582]	acctgcatg cccaaggggt ttccaagtct aatcaatgct accactaaaa tctccatac	3060
[0583]	acctgtccc tctctccac tagcttgatc actccccatg caggccctca gttgctttat	3120
[0584]	gctctcagta ggccctctc cagtgccac actctctccc ttctcttcc cactttcttt	3180
[0585]	ctaccagagt tctaacctct ccaagccccg cttgtctttt tctttccctg gctgcatcc	3240
[0586]	taactcggcc cttcccttct cagacaagct tctacatgct actcatctct ccatcaaacc	3300
[0587]	accatattcg ggctttggcc atctgctctc cacagccaag tcccagtggt cctctctgct	3360

[0588]	tctgacacag tgaagccat tcagatctgt cttgttggca gcattcctca ctttgagcag	3420
[0589]	cgccctccta ctaggatacc cctccttgac tacaacccca cattctctac ttcttgggct	3480
[0590]	cttctgtcac tggaggatga ctcccagggtg tgaatcttca tcccgcgtcc ctactcaag	3540
[0591]	ccccgatcc tcatatccag ctttatcctc atgggatgct tcaccaggat gaggcataag	3600
[0592]	cacctcagac tcagggtgtc ccaaaccact catctacctg gcaagcctgc actctgcatg	3660
[0593]	tgcctcattc tgaacatggc accatcacct gctgcaatgt ccagaccaca aacaccctac	3720
[0594]	aatatccttg actctccttt ctcccccttct cctgtatac agactccaaa ttctattgag	3780
[0595]	actattacct cctacacccc tcacatttgc ccagccttcc ccatctctgc ctctaccacc	3840
[0596]	atagttcaag ctctcccatg gtcccttctt gggttacctgt tcttcttgcc tccttaagcc	3900
[0597]	tctcatgaca ctggccatgt cacttgctc caccatcac ccgctaggct cttagctgga	3960
[0598]	gtctggggcc tgctacctc ctcccccttct tccctacct tgactccacc tccctgtgct	4020
[0599]	tcagccaacc agataacttg agtttctgta atgcatgcct cagtttacct gattaactca	4080
[0600]	ttttcatctt tcaggcctca gaggcaggtat caccctgtca gggccagggt cctcttctta	4140
[0601]	gtcccaaag cccagctac tcttcatgga acatcattgg cttgggctac ggatcttccc	4200
[0602]	aaattggagc tttttcaca agggttagg tctcactcat tctattaatc catctgtgtc	4260
[0603]	tccccagggc tagcagtgc aagtaactga cagggtgatta atagatgctt gggtaagtat	4320
[0604]	cacctcttta ccatgtgaca atttgtttac ctgccttgag ctctccagg gcaggactct	4380
[0605]	tgcctttgca gaatctatct ggcagggtact gttgcagaga tgtttactga agaagggaat	4440
[0606]	gaattagtag caaggtgagg accccaccct tccccacggg ctccaaaagc agcttagagc	4500
[0607]	ccaacaaaac ctgccccaca tttttggcgt ttctgtggat cacacgattt actcatctgt	4560
[0608]	ctttcaatga gcatgacagg tggggtgggg gtggagggat tagagattga ggagctgggg	4620
[0609]	agggtggtca gctcctgggg tgcagaaaca agtctgatgg gccatggtgt tctgggaatc	4680
[0610]	agcactgcct cccctacccc ctccctgcag tgtttttag cctcaagatc agtgagggaa	4740
[0611]	tcttcgggcc cccagcatgc aggaccgaag cccccgagac agctgtccct cagtcccaag	4800
[0612]	gtccccattt ggaagcagcc acaggaggcc taagggacct atacccttg tttgaggaag	4860
[0613]	actgtggcga gggagagagg gagggagggc tggcagttag ggcaagggtt gggaaaactg	4920
[0614]	agcacgggca cagtgcggga gcgggtgggt gccagggca gccaggggcg cacgggttgg	4980
[0615]	gaggcgccag gcggcccgcc ctccctgcac gggccggccc agcttccccg cccctggcgt	5040
[0616]	ccgtccctc ccgtcgcag ctacttaac ctggcccggg cggcgaggc gctctcattt	5100
[0617]	ccctggagcc gcccgcttgc ccgtcggtcg ctactcgtt cgggtgcgct cgtcccgctc	5160
[0618]	catggcgctc ttctgtcggc tgctggctct cgccctggct ctggccctgg gccccgccc	5220
[0619]	gacctggcg ggtcccga agtcgcccta ccagctggtg ctgcagcaca gcaggctccg	5280
[0620]	gggcccag cagggttaag ccgagccgc tggccagggt ctgcggaagg tcaggtagtc	5340
[0621]	ggggtcga gcgcaagcc ctgggggcat tgaactgggc tgggggcga ggggacaaag	5400
[0622]	ccgaaactaa aaacctgca gcatggagcg ctcgacacc agccctgcac gcggtggaag	5460
[0623]	gagagaggga gggagggtga ggacctgga gggaaagcgg gaggccgccc cttttagaa	5520
[0624]	gggagtgggg aagtggacca gagactttcg acgaggcca agagcctgag acggacagcg	5580
[0625]	ctttcagctt ctctcccag ccaactgcaga aagggggaaa tggcaactct ttggccataa	5640
[0626]	tcaccgtggg aggggtccaa gggcaaagcc caccagcag tacacctatt ccaaccagc	5700
[0627]	caggcccccg gccagcgact ccagacaaga acctgggcca cacacggtgg cagcatctaa	5760
[0628]	ggtgccccag gctcctgtgc tcctggccag gccctgact cagacactgc tggcaccga	5820
[0629]	cactgctctc tgggtacagc aagggaatg tggcattct tctctgccc gatgaagagc	5880

[0630]	aggagaatgc actgggccct cacacacact gttcaaatgg ggaaactgag tcctgagtgg	5940
[0631]	ttccactttc ccacagtcct gaagtgtgca ctggagccag gattggagtc tgtcttaaag	6000
[0632]	taatagctgg gtttgtaaat gtaggacact atcattgcag gaattccttt gagacctga	6060
[0633]	agatgtgttg gctttaggag acaaaactcaa gcagaaggtc tggctctgata gtggccctaa	6120
[0634]	tactgacca ggagaggca ggcaacattt ctacctcaa aaccaggcca tacctgcgtc	6180
[0635]	acaaataccc aggctttgct gcagcttcca gcctacctgg ttgcaccaac ttctttttca	6240
[0636]	taactaggta aaactatata tgagtagaat ctgttagtga ctctcagag gaagcctaaa	6300
[0637]	taccatcggt gtctggcggt cacaccaca agcaatgccc aaacctcaa gagactgggc	6360
[0638]	agatctgtgc tcaaatcaaa actcattgtt gggggtgata gatttgactt cacaggccct	6420
[0639]	gaaagtcttg gtccttgca ctaggagtgc tctgggtacg ggtacaggct gcccttgta	6480
[0640]	gggcatagtt gctcttgttt cctctacttg tggctttatg gtctaggcct ttcaggagtt	6540
[0641]	tggggtctg gcggagagg cctgctggga gcacatctgg ccacctgca gagtgaatc	6600
[0642]	aaaccaggcc tggctgcaac ctcaacaccc tcctggaaag aggagaatac tggggatc	6660
[0643]	ctggggcttt tctggaagt ggagaatcag ctttgacttg ggcagtgtgc agaatagagt	6720
[0644]	gaggggggat gtcagaaaga tgagagggat atgaggctc aacatcaaaa tgcaagcacc	6780
[0645]	tggcattttt attatctctg cccacctctc cgttgggtctc tctgcctttc ctgccaatga	6840
[0646]	attgtgttat gtttgggtgc ctcaatttgc ctaggagggt tctatttctt ctgtatcttc	6900
[0647]	gccactaagt caggagaaga tccttatagc atgccctgca acagtgtcac ctgtaagggc	6960
[0648]	atctctctgc acagccacag tgaaggatcc tcaaaggat tgagggcttt ccatcaagag	7020
[0649]	ccatctttac agcaaacctc tttcccttca gagcccagaa gagtgtgac cagctggaaa	7080
[0650]	acagggtttt tttcttaaat gcagatgtc ttgattatga gttccagata ttagatcaac	7140
[0651]	ttccccacca taccctgca ggcaaagcct cttaattagc ttctgcagc acagctggaa	7200
[0652]	aggcctattg taatctgtga tgggcagagt aatctaagaa gtcacaggag caccctgtc	7260
[0653]	ccagtagaat ctggatgcgc aggcatga accatggcaa aatggttga ggcacagttg	7320
[0654]	tatttactct gatctaactg tcctgttaa tgccacagg ctgcctggcc tggcacacag	7380
[0655]	ggctgtggcg ccttgtgcaa atggataacg ttgttctagc tccagccttt cattcaaagt	7440
[0656]	gaaaactgtt agaaaggga ggaaaacttt gctattttaa ggaattgtag cgtgtgcct	7500
[0657]	gatatgaagg aagaaataac agctgtgcct tgcttgtgcg cagcactga ttgccgcttt	7560
[0658]	tgttttcgac ctaccacaa cacagtga tctactgttc atgttcccat ttacaggag	7620
[0659]	gtgaaactgc agcttagtga ggtagagagt gacttagttc agacacagaa tgctgttggg	7680
[0660]	agagtaataa ctatgatag gtctcttgac tcccagctat atctgtgttg ctataggga	7740
[0661]	ggggaaaaat aatactgaaa gagaagtaaa aatacaatca cacttccaaa catcaaccac	7800
[0662]	caaaaactga actgaatttc ctgaagcact tggttttcaa atctaagctg aacatcaatg	7860
[0663]	ctgttattct tgaggcccag aagcaacttg ctcatctcaa ttaagcttca gcatgaactt	7920
[0664]	cctatgtaca cagcccaccc aactccccg atgtgagaag gagagggtca cagccgcccc	7980
[0665]	cagcctctgc tgctgccaca aggacagcag cagtggaaac attcagcaa ggaatgttgg	8040
[0666]	agccacatcc acaagagact cactgaagat tcgccaaacg cctacggaaa gtggcaggga	8100
[0667]	attcattgac agtaattgtt tcctgcttga tcagattgaa gagcttcttg gattctgtaa	8160
[0668]	caataaatag gaccgggggc tggagtatgg ccagcaagga ctcttcagg gttattcagg	8220
[0669]	gactgtctaa cctgtgaatc ctaggcagca aacagaaacc aggtattcag aaatctggag	8280
[0670]	gatttggta ggcccagcta ggactaggga ggcattggcc tctgctggct gtggctccct	8340
[0671]	ctccagcctt cacttctctt gtccctagat ccttacatgg attcattaat gctcattgtc	8400

[0672]	cctcctgggc ccactcactt tcacctgttg aacaaaaaac tggccaagag gtgacagtca	8460
[0673]	tatcacccgca gaagagacag ggcagagaaa tgaaggggca gaatggactc ccacccaaaa	8520
[0674]	gcctgactct gaatatattga gaattgttca agttcctgca gaggaatcat gatggggaca	8580
[0675]	gtaggtgtag tttttactgc aatattgggtg tcttcttaac aaatacgctg cacatcaagt	8640
[0676]	gatgtctgtg gatggcattc ttaaagtaac agggaaattg atgttaaaga aatacttcat	8700
[0677]	cctttgggtg atacctgaag ttctctgagc ttggaggctt tgtgaaagcc ctgagtattg	8760
[0678]	tttgttttat ttgctttcct ctgacttgtg attcagtcag atgcatgcct gcctctggct	8820
[0679]	caggaagatc aaccctctcc tgactgacca cgcctctcct gactgaccac gtagcacagc	8880
[0680]	agcttccttt ccctaggggc tcctaataa gctttcaca tcacctggcc tgagcacagt	8940
[0681]	ttgggtcagg acttggtata cttgaaaaa acatgcaaaa ccaaaatcct gtggttcttg	9000
[0682]	aaaaggcttc ttagcagaac cccagacat ttacactctg ctttttcaca gggtcctga	9060
[0683]	ggattctttg gatctgggta gtttggggag cagtattttc aacaagttca tttcgtgctc	9120
[0684]	cttctacacc ctgcctggat gctaggcccc atctagaatg tgaacaacag aacaaggcag	9180
[0685]	aacacttgtc ctcaaggctc tgttgagtgt tagatgcaga gaagagacac cccccacctc	9240
[0686]	cccgcacac ttacaggaat tctgtttgga acccaacatc aaataaggac cgtatccact	9300
[0687]	gtcagaggat gggaagcagc atgtcatctg ggacattgga gaaaggctcc tgggggaagt	9360
[0688]	gggacttgag ctgtgatcta agtaatgaac aactgagagt taaatgggag agcatccct	9420
[0689]	atcagggtcc tgagagcaac cagccatggt taaaccagc tataaagcct cgggtttata	9480
[0690]	ggatagacag taacaatggc ttgtctttg gagccaagca gctggtccag gcatgcagag	9540
[0691]	catgtctgta tggagagctg cctgagagat gcttttgtt acacttatca attgccatg	9600
[0692]	tcaaagaagg atatgtacat gaagttacat cagtatgtaa gagagatttt aacaattttt	9660
[0693]	gcaggggaag ctttcatggg ggctgatggg aatctaggt aacagaacca aagtctaaac	9720
[0694]	ccaagatata cccagtacca agactgaaat gactctctcc tctatctcta gaaagttcca	9780
[0695]	gtgacccaag gaggcaaaac cgatgggagt cattaaagt ggggtggact gctgatcatc	9840
[0696]	ttcctaattc tgctgctttt gttttcagcc ccaacgtgtg tgctgtgcag aaggttattg	9900
[0697]	gcactaatag gaagtacttc accaactgca agcagtggta ccaaaggaaa atctgtggca	9960
[0698]	aatcaacgtg agtatctgta accagccagg agaccaagct gtatgcacgc tggctgcagt	10020
[0699]	tccccagggc ctgggcccagc cttctagaag gtcaggttg ctaaaaagcc atgaagatgc	10080
[0700]	atgtgcgaac atgtctggga cctgcgtgct agggagtggc attttttagga agctggccaa	10140
[0701]	ttttgtttg catttttaag gctgctgaca agacttgag acatttttca gggctggttt	10200
[0702]	gggtttgcaa gaaacatgaa acactgcgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt tctcaatcct	10260
[0703]	cataaaataa tacagatatg cagtggagaa gccaccagca tgtgactctg gaaaagaaag	10320
[0704]	cccattgggtg aatctgtact aaagaatgcc atccctatct tacagtecta aggtaaacac	10380
[0705]	cccaaaaaga cttagagcac taaacatatg cagattatga gacagcatag catataatat	10440
[0706]	ttgcacagac ttctcattc aaaccctagc tctacctggg ccagtcgatt catctttaga	10500
[0707]	acctccatt gctttacctg aaaagttcgt ataacaaaag gaccacatt atggggttgt	10560
[0708]	tacaaggatt gaatgaata atgtacataa gagactgaat atggtgcca gcatatatca	10620
[0709]	gtgtcaata aatgctagct actattatta ttatccct agatttgcaa atctagacca	10680
[0710]	cacaagcaga agtaagagt ccaacgggt gtggaccagt gtggttacaa tagggcttgt	10740
[0711]	tgatgtctgt ttacagcaagg agggaggcag cttttacccc actgccagc tccctggtgg	10800
[0712]	aatcaggtgc atgttctaac aattctgggg aaacctaatac tgttttgga ctgtcaacag	10860
[0713]	atctcaaagc tggctgtctc ctatagctag gaagatgtgt atgacaaatc tctgagcca	10920

[0714]	cttgtgaagg cctgaccttc ctcctgtctc catacataat gggatgatta agaaactcta	10980
[0715]	agccactctc ttaagcactt ttcaatgtta gggattttta agttttattgt tgtgacattg	11040
[0716]	cttttgagca gacatctcct ccaatttaat agccaactga aagaagagaa aatgctcttt	11100
[0717]	ccttaaactg tatgtggaaa taaatatcc aatgtgtgac cctgattatg ttaggcaatt	11160
[0718]	agcaatccta atatgaattg aggggaagtg ggattcatgg cacagctggg gagataccag	11220
[0719]	cagtccctgg gagcctgtcc agggcaggtc catggcagct tgctccatgc ctgattgaca	11280
[0720]	gcccagcctg caagctaaaa gttgagttag ctaggaggac aactgccaa gattcagcta	11340
[0721]	acagacaccc agcgatatcc ttgctgtctat gaacaaaagg agactatgca aattatacac	11400
[0722]	caccattctt tccaggatgc ctgacttaaa aaataagaaa aaagatgggc cgggcacagt	11460
[0723]	ggctcacgcc tgtaatccca acactttggg aggccgaggt gggcgatca caaggtcagg	11520
[0724]	agacagagac catcctggct aacatggtga aacccgtct ctactaaaaa aatacaaaaa	11580
[0725]	tattagcggg cgtggtggcg ggcacctgta gtcccagcta ctcgaggagc tgaggcagga	11640
[0726]	gaatggcgtg aacctgggag gcggagcttg cagttagcca agatcgtgcc actgcagtcc	11700
[0727]	agcctgggtg acagagttag acaccgtctc aaaaaaaaaa aaaaaaaag aaaagaaaac	11760
[0728]	ctttagtact gattgatttt ttcccatgtg tgtatattat ctactcaaat taacaattaa	11820
[0729]	ttacttaatt aaacacaaag ccaggcctca cctaattgct tcttggaagg tgaccagagt	11880
[0730]	gctagtgcca agcaacaac tcttctatat ctcaagagcc ctgggcttca gagggccatc	11940
[0731]	ttttttgtta attcaagttt ctctgaaaat ggagaccctg ttatgatgac aagctggcta	12000
[0732]	cagggtagca tctgccacac tgtttcgggg gtgccgctgg gctgaagcat ttgccagct	12060
[0733]	agttaacaat agctcgataa cattccctat cagtgtccag gctgagaata ctgtcagtga	12120
[0734]	tgagtcgctt tggctcttgt acctgtatct ttgtgtgcca ggacaaggca caagcaacag	12180
[0735]	agctgtgtgt tgccaaaatg ttctgatga gcaggtcaac ccctcggggg caggtttgga	12240
[0736]	tatgataatg tggatgatgt gtggcgcagc tcccttacc agtgagcaca aggggagtc	12300
[0737]	tctaggaaaa ggaagaaatg tctggatgag gtggggagat ggggttcaga gtggactcag	12360
[0738]	gcaaagcccg atgccagtc ccagctgttg gctagtctc acaaagccag aaggatatga	12420
[0739]	catttacatt caactcttga atttgtggcc actgctttgg gcaacttcaa agagagaaaa	12480
[0740]	tgaagataga aaaatattat ttgatataaa acttctagga caagagaggc ctttctgga	12540
[0741]	acattacatg tagtattagg aaggtggagc tgccctggaa aagatccaga gaactcagag	12600
[0742]	agaggaagag gtggaacca tctctgttct ttagagagc tcagtaagag tggcttgga	12660
[0743]	gggtcctgt gtacctgaga ccaagaccag tgaggagct actgtctgac caccatacgg	12720
[0744]	tcagaattca gtgccatggg tggtcagggt ggaaggggag aggactgtgc tggctggagt	12780
[0745]	tgatgttatc ctggggaaag taggtcccta gatgccttta gttgagttag gagcagactg	12840
[0746]	ggaaatggga gcacagtagt ggttggggca aaaaggactg tctctgcatg aggtccatag	12900
[0747]	gcagttggaa ttttctcagc aagactccag agaaggaggc tggagcagag gtgtatgttg	12960
[0748]	ggatgaaaag gagtaaagta tcatggggga ggaggcagct caggttgtca aggggtcaaga	13020
[0749]	aaccagaagg agaatttcac cttggaagca gacaacgggt accaagcata cagggaata	13080
[0750]	ctttgtgtg agaggtcaca cagagataca ggagccgacc tggtagagca ggagcctgga	13140
[0751]	gccacctgcc tgcttttgtg aggccccaga ctccactgct atcatcaggt gaagctctgt	13200
[0752]	tgctgcaca caaaagcttt tctgcattta caaagagaga agggcctgag tttctggtgc	13260
[0753]	aatgcgtcaa gctgacatat ggactttatt acaggaagtg gttaccagtg ggtccctatt	13320
[0754]	tagtggctgt tattgtgaat ttattgttc ggaaattcac tttagcattt atttcagatc	13380
[0755]	ctaaatagca ccggagtgat acaatggcta atcaaaaaa gagggctgtg gggagcagac	13440

[0756]	agtcagcatc	cccctctgtg	atttcaggcc	ctggtttgat	tagtagccat	aaaatttttt	13500
[0757]	acgtgtggca	ctttgagcaa	aggtgcagga	aattgtggtc	aggaagcctg	gctgcctctc	13560
[0758]	gacaggtctc	ctttgtgcta	gccccaggga	gaggaggcct	atttaacagc	caagtccaag	13620
[0759]	ttgacatcat	gggactggaa	tagtcatagc	aggagctcag	acatcataaa	cgtggcatag	13680
[0760]	ggagggctgg	tggaggagct	agcgggtatg	ggtggcagct	attcattcca	aaagtcttga	13740
[0761]	aattgtttca	cgagcaacac	atttcacaag	tgcgaagccc	ttctctggag	ccaagatgag	13800
[0762]	ctggcagagc	actcctgttt	ctctagtagc	aagtgttcct	ttgcccagg	gcaaaaatat	13860
[0763]	taatactcct	tcagcactgc	attaatgctt	aaagatttaa	cttttaaaga	gatcagctgg	13920
[0764]	tgcatggctg	agcttttcca	tcagctggca	gggctttttc	agtaggtgtc	cttctgggca	13980
[0765]	gggactggg	gacagctgac	gtgaaggtga	agaagagctg	tcgttttcct	cccttatatc	14040
[0766]	ccacaacctt	ggtcccaaga	ggaaaaaaaa	gaagatgggtg	agaagtcac	caagcagacc	14100
[0767]	ccagacccat	actagtgcct	cctttcctgt	ttcatatccc	tgtgcagcca	gctgggatct	14160
[0768]	cttgaataat	ctgctctggg	ggcactgaga	ttggacatac	accaaacagc	ggagatcgac	14220
[0769]	caaacgcctc	tgttgggcag	tgtttcctga	gggttctgtc	ccattctgta	aactaggagg	14280
[0770]	ctgactagct	gacaaggaat	tttattctgt	tgggtattta	catgaaccta	tgtgccacct	14340
[0771]	ggggtgaagac	cctgtggtag	gtagaacat	gacttcccaa	aaatgtccac	atcctaactc	14400
[0772]	ctaattctgt	aaatatattc	ccttactgga	aaaagagact	ttgcaggtgt	gattaaatta	14460
[0773]	aggatcataa	gagggagaga	ttatccagga	ttatttgatg	agtctaatat	aatcatcagg	14520
[0774]	gtacttaaaa	gagggaggca	ggctgtgcct	ggtggttcac	gcctttaatc	ccagcacttt	14580
[0775]	gggagactga	ggcgagcggg	tcacgaggac	aggagtggga	gaccagcctg	accaacatgg	14640
[0776]	tgaactccc	cctctagtaa	aaaaaaaaat	acaaaaatta	gccaggcatg	gtggtacaca	14700
[0777]	cctgtaatcc	cagctactca	ggaggctgag	gcgggagaat	tgcttgaacc	caggaggcag	14760
[0778]	aggttgtggt	gagctgagat	cgcaccactg	ccctccagcc	tgggcaacag	agcaagactc	14820
[0779]	catctcaaaa	aaaaaaaaag	agggaggcag	tgggatcaga	gtcagagaag	gcaacgtgat	14880
[0780]	gatgaaagct	gacatttgag	tgatgcaacc	acaagccaag	gaatgcaggc	agcttctcaa	14940
[0781]	agctggaaag	gacgagcaat	ggattcttcc	ctacagcctc	tgtgaggaat	gcagcctttg	15000
[0782]	attttaaccc	cataaggccg	atttctgact	ctagcctctg	gaattgtaag	ataatttgca	15060
[0783]	tgatctcaag	ccactaaatt	tgtggttaatt	tgtcacagaa	agcaatggga	agccaacaca	15120
[0784]	ggcettatit	gttgacttat	agatgcattt	ttctttatit	caatgtactt	ttatcaatgg	15180
[0785]	tctcatgtag	ggtattgctt	tcaatgaaga	tattaacata	gtttcaactt	taaggtttat	15240
[0786]	atctggagtt	tctttagaag	cttcacaact	gaccacttag	taaacagtaa	gcatctgtta	15300
[0787]	agtgcctctc	atatgtaagt	tcattcaatt	ctcacaatca	cactataaga	taaatatgat	15360
[0788]	tattagccca	tttacagatg	aggagacagg	ctcaaaagac	ttttatgcaa	cctgggtcaa	15420
[0789]	gtcattcact	ggtaagctga	ggaggctctg	ccacttcctt	ttgctgcccc	cagggggtat	15480
[0790]	caagcctggc	agttagtgtc	agcgacttag	gaggtgaaca	agtgagcagg	cctgtaggac	15540
[0791]	ctggctaacc	tgccccagg	ctctgtctac	agcctcaaac	ctgtggctgt	gggtcccaga	15600
[0792]	gacaaggcct	cctcagcatc	agagaaggat	gcctttgtct	cagggtcatc	aaccttctcc	15660
[0793]	aggttgcctc	ccccctgctg	taaaggggat	ccccagacc	gctcatcaga	caaggagctt	15720
[0794]	gggaactgag	gagacacagt	cagcctccag	gagtgcccaa	aatgccctca	catgctgcat	15780
[0795]	acagattgcc	acaaataaag	tacatccaca	ttctgaagac	tctgtcctca	tcaccaacca	15840
[0796]	ggctggcccc	tggtgagggc	tgtagtggtt	gaggcctttg	ttggtagaca	gtaggttaaa	15900
[0797]	gcaagccatg	attttctatt	gggaggettc	agaatcagct	cagctgtgtt	tccaagacca	15960

[0798]	ggagggcaga aagcaaacca tcccaggcaa gcagtcctatg ggccatgtca gatgtctaga	16020
[0799]	cgttatgggt ctgtgtttgc tctgccattc ctctcggaaa ctatgatgcc ctgtatggtt	16080
[0800]	taccttcagt cacagtgac tggcctacag ggccattcct tgttccaacg acttctcgag	16140
[0801]	tataattaat ccccaggcat ttacggccag agcagccggc caaatccgtg aagtgcagtg	16200
[0802]	gttgttttaa attatattaa cttcttgga acttatttta gggagagaaa actcagtact	16260
[0803]	tctctctatc caatcttgag taaaaatgtt agaagggact ggtggagagc ctcccagaca	16320
[0804]	tcctacaca tagactttgg gttgacatta tctctttgca ctttccctga aactttcttc	16380
[0805]	taaattaggt gccttcccta atttaggcac cttcccagta ctagtctgtg acctgttagg	16440
[0806]	aaccaggcca cacagcagga gttgagtggc agggagttag cattattgcc tgagctccgc	16500
[0807]	ctctgtcag atcagcagtg gcattagatt ctcatagcag tccgaatact attgtgaact	16560
[0808]	gtgcgtgtaa gggatctagc ttgtgcattc cttatgagaa tctaataccc gatggtctga	16620
[0809]	gatggaagag ttccatacca aaaccacccc ttccccctgc caccatctgg ggaaatattg	16680
[0810]	tctaccacga aactgatccc tggtgccaaa aaggttgggg accgctgtcc taagggatct	16740
[0811]	gctttttctg acctgagggt tttctttatt agactgtatc tggctgagga gaagcctgaa	16800
[0812]	gcctttaatc ggaacagctt tggctgatga gattagattc agaaaccaac agattggtct	16860
[0813]	tttctatgca gggaagccta ggaactgggg ggctatggct gggaagcccc ctattgtttc	16920
[0814]	catcctttcc tatgttcac cttggaggaat ggcatcagac ccatgcctct gtgattgctc	16980
[0815]	ccagcccatc caaccacagc atctatgttc tgcctgggac cagggccagg gagcatggca	17040
[0816]	cactgagctg agtataagga gagtggagca ggccactgcc agcccagaaa attttgggtca	17100
[0817]	aagtgtcctg aaatcttctc agccttcgat tcacagctgc tctctgctgc tctggggcca	17160
[0818]	tgcagaccag ttcagaaaag agttaatttg ttggggcagt tggaggcagg tggactgcca	17220
[0819]	gctttgacac cttcccagcc cacaggtgc tgcactgggg ctgaaggcgt ggctaacccc	17280
[0820]	tgcacacctc gagagtgaca gagatgccag actgggcagc aggaaggcaa gaggattaag	17340
[0821]	agagagcttc ctggctgaaa gccacactcg gttaccagg aaaaagccct tggcacgaga	17400
[0822]	agactcagtg gcctgaggga ctgagccttg gttgttgggc atgtgctgca taagccatcc	17460
[0823]	atgtgtgaca gtagagtgtg gtccagccac tgtgggacat ggggtgctgaa agaccacatg	17520
[0824]	gagaggaaca gtgagtgtg acaagggcta gccttgatca ctttgagac accccctgtg	17580
[0825]	tcttctagat gtcagacttt ccaaactctgt ctgctatcct ccaaactgc attttcaaga	17640
[0826]	gcaatggaaa aaggattgga cttgatggaa tgcagcaaga gtcttaggtc tgttactacc	17700
[0827]	tacctatgac cttaagaaac tccctcaccc ctccagaacc ttacagcttt ctttctgatt	17760
[0828]	ctatcctgag ttactctact ccaagctgag acttttctgc ttagatctat ccttctctcc	17820
[0829]	taaaccccc aacctcattt ctctggtgt ctttctttac acaccctca gcatacacac	17880
[0830]	acacctagcc acaggaacca atgagttaat atttgaggag ttggttttct tttgtcctca	17940
[0831]	atgagatcct ggtgaggcca cttgagctgt tcagctccct tgcggtatit tggggatgga	18000
[0832]	actcagaagc caacaatata gaaaaagagt ctttgccag ctttcccagg ggctccatgc	18060
[0833]	catagagagt actgcacccg tgtgcacagg gggccctgac atgaggactt tgaggataac	18120
[0834]	actattcctc caactctgct tcagatctc catggatttt cacacagaca ctttaggaaa	18180
[0835]	gaaactaagt ttggggggac ttgacctaat cccacatcac agccccagta atacagccct	18240
[0836]	ggaatttatc acagaaagcc tagaatccca tgcatatccc atgcatatgc atccctagtc	18300
[0837]	ctatgggttc aaggcttggg gctctccctg gatttagctg ggaaaagtg gcagacagtt	18360
[0838]	cttctctgtc ttctagaaat atggactaga atcgtgagtg tgagattgca agtaactttt	18420
[0839]	aaaatcatct agtttaactt caccctatit catagaccaa gaaactgaga ccagagagag	18480

[0840]	aaatggactt tcaagttcac cctgctagtt actgatggat cacaagtcaa atctcctgat	18540
[0841]	tctagcactg tttctcttac accacaccac ctttgaaagt gtgtcaatca aatcttactt	18600
[0842]	tagttgcaga ggatgacttt agtttctgaa gataaaattg tgagtcaatc aagatgagtc	18660
[0843]	ccaagacaat agcctgttta gcccttataa gttcagggat gaaaggttag aaagaaacag	18720
[0844]	gatggaagga ggactggaga aaaaaacaaa agaggaagga aggaggagga agcaaacagg	18780
[0845]	aaaaaaaaag aatgtgcata gcttgtcact cctcagtcac ttcctgggag cccttttcta	18840
[0846]	gcaaagtgac agctgcaact ccctggccac ctgagcatct tagctgatct gtctctgaaa	18900
[0847]	caccccttg agaacagatg aatcaggctt catcttcgct taactaagtc ttccctgaga	18960
[0848]	cgactccatt taaatgaaca agagcaggat ttcctgggca cactgagagc accttccaga	19020
[0849]	ggccctcca gagccctaaa gcctgtatct cttccagtcg gcctgtttct ttcctggtga	19080
[0850]	tgtcattaaa cgcccttga gagtcccaca gtgagcagtt ctgcggtaaa acccgctgca	19140
[0851]	attaaagtct gagtcccttc ctgtctcaaa gggcatattc atatagaaga aaggaaaagg	19200
[0852]	aaggactggc tgtttgcatt tggttccagg cctgttgagt agaggtcgtg ctactccac	19260
[0853]	cgaaggtaca gggtagcctt cagcagaacc tggggatttg gttttaagca agtctttctt	19320
[0854]	aggtgtgggc tttcagaaca cttccttcct tgcaatatta ttgaaattc tcagtgtttt	19380
[0855]	agccgtcccc agaatttgg ttcgttaaag ctgtgtatct cagatctcca gacagtggtc	19440
[0856]	actgtttgta tattttcaat ttcaaaccag aaaacaaaag ttcttattga ttactttttt	19500
[0857]	tatttaaaaa ataaaaagta agtatcttcg taagaggagc tttgttttaa ttttaagtt	19560
[0858]	taaaatttga ttgtgaagac agagaaaaac ttgatgattg tagatatatt ccctctttg	19620
[0859]	gctattcaat cagagaacta gaaaatcatg agagatttaa tgaccactgc ctgatacaca	19680
[0860]	tatgtgtttt acagatgagg aaactgagac ccagagagat gatgaaattg gctgaggatg	19740
[0861]	gccagctgg tcagtgaag actcagagcc agagctgggt cagggtctt tctattcctt	19800
[0862]	cctgttcct ttcaggaaca ctcaccatcg gctttcctgt gaataatgt gagataaaat	19860
[0863]	ccttggtgca ttatgttttc tagtcacaac attgactagg ctgccagagt cctctgttct	19920
[0864]	cccagtggg ttgctgtagg tgttggcagc cgccaggagc attctacaga acagaggagg	19980
[0865]	agtgagactc tccttgctca ggaaaggcag acctatgact tagcaaataa ctcctaagag	20040
[0866]	gagagtgttt caccaccat tcctcttcct tggctgtgga ggcaacttag tggagagggg	20100
[0867]	ccagatgacc tgtgaggaac agtgaagccc tgcctaacac aatgtatggt tgtcttgta	20160
[0868]	cagagtcac agctacgagt gctgtcctgg atatgaaaag gtcctgggg agaagggtg	20220
[0869]	tccagcaggt gaatgaatcc tccgggcctt gcctgttggt gtgggtggaa gggaatggtg	20280
[0870]	ggagagagga gtaccacat aaaaggcagc agagtgtgaa tgggggcagt ggcacaagga	20340
[0871]	catggcatct tccccacgtg cccactggcc ccaggctcta tgcgaggggc tgaggaatgg	20400
[0872]	aagctggaat cagcgcatct cctgagctgc tcctcctggc ctccttacca cactggtgga	20460
[0873]	gtagactcca actgtggcct gtccatgccc tcccagcag gcacaggctc aggtcaggc	20520
[0874]	tcttggcctc tgcctctggc tgggagtgat tctaaacaca tccagcaggg tcagcctgat	20580
[0875]	agcccatcag tttccgatca gctctgctag agagccgatg ggatgtggga ggagggggtc	20640
[0876]	actggtgggc tggcaacccc aagccatccc catctccctc tgtgtctaaa cttggccctt	20700
[0877]	tggagtccg tagggagaag agccataggc cagggtgggt caccagagt cagcagagag	20760
[0878]	tcccacaaat ggttgactg ggcgaaagac agcatggcac ctgtgaattt tattagagct	20820
[0879]	tttcttttag tgctacacac aagtgactgt acaggggagt tagtattttg ttttaatttt	20880
[0880]	gaaatagagt catcttttgg tatctgcggg ggattgattc taggacccat tctaggatgc	20940
[0881]	catatcctca gatgttcaag tcctgatata aaagtggat agtatttga tgtaatctat	21000

[0882]	gcatattctt ccatgtactt taaatcatct caagattact tataatacca aatataatgt	21060
[0883]	aaatcctatg taagtagttg ttataccctc ttttaaattt ttgtattatc ttttattgta	21120
[0884]	tttcaaaaaa tatttttggc ccatgtttag ttgaatctgt ggggtgaagaa cccacagata	21180
[0885]	cgaagggcc aactgtattg ctattttttt agttaagaat gtgagactga ggccaggcgc	21240
[0886]	agtggctcat gcctttgatt ccagcacttt gggaggccaa gaggggacga tcacctgagc	21300
[0887]	caagaattcg agaccagcag cccgtgcaac atagttagac cttgtctctt aaagattgtg	21360
[0888]	agactgggct gggcacggtg gctcacgcct gtaatcctag cactttggga ggccaaggca	21420
[0889]	ggtggatcaa ctgaggtcag gagtttgaga tcagcctggc taacatagtg aaactctgtc	21480
[0890]	tctactaaaa atacaaaaaa attagctggg tgtggtggtg ggcgcctata atcccagcta	21540
[0891]	ctcaggaggc tgaggcagga gaatcgcttg tatccaggag gcggagggtg cagttagctg	21600
[0892]	agatagggcc gttgcactcc agcctgggca agaagagcaa aactccatct caaaaataaa	21660
[0893]	taaataaata aataaataaa tcatgagact gagacataac aggaaggagg gcaatttggc	21720
[0894]	tggttccaag gttcctagag tatgtgatgg gagagggttg tgcgggtggg gccatggagg	21780
[0895]	tactgactca agtggaggga cagggtggga aatgggatgg gaaaagaaga ttgaccttag	21840
[0896]	aaggggagct caacctctga accctaattt cagacccttc aaaatgaata ttaagctcat	21900
[0897]	tttggctctaa gaaacaaaaa acaaatgaac atgaaactca ttttggctct ataaggtctg	21960
[0898]	agaaaccct tctaaacttc aagctgcttt aagaaataac attttattac ctgcaaatac	22020
[0899]	acacagtact ttggagattt ataatagtct cttattctaa tagaagccat tagggaacca	22080
[0900]	gtttcaataa acaggtaaat ctgtaagact agtttgaat taggatatct gtttccagt	22140
[0901]	tccattcctg cctctgttat ctaaagtctt gggaacaaga gctgtgctct gctgtgttta	22200
[0902]	aaatgattaa aaatcaccaa ttagttgagt tcacgtagac aggcatttga cttattgagt	22260
[0903]	tgttttaaga agactataac aagccttaag cccccagaa acagcctgtc tttgggcttt	22320
[0904]	cccacatgcc tcctcgtcct ctccacctgt agatgtaccg tgctctctgt cagagaaggg	22380
[0905]	agggtgtggt tgggctggac cccagaggc catccctcct tctgtcttct gctcctgcag	22440
[0906]	ccctaccact ctcaaacctt tacgagaccc tgggagtcgt tggatccacc accactcagc	22500
[0907]	tgtacacgga ccgcacggag aagctgaggc ctgagatgga ggggcccggc agcttcacca	22560
[0908]	tcttcgcccc tagcaacgag gcctgggcct ccttgccagc tgtgagatga cctccgtctg	22620
[0909]	ccggggggac tcttatggg aactgcctta cttccccgag ggggtgggcat gatgaatggg	22680
[0910]	agtctgcagt catttcctac tgtttcagga agctttctcc ttaacccctt agaaaagget	22740
[0911]	gtggaacttg agctaaaata tgtcttacca ggttgctctt aatgcccccc gttccctact	22800
[0912]	gggcagaaag acttgggtgc ttctgagga gggatccttg gcagaagaga ggcctgggct	22860
[0913]	cacgagggtc gagaacatgt ttcccagagt tgcaaggacc catctcttaa acacagagtc	22920
[0914]	tgcagccct aactgacacc ctgtccttcc tcctaggaag tgctggactc cctggtcagc	22980
[0915]	aatgtcaaca ttgagctgct caatgccctc cgctaccata tgggtgggcag gcgagtcctg	23040
[0916]	actgatgagc tgaaacacgg catgaccctc acctctatgt accagaattc caacatccag	23100
[0917]	atccaccact atcctaattg ggtaggggat cccagccat actgcatggc ctttggtgca	23160
[0918]	taatgaaccc atttctgttc catgtgtggg ctggtttctg gggtttaagc tgtagacaac	23220
[0919]	ccaccctctt tgtgctgct tctccttggg cctctcttcc cacagcttgt ggaaccacaa	23280
[0920]	ttttgtact gtgtttgaaa aactgtttt ctctctccgg ggctttggga ctatgcctct	23340
[0921]	gttgtgttga ctgctcatcc ttgctgcttc tctgggcaga ttgtaactgt gaactgtgcc	23400
[0922]	cggctgctga aagccgacca ccatgcaacc aacggggttg tgcacctcat cgataaggctc	23460
[0923]	atctccacca tcaccaacaa catccagcag atcattgaga tcgaggacac ctttgagacc	23520

[0924]	cttcgggtaa gggactgccc tgggtggagg cccaggcttg ggacacattg cctcccaaga	23580
[0925]	ggggcctagc aggaactctt ctgcaggaga ggtagaggat ggctcctgta ggggaacata	23640
[0926]	gagcaggttc ccctgaatgc ccttgaacat ggagaattca ttgaccagac attcagcttg	23700
[0927]	acctaacctg tgaaattctc catcttcttt ataaagtgtt cccttccttg cctcccctgg	23760
[0928]	aaaggtcagt ggtgtgtggc tgcagcagca cagtgtcctc tgagccctgg acctgcactg	23820
[0929]	tggcttccag aggtggcagt tcccacatgg ggtactagaa taaatggcct atcaggctgt	23880
[0930]	gtgtgctttg ggatcacatg tccccacct aggacctgg ttccaacct acgcatgttc	23940
[0931]	tcttgagcc cagaacagca gagaagccac cagtgtggac acagaagtca agggctctgat	24000
[0932]	ttccagcctg gcttctgact gctctggggc cgcaggaata cggttccttc ccccatgccc	24060
[0933]	agcaggcatt tgtcttacia ctggagggga aggcattgtc ctcttggtgaa ggactgctca	24120
[0934]	ggaggaagtg gaggcaggct gccctgtcag ggtttttgcc ttgattcaag gagaacttcc	24180
[0935]	taaccacaaa ggatacaagt gggagtgagg cggacctcc ctagagatct ccaacacaga	24240
[0936]	gagacaaaca cgctggggct ggctggcact gacaggcctc gcaggtgtgg atggctgtta	24300
[0937]	gctgggagct tcgctgtcta agctcctctc ccatgctttt cttctgggtt gctcgaagga	24360
[0938]	cgggggtctg caagaaaatg atgttccac atagtgtgca gcacgtgaac agcaattgat	24420
[0939]	ccctttgcat cactcctct tactgtttag attttgtaaa tatttcttcc ttccctcttc	24480
[0940]	tgacctcca ttttgccgat ctttccttct tataacacat acttactagg tacctgctac	24540
[0941]	ttcccgggtg ggcctatgtg ccaggagtat agaggtgaac aaggaaggca aagttctatt	24600
[0942]	ctcagtagag ctaatactct atctggagag agacaacaaa caaatcaaca aggtagccag	24660
[0943]	gggctgtgat aatttatgtc aagtgggcag gtaaactcgg agtgacagta gtgcaggag	24720
[0944]	gattggaaag tcaggaggt ctctctggag gaggtggctt ttgatctgca gcctaaagga	24780
[0945]	tgagaatggg tcattatac aaaatgctgg ggcaagagca caccagtag aggggagagt	24840
[0946]	aatagcaaag gtcagggca ggaagggcaa gggagaggcc agtgggtgag gtcacatgtg	24900
[0947]	aaggcatac aatgggcaaa gacaaggcca gagtggccag gccaatcct ccaggacttg	24960
[0948]	cagacctggg aaagagtgea tctccatcct gggagcagca ggaaaccact caggccttta	25020
[0949]	gaagatcctt ctggcagctg tgtagagaat ggggtggtgtg atccttccat gcatgggctc	25080
[0950]	atgtacgtga ttaccagtaa ctgtcagtg acagtgtgag gagggctgca agccatgagt	25140
[0951]	gtaggcacag cagacagact cacctttgtc tggcgggtgag atgggggtgg aagtgtgcca	25200
[0952]	agttgacctc ccaaagaaat gatattttag ttgaagaatg aatagaatca gagaagcaaa	25260
[0953]	gtaagaggga agagcagaga ggacagcagg gacaaggact tgggggcagg aagaggaaa	25320
[0954]	gcaggttaag gacatgaaag atggccaggc tggctggagc tcaggcccag caaggcccc	25380
[0955]	tgggggccat ggtcatgggt gagcttgggt ttggcttctg ttttcgtctt gggcttctgt	25440
[0956]	gaaagcctcg agcccttgcg gggaaccagt gaagctgtgt gtgcatcttc tgtggggagt	25500
[0957]	gccagagtct tcaggagca ctccatcttc tctctcccc acaggctgct gtggctgcat	25560
[0958]	cagggtcaa cacgatgctt gaaggtaacg gccagtacac gcttttgcc ccgaccaatg	25620
[0959]	aggccttcca gaagatccct agtgagactt tgaaccgtat cctgggcgac ccagaagccc	25680
[0960]	tgagaggtga gcatcctttg gctcctgtg ctgcctcatt tgtgcagcta gattgagccc	25740
[0961]	aagacctgct ctggtccaag atgaacatac cacctgccat gaggtgacct tcaggatatc	25800
[0962]	cactgcagcc atgggtggg gtcacctgt cctgttgcct cagctaaccg tgtctctagc	25860
[0963]	agccacacta ctctgagggc tgactacaga atccagcagc ttttgtctgg gagagctgga	25920
[0964]	ctgaagagag gcatagctgg agacctatag ctggccctgg ccagaaacag ggagagtga	25980
[0965]	aggctggaat agccaaggcc agagcaaggc taataggtag agcaacagct tacaggtgtg	26040

[0966]	ggggtggcag atactggcac cttgaaatg gattcctcat gccacgctt cactattctt	26100
[0967]	ctctgtggct aggggattta tggataaacc aaaattacag ttaaaaacca gccataggcc	26160
[0968]	aggcacagt actcacgct ttaatatcag cactttggga ggacaagggt ggcggtacac	26220
[0969]	ctgagatctg gaatttgaga ccagcctggc caacatggcg aaaccccatc tctactaaaa	26280
[0970]	atacaaaaat tagctgggca tgggtggggg cacctgtaat cccagttact caggggctga	26340
[0971]	ggcaggagaa ccacttgaac ccaggagggt gaggttgagc tgagccaagc ttgcaccact	26400
[0972]	gcactccagc ctgggtgaca cagcgacact ccgtctcaag aaaaaaaaaa aaaaaaacag	26460
[0973]	ttatagtagt caacttttga ctctccattt cagatttcgt catgccctcc tcaatgagct	26520
[0974]	gctaagttag gcagtgcatt gattattgct gcaggagagg gaaggaagga gctaacgtgt	26580
[0975]	tttcacatgt tttccttttg gagatgagaa aggaggactc tgccttcccc ctaccctgcc	26640
[0976]	cctttctact ccaggacctc tgaaaggcca tgagcacaaa gctgctgcct gagtccccctg	26700
[0977]	aatgcagggt tacgccccag gtctctgatg taccacacca cacttttctc ctcaaacata	26760
[0978]	ttccaggatc acttgatttc ttttgaatct atttaaacc accgtgtcaa tgtgtatat	26820
[0979]	aaaatgtcta atgcatttca gacaccctat acatctatac atttaaagtg ttctccttct	26880
[0980]	atctgtgcag ggatgggaaa gggcatattt ctgaaagcac agatgggaag acgggatttg	26940
[0981]	ttccgtgtcc aggtgattat ggtacctcta tgcgcctggc cggcactggg gacagaggcc	27000
[0982]	atgaaaatga atacagcaca gcctttgcct ccaagaaact taagacctag tagaaatggc	27060
[0983]	aggctttaa acaggttgtt gggatctgat ttggtgagtg caatgacaga gatactcaca	27120
[0984]	gcacaaaatg gggaatgagg gcgggcattg ggacacacat agccttaagg ggcccaaagg	27180
[0985]	cttttagaac tgtattccct attaaaacat gatttgcaca gagcacattc tttgctttgg	27240
[0986]	agacctcaga actccttact ataggccggg catggttata atcccagcac tttgggaagc	27300
[0987]	caaggcgggc agatcacttg aggctgagag ttcaagacca gcctggccaa catggtaaaa	27360
[0988]	ccccgtctct actaaaata caaaaattag ctgggtgtgg tgggtggccac ctgtaatccc	27420
[0989]	agctactcag gaggtgagg taggagaatc acttgaacct gggaggcaga agttgcaata	27480
[0990]	agcccagatc atgccactgc actccagcct gggcaacaaa gctagactct ctcaaaagaa	27540
[0991]	aaaaacaaaa caaaacaaaa caaaacaaaa aaaactcctt attataaact gtaagaaaaa	27600
[0992]	aaaggccctt acttcgtccc ttttgcaaat ctgccttttc ctactcacta accagctggt	27660
[0993]	tcagagcaag gacactctgt ttggtgccat cgctgcagac tggaaggaag aggtccttgc	27720
[0994]	cccacacca acagtctcct gctgttaccg gcaggttggc aggaggcag gcgagaagca	27780
[0995]	gccagggtct gtggtgtgtc cagtttgaag actagtttcc agccctggcc ctgctcacc	27840
[0996]	tccaagtggc cctggcaggt tctctacca catcgtggac ttcaccttc ttctctaaga	27900
[0997]	agctcaatcc ccaaggcctc attcccatag gccttctcac cctttttctt tccctctggc	27960
[0998]	tgaatgtggc cagcacgggc ttccaaggcc atcaactcgt ctgcagcagc cccatgcctt	28020
[0999]	gcagggcctc agagcttctt cctgcctatg acagtgtggt tttggttccc acacttggga	28080
[1000]	tcagattgaa actcgcctcc gtggtgagaa tatgggacat agagcctcgg tgaccttgg	28140
[1001]	gagcagcagt ccaggccacc tgctcagcct ggggttgggg ggggctcctc ctcttgact	28200
[1002]	ggtccttgca tttgctcca tccagcctgt ctgggctctc cgaggcaatg gagaccagca	28260
[1003]	ggagtacga tgggtcagga gcccccttg ggcctcagcc ctgcctgcc ccctaaagta	28320
[1004]	gcacttgat aagcaataa attattatac ttactattta tgggtgtggt gaatgggatg	28380
[1005]	gcaaaggcca agtcttactg atcaccaaac cttaagatat atcctggcag ctagtagacc	28440
[1006]	cttgggctaa atgaacagaa aactggacaa ataaagtgt cacaataac tcaaagctgt	28500
[1007]	catttgtaca cttttcgtct tttctacta cagtttacat tttataaag gtgagtagat	28560

[1008]	ttctaaaatc ccgtggtagg ctctcttgag tttttcttgt atccctgaag ttcagctaca	28620
[1009]	aataagctaa tcactaacat ttgttgagca tttactctgt tgtcaggccc cgtgccgagt	28680
[1010]	gctttagggt cagaatttca tgtcatcccc acagcagccc taggagatga atgcaattct	28740
[1011]	tatgtccact tgactgataa ggaagttgag gttcaaagag gctaaatgac tctcccaggg	28800
[1012]	ttccacagct ggaaagtggc cacagggccc cagctggttt tctagggcag caggcagaag	28860
[1013]	gcgaggagga tctgggccct gtggtgcccc agcctcatct gagggtcctc atctgagaga	28920
[1014]	acaggatcct cacagcatgg gcaggtgca agtgggtccct gaggttatcg tggagtggac	28980
[1015]	cctgacttga cctgagtctg tttggacccc agacctgtg aacaaccaca tcttgaagtc	29040
[1016]	agctatgtgt gctgaagcca tcgttgctgg gctgtctgta gagaccctgg agggcacgac	29100
[1017]	actggagggtg ggctgcagcg gggacatgct cactatcaac gggaaggcga tcatctccaa	29160
[1018]	taaagacatc ctagccacca acgggggtgat ccactacatt gatgagctac tcatcccaga	29220
[1019]	ctcaggtagg ccaggcctcc gggggccttg gccctgcctg gcccaccatc tcttctgcca	29280
[1020]	tcctttgttg cgggggaggg gaaattcaga gatctttggg cgacttccct gcctggacct	29340
[1021]	agctcacagc ttctcgcca ctgcaaatgt gtgggttgtg accagactga tgtgtcttga	29400
[1022]	gcttcaggct tgcaagtgc gtggagaggc agtggggagc tattgaagggt gtctggggac	29460
[1023]	agactcaatc acagaggcct ttcagaagat ctgcctgtg tgcattggca aagagggcc	29520
[1024]	cttgctgacc tcagagcatg tgctttctca gtagtgccta agctgtccca tggctactga	29580
[1025]	cccagttaga atgactgaat ggactttggc ttgtgtctca ttaggaatcc tagccccatt	29640
[1026]	ctagtcttcc agtgagatct gtccatgagt gaaggaatct cacaggaaaa aacaaaatgc	29700
[1027]	ttctatgggt gtggttgcct gcccttatcta caccacagaa gccatcacac agactgtctt	29760
[1028]	tcttccatt gttagaatgt gccctgacca agcagccac agggcctggg acagaggctg	29820
[1029]	atctctgcct aactgagctc acctctctc cctctctcc tgactggta gattttctag	29880
[1030]	gtgactgttc ccctgatgac acaagccgc tgggccccag cagtgtttag aggggttgtt	29940
[1031]	gactcacgag atgacattcc tgctgatgtg tgtcatgccc tggggtggat gaatgataaa	30000
[1032]	tgaaaacagc gcttttaact tttgaacca ctttctcctt cctttagacc aagacactat	30060
[1033]	ttgaattggc tgcagagtct gatgtgtcca cagccattga ctttttcaga caagccggcc	30120
[1034]	tcggcaatca tctctctgga agtgagcggg tgacctcct ggctcccctg aattctgtat	30180
[1035]	tcaaaggtaa catggggaag gcatccctgt tagattgtcc ctggaggcag cttccccacc	30240
[1036]	cctgtcacct ccacaacact ctccgattta cagcacccca tgggacatta gaacttccac	30300
[1037]	tcagctcaac caaaagcaga tgtgacttca gcagaaactt cagaggctct gttgtttcat	30360
[1038]	taggcagtgc agagaatgcc tttggggagc cgttctcag aactcaagac ttgacatctg	30420
[1039]	ggaggcagcc gttcctcaga actcaagact tgacatctgg gagagcagag cattcccttg	30480
[1040]	cctttctatt tgcagggtca cttgccaatg tatagtcaag aggtcagagt gaggttacag	30540
[1041]	ctgagctgca gcccaggaa ggcagagaag ggggccaagt tgtgtgcgtg cctgcccttc	30600
[1042]	cctcttaggg caaaactcca aacacccttg attatctgga tcttctttaa ttctccatag	30660
[1043]	aagataccag atgttaagga atattggcag cttcacttgg tttctcaatc cctgtttcca	30720
[1044]	aactcaagga gggatgggct ttttactgt atttatctct catcactctc ttcatgtcag	30780
[1045]	gagcacatct ctctggacct aaccatcacc ctttcttcta gatggaacct ctccaattga	30840
[1046]	tgccataca aggaatttgc ttcggaacca cataattaaa gaccagctgg cctctaagta	30900
[1047]	tctgtacat ggacagacct tggaaactct gggcggcaaa aaactgagag tttttgttta	30960
[1048]	tcgtaatgta agttctgggt cctaaatcat gctcctggga agctccttac tgtgggactt	31020
[1049]	gtattagtgt aaaaaaaaaat gtctcaata agcaggagtt tgcattgagaa ctggttgcgtg	31080

[1050]	acaaggaagg aaataatttc tggaaaatat agataacaaa atgagatcct gcagaaggat	31140
[1051]	tggaattctct ttttctggag gcctttgaga ataaaccaca caattatcca acctgtattg	31200
[1052]	tgaaggaata agtccttctt gaattcagga attaacacct gggaggaggg atggagtcca	31260
[1053]	gactctttct gagcttatga gaagagaagc cccctaaact aaaatacagc cctccttggg	31320
[1054]	ccaaaagggtg ccttctctct tctgctgtat cttctttgtt ttcaaaccce acagttaccc	31380
[1055]	tggaatcaaa aaaggaagta caactcaaca tagctcttgc ctgggaccaa ccagcaccat	31440
[1056]	ttggctaaag atggttatca tctgttaaac aaagaaataa ataatgggt tcaacgtatt	31500
[1057]	tatttcaaca ttgtcaatgg acctcatgtg taactgatat tctcattatg ggacctctgt	31560
[1058]	gtgactttat tggggcctct ctaaccgttc tttccttaag gaagaccatt tattgtttta	31620
[1059]	tttctggag aaaatacatc attttatccc agccttaata acccatccca gtgtatactc	31680
[1060]	cttcatcttc atggataatg acctgctac atgctctgaa caaatcagga ggccccctgt	31740
[1061]	ggaagtataa ccagtccttt ctttctctgt cctcttctg tgcagagcct ctgcattgag	31800
[1062]	aacagctgca tcgcggccca cgacaagagg gggaggtacg ggacctgtt cacgatggac	31860
[1063]	cgggtgctga ccccccaat ggggactgtc atggatgtcc tgaaggaga caatcgcttt	31920
[1064]	aggtaatag ttccatcccc ggggtggagct tctgccaggt ggtcatgtg gagtgggatg	31980
[1065]	tggggcccca gctatttgc aagcttctt ctacctggg gattcaatta acactagcag	32040
[1066]	tgactgctg cgacctcca gacttgggat ggggaaaagg caagggtcgc cttgaaagct	32100
[1067]	tacattggga agaagggtta cttctaagag tgtaatctc acatgcatgg gaagcaggga	32160
[1068]	ggggggacta catttttatg actgaagtgc aaggaaaaca tcacctctc attgtaaagc	32220
[1069]	tccaagtgag ccaagagcac atagtttaca gtgcacgatg agcctctcac tctctgcga	32280
[1070]	gtatctgttt attgcaactg aagcaccctt gtgagttgt tttcttgccc ggctatctcc	32340
[1071]	atttctgact tgctcattca ccttgggggtg ctgtcatatt gaatgtttcc ctgtcactga	32400
[1072]	cttcagccac ctgcacaagg gcttggagac cacaccctc tgccctccca gaatcatatc	32460
[1073]	cctggaggct cagctagtct ctgggtcagc catacctctg ccttttctt tccctcctt	32520
[1074]	ctctgtggc ctctgacgtc tggccattta acagagctta gcatttttgc tgggtggaga	32580
[1075]	gagctggagc ctggaatcac tcctctttg tgcatacga gggcatgaaa accaaggtgt	32640
[1076]	gtgcattcca gtggcctgga ctctactatc ctgagtggtg aggtatttaa ggaaaatacc	32700
[1077]	tctcagcgtg gtgaggtatt taaggaat acctgttgac aggtgacatt ttctgtgtgt	32760
[1078]	gtatctacag catgctggtg gctgccatcc agtctgcagg actgacggag acctcaacc	32820
[1079]	gggaaggagt ctacacagtc tttgtccca caaatgaagc cttccgagcc ctgccaccaa	32880
[1080]	gagaacggag cagactcttg ggtaaagacc aacttaagta cacgtctcca tttttctaaa	32940
[1081]	gtagtatcc ctcaggcccc cagcagcaaa cagttggcac atcaaggatt gacttgaagg	33000
[1082]	gattttatga caagactatt agtgaaagag tgggcgggac taaaggaact agcaaaggat	33060
[1083]	gaggccaacc aggactagc aaccctggga agcctttact acccctagc ctgggggaat	33120
[1084]	gggaggatga gagcaggaac caggaggtc atgagcctg gacaaggga cagaacagca	33180
[1085]	gccagagcca tgtgcagcca gccactgtca gaacctgca agggggacca ctcagcgccc	33240
[1086]	cagcctccct ctgacagctg tgccatctgg gtctcttgtt ggctgatgcg agagcaggag	33300
[1087]	ggagcccact gatgcagttc atagagctca gcctcctggg caggaaaccg ggcagagagg	33360
[1088]	agtagaaaag aattaagggt ggctgcgacc agcccagtc ctgaggcacg tttccactg	33420
[1089]	gagacctatg agcacagtga taataaagcc agttacctgc actgactatc cctccagaca	33480
[1090]	aaagctttcc caagaagtta gtcatggctc tgagagatct agttgaggat gtttggcagg	33540
[1091]	ggatctagtg gttacgggtg gctaagaaaa atgaggaagg taagagtatc ttgcagcctg	33600

[1092]	tggtgggagg attaaatagg atgccacaca cagggccagg cagacagcct ggtcagtaat	33660
[1093]	agccatgacg atgggggagg ggggagcagg aatgggagtt gcagtgttta gctcagatgc	33720
[1094]	atgcctgtga gagatgcttc cactctcaca gaaagatgag accaaggaaa aggaggagga	33780
[1095]	agaggaagga ccttgacaaa ccttggggcc cacattgtct acacctccct tcctgctcta	33840
[1096]	gagcagaata gaaagttcag gttgcaggca gctctaagtt gaattcgtgt cctgtttaat	33900
[1097]	tttctttatt gctaaatgaa tgcctgtgtc tgtgatgtcg acgtatgttc ctaaggagag	33960
[1098]	gggagaagtt cattctgaac ataaactttt catcctctct ctgtccagca agaattggaat	34020
[1099]	attccccaag tggcctgagc cagcttggtt ttctttttgt ttccaattat gtgggagttg	34080
[1100]	aggaggggga tgggaaaagc ttcccaaaca caccctcccc caggcctgag gcacccttg	34140
[1101]	gggacagaga gtgttagagg ttggtacagg tgtagagat attgaaagga catcccatgc	34200
[1102]	accccagggg ctggtgtggc tctgtacttc caggcaatat ttgttggaag gggaaccttg	34260
[1103]	tcagctccag gttgtggatg ttgaaaaatc agttggtacc cagtggctcc atcctctggc	34320
[1104]	aggcatgtgg atttgtcaat aaccaagtga actctccaaa ataagttaaa acttctctcc	34380
[1105]	ttctcagttt caagatgtcg gaaatagctg ttcataagcc ctggggaaat ttagcccttt	34440
[1106]	ggctggtaat gggagtatcc gagatgagag ggcagctgga aactttcggg atgacctccc	34500
[1107]	acacttaatt tgggaaatgc ctctgcacct ttatgggcaa ccagatgcct gcccagttg	34560
[1108]	ctggagacac tgatgtgggc tgaaaggaat gctgagacgt gacgaggaga gatgctgcgg	34620
[1109]	agggaatatc cccctcagcc ctgacctcat cggctccatg gctcctccac agtacagctg	34680
[1110]	tctactcttt taagttctcc cttcaggaaa tagccatctc aaacagaatg tgcatttgag	34740
[1111]	ggcagaatgt gtaaatattg cactactgtg ttataaccgt caggagccat gctgatgatg	34800
[1112]	aaacgtccca gatgccgtg ctggaaaggt ccctggcttt ccaagcaaat atttatctca	34860
[1113]	tggaacatg agtcatactc acagaggagt atggattaac tccttctcag cagccaggga	34920
[1114]	gcccagcatc ccagacagca tatttaaccc agaggccaac tgactgctgg ggcagatttg	34980
[1115]	tggtcatgaa catgtgcttt gtgtcctctg accattagac agattgtggg tcacaacgtt	35040
[1116]	gagtatacag tgggagctta ataagtgtt attccctggg cagggagttc ttcatctcag	35100
[1117]	gggtgaccac ttacatcttc tcctctgggc cctccttgac caggctaatt accattcttg	35160
[1118]	ggattaactc tatctccttt tcccgaacc tgcaggagat gccaaggaac ttgccaacat	35220
[1119]	cctgaaatac cacattggtg atgaaatcct ggtagcgga ggcacgggg ccctggtgcg	35280
[1120]	gctaaagtct ctccaagtg acaagctgga agtcagctg gtaagtgtcc tgcaaatcaa	35340
[1121]	aggctggcta aatttcccca gggcagggtt ccaggacata tctcaccctc aggatggaat	35400
[1122]	tatacacaca caaccttcaa gttgcagccc gaatctctga gtgtaattcg tccaaagaaa	35460
[1123]	aagagaaaag agaagagggt cttcagggaa atcaagtgag atcatagtta gacatgagta	35520
[1124]	agaacttcca gatttacaag ggaatagagc atctgatttg gcatctgaga gaggtatta	35580
[1125]	gatcttctt ctcttaagga ggtttaggc aactagttat gtgactgaag agatcagtct	35640
[1126]	gtactcacac catcccaccc cccaaaccca gggcttccact gagttgtacc atgaaccaga	35700
[1127]	ccatcccaag aggttttttg agttctgaca cttgctctgt gaggcttccc ttgctctgca	35760
[1128]	cattgatgat ataactttgt aactgcacta agagtgttcc taaagcagat agccagccga	35820
[1129]	gctccagaaa tctccctggc tgcacctgca gaggccactg acccctctgt ggagggaccg	35880
[1130]	ctcttcagtg tgtggctggc ttctactctc tgctcctctc tcttggtctt cagccatcca	35940
[1131]	ttgctcacca gtttctcacg aggagcatag gaagatatgc atgtaggag gtaggcacgg	36000
[1132]	ggatgacttg ttgacttta gcaggctatt caagaatctc ctgcacactg gtttcagatg	36060
[1133]	ctggggctct gtctgtcaca ggcttctgtg cctcctaccc ccttgagttt gtcacatggc	36120

[1134]	ccttcaggaa ggcctgagat agatttgccc tgggtgggccc tcctatgaga aaatcttaag	36180
[1135]	tgaggcacccc aggcaaaatg gaaagagcct tttgccccaga gcaggaagcc tgtcttccat	36240
[1136]	ttccagctgt tccacctact tagcttaaaa gaggcacttc gcctgtcttc agtctcagtc	36300
[1137]	tcagtctcct cttctgtgga atgggacaat aatatctact ctccttatca tacactgctg	36360
[1138]	tgaggactga gtggatcaca caaaaaagca ttatgtaaata tgcaaagtgc taaatccaca	36420
[1139]	caggagattt gaattaatcc accacactga aggtctgtca agggcaggga ctgtttcatt	36480
[1140]	caccagagta tccccagtct aacacaggac ttggcatatg aaaagtgttc agtaggccgg	36540
[1141]	gtgcagtggc tcatgcctgt aatcccagca ctttgggagg ccaaagtggg cggatcatct	36600
[1142]	gaggtcagga gttcaagtcc agcctggcca acgtggtgaa accacatctc tactaaaaat	36660
[1143]	acaaaattag ctgggcgtgg tggcacatgc ctgtaatcac agctactctg gaggctgagg	36720
[1144]	caggagaatc acttgaaccc aggaggcgga ggttgacagt agtcgagatc atgccactgc	36780
[1145]	actccagcct gggcgacaag attgaaactc catctcaaaa acaaagaaca agggaaaaaa	36840
[1146]	cgaaaactgt tcagtaaaca cttgctgaat gaataaaata aatatataaa tgtataaata	36900
[1147]	aatgctctac tttcaaccac tactctgttt ttcttttaga aaaacaatgt ggtgagtgtc	36960
[1148]	aacaaggagc ctgttccga gcctgacatc atggccacaa atggcgtggc ccatgtcatc	37020
[1149]	accaatgttc tgcagcctcc aggtaaagtgt cgcacccca ctgactctgc agccagtcct	37080
[1150]	tttcttcatg tggcagttgg tggagagaag aaaaactgtt ctaaacaatg atgagaataa	37140
[1151]	catgtaattg tgatagttaa actgtgccta tgtgactgat tgcagagtga attgggagct	37200
[1152]	gttggttttg aatgcaccac actaaggaat gtgaggacac attgctcttt gcggagttgc	37260
[1153]	ccagctatat tagctcccct cggacacagc ccagttttct gtattcgcgt ggatgctgtc	37320
[1154]	cgcgcgattc ccagcactcc tcttacagca tctcacctca gtgtatgttc cttgcctcca	37380
[1155]	gtgcagttga acctcagtc tgcctctcct catgtgtgca ttcaccttc ttggtgctct	37440
[1156]	ctcccatg gccaagttct accatgagtt atgaaacatt atggagaaaa catgtctttg	37500
[1157]	gaaatgtgag ccagaaagcc caccagtgc cctcagtcac ggttgttatg aatgacatgc	37560
[1158]	taatggtttc actctggtea aacctgcctt ttctttctc ttcagccaac agacctcagg	37620
[1159]	aaagagggga tgaacttga gactctgcgc ttgagatctt caaacaagca tcagcgtttt	37680
[1160]	ccagggtaa atgcctgcta ggtttgcgcc tagcctgagc agcctcaggt cctctgtttg	37740
[1161]	ggccatagag gagcctctcc agccccgtc ttctttggct gctccccagg gctctcttaa	37800
[1162]	aacttctccc cactcccact gaggcactct cagccccagc ctgtgtcaaa ttcagagtaa	37860
[1163]	agaaccaagg caactccctg gctttcatgg gccaaagcgc aggcctttcac accgagcct	37920
[1164]	ctgagcctca gatcatgggg aagtactgc tggagagaac agacatagct ctggaagcca	37980
[1165]	tctgccaag agggcagccc atcccaagtt catcttacag tggccaggcc tgccctgagc	38040
[1166]	cggggcctct gggtcactct tctgtgtcc atggcattgc ccatcctggg tgaggctggg	38100
[1167]	gctctcctgg gcactgtatg tattctggat acagggatac tgggctcgt atgtgtgtgg	38160
[1168]	agccatccct tccttgcccc agccccacct cctctcaaaa cctctctgg ctctttctga	38220
[1169]	gcttcccttc ctgctcccca gcttgcccag tgctcagtgc cccacttggc tcttttgcta	38280
[1170]	cttcgggtca ggtggagcct cttgggaatg tgaagtgcct tacagaaaga ttgcacttca	38340
[1171]	agaggagagg ctgcaggag ccacctaataa cccagaggcc tggagcttac tgtgtcactt	38400
[1172]	tacttttgta cacagggtc tccttagtgc cctcgagaag gattcttggc cctgagcttc	38460
[1173]	tactcctgag gccacctctg tgcagcccca gctccctcaa ctctaggctg tagtctcagt	38520
[1174]	gggaaagcct ggcttggggg tctcctagga atgtccacct gaaggcacac ttgatagggg	38580
[1175]	cttgcaaac ttatgtctgc caaggccacc tgaggaaact cctggtgcct ataagttcca	38640

[1176]	ccttccccctt cctcttcctc gccccagcat tttttctgag taggggtggc aatgggcaaa	38700
[1177]	gccattgtca taagcagttg caggtataac tttcactaga aaacctgaca ctttgtgttt	38760
[1178]	tctttcaggc ttcccagagg tctgtgcgac taggtgagtc tggctctgggt ttgaagtcat	38820
[1179]	tgcagacctg tttaggcctt accccaagc aagccaagc ctgccatctg ctgtatatag	38880
[1180]	ataagaacat catggtgcag taaaagaagc ctggcctttg gagtcagaac agcagggtga	38940
[1181]	cttgggggtca gacccagagc accccatttc cttctctgta agatgaggat aataagagta	39000
[1182]	acaacctttt agggttaagg tgagttttca gcttaggaag tctgggaata ttgcaaaggg	39060
[1183]	cttggcagga acccatggtg aggatctagt tccaagttga taggtacaga aaaccagaac	39120
[1184]	atcgggcctt gagtaaagag tgaagtttca caaaccacaa agcacctgct atgtgcagga	39180
[1185]	gagcatggca gaaggaggct gcttggccct ggtccttgag attctgacag tgtcctagac	39240
[1186]	agacatgggg agatctgcac ctatttgacg ttaccaactt ctctttttca gccctgtct	39300
[1187]	atcaaaagtt attagagagg atgaagcatt agcttgaagc actacaggag gaatgcacca	39360
[1188]	cggcagctct ccgccaattt ctctcagatt tccacagaga ctgtttgaat gttttcaaaa	39420
[1189]	ccaagtatca cactttaatg tacatgggcc gcaccataat gagatgtgag ctttgtgcat	39480
[1190]	gtgggggagg agggagagag atgtactttt taaatcatgt tccccctaaa catggctgtt	39540
[1191]	aacctactgc atgcagaaac ttggatgtca ctgcctgaca ttcacttcca gagaggacct	39600
[1192]	atcccaaagtg tggaattgac tgcctatgcc aagtccctgg aaaaggagct tcagtattgt	39660
[1193]	ggggctcata aaacatgaat caagcaatcc agcctcatgg gaagtcctgg cacagttttt	39720
[1194]	gtaaagccct tgcacagctg gagaaatggc atcattataa gctatgagtt gaaatgttct	39780
[1195]	gtcaaatgtg tctcacatct acacgtggct tggaggcttt tatggggccc tgtccaggta	39840
[1196]	gaaaagaaat ggtatgtaga gcttagattt ccctattgtg acagagccat ggtgtgtttg	39900
[1197]	taataataaa accaaagaaa catacgtcct gtgtgcatgg tacagtgtgc tgacctgagg	39960
[1198]	ccgtcatgct cctccacacc tcaattctgc tctggagaag ctacagaaagg agccccgagg	40020
[1199]	gatggttttg gggagattcc agcagccagc cctcagacag ccagacagct catgggggtt	40080
[1200]	tgagcctgtc tttgccaaac aggtttttat ttcacctcc tccggtcctg gggtttcaag	40140
[1201]	ttttcagtgt tgccttcacc ccgcacttta ttctcttat tacttggaag taccttccct	40200
[1202]	ccagcatggt gatccctgc ctgtgtgctg gacttttgag tctcagcac caacctgtga	40260
[1203]	agtggttgcc agcataatcc cattatgcag atgaggagac caaggcccag ggaagggaga	40320
[1204]	accaccagca gcacgtaaaa tagctgagct gggactggaa ctcacacctc ctgactctca	40380
[1205]	gtgaccacca ctgacaacag cataagtcca ggttttccag gcccatcccc tctgtgccaa	40440
[1206]	cccacattca gattccttc ccggtcccg taatctctgg catctagaat atcctcagga	40500
[1207]	ctctgagagg tgatatcatg tggttgtggt gccattgccc cctacctgtg tggcctgggg	40560
[1208]	ccagtcatgt gacctcccag ggtctcctct tctgtaatag ggagatgacc gtcacatcta	40620
[1209]	cttcatgggt ccatcgtgag gatgaaatga gatgatctat ataaaatgct tggtaaca	40680
[1210]	ttaggtggcc ttatttttat cctgccgtct gggactgtc aggatcaatg cgccagagag	40740
[1211]	cctttatttg tgtctttccc acaggtgggc tggccactt tcctagagaa tgggacagac	40800
[1212]	ctccttccca cccacacca tctctgcaa ggctgattca ctccagcagg cgagctcat	40860
[1213]	ttcacttcat ggaaccaatg acccaaagat atatccccag cactactgct ggctcagtcca	40920
[1214]	ctgctgctgg gaatacagca atggtagtgg cagacagagg ccctctctta aatagcttcc	40980
[1215]	agtctgagga aagagagata tgacatcaat ccattaaaat cattcatcca ttggttccac	41040
[1216]	aaatatttgt tgagggtac ctatgtgcac ccccatgtta gacctgggg aatagacatg	41100
[1217]	tcattctcat gaggtctctc tactgatggg ggggaagaga attgtcaacc agataatggc	41160

[1218]	actacagcct gtgtgttctt agtgactctg aggatagcac tgtggttctg tgacagataa	41220
[1219]	tgaaggattt ggaagcagga atgcccagga gctcccagaa gtgggaagag atgagaggaa	41280
[1220]	tggaaggaac ttacctgaag gtgaaggcat caggctaggg gaccaaggga gaaggtgtcc	41340
[1221]	tgagaggtaa ggcttaacct tgggtgtgaa ttcagttccc gtcactctcc catagctctg	41400
[1222]	tcctgctgtt cccacctccc ctgcagccat gcgggcttgg gcggctagtg agggccttgc	41460
[1223]	tcctgctggg taccctatgc tatgcttcac tttgagcacc taaaatacac acactgcact	41520
[1224]	ttaccaagat gacctcgga accaaagagg tgatcagcat aagttttaaa gacccttaaa	41580
[1225]	tttaaagtaa aaatcactac aggatccatt ataaatgcca aacactaaga tgtgtgtttc	41640
[1226]	cagttctccc cttcatttgt ccctgccact ccctgccctg actttgcccc accccctagt	41700
[1227]	aatgtgggct ccactctatg ctccaaactc tccctggaga gaaatcctcc ctgtggttga	41760
[1228]	ggacaaggcg cagccttccc ctcccacaa agaaggtcag attccctttt ttggttcta	41820
[1229]	accatccata ccccttcttt tctcatgaag actcgggcta agcattcatt agggctgcca	41880
[1230]	tctggaggat ggacccttag agctgagggg ccagcactgt gtgt	41924
[1231]	<210>	62
[1232]	<211>	683
[1233]	<212>	PRT
[1234]	<213>	智人
[1235]	<400>	62
[1236]	Met Ala Leu Phe Val Arg Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu	
[1237]	1 5 10 15	
[1238]	Gly Pro Ala Ala Thr Leu Ala Gly Pro Ala Lys Ser Pro Tyr Gln Leu	
[1239]	20 25 30	
[1240]	Val Leu Gln His Ser Arg Leu Arg Gly Arg Gln His Gly Pro Asn Val	
[1241]	35 40 45	
[1242]	Cys Ala Val Gln Lys Val Ile Gly Thr Asn Arg Lys Tyr Phe Thr Asn	
[1243]	50 55 60	
[1244]	Cys Lys Gln Trp Tyr Gln Arg Lys Ile Cys Gly Lys Ser Thr Val Ile	
[1245]	65 70 75 80	
[1246]	Ser Tyr Glu Cys Cys Pro Gly Tyr Glu Lys Val Pro Gly Glu Lys Gly	
[1247]	85 90 95	
[1248]	Cys Pro Ala Ala Leu Pro Leu Ser Asn Leu Tyr Glu Thr Leu Gly Val	
[1249]	100 105 110	
[1250]	Val Gly Ser Thr Thr Thr Gln Leu Tyr Thr Asp Arg Thr Glu Lys Leu	
[1251]	115 120 125	
[1252]	Arg Pro Glu Met Glu Gly Pro Gly Ser Phe Thr Ile Phe Ala Pro Ser	
[1253]	130 135 140	
[1254]	Asn Glu Ala Trp Ala Ser Leu Pro Ala Glu Val Leu Asp Ser Leu Val	
[1255]	145 150 155 160	
[1256]	Ser Asn Val Asn Ile Glu Leu Leu Asn Ala Leu Arg Tyr His Met Val	
[1257]	165 170 175	
[1258]	Gly Arg Arg Val Leu Thr Asp Glu Leu Lys His Gly Met Thr Leu Thr	
[1259]	180 185 190	

[1260]	Ser Met Tyr Gln Asn Ser Asn Ile Gln Ile His His Tyr Pro Asn Gly		
[1261]	195	200	205
[1262]	Ile Val Thr Val Asn Cys Ala Arg Leu Leu Lys Ala Asp His His Ala		
[1263]	210	215	220
[1264]	Thr Asn Gly Val Val His Leu Ile Asp Lys Val Ile Ser Thr Ile Thr		
[1265]	225	230	235 240
[1266]	Asn Asn Ile Gln Gln Ile Ile Glu Ile Glu Asp Thr Phe Glu Thr Leu		
[1267]	245	250	255
[1268]	Arg Ala Ala Val Ala Ala Ser Gly Leu Asn Thr Met Leu Glu Gly Asn		
[1269]	260	265	270
[1270]	Gly Gln Tyr Thr Leu Leu Ala Pro Thr Asn Glu Ala Phe Glu Lys Ile		
[1271]	275	280	285
[1272]	Pro Ser Glu Thr Leu Asn Arg Ile Leu Gly Asp Pro Glu Ala Leu Arg		
[1273]	290	295	300
[1274]	Asp Leu Leu Asn Asn His Ile Leu Lys Ser Ala Met Cys Ala Glu Ala		
[1275]	305	310	315 320
[1276]	Ile Val Ala Gly Leu Ser Val Glu Thr Leu Glu Gly Thr Thr Leu Glu		
[1277]	325	330	335
[1278]	Val Gly Cys Ser Gly Asp Met Leu Thr Ile Asn Gly Lys Ala Ile Ile		
[1279]	340	345	350
[1280]	Ser Asn Lys Asp Ile Leu Ala Thr Asn Gly Val Ile His Tyr Ile Asp		
[1281]	355	360	365
[1282]	Glu Leu Leu Ile Pro Asp Ser Ala Lys Thr Leu Phe Glu Leu Ala Ala		
[1283]	370	375	380
[1284]	Glu Ser Asp Val Ser Thr Ala Ile Asp Leu Phe Arg Gln Ala Gly Leu		
[1285]	385	390	395 400
[1286]	Gly Asn His Leu Ser Gly Ser Glu Arg Leu Thr Leu Leu Ala Pro Leu		
[1287]	405	410	415
[1288]	Asn Ser Val Phe Lys Asp Gly Thr Pro Pro Ile Asp Ala His Thr Arg		
[1289]	420	425	430
[1290]	Asn Leu Leu Arg Asn His Ile Ile Lys Asp Gln Leu Ala Ser Lys Tyr		
[1291]	435	440	445
[1292]	Leu Tyr His Gly Gln Thr Leu Glu Thr Leu Gly Gly Lys Lys Leu Arg		
[1293]	450	455	460
[1294]	Val Phe Val Tyr Arg Asn Ser Leu Cys Ile Glu Asn Ser Cys Ile Ala		
[1295]	465	470	475 480
[1296]	Ala His Asp Lys Arg Gly Arg Tyr Gly Thr Leu Phe Thr Met Asp Arg		
[1297]	485	490	495
[1298]	Val Leu Thr Pro Pro Met Gly Thr Val Met Asp Val Leu Lys Gly Asp		
[1299]	500	505	510
[1300]	Asn Arg Phe Ser Met Leu Val Ala Ala Ile Gln Ser Ala Gly Leu Thr		
[1301]	515	520	525

[1302]	Glu Thr Leu Asn Arg Glu Gly Val Tyr Thr Val Phe Ala Pro Thr Asn
[1303]	530 535 540
[1304]	Glu Ala Phe Arg Ala Leu Pro Pro Arg Glu Arg Ser Arg Leu Leu Gly
[1305]	545 550 555 560
[1306]	Asp Ala Lys Glu Leu Ala Asn Ile Leu Lys Tyr His Ile Gly Asp Glu
[1307]	565 570 575
[1308]	Ile Leu Val Ser Gly Gly Ile Gly Ala Leu Val Arg Leu Lys Ser Leu
[1309]	580 585 590
[1310]	Gln Gly Asp Lys Leu Glu Val Ser Leu Lys Asn Asn Val Val Ser Val
[1311]	595 600 605
[1312]	Asn Lys Glu Pro Val Ala Glu Pro Asp Ile Met Ala Thr Asn Gly Val
[1313]	610 615 620
[1314]	Val His Val Ile Thr Asn Val Leu Gln Pro Pro Ala Asn Arg Pro Gln
[1315]	625 630 635 640
[1316]	Glu Arg Gly Asp Glu Leu Ala Asp Ser Ala Leu Glu Ile Phe Lys Gln
[1317]	645 650 655
[1318]	Ala Ser Ala Phe Ser Arg Ala Ser Gln Arg Ser Val Arg Leu Ala Pro
[1319]	660 665 670
[1320]	Val Tyr Gln Lys Leu Leu Glu Arg Met Lys His
[1321]	675 680

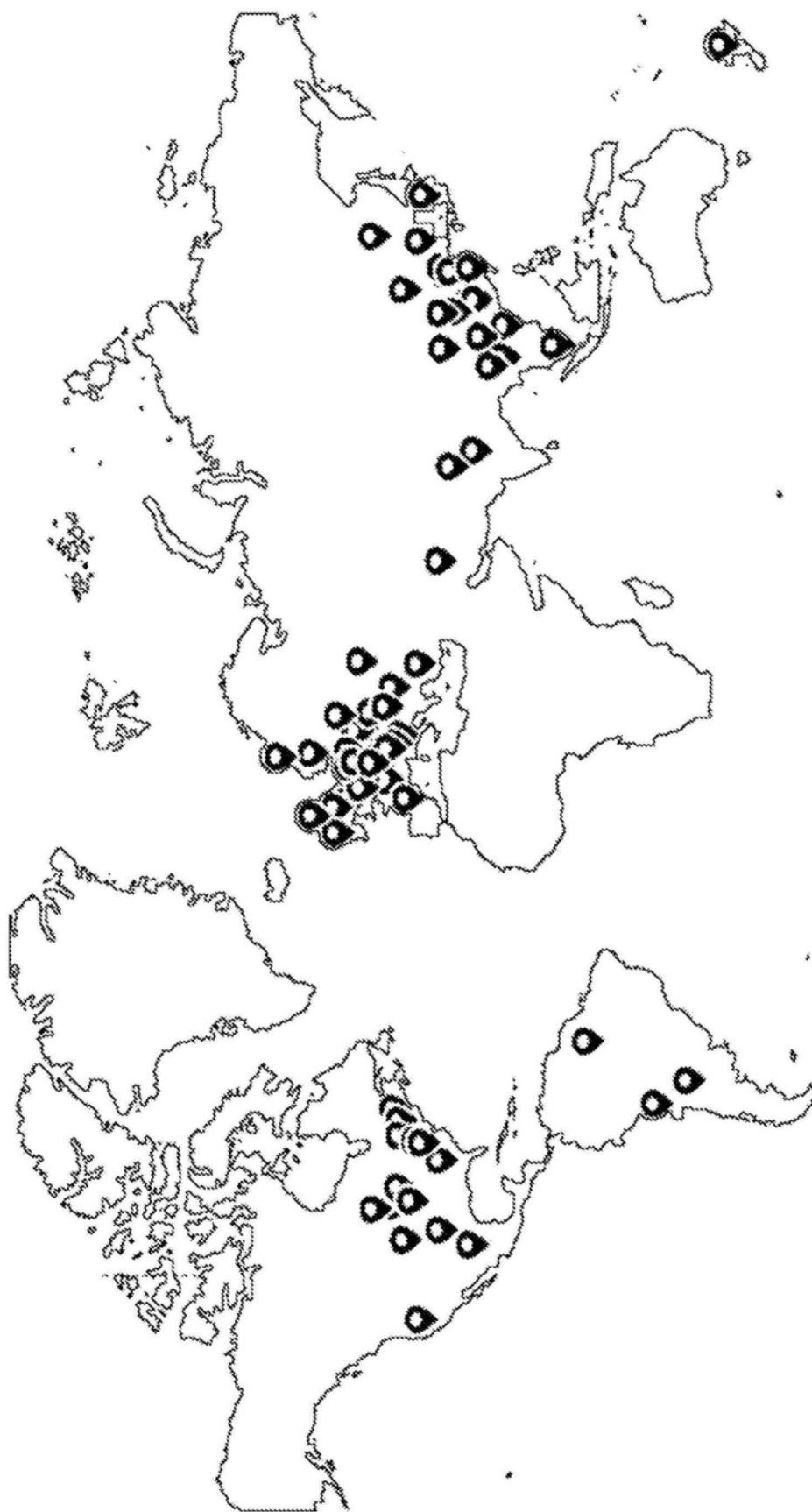
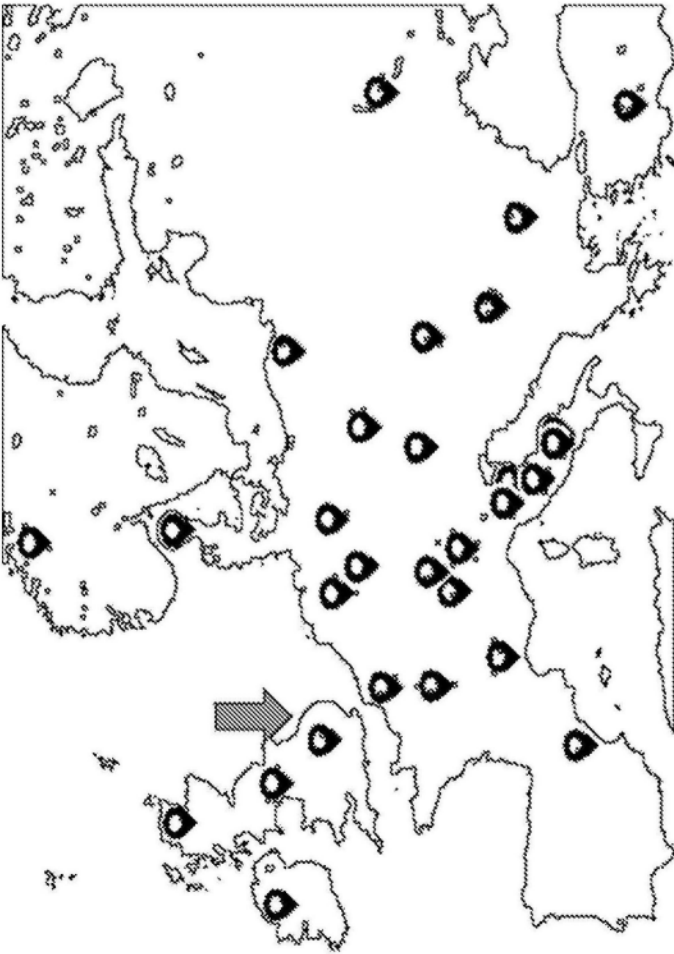


图1A



← 英国: G6234D; R124S; H40..	
名称	英国: G623D; R124S; H403Q; R124C; R124H; GCD;
描述	种族:英国人、伊朗人(H403Q)、孟加拉人(R124C)
G623D: 5	
R124S: 6	
H403Q: 1 (圆锥形角膜)	
R124C: 3	
R124H: 6	
GCD: 1	

图1B

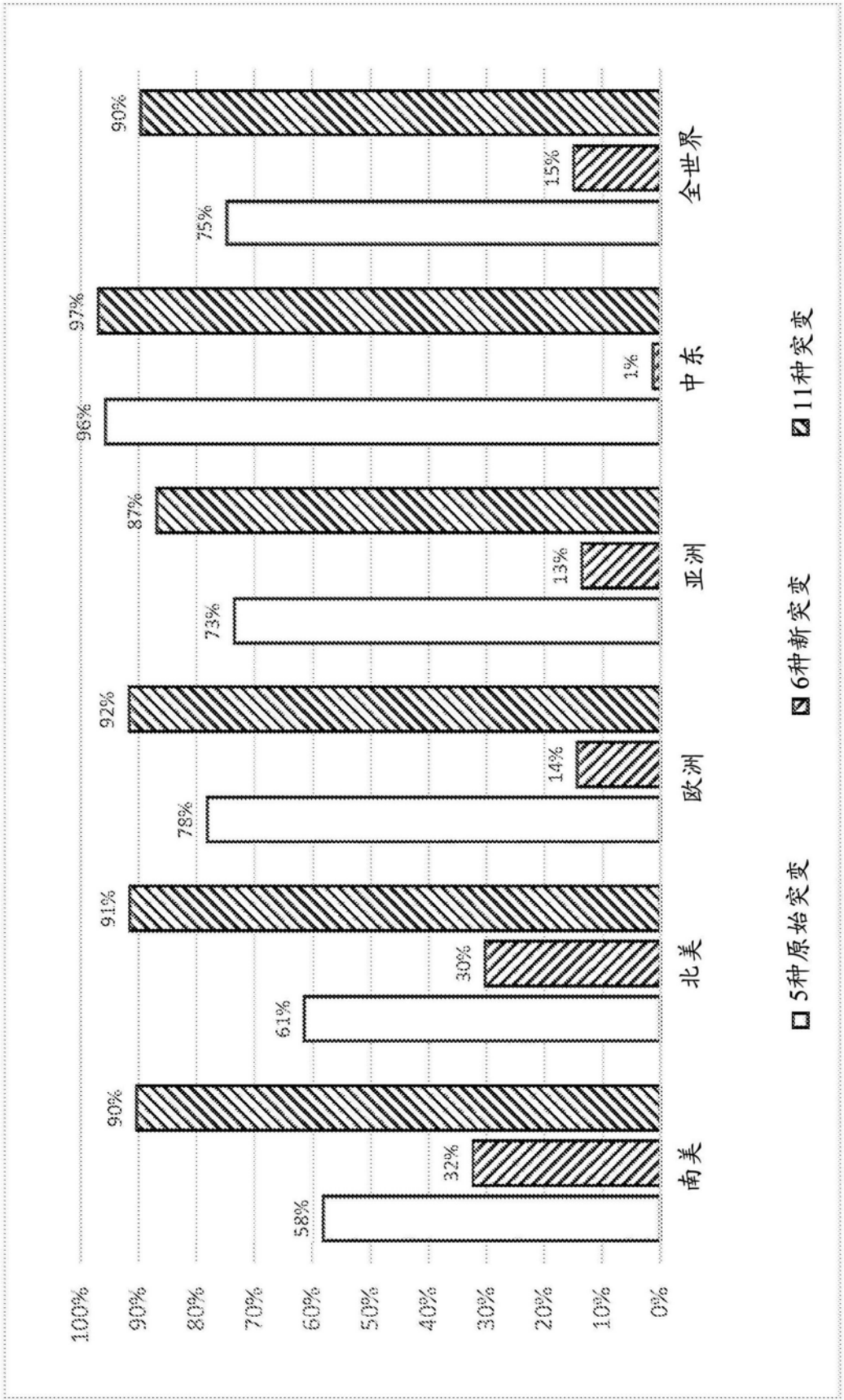


图2

突变	报道的病例数
当前基因测试组中五种最常见的突变	
R124C 1型网格状角膜营养不良	372
R555W 1型颗粒状角膜营养不良	338
R124H 2型颗粒状角膜营养不良	325
R124L Reis-Buckler角膜营养不良	110
R555Q Thiel-Behnke角膜营养不良	75
扩展测试组中六种另外的突变	
H626R I/IIIA亚型网格状角膜营养不良	117
A546D 变异的网格状角膜营养不良	48
H572R 1亚型网格状角膜营养不良	34
G623D 变异的Reis-Buckler角膜营养不良	26
R124S 1型颗粒状角膜营养不良亚型	18
M502V 变异的角膜营养不良和变异的Thiel-Behnke 角膜营养不良	4

图3

UCL/穆尔菲尔兹具有68种TGFB1 CD的91个英国不同种族人群的检测百分比						
临床诊断	病例#	病例%	TGFB1突变	突变#	突变%	评述
网格式角膜营养不良	24	35%	R124C	19	28%	
			V625D	1	1%	亚洲人
			H626R*	2	3%	
			A620D	1	1%	亚洲人
			G623D*	1	1%	
1型颗粒状角膜营养不良	21	31%	R555W	13	19%	
2型颗粒状角膜营养不良			R124H	8	12%	
TB/RB CD	23	34%	R555Q	20	29%	
			R124L	1	1%	
			G623D*	2	3%	
总TGFB1 CD	68		通用测试	61	90%	
			另外的6 SNP*	5	7%	
			总11 SNP	66	97%	

图4

密码子编号	位置	dbSNP (19总计)	LT测定ID	靶序列
R124S	135382095	rs121909210	ANMFXKJ	ACGAGACCCTGGAGCTGTTGGATCCACCACCACCTCAGCTGTACAC GGAC(C/A)GCACGGAGAAAGCTGAGGCTGAGATGGAGGGGCC GGCAGCTTCACCATC SEQ ID NO: 1
A546D	135392443	rs267607109	ANNKR6G	GACCCTCAAC CGG AAG GAGTCTACACAGTC TTT GCT CCC ACAAATGAAG(C/A)CTTCCGAGCCCTGCCACCAAGAACGGAG CAG ACT CTT GGGTAAAGACC SEQ ID NO: 2
H572R	135394815	没有	ANPRKRE	CTTGCCAACATCCTGAAATACC CCAAGGAACCTGCCAACATCCTGAAATACC(A/G)CATTTGGTGATG AAATCCTGGTTAGCGGAGGCAT CGG GGC CCTGGTGCGGCTA SEQ ID NO: 3
G623D	135396587	rs121909215	ANRWFCC	GAGTGCAACAAGGAGCCTGTTGCCGAGCCTGACATCATGGCCA CAAATG(G/A)CGTGGTCCATGTCATCACCATAATGTTCTGCA GCC TCC AGG TAAGTGTCGCA SEQ ID NO: 4 (AAGGAGCCTGTTGCCGAGC)
H626R	135396596	no	ANTZ9V9	CTGACATCATGGCCACAAATGGCGTGGTCC(A/G)TGTCATCACCA ATGTTCTGCAGCCTCC AGG TAA GTG TCGCATCCCCACTGA SEQ ID NO: 5
M502V	135391462	rs188677757	ANRWF6	CACGACAAGAGGGGAGGTACGGAGCCCTGTTACGATGGACC GGGTGCTGACCCCCCA(A/G)TGGGACTGTCATGGATGTCCTGA AGGGAGACA ATC GCT T TAGGTAATTA GTTCCATCCCC SEQ ID NO: 6

图5A

形式1 (V1)

密码子 编号	正向引物	反向引物	VIC 探针(正常)	FAM探针(突变)	ABY探针(正常)- NN互补	JUN 探针(突变)- HH互补
R124S	CCACACCACTCAGCTGTA C SEQ ID NO: 7 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	TCATCTCAGGCCTCAGC T SEQ ID NO: 13 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CTCCGTGCGGTCCGT SEQ ID NO: 19 (形式1与V1引物一 起工作)	TCTCCGTGCTGTCCGT SEQ ID NO: 25 (形式1与V1引物一 起工作)		
A546D	TCT ACA CAG TCT TTG CTC CCA CA SEQ ID NO: 8 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CTC CGT TCT CTT GGT GGC A SEQ ID NO: 14 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CTC GGA AGG CTT CAT T SEQ ID NO: 20 (形式1与V1引物一 起工作)	CTC GGA AGT CTT CAT T SEQ ID NO: 26 (形式1与V1引物一 起工作)	CTT GGT GGC AGG GCT CGG AAG GCT TCA TTT GT SEQ ID NO: 31 (形式1不工作)	CTT GGT GGC AGG GCT CGG AAG TCT TCA TTT GT SEQ ID NO: 34 (形式1不与任何引物 一起工作)
H572R	CCA AGG AAC TTG CCA ACA T SEQ ID NO: 9 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CCT CCG CTA ACC AGG ATT TCA TC SEQ ID NO: 15 (形式1与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CCT GAA ATA CCA CAT TGG SEQ ID NO: 21 (形式1与V1引物一 起工作)	CCT GAA ATA CCG CAT TGG SEQ ID NO: 27 (形式1与V1引物一 起工作)	C TTG CCA ACA TCC TGA AAT ACC ACA TTG GTG AT SEQ ID NO: 32 (形式1不与任何引物一 起工作)	C TTG CCA ACA TCC TGA AAT ACC GCA TTG GTG AT SEQ ID NO: 35 (形式1不与任何引物 一起工作)
G623D	TTG CCG AGC CTG ACA TCA SEQ ID NO: 10 (形式1与V1 VIC/FAM探 针和ABY/JUN探针一起 工作)	TGC AGA ACA TTG GTG ATG ACA TG SEQ ID NO: 16 (形式1与V1 VIC/FAM 探针和ABY/JUN探针 一起工作)	CACAAATGGCGTGGT C SEQ ID NO: 22 (形式1与V1引物一 起工作)	CCACAAATGACGTGGT C SEQ ID NO: 28 (形式1与V1引物一 起工作)	CA TCA TGG CCA CAA ATG GCG TGG TCC ATG TC SEQ ID NO: 33 (形式1与V1引物一起 工作)	CA TCA TGG CCA CAA ATG ACG TGG TCC ATG TC SEQ ID NO: 36 (形式1与V1引物一起 工作)

图5B

密码子 编号	正向引物	反向引物	VIC探针 (正常)	FAM探针 (突变)	ABY探针(正常)-NN互补	JUN 探针(突 变)-HH互补
H626R	CTGACATCATGGGCCACAAATGG SEQ ID NO: 11 (形式1仅与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	GGAGGCTGCAGAACATTGGT SEQ ID NO: 17 (形式1仅与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CGTGGTCCATGTCATC SEQ ID NO: 23 (形式1仅与V1引物一 起工作)	TGGTCCGTGTCATC SEQ ID NO: 29 (形式1仅与V1引物 一起工作)		
M502V	GGACCGG GTG CTG ACC SEQ ID NO: 12 (形式1仅与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	CTCCCTTCAGGACATCCA SEQ ID NO: 18 (形式1仅与V1 VIC/FAM 探针一起工作)	TGACAGTCCCCATTGGG SEQ ID NO: 24 (形式1仅与V1引物一 起工作)-用于G623D 的多重实验)	TGACAGTCCCCACTGGG SEQ ID NO: 30 (形式1仅与V1引物一 起工作)-用于G623D 的多重实验		

图5B(续)

形式2 (V2)

密码子 编号	正向引物	反向引物	VIC 探针(正常)	FAM探针 (突变)	ABY 探针(正常)- NN互补	JUN探针(突变)- HH互补
R124S	GACCTGGAGTCGTTGGAT C SEQ ID NO: 37 (形式2不与V2 VIC/FAM 探针一起工作)	CCGGCAGCTTCACCATC SEQ ID NO: 43 (形式2不与V2 VIC/FAM 探针一起工作)	CGACTTCTCCGTGCGGT CCGT GTACAG SEQ ID NO: 49 (形式2不工作)	CGACTTCGACTT TCTCCGTGCTGTC CGT GTACAG GTACAG SEQ ID NO: 53 (形式2不工作)		
A546D	CGGGAAGGAGTCTACACAG TCTTT SEQ ID NO: 38 (形式2不与V1或V2 ABY/ JUN探针一起工作)	AAGAGTCTGCTCCGTTCTCT T SEQ ID NO: 44 (形式2不与V1或V2 ABY/ JUN探针一起工作)			AGGGCTCGGAAGGCTTC ATT SEQ ID NO: 56 (形式2不与V1引物一起 工作)	AGGGCTCGGAAGTCTTC ATT SEQ ID NO: 59 (形式2不与V1引物一起 工作)
H572R	TGAAATACCCCAAGGAAC TG SEQ ID NO: 39 (形式2不与V1探针一起 工作)	GCCCCGATGCTCCGCTAAC CAGG SEQ ID NO: 45 (形式2不与V1探针一起 工作)			ACATCCTGAAATACCCACA TTGG SEQ ID NO: 57 (形式2与V2引物一起 工作)	ACATCCTGAAATACCGCA TTGG SEQ ID NO: 60 (形式2与V2引物一起 工作)
G623D	AGGAGCCTGTTGCCGAGC SEQ ID NO: 40 (形式2不与V1或V2探针 一起工作)	CCTGGAGGCTGCAGAACAT TGGTG SEQ ID NO: 46 (形式2不与V1或V2探针 一起工作)			CACAAATG GCGTGGTC SEQ ID NO: 58 (形式2不与V1或V2引物 一起工作)	CACAAATGACGTGGTC SEQ ID NO: 61 (形式2不与V1或V2引物 一起工作)

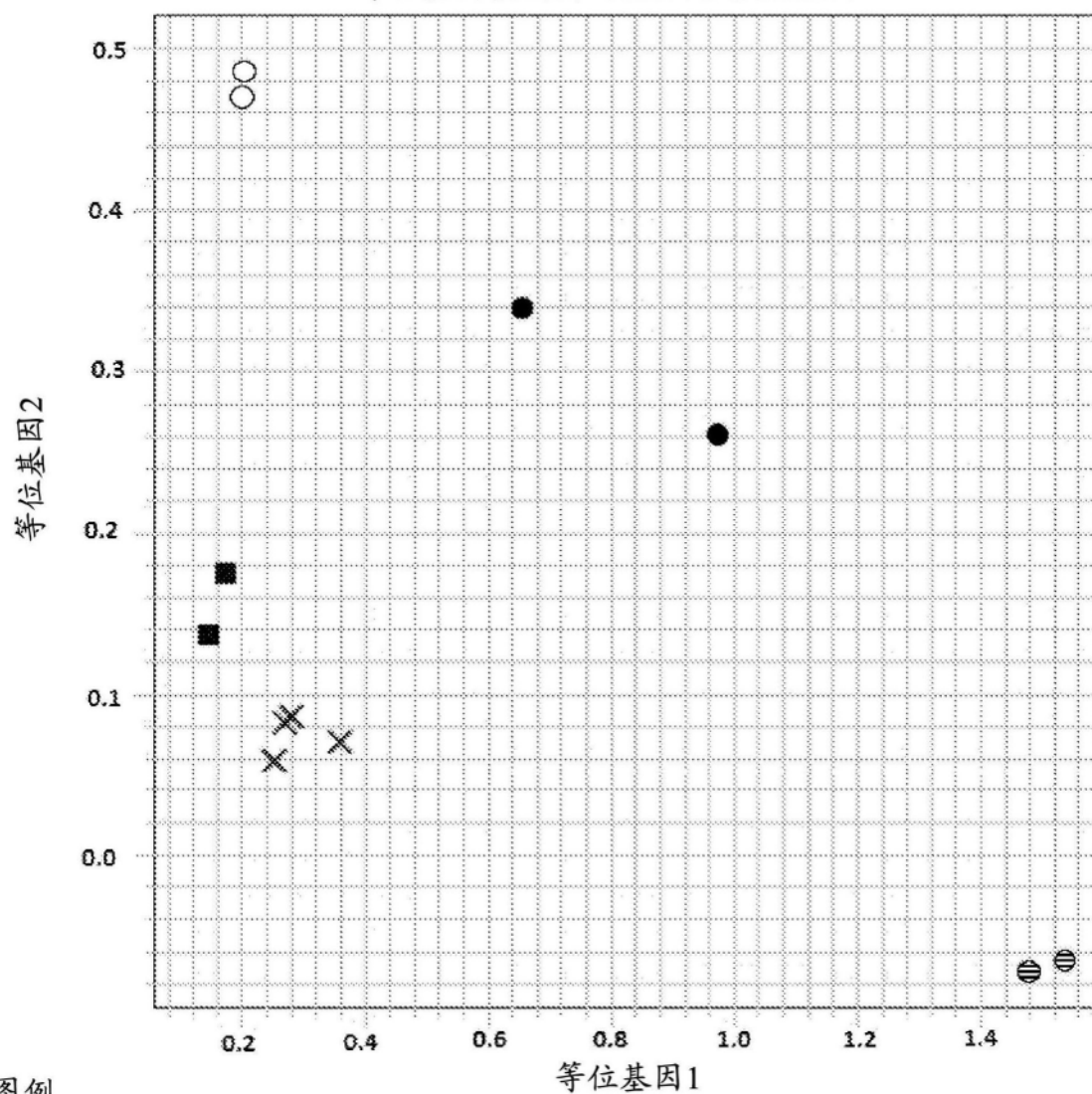
图5C

密码子	正向引物	反向引物	VIC 探针 (正常)	FAM探针 (突变)	ABY 探针 (正常)-NN互补	JUN探针 (突变)-HH互补
H626R	TTGCCGAGCCTGACATCATGGC SEQ ID NO: 41 (形式2与V2探针一起工作)	CACCTACCTGGAGGCGCAGA SEQ ID NO: 47 (形式2与V2探针一起工作)	TGGCGTGGTCCATGTC SEQ ID NO: 50 (形式2与V2引物一起工作)	TGGCGTGGTCCGTGTC SEQ ID NO: 54 (形式2与V2引物一起工作)		
M502V	GTTCACGATGGACCGG SEQ ID NO: 42 (形式2不与V2探针一起工作)	AGCGATTGTCTCCCTTCA SEQ ID NO: 48 (形式2不与V2探针一起工作)	TCCCCATTGGGGGGGGT SEQ ID NO: 52 (形式2不与V2引物一起工作)	TCCCCACTGGGGGGGGT SEQ ID NO: 55 (形式2不与V2引物一起工作)		

图5C (续)

实施例4的多重实验的G623D鉴别图

等位基因鉴别图 (SNP测定G623D)



图例

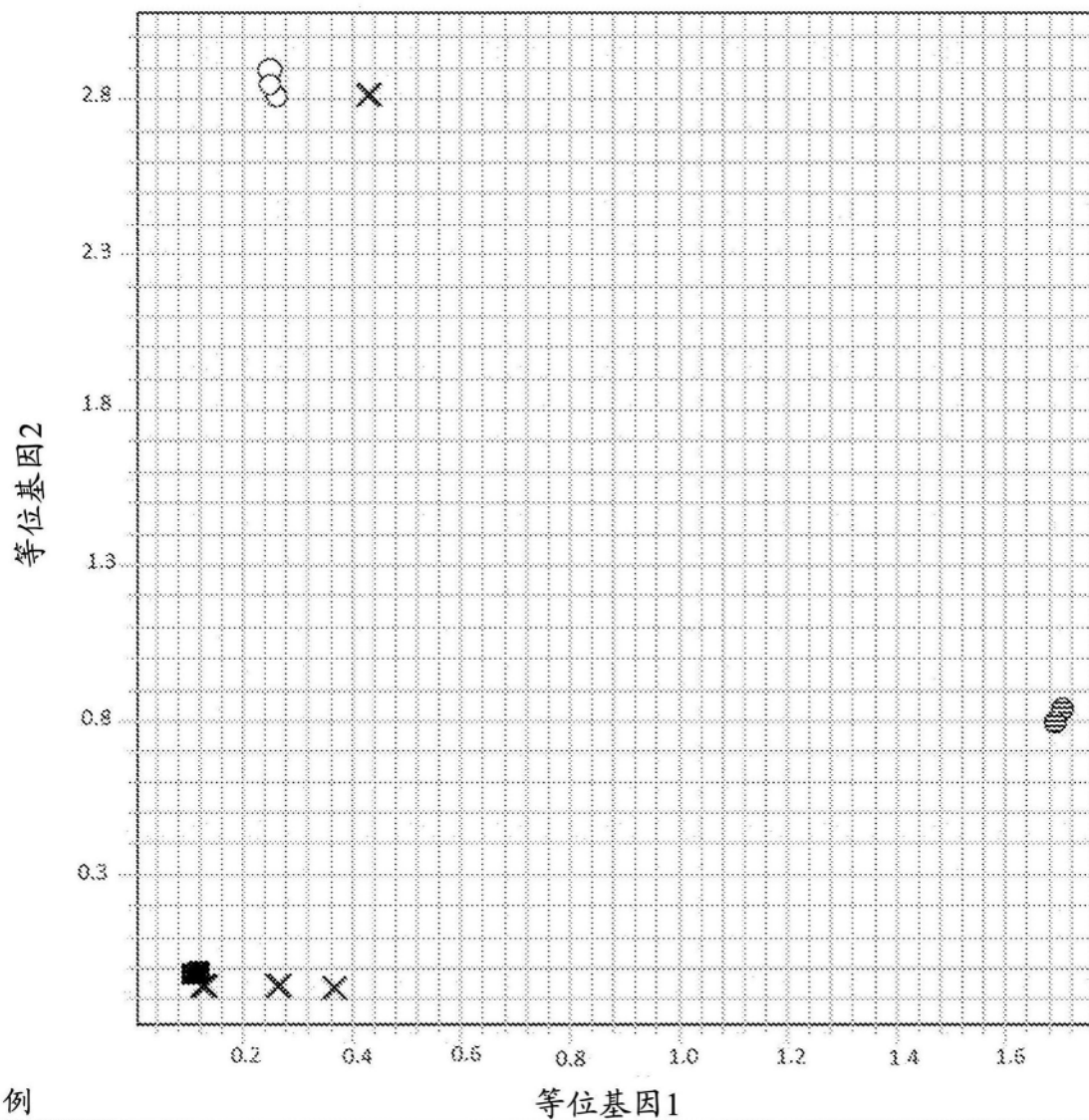
⊖ 杂合1/1
● 杂合1/2

○ 杂合2/2
× 未确定

图6A

实施例4的多重实验的G623D鉴别图

等位基因鉴别图 (SNP测定M502V&G623D)



图例

▨ 杂合1/1
● 杂合1/2

○ 杂合2/2
× 未确定

图6B