



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116463408 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 21

(21) 申请号 202310165245.9

C12N 15/11 (2006.01)

(22) 申请日 2023.02.24

C40B 50/06 (2006.01)

(71) 申请人 西安浩瑞基因技术有限公司

地址 710086 陕西省西安市沣东新城协同  
创新港研发中试楼北楼2、3层

(72) 发明人 王博 陈超琼 张悦 何润钧  
王硕

(74) 专利代理机构 西安知遇汇尔专利代理事务  
所(普通合伙) 61286

专利代理师 罗斌

(51) Int. Cl.

C12Q 1/6876 (2018.01)

C12Q 1/686 (2018.01)

C12Q 1/6806 (2018.01)

C12Q 1/6869 (2018.01)

权利要求书2页 说明书45页  
序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法

(57) 摘要

本公开涉及基因分型检测技术领域,涉及一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法,其中,ABO基因扩增引物,包括:第一组基因引物混合和第二组基因引物混合;所述第一组基因引物混合包括:第一组引物:ABO-1-F和ABO-1-R;第二组引物:ABO-3-F和ABO-3-R;所述第二组基因引物混合包括:引物:ABO-2-F和ABO-2-R;基于本申请的ABO基因扩增(如图3)引物配置得到的扩增体系,对扩增体系扩增后得到扩增产物,基于扩增产物构建测序文库,HiFireads模式对所述ABO基因测序文库进行测序,可以有效的提高测序结果的准确性。

PacBio 接头退火程序

1.10xannealingbuffer 成分:	
组份	量
Tris-HCl, pH7.5	100mM
NaCl	1M
NFW	补充体系

2.退火体系:

组份	量
10xannealingbuffer	10μL
BGBarcodeAdaptor(100M)	20μL
NFW	Upto100μL

退火程序(约 45min):

温度	降温速度	时间
80°C		
80°C	0.1°C/s 降低	2min
75°C	0.1°C/s 降低	2min
70°C	0.1°C/s 降低	2min
65°C	0.1°C/s 降低	2min
60°C	0.1°C/s 降低	2min
55°C	0.1°C/s 降低	2min
50°C	0.1°C/s 降低	2min
45°C	0.1°C/s 降低	2min
40°C	0.1°C/s 降低	2min
35°C	0.1°C/s 降低	2min
30°C	0.1°C/s 降低	2min
25°C	0.1°C/s 降低	2min
4°C		Hold

退火接头-20°C保存。

1. 一种ABO基因引物,其特征在于,其引物序列包括:

引物1:ABO-1-F,核苷酸序列为:

ACATAGACAGTATCGGGGTTGCGCTG

引物2:ABO-1-R,核苷酸序列为:

GAGGAGACAGCAATTCCAATCTTACAGAG

引物3:ABO-2-F,核苷酸序列为:

CTCCGCAGTCATTCCCCATTCCCAC

引物4:ABO-2-R,核苷酸序列为:

TCCCTGCTGTCTCAGAGGCTCATGTT

引物5:ABO-3-F,核苷酸序列为:

CCCTACAGCCAAACGATCTACCAACTAC

引物6:ABO-3-R,核苷酸序列为:

TGCGGGAAGAGTCACTCCAGTCC。

2. 一种ABO基因扩增引物,其特征在于,包括:第一组基因引物混合和第二组基因引物混合;

所述第一组基因引物混合包括:

第一组引物:ABO-1-F和ABO-1-R;

第二组引物:ABO-3-F和ABO-3-R;

所述第二组基因引物混合包括:

引物:ABO-2-F和ABO-2-R。

3. 根据权利要求2所述的ABO基因扩增引物,其特征在于,各引物组中的引物配比为:

ABO-1-F和ABO-1-R为0.08 $\mu$ L:0.08 $\mu$ L;

ABO-3-F和ABO-3-R为0.08 $\mu$ L:0.08 $\mu$ L;

ABO-2-F和ABO-2-R为0.05 $\mu$ L:0.05 $\mu$ L。

4. 一种ABO基因扩增体系,将权利要求2所述的第一组基因引物混合以及第二组基因引物混合分别稀释至工作浓度并按照预定配比配制,其特征在于,ABO基因扩增体系包括:第一扩增体系与第二扩增体系;

所述第一扩增体系包括:

12.5 $\mu$ L的KOD Neo FX Buffer、5 $\mu$ L的dNTPs、0.32 $\mu$ L的第一组基因引物混合、5 $\mu$ L的gDNA (10ng/ $\mu$ L)、0.5 $\mu$ L的KOD Neo FX、1.68 $\mu$ L的water;所述第一扩增体系的总体积为25 $\mu$ L;

所述第二扩增体系包括:

12.5 $\mu$ L的KOD Neo FX Buffer、5 $\mu$ L的dNTPs、0.1 $\mu$ L的第二组基因引物混合、5 $\mu$ L的gDNA (10ng/ $\mu$ L)、0.5 $\mu$ L的KOD Neo FX、1.9 $\mu$ L的water;所述第二扩增体系的总体积为25 $\mu$ L。

5. 根据权利要求4所述的ABO基因扩增体系,其特征在于,按照预定配比配制过程中,分别将第一扩增体系与第二扩增体系置于两个管中,分别对两个管进行扣盖混匀离心处理。

6. 一种扩增方法,用于分别对权利要求4或5所述的第一扩增体系、第二扩增体系进行扩增,其特征在于,包括:

对所述第一扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94 $^{\circ}$ C,2min;98 $^{\circ}$ C,12s,68 $^{\circ}$ C,12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68 $^{\circ}$ C,10min;

对所述第二扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94°C,2min;98°C,12s,68°C,12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68°C,10min。

7. 根据权利要求6所述的扩增方法,其特征在于,分别对所述第一扩增体系以及所述第二扩增体系扩增后,所述方法还包括:

利用1%琼脂糖凝胶电泳对PCR反应后产物进行检测分析,得到扩增产物中目的基因是否扩增的检测结果;其中,检测电压:120V;检测时间:120min。

8. 一种测序文库构建方法,其特征在于,包括:

使权利要求6或7所述的扩增产物与接头发生连接反应构建得到文库;

对所述文库进行纯化;

对纯化后的文库进行混库,以构建所述ABO基因测序文库;

所述连接反应的条件为:37°C,40min;16°C,40min;65°C,10min;

消化反应的条件为:37°C,60min。

9. 一种测序方法,其特征在于,采用权利要求8所述的ABO基因测序文库的构建方法构建的ABO基因测序文库,对所述ABO基因测序文库进行测序。

10. 根据权利要求9所述的测序方法,其特征在于,采用HiFi reads模式对所述ABO基因测序文库进行测序,其中,上机量为200pM,平均片段大小为10000bp。

## 一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法

### 技术领域

[0001] 本公开涉及基因分型检测技术领域,具体涉及一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法。

### 背景技术

[0002] 1990年Landsteiner发现ABO血型系统,至今ABO血型是人类红细胞表面表达最强且最具临床意义的抗原系统,因此,ABO血型鉴定的准确性对输血医学、医学遗传学、器官移植学及法医学等具有重要的临床意义,同时可以促进精准输血,保障患者输血安全。ABO血型受遗传过程中基因突变、病理状态等因素影响,导致了所表达血型抗原的复杂性和多样性,部分病例血型表型难以确定,给输血带来一定的困难,因此,需要在输血前对血液进行分型。

[0003] 目前已应用到ABO血型分型的基因分型技术包括PCR-RFLP、PCR-ASP、PCR-SSP、PCR实时荧光定量PCR、Sanger测序法等,作为常规血清学方法的补充以上方法均可对ABO等位基因进行鉴定,但是这些方法存在一个通病,通量低,因此面对大批量样本略显乏力,同时这几项测序技术虽然具备实验简单,实验周期短的优势,但此技术无法检测新的等位基因,只能对已知的血型分型进行区分。近年来,在人类SNP的研究上高通量技术已十分成熟,目前已经开发了几种大规模的基因分型法(例如基因芯片、NGS)增加了筛选大量样本的可能,但因ABO的基因全长长,而此技术读长短,因此组装非常依赖数据计算,同时NGS技术虽然对SNV的检测准确性很高,但对于插入或缺失、SVs和拷贝数变体(CNVs)相对不敏感,造成会引入大量模棱两可的结果。

[0004] 需要说明的是,在上述背景技术部分公开的信息仅用于加强对本公开的背景的理解,因此可以包括不构成对本领域普通技术人员已知的现有技术的信息。

### 发明内容

[0005] 本公开的目的在于提供一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法,进而至少在一定程度上克服由于相关技术的限制和缺陷而导致的传统测序方法准确度不高的情况。

[0006] 本公开的其他特性和优点将通过下面的详细描述变得显然,或部分地通过本公开的实践而习得。

[0007] 根据本公开的第一方面,提供了一种ABO基因扩增引物,包括:第一组基因引物混合和第二组基因引物混合;

[0008] 所述第一组基因引物混合包括:

[0009] 第一组引物:ABO-1-F、ABO-1-R;

[0010] 第二组引物:ABO-3-F和ABO-3-R;

[0011] 所述第二组基因引物混合包括:

[0012] 引物:ABO-2-F和ABO-2-R。

[0013] 可选的,各引物组中的引物配比为:

[0014] ABO-1-F、ABO-1-R为0.08:0.08;

[0015] ABO-3-F和ABO-3-R为0.08:0.08;

[0016] ABO-2-F和ABO-2-R为0.05:0.05。

[0017] 根据本公开的第二方面,提供了一种ABO基因扩增体系,将上述的第一组基因引物混合以及第二组基因引物混合分别稀释至工作浓度并按照预定配比配制,ABO基因扩增体系包括:第一扩增体系与第二扩增体系;

[0018] 所述第一扩增体系包括:

[0019] 12.5 $\mu$ L的KOD Neo FX Buffer、5 $\mu$ L的dNTPs、0.32 $\mu$ L的第一组基因引物混合、5 $\mu$ L的gDNA(10ng/ $\mu$ L)、0.5 $\mu$ L的KOD Neo FX、1.68 $\mu$ L的water;所述第一扩增体系的总体积为25 $\mu$ L;

[0020] 所述第二扩增体系包括:

[0021] 12.5 $\mu$ L的KOD Neo FX Buffer、5 $\mu$ L的dNTPs、0.1 $\mu$ L的第二组基因引物混合、5 $\mu$ L的gDNA(10ng/ $\mu$ L)、0.5 $\mu$ L的KOD Neo FX、1.9 $\mu$ L的water;所述第二扩增体系的总体积为25 $\mu$ L。

[0022] 可选的,按照预定配比配制过程中,分别将第一扩增体系与第二扩增体系置于两个管中,分别对两个管进行扣盖混匀离心处理。

[0023] 根据本公开的第三方面,提供了一种扩增方法,用于分别对上述的第一扩增体系、第二扩增体系进行扩增,包括:

[0024] 对所述第一扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94 $^{\circ}$ C, 2min;98 $^{\circ}$ C, 12s,68 $^{\circ}$ C, 12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68 $^{\circ}$ C, 10min;

[0025] 对所述第二扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94 $^{\circ}$ C, 2min;98 $^{\circ}$ C, 12s,68 $^{\circ}$ C, 12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68 $^{\circ}$ C, 10min。

[0026] 可选的,分别对所述第一扩增体系以及所述第二扩增体系扩增后,所述方法还包括:

[0027] 利用1%琼脂糖凝胶电泳对PCR反应后产物进行检测分析,得到扩增产物中目的基因是否扩增的检测结果;其中,检测电压:120V;检测时间:120min。

[0028] 根据本公开的第四方面,提供了一种测序文库构建方法,包括:

[0029] 使上述的扩增产物与接头发生连接反应、外切酶消化构建得到文库;

[0030] 可选的,所述连接反应的条件为:37 $^{\circ}$ C, 40min;16 $^{\circ}$ C, 40min;65 $^{\circ}$ C, 10min。

[0031] 可选的,所述外切酶消化反应的条件为:37 $^{\circ}$ C, 40min;25 $^{\circ}$ C, 40min;65 $^{\circ}$ C, 10min。

[0032] 对所述文库进行纯化;

[0033] 对纯化后的文库进行混库,以构建所述ABO基因测序文库。

[0034] 根据本公开的第五方面,提供了一种测序方法,采用上述的ABO基因测序文库的构建方法构建的ABO基因测序文库,对所述ABO基因测序文库进行测序。

[0035] 可选的,采用HiFi reads模式对所述ABO基因测序文库进行测序,其中,上机量为200pM,平均片段大小为10000bp。

[0036] 本公开的提供了一种ABO基因扩增引物、扩增体系、扩增方法、测序文库构建方法及测序方法,其中,ABO基因扩增引物,包括:第一组基因引物混合和第二组基因引物混合;

所述第一组基因引物混合包括：第一组引物：ABO-1-F、ABO-1-R；第二组引物：ABO-3-F和ABO-3-R；所述第二组基因引物混合包括：引物：ABO-2-F和ABO-2-R；基于本申请的ABO基因扩增引物配置得到的扩增体系，对扩增体系扩增后得到扩增产物，基于扩增产物构建测序文库，HiFi reads模式对所述ABO基因测序文库进行测序，可以有效的提高测序结果的准确性。

[0037] 应当理解的是，以上的一般描述和后文的细节描述仅是示例性和解释性的，并不能限制本公开。

## 附图说明

[0038] 此处的附图被并入说明书中并构成本说明书的一部分，示出了符合本公开的实施例，并与说明书一起用于解释本公开的原理。显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本公开的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0039] 图1示意性示出本公开示例性实施例中一种退火程序中的成分、退火体系的组份以及退火程序示意图。

[0040] 图2示意性示出本公开示例性实施例中一种上机实验参数设置的界面图。

[0041] 图3示意性示出本公开示例性实施例中ABO基因扩增的流程图。

[0042] 图4示意性示出本公开示例性实施例中扩增产物中目的基因是否扩增的检测结果图。

[0043] 图5示意性示出本公开示例性实施例中单倍型2为ABO\*BW.11分型的检测结果图。

## 具体实施方式

[0044] 现在将参考附图更全面地描述示例实施方式。然而，示例实施方式能够以多种形式实施，且不应被理解为限于在此阐述的范例；相反，提供这些实施方式使得本公开将更加全面和完整，并将示例实施方式的构思全面地传达给本领域的技术人员。所描述的特征、结构或特性可以以任何合适的方式结合在一个或更多实施方式中。

[0045] 本申请专业术语解释：

[0046] gDNA：基因组DNA，是指有机体在单倍体状态下的全部DNA。

[0047] PCR反应：具有本领域技术人员通常理解的含义，其是指使用核酸聚合酶和引物来扩增靶核酸的反应（聚合酶链式反应）。

[0048] EBbuffer：EB缓冲液（PH7.2）。

[0049] 退火：通常，完全互补或实质上互补的两条核酸序列可发生杂交或退火。两条核酸序列发生杂交或退火所需要的互补性取决于所使用的杂交条件，特别是温度。

[0050] Exonuclease：核酸外切酶。

[0051] Primer：引物；Sequence：核苷酸序列。

[0052] 输血是临床治疗中不可缺少的一种确保生命安全的有效方式。为了确保患者所输入的血液与其相吻合、安全、有效，在输血前需为患者进行血型的ABO检测、交叉配血、不规则抗体排查等试验。但在临床试验中，常出现ABO同血型交叉配血不合的现象，因此需根据患者的病症情况与血液的试验检测结果进行综合分析，确定患者交叉配血不合的原因，从

而针对性地给予处理,避免在输血过程中出现不良症状。

[0053] 目前,ABO血型相关研究由血清学水平发展到分子生物学水平(基因及蛋白组学)。一般情况下,ABO血型系统血清学上符合Land-steiner规则,即正反定型符合。但当基因突变、疾病发生时,会出现正反定型不符,如果不能准确定型就可能输注不相容血液,产生输血无效甚至严重的溶血反应、死亡。

[0054] 随着对血型基因认识的不断深入,血型抗原基因分型作为比传统血清学更具吸引力的革新性替代方法,越来越受到免疫血液学实验室的青睐,基因分型的优势也显而易见:

[0055] (1)可以立即筛选出罕见的血型基因变异;

[0056] (2)可以获得难以通过血清学获得的血型信息;

[0057] (3)可以快速对血型亚型进行鉴定。

[0058] 随着科技的进步,除了传统的血清学的方法,临床开始产生了一些ABO的DNA分型方式,以下几种为目前市面上常见的ABO血型系统基因分型技术:

[0059] 限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)

[0060] 此方法是使用BssHII/NarI和HpaII/AluI限制酶对A、B和O等位基因进行鉴别,最后使用SouthernBlot技术对实验结果进行验证,成功实现了对ABO血型系统内的SNP分型。其优势是成本低,但无法对新的等位基因进行鉴别。

[0061] 等位基因特异性PCR技术(PCR-ASP)

[0062] 该方法是利用A、B、O三种血型系统中的不同SNP变异位点设计特异性的引物,并扩增,以此分辨样本为何种血型系统。该技术的主要优

[0063] 点是不需要使用限制性内切酶对扩增后产物进行处理,从而节省了时间,缺点是无法对每个SNP的基因型进行分型。由于ABO基因的异质性极强,并且可能因为未检测到的SNP导致对新等位基因的漏检。

[0064] 双脱氧终止法(Sanger测序法)

[0065] Sanger测序法的原理是将带有荧光标记的双脱氧核苷酸(ddNTP)结合在DNA链上,之后DNA链将停止延伸,形成长短不一的DNA链,从而根据不同的荧光对及基因序列进行识别,可根据序列信息对SNP进行识别。目前,DNA测序仍是基因检测的金标准,因为它能够有效的对已知、稀有或新的遗传变异进行检测。在实验室中,对于特别复杂的血型遗传变异的识别,Sanger测序仍是一种行之有效的方法。但是,Sanger测序可覆盖的区域小、低通量且对SV的相对不敏感性,使得在实际操作中无法使用Sanger方法对血型基因进行非常全面的测序。

[0066] 序列特异性聚合酶连锁反应(Sequence-SpecificPrimers;SSP)设计并合成与等位基因互补的寡核苷酸作为PCR引物,使样本中等位基因能够用相应的引物进行扩增,而扩增产物可用琼脂糖凝胶电泳来鉴定。其优势为实验成本低,但无法检测新的等位基因与分辨伪基因。

[0067] 次世代测序技术(NextGenerationSequencing;NGS)

[0068] NGS是将DNA片段变成大量短片段再拼回去,藉由大量而快速短序列片段进行高通量的测序方式。目前市场以Illumina公司测序平台为主。将扩增产物打断后两端接上接头,之后将已接接头的DNA片段放入到表面带有互补接头序列的flowcell,接头互相配对后让DNA片段吸附于flowcell上,接着透过桥式聚合酶连锁反应进行DNA复制,放大信号,而测序

方法采用边合成边测序,达到高速且大量的DNA测序。其特征也能发现新的等位基因,但由于测序原理只能获得150-250bp的长度,导致测序获得的原始序列需要进一步通过组装才能得到完整的ABO基因区域信息,而该过程又需要经过统计学的方法进行推算,因此会得到部分模棱两可以及错误的结果。

[0069] 虽然已经有很多ABO血型系统的基因分型技术,但由于其极高的多态性,以现有的技术还是有问题无法解决,例如大量引入模棱两可的结果。因此我们试图研发更新的技术以提高分型的分辨率,灵敏度和准确度。

[0070] 基于前述三种测序技术中的问题,本方案分型技术是基于PacificBiosciences三代单分子测序技术,可以检测新的等位基因,并且具备长读长与高准确度的优势,解决了Sanger与NGS无法做到长度长的问题,不仅有更高的分辨率,并且无模棱两可的结果。能优于其他技术除了三代单分子测序技术本身的优势之外,因为在ABO基因的调节机制研究中位于ABO基因一号外显子上游约4kbp处的一个增强子,该增强子由四个43bp的重复序列组成,几乎所有ABO等位基因中都发现了该增强子,因此利用三代单分子测序技术长读长的优势,我们在引物的设计上增加了扩增区域,提高扩增区域的覆盖度,使实验更精简,搭配三代单分子测序技术,以及我们研发的分型软件,可得到全面的ABO血型基因信息,提高分型的灵敏度和准确度。

[0071] 第三代测序技术(ThirdGenerationSequencing;TGS)为最新的测序技术,其读取长度大于10,000bp以上,读取长度远高于NGS,目前市场以PacificBiosciences与OxfordNanoporeTechnology两家公司的测序平台为主。PacificBiosciences的单分子即时测序法

[0072] (SingleMoleculeReal-TimeSequencing;SMRT)主要利用零模波导孔(Zero-Modewaveguide;ZMW)中数个孔径,侦测DNA聚合时产生的荧光并透过环状DNA重复测序。OxfordNanoporeTechnology的纳米孔测序法(NanoporeSequencing)主要透过透过膜的两端电位差,当单股DNA上的不同碱基通过跨膜蛋白时,会产生不同大小的电流,进而达到即时测序的目的。

[0073] 在平台的选择上,本申请技术中使用PacificBiosciences的技术,其HiFi测序模式可以达到下机数据准确度QV30(99.9%),且单条subreads长度可达到15-50kb。有效的解决了传统测序方法准确度不高且测序长度不长的短板,并且有效提高分辨率与得到更完整的序列信息。

[0074] PacificBiosciences的技术目前还未有应用到ABO血型分型鉴别上的完善产品,因此我们透过其技术优势,设计一系列ABO血型系统分型流程。

[0075] 结合上述现有基因测序手段,本申请提供的技术方案包括:首先针对要扩增的区域设计引物,因为同时需要扩增多对引物,并且扩增序列长短不一,通过调整引物配比、寻找适合的试剂、调整适合的反应环境,达到一管多重扩增。又基于三代单分子测序技术长读长的特性,使用扩增产物直接进行PacificBiosciences三代建库,搭配PacificBiosciences测序平台得到所扩增的产物分型。整个流程分为五个部份,依序为扩增、建库、纯化、混库、上机。

[0076] 首先,对本申请提供的引物进行详细介绍:

[0077] 根据本公开的第一方面,提供了一种ABO基因扩增引物,包括:第一组基因引物混



合和第二组基因引物混合;所述第一组基因引物混合包括:第一组引物:ABO-1-F、ABO-1-R;第二组引物:ABO-3-F和ABO-3-R;所述第二组基因引物混合包括:引物:ABO-2-F和ABO-2-R。

[0078] 在一种具体实施方式中,各引物组中的引物配比为:ABO-1-F、ABO-1-R为0.03:0.03;ABO-3-F和ABO-3-R为0.05:0.05;ABO-2-F和ABO-2-R为0.05:0.05。

[0079] 本示例实施方式中,准备待检测的DNA溶液,DNA溶液的浓度要求范围:10-150ng/u1,纯度要求范围是1.6-2.0。

[0080] 本示例实施方式中,设计针对ABO不同基因的特异性扩增引物,引物合成选择5' P。引物使用EBbuffer配置与稀释,先分别稀释F和R引物,将F和R混合之后,按照下表1引物配比配置引物MIX。

管1	基因引物混合1	引物浓度(uM)	引物配比(μL)
1	ABO-1-F/ABO-1-R	100	0.08/0.08
2	ABO-3-F/ABO-3-R	100	0.08/0.08
管2	基因引物混合2	引物浓度(uM)	引物配比(μL)
1	ABO-2-F/ABO-2-R	100	0.05/0.05

[0082] 表1

[0083] 根据本公开的第二方面,提供了一种ABO基因扩增体系,将上述的第一组基因引物混合以及第二组基因引物混合分别稀释至工作浓度并按照预定配比配制,ABO基因扩增体系包括:第一扩增体系与第二扩增体系;所述第一扩增体系包括:12.5μL的KOD Neo FX Buffer、5μL的dNTPs、0.32μL的第一组基因引物混合、5μL的gDNA(10ng/μL)、0.5μL的KOD Neo FX、1.68μL的warter;所述第一扩增体系的总体积为25μL;

[0084] 所述第二扩增体系包括:

[0085] 12.5μL的KOD Neo FX Buffer、5μL的dNTPs、0.1μL的第二组基因引物混合、5μL的gDNA(10ng/μL)、0.5μL的KOD Neo FX、1.9μL的warter;所述第二扩增体系的总体积为25μL。

[0086] 本示例实施方式中,配置完引物MIX后,根据下表2、表3的PCR扩增体系,按照顺序加好后,扣上管盖混匀离心。

试剂组分	单个样本(μL)
KODNeoFXBuffer	12.5
dNTPs	5
基因引物混合1	0.32
gDNA(10ng/μL)	5
KODNeoFX	0.5
warter	1.68
总体积	25

[0088] 表2

试剂组分	单个样本(μL)
KODNeoFXBuffer	12.5
dNTPs	5
基因引物混合2	0.1

gDNA (10ng/ $\mu$ L)	5
KODNeoFX	0.5
warter	1.9
总体积	25

[0090] 表3

[0091] 在一种具体实施方式中,按照预定配比配制过程中,分别将第一扩增体系与第二扩增体系置于两个管中,分别对两个管进行扣盖混匀离心处理。

[0092] 根据本公开的第三方面,提供了一种扩增方法,用于分别对上述的第一扩增体系、第二扩增体系进行扩增,包括:

[0093] 对所述第一扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94 $^{\circ}$ C, 2min;98 $^{\circ}$ C, 12s,68 $^{\circ}$ C, 12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68 $^{\circ}$ C, 10min。

[0094] 对所述第二扩增体系进行扩增,得到扩增产物;其中,扩增的工作参数为:94 $^{\circ}$ C, 2min;98 $^{\circ}$ C, 12s,68 $^{\circ}$ C, 12min,26个循环,第11个循环开始,每循环增加30s;68 $^{\circ}$ C, 10min。

[0095] 本示例实施方式中,根据下表4对PCR仪进行参数设置,按照设置好的程序进行扩增,热盖:105 $^{\circ}$ C,升降温速率:6.0 $^{\circ}$ C/S。

温度	时间	循环数	备注
94 $^{\circ}$ C	2min	1 $\times$	
98 $^{\circ}$ C	12s	26 $\times$	第十一个循环开始, 每循环加 30s
68 $^{\circ}$ C	12min		
68 $^{\circ}$ C	10min	1 $\times$	
4 $^{\circ}$ C	$\infty$		

[0096] 表4

[0097] 在一种具体实施方式中,分别对所述第一扩增体系以及所述第二扩增体系扩增后,所述方法还包括:利用1%琼脂糖凝胶电泳对PCR反应后产物进行检测分析,得到扩增产物中目的基因是否扩增的检测结果;其中,检测电压:120V;检测时间:120min。

[0098] 参见图4所示,图中,孔1-孔4为ABO混合体系1的产物图;图中孔5-孔8为ABO混合体系2的产物图;M为marker。

[0099] 本示例实施方式中,利用1%琼脂糖凝胶电泳对PCR反应后产物进行检测分析,以确定目的基因是否扩增。电压:120V时间:120min;(5 $\mu$ l扩增产物+1 $\mu$ l6 $\times$ loadingbuffer进行跑胶),扩增产物经电泳确认结果后,将扩增产物预备建库。

[0100] 根据本公开的第四方面,提供了一种测序文库构建方法,包括:使上述的扩增产物与接头发生连接反应构建得到文库;对所述文库进行纯化;对纯化后的文库进行混库,以构建所述ABO基因测序文库。

[0101] 本示例实施方式中,根据传统PacBio接头退火程序,对Barcode接头退火后备用。PacBio接头退火程序参见附图1所示,图1示出了退火程序中的成分、退火体系的组份以及退火程序,结合图1所示:

[0102] 退火程序中的成分包括:PH7.5的Tris-HCl(中文别名:三(羟甲基)氨基甲烷;氨丁三醇;缓血酸铵;三羟甲基氨基甲烷;Tris,英文名称:Tris(hydroxymethyl) aminomethane)

100mM、NaCl1M、NFW补充体系。

[0104] 退火体系的组份包括:10Xannealingbuffer(退火缓冲溶液(10X))的量为:10 $\mu$ L; adapter是一段短的序列已知的核酸链,用于链接序列未知的目标测序片段.BGBarcodeAdaptor(barcode,也称为index,是一段很短的寡居核酸链,用于在多个样品混合测序时,标记不同的样品)20 $\mu$ L;NFW补充体系,Upto100 $\mu$ L。

[0105] 退火程序为:80 $^{\circ}$ C,2min;80 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;75 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;70 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;65 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;60 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;55 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;50 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;45 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;40 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;35 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;30 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;25 $^{\circ}$ C,0.1 $^{\circ}$ C/s降低,2min;4 $^{\circ}$ C,结束。退火程序约45min,退火接头-20 $^{\circ}$ C保存。

[0106] 本示例实施方式中,接头连接反应中,预先准备配置连接酶Mix,根据下表5进行配置。

反应试剂	单个样本
10 $\times$ T4DNAligasebuffer	1.5 $\mu$ L
10mMdNTP	0.1 $\mu$ L
dATPSolution(100mM)	0.1 $\mu$ L
T4DNAPolymerase	0.3 $\mu$ L
T4PolynucleotideKinase	0.3 $\mu$ L
T4DNAligase	1.25 $\mu$ L
Total	3.55 $\mu$ L

[0108] 表5

[0109] 下表6为连接体系:按照顺序加入所列物料,扣上管盖混匀离心。

扩增产物	8.95 $\mu$ L
Barcode接头	2.5 $\mu$ L
连接酶Mix	3.55 $\mu$ L
Total	15 $\mu$ L

[0111] 表6

[0112] 下表为连接反应程序,预先设置好参数后进行连接反应,热盖:75 $^{\circ}$ C,升降温速率:2.5 $^{\circ}$ C/S。

温度	时间	循环数
37 $^{\circ}$ C	40min	1 $\times$
16 $^{\circ}$ C	40min	1 $\times$
65 $^{\circ}$ C	10min	1 $\times$
4 $^{\circ}$ C	$\infty$	

[0114] 表7

[0115] 连接过程中可能会出现不正确连接,因此透过外切酶消化不正确连接产物。根据下表8在冰上配置外切酶MIX,当连接反应结束后放置冰上,每管加入2u1外切酶MIX,扣上管盖混匀离心。

[0116]		单个样本
	ExonucleaseI	1.5 $\mu$ L
	ExonucleaseIII	0.5 $\mu$ L
	Total	2 $\mu$ L

[0117] 表8

[0118] 下表9为消化反应参数,预先进行设置,进行消化反应,热盖:45 $^{\circ}$ C,升降温速率:2.5 $^{\circ}$ C/S。

	温度	时间	循环数
[0119]	37 $^{\circ}$ C	60min	1 $\times$
	4 $^{\circ}$ C	$\infty$	

[0120] 表9

[0121] 当消化反应结束后须尽快进行磁珠纯化。

[0122] 本示例实施方式中,文库纯化的步骤包括:

[0123] 1.在消化后的产物中加入17 $\mu$ L的水,然后再加入15.3 $\mu$ L的PB beads(0.45x),轻弹混匀或低速振荡混匀,瞬离,室温放置10min,期间轻弹混匀2-3次。

[0124] 2.将PCR管瞬离,然后放置于磁力架上,吸附磁珠10min,期间配制70%酒精,酒精需要现用现配。

[0125] 3.弃上清,然后沿吸附磁珠的对侧管壁加入200 $\mu$ L70%酒精,切勿冲散磁珠。

[0126] 4.重复上一步操作,进行第二次酒精清洗。

[0127] 5.弃去酒精,将PCR管离心,然后重新放回磁力架,弃去残液。

[0128] 6.PCR管开盖干燥不超过30s,然后加入12 $\mu$ L EB。

[0129] 7.振荡悬浮磁珠,保持体系磁珠呈混匀状态,室温放置10min,洗脱DNA,期间轻弹2-3次。

[0130] 8.将PCR管瞬离,然后放置于磁力架上,吸附磁珠10min。

[0131] 9.吸取上清10 $\mu$ L转移至新的PCR管内。

[0132] 10.利用Qubit对单样本文库进行定量,每个单样本文库取相同质量7ngpooling为混合文库。

[0133] 本示例实施方式中,混库的步骤包括:

[0134] 1.对混合文库用枪量取准确体积x $\mu$ L(每个样本取7ng),向其中加入x\*0.6 $\mu$ L PBbeads(0.6x),轻弹混匀或低速振荡混匀,瞬离,室温放置10min,期间轻弹混匀2-3次。

[0135] 2.将EP管瞬离,然后放置于磁力架上,吸附磁珠10min。

[0136] 3.弃上清,然后沿吸附磁珠的对侧管壁加入200 $\mu$ L70%酒精,切勿冲散磁珠。

[0137] 4.重复上一步操作,进行第二次酒精清洗。

[0138] 5.弃去酒精,将PCR管离心,然后重新放回磁力架,弃去残液。

[0139] 6.EP管开盖干燥不超过30s,然后加入40 $\mu$ L EB(根据样本数量和beads体积适当调整EB体积)。

[0140] 7.振荡悬浮磁珠,室温放置10min,洗脱DNA,期间轻弹2-3次。

[0141] 8.将EP管瞬离,然后放置于磁力架上,吸附磁珠5min。

[0142] 9. 吸取所有上清转移至新的PCR管内。

[0143] 10. 将第一次纯化后的混库取1 $\mu$ L进行Qbit定量,再进行二次纯化,向第一次纯化后的混库中加入体积\*0.45 $\mu$ LPBbeads,轻弹混匀或振荡混匀,瞬离,室温放置10min,期间轻弹混匀2-3次。

[0144] 11. 重复2-9步的操作。

[0145] 12. 利用Qubit对终文库进行定量,需要三重复,取均值作为终文库浓度,要求终文库浓度高于3ng/ $\mu$ L。

[0146] 13. 使用5200FragmentAnalyzerSystem检测文库,并且计算平均片段大小。

[0147] 根据本公开的第五方面,提供了一种测序方法,采用上述的ABO基因测序文库的构建方法构建的ABO基因测序文库,对所述ABO基因测序文库进行测序。

[0148] 在一种具体实施方式中,采用HiFi reads模式对所述ABO基因测序文库进行测序,其中,上机量为200pM,平均片段大小为10000bp。

[0149] 本示例实施方式中,参见图2所示,图2为上机实验参数设置的界面图,可见,样品名称为:HLA2;应用程序为HiFi reads模式;样品浓度为14ng/ $\mu$ l;平均片段大小为10000bp;上机量为200pM。

[0150] 本示例实施方式中,本申请提供了一种ABO血型系统基因型的方法,通过设计ABO基因上特异性的引物,对基因上外显子进行全长扩增测序,从而将样本进行精确的基因分型。本发明所提供的试剂和方法可作为一种独立的、应用广泛的鉴定方法,发挥了三代测序Pacbio高通量测序平台,结果精确的特点,加上我们自主研发的分型软件,解决了快速准确得到ABO基因全长序列的问题,在临床输血研究和遗传学领域发挥重要的现实意义。明确输血人群的ABO分型,从而预防因ABO基因型不匹配导致的输血不良反应,从而提高血液的安全性和利用价值。以克服现有基因分型技术中缺陷,如通量低,操作繁杂,结果模糊不好分辨,无法给出精确分型等问题。

[0151] 本示例实施方式中,举例说明操作流程和测序结果:

[0152] 扩增获得的产物经建库过程获得文库,将文库上机测序后获得的数据转换成高准确性的HiFi数据,然后通过数据分析,获得突变位点信息和结构变异信息,最后与标准数据库比对,获取对应分型。测序的样本类型如下表中所列,下表中仅举例说明代表性单倍型类型,本发明专利可检测各种分型如ISBT中所列以及ISBT中未展示的新分型,以下仅为举例部分展示样本检测结果:

[0153]

Sample						
	Phenot ype1	Allele name1	Mutation1	Phenot ype2	Allele name2	Mutation2
样本 1	O	ABO*O.01.01	c.261delG	O	ABO*O.01.01	c.261delG
样本 2	Ax/Aw eak	ABO*AW.37	c.940A>G	O	ABO*O.01.35	c.106G>T;c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG;c.297A>G; c.681G>A;c.771C>T; c.829G>A
样本 3	O	ABO*O.NEW	c.297A>G; c.322C>T; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	O	ABO*O.01.02	c.106G>T;c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A
样本 4	A1	ABO*A1.NEW	c.467C>T; c.797insT	B	ABO*B.01	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A
样本 5	Ael	ABO*AEL.05	c.467C>T; c.767T>C	B	ABO*B.01	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A
样本 6	O	ABO*O.01.01	c.261delG	B	ABO*B.NEW	c.297A>G; c.449A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A
样本 7	O	ABO*O.01.04	c.261delG; c.579T>C	Ax/Aw eak	ABO*AW31.02-05	c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A
样本 8	O	ABO*O.01.02	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	B(A)	ABO*B.A.02	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.700C>G; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A

[0154]

样本 9	A1	ABO*A1.02	c.467C>T	B	ABO*B.01	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A
样本 10	B(A)	ABO*BA.04	c.297A>G; c.526C>G; c.640A>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	O	ABO*O.01.01	c.261delG
样本 11	Aw	ABO*A1.02	c.467C>T +5.8kb GATA-1 调控区 域突变: c.28+5793T>C	O	ABO*O.01.02	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A
样本 12	O	ABO*O.01.01	c.261delG	A/Aw	ABO*A.1.02	c.467C>T c.28+5860A>G(Intron1 +5.8kb 调控区, GATA 结 合区域突变)
样本 13	O	ABO*O.01.02	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	B weak	ABO*B.W.11	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.695T>C; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A
样本 14	cisAB	ABO*cisAB.01	c.467C>T; c.803G>C	A1	ABO*A.1.02	c.467C>T

[0155] 测序结果示例:样本13

[0156] 样本13测序序列:单倍型1为ABO\*0.01.02分型

[0157] ACATAGACAGTATCGGGTTGCGCTGGGGGTACAAAATGAATTCAAAGCTCGAAACCAAATAGCCACC  
AGGTTTGAGTCTGTAT

- [0158] TATTCTGGTGGTCCACTATAAAACAAAAATGTAGACTGGATACATTATATATACTATAATCAACAGTGAT  
TCATCAATTACACCAG
- [0159] AGATGCCATAAAAAAGAATAGCTCAACAATTAGGCCCTACCAGCCAGATGGCCTGGGAAAACAGGATAGC  
CCTTGACATGATATTG
- [0160] GCCAAAAAAGGCGGAGTCTGTGTCATGATTGGGGTCCAATGTTGCACTTTTATCCCAATAACACAGC  
CCTGGACGGGACAATC
- [0161] ACAAAGCCTTACAAGCCTTACCACCCTAGCAAATGAATTAGCCGAGAACTCTGGAATAGATGACCCCT  
TTGCAGGTGTCATGGA
- [0162] GAAATGGTTTGGAAAATGGAAGGGACTCATGACCTAAATCTTTACCTCCCTTGCAACAGTTACAGGTGT  
ACTCATCCTTGTGGGC
- [0163] TGCTGTATCATACCTTGTATTGCGTGGGTAAACCCAAAGGCTCATAGAAGCAGCTCTCACAAAAACCTCC  
CCCACCTCTCCCCATC
- [0164] CATAGTCAGATAAGCTCTTGCTCCTAGATGATAAAGAAGAACAACAAAGCCAACCTCCTGTTAAATAAAT  
TTGAAGGGGAAGAACT
- [0165] ATAAAACAGAAGAGGGGAAATTGTTGGGACAACTAAGTTCCTCTTCAAAGATTCAACTTCTGGCCATA  
ACTTGAAACAAATCC
- [0166] TACCCCTACAACCTTTTCAAAAATCACACCTTACCTTATTGGGAAGGTTTAAGCATTAGCCTGTCCG  
GGTCAGCTTAGATTAT
- [0167] GCGGCCAACCCCAGCCAATAGGGGAAGGACACAGAAACAGAAACTGCCTTACCCCAGCCAATAGGGGA  
AGGACACAGAAACAGA
- [0168] AACTGCGTTACCCCAGCCAATAGGGGAAGGACACAGAAACAGAAACTGCGTTACCCCAGCCAATAGGGG  
AAGGACACAGAAACAG
- [0169] AAAGTGCCTTAGGGATAAAAACCCCTTCCCTCCTTTGTTTCAGTGTGCTCTGGGATTGTAACAGGCACA  
GGCAGCACCCCTTCTAC
- [0170] AGAAGTAAAAGTGACTTGCTGAGAAAATTTCTAAGTGCGGGTTTCTTTTCGCTACACCAAGCACTTGTT  
TCCAACACATGCAAAC
- [0171] CAGAATGGAGGTCTCCCTGGACCTGGGTTTGGGCCACAAGCTTGCAAGACCTGGGCAAGACTGTTCCC  
TCTTCTGAACCAAGTC
- [0172] CTTCCCTGGCCCAGCCGCTTGTGAGTAACACATCAGTTTCATGCTTACACCTCCTGGTCTTGTGAGTAA  
CACATCGTTTTTCATGC
- [0173] TTACACCTCCTGGTCTGACCGGGCTCTCCTTTCAGAGCCTTTTATTCCTCCCTCCTCTGAACACTG  
GCTGGCTGCTTTTCAGG
- [0174] GAAGAAGTTCAGGGCAGTGGCAGGGAGCTCCTTGCACATCGCCATGACAAATGTTTTATGGAAACAGTG  
AGCTGATGGGACGAGG
- [0175] GGTCGGGGCTAGAAAGTCAGCCAAAAGGTGTGAGAACCCGGACTAGCCCCAGCCCTGAACATGGCAGG  
CCACTGTGCCATGGTA
- [0176] GGGGAGTGAAAGTTTCCCTCTGCTCCTCTTAGGGTTCAGCTGGGGCTCCTTACAAAAGAGAAAAACAG  
TTCATTAATGCATGTA
- [0177] GTGCACCTCACTGAAGAAGCTTCAACAAAAAGCAACTCAGAACAGTGAAGTGAAGTGGGTTATGGAGC

AACTTCAACAAAGAAT

[0178] AATCAACGTGTGGGAAATGACAGGACCCAGGAGAGCGGTTTTAGGCTTCCAAGTTTGGGAAACCAGCA  
AGGTGAGTATTGGGAG

[0179] GAAACTAAGGTGGAAGTTTCATTCACAGAGCCCTAGGGTGCCTTCTTTCCTCTGGCTGATGCGTCTCTC  
TCCTATAATTTCCATC

[0180] CTGCCTCAGACAGCAGAGGGACAGGGCAGAGAGAGATTTCCCTGCTTCTGCTGCATCTTAGTTGCCTTC  
AACTCAAGATAATTTTC

[0181] TGAGGCTCATTTTGGAGTGACATATTCTGGTGTCCCTCACGGTACAGGGCACAGCCTCAGAGGACCAGA  
TCCACAGCTGATCACT

[0182] GAGCTCTTCCATGTGCCAGGCCCGTCCAGGGAGAACTCAGCCCCACAAACAGGGCAGGTGGCACCAG  
GATGCTGGGCGGCAGC

[0183] CTAACCCTCAGCTCATGGGTGGGTGGAGTGGAGAGCACCCCTCCCCATGTGGGGCTCCCTGGTCGTGGAC  
CTGGAGACCACCAAGG

[0184] CTCTGCAGTCTCAGAAGTGGCCTGTTGGAATGGGGTCTGCAGGCAGGAAGCCTTGGGCCAGAGTCCCT  
CAGGGGCAGGAACACA

[0185] GCCCCAGGCTTGTCCCACTTGTCCCTCTGAATAGTTAAGGGCTGCCACAGGAACTTCCCTCCCTCC  
CTCCCTTCCCTTCTGC

[0186] CTCCCTCCCTCCCTTCTTTCCTTTCTTCTTTCATCCTCCCCTTCTTCCCTTCTTACTGTGGTAAA  
ATACACATAACATGAA

[0187] ATTTACCATCTCAACTATTTAAACACGCACAGTCCATGGTGTGAGTTCACATCGTTGTACAGC  
CATCACCAGCATCCAT

[0188] CTACAACACTCTTTTCATCTTCCCAGACTGAACTCAACACCGTTCACAGCTCCCCATTCCCGCCTTCC  
CCAGGCGCCACCATT

[0189] CTCCTCTCTATTTCTACGAATTTGATGACTCCAGTCCCTCAGATATGTGGAATTGTGGCTGGGCGCGGT  
GGTTCACATCTGTAAT

[0190] CCCAGCACTTTCAGAGGCCAAGGCAGGCAAATCACCTTAGGTCAGGAGTTCTAGAACAGCCTGGCCAAC  
ATGGTGAAACCCAGTC

[0191] TCTACTAAAAATACAAAAATAAGCCGGCATGGTGGCACACATCTGTGGTGCCAGCTACTCAGGAGGCT  
GAGGCGGGAGAATCGC

[0192] TTGAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATCTCACCCTGCACTCCAGCCTGGGAGAGAGAG  
CGAGACTCTGCCAAAA

[0193] AAAAAAAAAAAAAAGTTAATAGAATCGCATGGCATTTCCTTGTGGACTGGATTTTACTTAGCATAAG  
GCATCAAGGCTCACCC

[0194] ACGCTGTAGCAGGTGTCAGCGTCTCCTCCCTTCTAGGGCTGAGAAACATTCCATCTAGAGACAGACTC  
ACTCCGTGCAGCCATG

[0195] ACGCCTTGGTGAACACCACGGCTGCTTCCAGCTTTGGCTATGGTGTGAGTCCGTTGCTAGGAACACAGA  
TGTGCACATGTCTCTT

[0196] CCAGACCCCTTTCAATTCCTTGGGTGTATACAAAAAGCAGGATTGCCAGCTCATAACGGTAATAATAT  
TTTTATTTTTATTTTT



[0197] ATTTTTGAGAAGGAGTCTTGCTATGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGCATTTTGGTTCACCTGCA  
ACCTCCACCTCCCAAG

[0198] TTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCGTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGACTCGAGCCACCACGACCGGCT  
AATTTTTGTATTTTA

[0199] GTGGAGATGGAGGATTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTCGAACTTCTGACCTCAAGTGATCCGCCCGC  
CTCGGCCTCTGAAAGT

[0200] GCTAGGATTGTAGGCATGAGCCACCGCGCCCGGCTCGTACGGTAATTCTGTGTGATGTTTTGAGGAAT  
TGCCACAATTTTTTCC

[0201] TGCGCCTGCACCAGGGACACGTCTCGGAGCTGGCGAACTGGACTTGGGGTGGGAGGGAAAGGAAGCATT  
AAAGATGCCCCAGCT

[0202] TTCACGGAGATGAGAACGGTGCCCCGGGAGGGCGGGACGGGATCAGGGTCTGTGAACGGGTTATCAGT  
GTAAACTCCTCTGAGA

[0203] GATATCAGGAAAAGCAGGAAGAAGCCTCTGGGACCCTTCGGGAGGTAACCTCTTCGCAGCGGGGCGC  
GCTCTCCCAGTCCCTG

[0204] CAGCCGCCGCCCTCTCCTGAGCTTCTCGAGCGGACGCCAGGCAAGGGCGGGGGTCTAGCGGGGC  
GGAGCGGGGCTTTGTC

[0205] CACGGACCGCGAAGAGGCCTCAGGGCCCGCGCGGGCGCCGAGGGGGACTTGCTCGCAGGGGGAAC  
GCGAAGGTTCTCAGT

[0206] CTGCGGGACGCAGAGCTCCGTGGGGCCCGAGCCGGGGCCGGGAAGCGACTCTGCCTAGGGGGACGTC  
GCGGGCGGGGCACA

[0207] GGGTCTGCGGGGCTGGAGGGCTACAGGCTGCGGCGCGCGAGCCGGAAGGCCGGGGATCGTGGGTTC  
TGGGGCCGAGCTTCA

[0208] CGGGTTCGTCTCCCCGCTCCCCGGGGGAGCAGGATGTCAGGGGTGCCCCCGCCGGGAGACAGGG  
TGTC AAGGGCCCCCG

[0209] GGGACGGGGCTCAGGGGCACCCGAGCCGCTCGGCCCCAGGGCGGGATGCGGGGACAGGGCCCCAAGG  
TACCAGGGCCACGAGG

[0210] GCGCGCGGGTCCCTTGGGGATGCGCGGAGGAGGCGCCGTCCCTTCTAGCAGGGTCCCTGGGGACC  
CGCGGCCGCTCCCGC

[0211] GCCCCTCTGTCCCCTCCCGTGTTCGGCCTCGGGAAGTCGGGGCGGGCGGGCGGGCCGGGAGGGGG  
CGCCTCGGGCTCACCC

[0212] CGCCCCAGGGCCCGGGGCGGAAGGCGGAGGCCGAGACCAGACGCGGAGCCATGGCCGAGGTGTTGCGG  
ACGCTGGCCGGTGAAT

[0213] GCAGGCCTCGGCCCGGGTCCCCGCGAGGGAGCCGCTACCGCAGGGAATGCGGGGTGCACCCGACAGCC  
GGGCCGGGTGGGGC

[0214] GCTCAGGGCTGCGAGGCTTCGGGCCGGCCCGCCCCAGCCTCCGAGACCCTGCGTCTGGGGAGCCGG  
CGGGCAGGTGGGCTTG

[0215] GCCGCGTGTGGGTGCTGGGACCCGAGGGAGGATGGGCGCGGTGGCGGGCTGGCGGGGGGCTCGT  
CTCCGGGGTCCCCGGG

[0216] TCCTGGTGAAGCGGGGTCCCTCGACCCGTGGCGGTCTCCAGCCTCTCTCGCCCCTCCACGCTCCCC

GCCTTCCATGAGCTGC

[0217] TATTTTCAGCACCTACCGCCCGACCCTGGACTAGGACAAGGCTCTGGGCTGCCCTGCCCGCCCCCAGC  
CCTTCCCTCGGGCAGC

[0218] GCGGCCAGGCGCCCGGGTTGACCGGGAACAGCCTCCATACCCCAAACGCGGAGGCGCCTCGGGAAGGCG  
AGGTGGGCAAGTTCAA

[0219] TGCCAAGCGTGACGGGGAACTGTGCCCCGGGCCCTCAGGTGATATAGGAGTTAAGAAGAAATTATTGA  
GGCAACCAGATGCGGT

[0220] GACTCAGGCCTGTAACCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGGTGGATCACCTGTCCTTAATTTTCTTGGCG  
CCAGAAGATGAATTGA

[0221] GTATTTACCCAGACAACAACGTCGCTTCAGAGGGAGGGATGCAGAACGCAGGGCCACGGGGCGCAGGCT  
GCAGGCCAGTGAACCC

[0222] CAACGCCAAAGGCCAGGGAGAGCCGGGTGGGGTACCCAGAGCCAGCACACAGCCCTTTAATTTAGAGGA  
GTGCTGTGTACACATT

[0223] TGGGGAGAGATGTTTTACTTTGATTTGGAATCAGGTGGCGGATAAGGCATACTGAGGCCTGACTTGGTG  
AGGGCTCCTGCCCGG

[0224] AGGTGCAGCCCTGGAGGAGCGGGAGGCAGAGGAGTGGAAAATTCATGAAGAAAACCTGGGTATGGTGTAG  
GTCGAGGCCCTGCCCT

[0225] CAGTAATGCTCACCATTTGTCAGTGTTACTGTGAGGCAGCACTGTGTTCAATATCGCTGAGTTCTCAG  
GAAGGAACGGTAAATA

[0226] CTTCCCGGTCATTCTTTCACCCACGGGAAAACAGGTTTGGAGAGATCTGGGACAGTGCTCTGGTCCCA  
GGCAGGAAGGGCTGAG

[0227] TGGGGCCTGGGACTCAGGTCTGACTGCAAACACCTGCCTCCTCCTGTGCTGCCAGCGCCTTCCGGGT  
CTTCCCTGTCCCTCCT

[0228] TTGTGGTCTTTGTTTTCCCTTTTTTGTCTTAATATGTTTCAACGGATGTATAACAATAAACCGCACATAA  
AAGGTACAGCTGGATA

[0229] CATCTTGACCCAGTCAAGATGATGAACACAGCTGCCACCCAGGAGTCTGTCCTGCCCCACGGGTTATG  
CTGTCTTAGTTGGTCT

[0230] CATGTCAGGGAGCCTTGGAGGACCAGGGACTGGGCAGTTGGTCTCTATACTCCTGGGGTTCTGGCACTG  
GCTCTGGCCCATGACC

[0231] GCACCCAAGACAAACGTCTTGAAGACTAAGAGGTTAGGTCTTTGAGAAACCTGGCAAATGAGTGCCCAT  
TCTCAGGTTACCCACA

[0232] TTCTGCATGTTGATTTAGTCATCCAACCAATGTTGGTTGAACACTGATGAGAACAAGCAGGCCTGTGCT  
AGAAGGTGCCTGCAGC

[0233] CAGGAGCTGGTGAGCTGGTGTCTTAGGGACACCAATGGCGAGGGACCCAGTGTGTGGAATCTGGGGG  
ACAAGCATGCCAGGGA

[0234] GAAGAGCTCACATGGGGAAGGCCCGCTCCACAAATCAGTCAGGCTTGTGGGGCGGCAGGAGAGCAG  
GGTAGTGGAGTCAGAG

[0235] GGAGTGATCCCCGAAAGGCAGGAAGAGGACATGAGAGAGCCTTGGAGATGACCATGAGGATGTGGTTG  
GTGGGCGGTGAGCTGG

- [0236] GTGTCATGTGCTGGCTCCTTAGAGAATGCTCAGCTCCTTCACACCCATCATAATCCCTGGAGGACTGAG ACCACGTGCAGGAGTT
- [0237] TTGGAAGCTGGCAGTGCACCCAGTCCCGGCTCTCCTCCATTCTGGTGGGTCTCACCAGAGATTGGCCAA GAAGAGATCAAACCTGT
- [0238] TCCTGGACCAAACCTGAGGGTGGGGCTGCTATCTCTCGTGGCCCAATAACGAGATGCAGATGAACTGGGG AGAAAAGAGACTTTTTTA
- [0239] TTTCTGTAACCAGTTACAAGGAGAAGACCTGGAAATTATCTCCAGACCAACTCAAATTACAAAGTTTT CCAGAGCTTATATAACC
- [0240] TTCTAAGCTATATGTCTATGTGTAAGTGTGCATTCATCTCAAGACGTAAGTAATTGACTTATGTTAATC TATAACTAAGGTCTGA
- [0241] GTCCTGAAGACCTTCCTCTGGATCCTCAGTAAATTTACTTAATCTAAAACCCCTTATCTTGTCTCCTAAA TCATGGGGGTTTTGGGA
- [0242] AGTTCCCTTCAGACCCCACTGAACTTATTTGTGGAGTCCCTGGGAATTTCTTCAGATCCCAATAAAAAC TTATTTAATCCTAAAT
- [0243] GGGTCCTGTTAAGAATTCCTTTGTTATTTGTGTCATGCTGAAGGCCAGGAAAGGTCTAGGCAAACTC TTGGTGGGATTTTGT
- [0244] ATATTCCAGCCTTTTTATAAGGGCACTGGCTTTTAATATTTAATTTAACCCTCAGTCAGTACTGAAAC AGTTGTTAGGGAGGCC
- [0245] TGCCTTAGTGAGACCTGACCTGCCACAAAACATCTTACTCGGAATGCTGCCATAACTTCAAAAATCA GCTTTGACGGAGCCCT
- [0246] ACTGAACACACCTAGCATCTCTTCCCTTCAGCTTAGGGTCAAGGGCTGGGGTTGATGGCACCCTTGA AAGAAACAGCTTTATT
- [0247] GCCGTGTCATTGATATGCCATAAAAATTCACCTGTTTCAAATGAATTATTTTCAGTTAGTTTACAGAGTT GTGAAATAAATTTTAT
- [0248] AACTTTTCCATCCCCAGCCCAAAAACCTCCCTGGAACCTCCTCTGCAGTCATTCCCCATTCCCACCTGG CCTCAGACAATCACTT
- [0249] TCTGTCTCTCCAGTCTTGCCTTTTCTGGACAGTTCCCTATGAATGGAGTCCTGTGTTACATGGTCTTTTG CATCTGACTTCCTTCA
- [0250] CTTAGAATAATGATTCCGAGATTCATGTATGTTGTAGTATGTATCAGTATTTAATTCCTTTTTATTACT GAATAATCCATTGTAC
- [0251] AGATAGACCACATTTTGTTTATCCATTCATCAGCTGAAGGACATTTCCGGCTGTTTCTGCTTTTTTTAGCT ATTTTAAACTGCACGC
- [0252] AGCACTGCTATGAACATTTGTGTACAAGACTTTGTGTGAACATGTTTTCATTTCTTGGGTTGATAACC CAGCAGAGGAATTGCT
- [0253] GGGTCATACAGGAAGTCTGATTTAACATTTTAAGAACTAGCAAACGTTTTCAAAGTGACTGCCCCA TTTTACATTCCCATCA
- [0254] GCAGTGTATAACGGTTCTAATTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTCTTGAGACAAGTTTTGCTCTGTCACCC AGGCTGGAGTGCAGTG
- [0255] GCATGATCTTGGCTCACTGCAGCCTCAATCTCTTGGGCTCAATTGGTCTCCACCTCAGCCTCCTGAG

TAGCTGGGACTAAAGG

[0256] TGAGTACCACCACATCCAGCTAATTTTTGTATTTTTGGTAGAGATGGGGTTTTGCCATGTTGCCCAGGC  
TGTTCTCAAACCTCCTG

[0257] GGCTCAAGTGATCTGCCACCTCGGCCTCCCCAAGTCCTGGGATTATAGGTGTGAGCCGCTGCGCCTGG  
CTGAGGGTTCCACTGT

[0258] CTGTACATCTGCAGCAATACATACCATTCTTGTGGGTAAAAGGTGGTATCTCATTATAGTTTTGATTTG  
CATTTCCCAAGGACA

[0259] AATGATGGCAAGTGGCTTTTCTTGTGCTTTTAGCCATTTGTATATGTTTTTGGTCAAATGCCTGTTGA  
AATGTTTTGCCTTTTT

[0260] AAAAATTGAGTTGTCTCCTTTGTTTCAGTTTTGAGAGTTCTTACATACACAGTATCATATATATATATA  
TATATATATACCAGAT

[0261] ATATGATTTGCAAATATTTCAATCATCAATAGTTTGTCTTAACACTTTTTTATTGGTGTGTTTGAAGTA  
GAAAAGTTTTACATTT

[0262] TGATCCATTCCAATTTATTAACCTTTTTCTTTTATTGTGTATCTGGTATCATATCTAAGAAATCTTAATC  
CAGTGTACAAAAGATT

[0263] TAATCTTATATTTTCTTCTAACCCTTTCTAGTTTATGTGTAAGAATCTGTCCATTTTACCTAAGTTGC  
ATAATTTGTTGGCAAA

[0264] CAGTTGTTTCATAGTATTTCCCTTGAAATCCTTTAATCTCTGTAAGATTGGAATTGCTGTCTCCTCTTTT  
AGTCCCTGATTTTAGTT

[0265] ATTTGTGTTCTCTCTCTCTCTGGTCAATGTAGCTAAAGCTTTGTCAATTCTCTTGATCTTTTCAGAGAA  
CTGACATTTGATTTTT

[0266] TTTACTTTATCTTTTTCTCTCTGTTCTCTAGTTCATTGGTTTCCACTCTAATATTTATTAATTTCCCTT  
CTTCTCACTTTGGGTT

[0267] TAATTTGTTCTGTCTTTTCTTATTGTAGTTACTTACAATGGAAGCTTACACACTTGATTTAAGATTTTT  
TTTCTAATGTAGACAT

[0268] TTACAGCTATAAATTTCCCTTGAAACACAGCTTTAGTTATATCTCATAAATTTGGTATGTTGTGTTTA  
CATTTTCATTCAGCTC

[0269] AGTGTATCTTTGATTTTCTTCTTTGACCCATTGCTTATTTAGAATTATGTTGTTTAATTTCTATGTAT  
TTATAGGTTTCCAAA

[0270] TTTCTTTTGTTAATTTCTGATTTCAATCCCTGTGGCTAGAGAAGAACTCTGTGGATATCAGTCCTTT  
CGAATTTCTCAGAATT

[0271] GTTTTATGGTCCAGCATATGATTGACCTTGGACACTGTCCATGTGCACTTGAGGAGAACGTGACTTCG  
GCTCTTGCCAGGTGGA

[0272] GTGTTCTAGAGATGTCAGTTGGTGTCCAGTGATGTCAAGTCATTTGTATCTACTGATTTTCTTTCTAAT  
TTTTCTATCCATTATT

[0273] GAGAGTGGGGTAGGATTTTGGTGTCCAATTATTGTTTTTTGTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTT  
TTTTGAGGTGGAGTCT

[0274] CACTTTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTATGATCACAGCTCACTGCAGCCCCACCTCCAAGGCT  
TAGGTCACCTCAGCCT

[0275] CCTGAGTAGCTGCAACTACAGGCAAGTACCATCATGCCTAGCTGATTTTTGCATTTTTGTAGACAGGG  
TTTTGCCATGTTACTT

[0276] AGGCTGGTCACGAACTCCTGGGCTCAAGTGACCCACCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAA  
GCGTGAGTCACCATGC

[0277] CTGGCCCAACCGTTACTGGTGAATTGACTGTTTCACCCTTCAATTCTGTGAGTTTTTGCTTCATGTATT  
GCTGCGGGATAATTA

[0278] GGAATCAGAGAGACCGATGGGGTTGAGGAGGAATTATTTAATTATTTAGGCGCACCGACCCAATCAGAT  
TAACATCCAAAGGACC

[0279] GGGCCCCAAACAAAGAGTCAAGCTACCTTTTAAGCATTTTGTGGGGTGGGGGAGATTTGTGCAGGGGG  
AAGAGTATTACAGAAG

[0280] CGAGAAACAAAGACAGTTATTCAGTTAAGACATGCATTACATTATTTCTTACTTTTCAAGGAACAACAC  
GTTTTATGACTCAAGA

[0281] TTATCTGTTTAGTGACCTTGCAGCTGCACAGCTAGAGAAACAGAGTCTTCGCAATGCCTGGGAAAGGGA  
GAGATAAGGCTCACTA

[0282] GCCACAGAAAAACAGACAGTTAATTTTTAAAGGACTCCAGCCCTTCTCTTCCCTCAAGGGGAATTGGTT  
TTTTACATACAACTGA

[0283] GTTTTTGCTTACACAGTTTTTAATTTATTTAATTCCTGTTCTAGTATTTTGGGGCTAGGTTGTCAGGT  
ATGTATATATTTCTGT

[0284] CTGTTATATTTTCGTGATGTATTCACCTTATATCATGGCAGAATGTTTCTCTTTAGTAAGATTTTTGAT  
CTTAAAAAAGTTGGCC

[0285] AGATGGGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCAGGTGGATCACCTGAGGTCA  
GGAGTTCAAGACTAGC

[0286] CTGGCGAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTGAAAATACAAAAAATTAGCCAGCCATGATGGTGTGTG  
CCTGTAATCCCAGCTA

[0287] CTTGGGAGGCTGAGGCACGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCTGAGGTTACAGTCAGCCAAGATCGTGC  
CACTGCACCTCCAACCT

[0288] GGGTGATAGAGTGAGACTCTGTCTCAAAAAAACAAAAAATTATTTAGTCTGACGTTAGCATTCTCTCT  
CAAGCTCCCTTACGGC

[0289] TGTTTGCATAGCAAATCTACTATCCTTTTGCTTTGACCTATTTGTATCTTTGTTTCTAAAGTATGTATG  
TCTCTCACAGGCAGCA

[0290] TATAGTCAAAGCTTAAAAAATAATCCAGTCTAACGATCTCTGCCTTTTGATTGGCATGTTCAATTCTAT  
TCCCATTCAATGTTAT

[0291] TATTGCTGTGGTTGGATTTCCATCTATCAGTTCACAATTTGTTTTCTATGTTTTATGCCTTTTTGTTCT  
TCTGTTTCATCTTTTAC

[0292] TACCTTCTTTTGTATTAAGTATTTTCTAGTGTAGCATTTAAATCCCTTTTTCTTTTAAAGTGTATATT  
TTAAAGTTATTTTGTT

[0293] AGTGTGTTGCTCCAGGGATTACAATATGCATTTAATTTATCAGGATCTACTTCAGATTAATACTAATTT  
TAGTAAAATACAGGAA

[0294] CTTGACTCCAGTATAACTCCATTTCCCTCCCTCCTGCTTGTGGTTTGTAGTATTATTGTCGTATATGTT

CATCTATATATGTTAT

[0295] AAACCTCAACAACATGGTGTATAATTATTGTTTCACACAATCTTATTTCTTTTCAATTCAGTAAGACAA  
GTAAGGAGAAAAACAC

[0296] TTTTCAAGTCTTTTATATTACACTGTATATTTATCACTGACTTTACTCTTGATTTCTTCTGTATATTC  
AAGTTATTGTCTGGTG

[0297] ACCTTTCCTTGCTCCAGTATATATAATAACTTCATTGCCTCCTTGCTCCTTTATGCTGTTATTGTCATA  
TATATTATATATGTTT

[0298] ATGCTGTGAGCCCATCAGCTAAGTCAGCTTAGCAAGGTCTCAAGATACAAAGTCAATGAATAAATCAGG  
CTGGGTGTGGTGGCTC

[0299] ACACCTGCAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGATAGGTAGATCACTCGAGGCCAGGAGTTTGAGAGCA  
GCCTGGCCACATGGC

[0300] AAGACTCCATCTTTACAAAAATACAAAAAAAAAAAAAAAAAGTTGAGTGTGGTGGTATGCCTGTAATCCCAC  
CTACTTGGGAGGCTGA

[0301] GGCATGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGGAGAGGTTGCAGTCACTGGAGATCACACCACTGCACTCCAG  
ACTGGGCAACAGGGCA

[0302] AGACTCAGTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAGAAAAACAAGAATAAATCAATTATTTTTCTATAA  
TACTTGCCACAATCAA

[0303] TTGAACCATGAAAAATTTTAAATACCATTACAGTAGCATCATAAAACATGAAATATTTAGAGAATAAT  
TTACCAAATTAGGAGA

[0304] AATGTCTATACAATTAACACTGCAATATAAACAGGCACCATGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCACTTT  
GGGAGGTCAAGGTGGC

[0305] CAGATCACTTGAGCCAGAAAGTTTGAGACCAGCCTGGGTGACATAGTGAGACCCTGTCTCTACAAAAA  
AAAAAAAAATTAGCTG

[0306] GGCATGGTGGCATGCACCTGTAGCCCCTGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGAGAGGATGACTTGAGCCCAG  
TAGGCAGAGATTGCAG

[0307] TGCATTCCAGCCTGGGCTACACAGCAAGACCCTGACAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAGAAGGTCAAA  
AAAAACAGAAAACTGC

[0308] AAAATATTGATGACAAAAATTAAGAAGACAGAAATAAATGGAGAAATATACCATGCTCATGGATTGGA  
AGACTTACATTGCTAA

[0309] ACTGTCACTTCTCCCAGATGGATCTACAGAGTCCACATAATCTCACTTAAAACCCAGAAAGAAATTTT  
TGTAAGTTGACAGCT

[0310] GATTCTAAAATTTTACATAGTAATCAGAATAGGTTGATATTAGGATAGACAGATAGTTCAATGGAATAG  
AATGCAGAGTTTAGAA

[0311] ATAGACCTACACAGAAATAGTCAATTGATTTTTTAATAGTTGCTTTTTGATAAGGGTGCTAAGGTAATG  
TGATAGAGAAAGGAAA

[0312] GTATTTTCAATTCAAATGGCTGAAATGACTGGATATCCATTGAGGGAAGAAAGGGACTTTAGCCTTTCA  
CACAATACACAAAAAT

[0313] TATGGAATTCTGAAGAAAATAAGAGAAAATGTTTCATGAACTTGGGGTAGGCAAAAATTTAATAGATGAG  
CCAAAAAAAAAAAAAG

- [0314] GCCCAAACCATAAAAATGGTTTCATTTTTATAAGGATAAATTAGAGTTTATAAAAATTAACACTTCCCT  
TCAAAAGAAAAATTAA
- [0315] GGAAAAATGAATAAATAAGCCACCGACTGAGAGAAAATATTTGTTTTCTAAGAAGTATTTTGTTTTTCA  
TTTTATGGGTTCATAG
- [0316] TAGGTGTATATATTTATGGGGTCCCTGAGATATTGTGGTTCAGTCATACAATGGAAAATTCACATCATG  
GAGAACTGGTATCCAT
- [0317] CCTCTTGAGCAATTATCCTTTGTGTTACAAACAATCCAACCTATACTCTTTTAGTTATTTTTATTCTTTT  
TTTTTTTTTTTTTTGA
- [0318] GATGGAGTCTCGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGTGGTGGCGCCATCTCAACTCACTGCAACCTCCGCC  
TCCCAGGTTTAAGTGA
- [0319] TTCTCCTGCCTCAGTTTCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCACCCACCACCACGCCCGGCTAGTTTTTGT  
ATTTTTAAACTTTTTT
- [0320] TTTCTTTTTTCTTTTTCTTCTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGTCTCGCTCTGTCGCCCCGGGCTGGAGT  
GCAGTGGTGCAATCTC
- [0321] GGCTCACTGCAACCTCCGTCTCCAGGTTCAAGGAGATTCTCCTGCCTCAGCTCCCAAGTAGCTGGGAT  
TACAGGCATGCGCCAC
- [0322] CACACCCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGGCAGGATTCACCGTGTGGTCAGGCTAGACTCGA  
ATGCCTGACCTCGTGA
- [0323] TCCACCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGGTTACGGGCGTGAGCCACCACGCCTGGCCTTAGTTTTT  
GTATTTTTAGTAGAGG
- [0324] TGAGGTTTACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCCTGATCTCAGGTGATCCACCTGCCTCGGCCT  
CCCAAAGTGCTGAGAT
- [0325] TACAGGCATGAGCCACTGTGCCCCGACCTCTCTTTTAGTTATTTTTAAATGTGCAATTAATTATTATTG  
ACTATAGTCTCCCTGT
- [0326] TATGCTATCAAATACTGGGTCTTATTCATTCTTTCTATTTATTTGTACACATTAACCATCCCTACATAC  
CCTCTCACCCCTGCCA
- [0327] CTACCCTTCCAAGTCTCTGCGAACCATCCTTCTATTCTCTATCTCCATGAGTTTAATTGTTTTCGATGTT  
TTGATACTACAGATAA
- [0328] GTGAGAACATGCAGTGTCTGTCTCTGTGCCTGGCGAGAAAATATTTGTAATATTTGTATTTGGCAAA  
GGACTTGTATCCAAAA
- [0329] TATAGAAATAAATTCTGCTCAATAATAAAAAGAGAAAACAACTTAATGAGACCCAGTGTCTACAAAAAGT  
AGAATAATTAGCCGGG
- [0330] CATGTTGGTGCATGTCTGTAGTCCCACCTAATCAGGAGGCTGAGGGGAAAGATCACTTAAGCTCAGGA  
GTTTCGAGGTTGCAGCG
- [0331] AGCTGTGATCGTGCCACTGCACTCCAACCTGGGTGACAGAGTAAGATCCTGTCTAAAAAAAATAAAAAT  
AGAGGGCCGGGTGAGG
- [0332] TGGCTTATGCCTGTAATCCCAGCACATTGGGAGGCTGAGGCAGGTGGATTGCTTAAGCCCAGGAGTTCA  
AGACCAGCCTGGGCAA
- [0333] CATGGTGAAACCCCATCTCTACCAAAAACCACAAAAAATCAGCTAGATGTGGTGCATGCCTATAGTCTCA





[0353] AGCCTGGGCAACGAGCAAACTCCATCTCAAAAACAACAACAAAACAACAACAACAACAACAATAT  
ACTGTAATAAAGGTTA

[0354] CGTGAATGTGGTCTCTCTAAAAAAAATGTGTATATATCTTAGTTTGTGGGTTTTTTGTTGTTGTAGTT  
TTGTTTATTATTAAGA

[0355] GACAGGGTCTTGCTCTGTTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGTGATCATGGCTTACTGCAGCCTTCACC  
TCCTAGGCTCAAGTGA

[0356] TCCTTCCACCTCAGCCTCCTGGGACCAGAGGCATGCACCACTATGCCAGCTAATTGTTTTTTTTTTTT  
TTTTCTTGATAGAAAT

[0357] GAGTTCTCACTATGTTGCCAGGCTGGTCTAGAACTCCTGGCTTCCAGCAATTCTGCTGGCTCAGCCTC  
CCAAAGTCTGGGATT

[0358] ATAGGCACGAGCCACGATGCCTGTCTCAAAAATTTTTACTGTACTGTACTCACCTATTATTGGCCTTT  
GGTTGACCATGGGTAA

[0359] CTGAAACTCCAGCAAGCGAAGGTGTGGATAAGGGCACTACTGTACGTGACTTTAATATACATAAAATCA  
CCTTAAAGACAATGAT

[0360] TGTTTCCAGAACATGAGCCTCTGAGACAGCAGGGAGATACTAGGGGAAGTTGGTGGCTCCTCTCCCTGG  
CAGGAACTGGTCTGGG

[0361] CTCCTGGCTCAGCCTGGCCATGAGGCTGTCTGGCCTCCCTCGGTGGGTTGACAGTGACCTCGACGTG  
CTCATTTTCAGTGTGGT

[0362] TCATTCCGGTCTCCAGGGGAAGGGGGTGCTGAGTGGAAGGAGGTCCTGGGAAGCCGGGGTGGCTCTC  
AGAGTCTGCAGGAGCA

[0363] GTCGGGCTGATGAGCTGGGAGGAGCAGACCGCTCCCTCTTCTCTGAGTGGGAGGAGGGCCAGATCTGG  
ACTGGGTTTGGAGATG

[0364] CTCAGGTGGGGCTCAGAGCATCACCTGTGGGGCAGAGGGACCATCTTGGCAGATGAAGGCCCGTCCGAG  
GGTGTGATGCCTGAAT

[0365] TACAAGGCGGGACAGGTAAAGTGGGGCAGGTGAGAGAAGGAGGGTGTGATGTGATTTTTCTACTCCT  
GTTTTCCAGGAAAACC

[0366] AAAATGCCACGCACTTCGACCTATGATCCTTTTCCTAATAATGCTTGTCTTGGTCTTGTGGGTAAGA  
CACATTTGACCATCGA

[0367] GGCTGGCCTGGTTTGGGGAGAAGTGACCACAGCAGCCAATCAGACCCATGGGGCCTCCCTGAGCTCCCC  
AAGTATCACAGTTATC

[0368] AGGGTCTAAGGACAGTTATTGCCTGCGTCCAGCTCTGGCGGAGGGTGTGCTTACTTGCTCCCTTATTT  
TAGCCTCACCTGGGCA

[0369] ACAGGCTCATCTCACTCCCATTTAAAATTTTCCTAAGTGTGGAGTCTGGGGCTGGGAGAGCAAGCCCCT  
TGCCACAATTGCGTG

[0370] GCTGGGGGTGGGGAAGGCAATTCTGGGTCCCAAGCTGTTAGTCGCTTCCAGACACAGAAGGTCCAGAA  
CCAAGAGTGAAGTCAC

[0371] CTGTCACCTCTACTGGGGCATCTCTGGACACGGCCTGGAAACTCCCTGACGTGGCCTCAGGGACTGC  
ACTGATCAAGGCACTG

[0372] GTGGCGGGGGTGTAGGGAGCTGGGGCTCTGGAGCTCCAGCAGGTGCCATACGTGAGCAATATCCCAGG

GACCACCCTCCTGCCC

[0373] ACCTCCCGGTGTGGGACGTGGCGAGGCGCCTGAGCTTTGCTGAGAACTGCCCTACCTGCCTCGAGGCC  
TTGCAGCTTACCGGG

[0374] AACTCTTGTGCTCACGCTGCTGGCCGACCATGCACTTTTTGGAGGAAGGGACCAACAGGCAGTCTTCG  
TTCTGTGTCCTGAGTC

[0375] TTGGCACACTTCCTTTCTGCAGTTACGGGTTCTAAGCCCCAGAAGTCTAATGCCAGGAAGCCTGGAAC  
GGGGGTTCTGGTGAGT

[0376] GCAGGGAAGAGCAGGTGGAGCATCCATGCTGGCCGGGGTGCTGGCTGTGGCGGGGGTCCCACTCTGGG  
AACTCCCCCTCCCCTT

[0377] CCTGGGCCCGCTCTCTATGCTCTGCCAGGTAGACATGCTCAACTCTGTGGCCTTGAAGGGTCACCTG  
GATACCTCTGGAGTCA

[0378] GCCTTGACCTCCCTTCTGACCTCCAGTCTCCAACTCCAGGCTTACCCAGAGTCCCATGCATGGTCTCT  
GCTCCCCATCCCCAC

[0379] CCCTCCTCCACCAGCCATCCTCAACTCTCCCTTTGCTCTACCCCTACACTGGGTCCCAAATCCTGCC  
AGCCCTGCTCTTCAGC

[0380] AGCTCGCGTGCCCACTGGCCTCCCTGCCTTCGACGTCCTGCTCCAGGGCTCCGGTGGGGCTGCCCTCAT  
CTCTGTGACAGCCTCA

[0381] GACTTGTCTCCCCATCCCCATCAGCCCTGTCCCCCTTCTTCTCACAGTAGCTGGAGTGATCTTTCCAGA  
ACATAAGGTAGGAGGC

[0382] TCTCCATGTTCTGATCCTGCCTTCTGACCTCCCCAGCCTCATCTCTCCCTCCTCTGCCCTCGCCCTCT  
GTGCTCCAGCCAACGT

[0383] GGCCTGTCACTCGTCCACCTGCCATACTGTCCTGACTCCAGGCCTTTGCCTGTGCTATGGCCTCTGTTG  
GGACCACTCTTGTCTC

[0384] TCCCCTGCTGTGTCTGCTAATTCCTCACTCGTGTGAGTGATCCATGGCTGCAGAACACACCACTCCATCC  
ATGGAAAACAATCACA

[0385] ATCATTGATTACTATCTCTCCCTGGGCTTCTGGGGTGGACTGGGCTCAGCTGGGTGGTTCACTTTGGG  
GCCTCAGCAGTCATGG

[0386] GCAGACAGTGGCTGGGGTCACTGCAAAGACTTCCCTGCATCTCTGGCAGTTGATGCTGGCTGTCATCTG  
AGACACCTACCCAGGG

[0387] CCTCTCCCTGGGGCTGGGCTCCTGCTCAGCTTGGTTGGGAGGCTCCAAGACCAACATCCCAAGAAAGA  
TGAGACAGAAGCCAGA

[0388] TCACCTTTTTGGGCTGGCTTCAGAAGTCACCCAGCGTCACTTCTGCTGCATTTATTTCTTAGAAACAC  
AGAATATCAGACCCCA

[0389] TCTCTTGATGGGAGGGGGCCTCATGGTTTGTAGACATGTTCTGAAACTCCACTCTGCCCGCCTTGGCT  
TCGACGTGTCTGGTGA

[0390] ATGTGTGGGCTGTGAGGCTCCCCGAACGTAGACCTCAGACTGCAACGTTGGCCGTTACAGGGTCTGGCA  
CACGGGCCACGCCAG

[0391] GCCCATCGCCACAGTGATGGTTGTTCTGTGACTGTTTCTGGTGGCCTCTGCTCCCACTCCAGGCTGAC  
GCTGTGTCCCTTCCAC

[0392] TGGGACCCTCGGGTGGCTTCCATGCACTTGTGCCCTAAATCCTGCTCCTAGACTAAACTTCATCTCCTG  
TGTTCTCATTCTGCAG

[0393] CATGGCTGTTAGGGAACCTGACCATCTGCAGCATGTCTCGTTGCCAAGGTATAATGTCAGTGCCTCCCT  
TCAGTGCCTCCCATGT

[0394] CACAGAATTGCTCTGCAGCCCTGGCACATGTGTGCGTGTGGACAGAAGCATGTGGGAGCTGGGGCAGGT  
CCTCTTTCTCCTGTG

[0395] GCTCTGAGGGAGGGGGCCGCTCCTTCCCCAGTCTCTACCCTGACTTGGCCCTCATCCTGCAGCCACTCA  
GAGAGCACGATGGAGC

[0396] TGGAGCTTCAAGTTTTGACCAGCTGCGTGTGCGCCGGCTTTTGTGTGTGTGTGTGTGTGATGGAGTCTCGC  
TCTGTGCGCCAGGCTG

[0397] GAGTGCATTGGCACCATCTCTGCCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGGCTCAAGTGATTCTCCTGCCGCA  
GCCTCCTGAGTAGCTG

[0398] GGATTACAGGCGCCACCACCACACCTGGCTAATTTTTGTATTTTTAGCAGAGACAGCGTTTTACCATG  
TTGGCCAGGCTAGTCT

[0399] TGAACCTCTGACTTCAAATGATCCGCCCGCTCAGCTCCCAAAGTGTGGGATTACAGGCATGAGCCC  
CGGCACCTGGCCTTCA

[0400] AATTGGCTTTTTAAAGAAGATGACCAGCTGGTCTGTTCTGTCTGGGGCCTTGGAGGGCTGTTTCCAGGA  
TGTGGGCCTTTATCAG

[0401] TGCTGACCTAGGCAATCAAGGCCAAGCTGGCCACACTGCTTTGATTTTTTTAAATTGTGATGAAATA  
CGCTTAACATAAAAATT

[0402] TGCCATCTTAGTCATTTTTGGAGTGTTTCAGTAGCGTTAAGTCCATTCACATTGCTGTGCAGCCATCACCA  
CCATCCATCTCCAGAA

[0403] CTCTTTTCATCTTGCCAACCTGAAGCTCTGTCCCCATAAAAATAGCAACTCCATTTTCCCTCCCCAGCT  
CACCATTCCATGGTCT

[0404] GTTGTTATGAGTCTGCTACTCCAACCTACCTTTTATAAGTGGAGTCAATGGTACCTGTGTTTTTATGTGCG  
GGCTCAAATCACTGAG

[0405] CGTGATGTCCTCACGGTCCATCCAGGTTGTACCAAGTGTGAGAATTTCCCTCCTGTTTTCTGCTGACTC  
CCTGCTTTTTAAAGGCC

[0406] ATCTTGGACATTCAAATTGTGGCCATTACTGACAGTTAAAATGGCCCCGGCTCATGTCTCCTGAGCCTC  
TACAATCCTTTAGGTG

[0407] GGGACAGTACTGCGGCCACACGTCCCCACAGGCTGCGTGTGACACTTGACAGTGCTTTGTGCCACTGT  
GGAGCAGGTGTCACTC

[0408] TCCCATTCTCAGAGAGGAAGCCGGGCTCTGGAAGCCAGCAGCCCACAAGGAGGCCAGCAGGCTTCGG  
GCCAGGTGGGGAGGT

[0409] CTGCACATCTCAGGGCCTTTCCCTGGGAACAACCAGGGACAGAGGCCACACACCAGCCTCCTCTCTGC  
CCACAGTGAATTGAGA

[0410] CACAACCCCTTACGTCCCTCCAGCCTTAAGTCAAGTGGAAAGCAATGGCCCCCTGAGGTCCTTAGTCC  
CTCTTGCCAGTTTATA

[0411] AGTGCTGAATCAGAGACTCTGAGCTTCGGCCCTTCCCGAGGTCCCGGATTATGAGCTGACACAGCCC

CCAAGCAACCACAGTG

[0412] ATTCCAGCCTGGGAGTGTGGCCTTGGCGGGAGGGTCAATGCCAGTCATGGTTCAGCGGCTGTGCACAC  
CCCCTGCTTACCTGCA

[0413] TCCCACGCTTTCATGCAAACCTCACGTGGCGGGCCTTGTGCTTGCAGGATGGTCTACCCCCAGTCAAA  
GGTGCTGACACCGTGG

[0414] TGAGTAAAGTTACTGACACTGAAACTGAACGCAGCTCAAGGGGCTGTTCTGAAGGTATTAGAGGGCGGT  
TTCCTTGATGTAAATC

[0415] TCAGTTGGGGCTGCTTCCCCGTTCTCTCCTCTCAGATTCTCCTGACATCTGAATTCAGAGGCCACATG  
GCTGTCCTCTTTCCCT

[0416] TTGCTTTCTCTGACTTGGCTCTTTGTTTCTGTCCCTTTGTTCTCAAAGCCCCTGCAAAGGCCTGAT  
AGGTACCTCCTACCTG

[0417] GGGAGGGGCAGCGGGGGTTGGGTGCTGGGGAGGGTTGTTCCTATCTCTTTGTCAGCAAAGCTCAGCTT  
GCTGTGTGTTCCCGCA

[0418] GGTCCAATGTTGAGGGAGGGCTGGGAATGATTTGCCCGTTGGAGTCGATTTGCCTCTGGTTGGTTTC  
CCGGGAAGGGCGGCT

[0419] GCCTCTGGAAGGGTGGTCAGAGGAGGAAGAAGCTGAGTGGAGTTTCCAGGTGGGGGCGGCCGTGTGCCA  
GAGGCGCATGTGGGTG

[0420] GCACCCTGCCAGCTCCATATGACCGCACGCCTCTCTCCATGTGCAGTAGGAAGGATGTCTCTGTGGTAC  
CCCTTGGCTGGCTCCC

[0421] ATTGTCTGGGAGGGCACGTTCAACATCGACATCCTCAACGAGCAGTTCAGGCTCCAGAACCACCATT  
GGGTTAACTGTGTTTG

[0422] CCATCAAGAAGTAAGTCAGTGAGGTGGCCGAGGGTAGAGACCCAGGCAGTGGCGAGTACTGTGGACAT  
TGAGGTCTCTCCTTGT

[0423] GTTCAAGACAGAGAGGGGTGGCGCCAGCCTTGTCTCCAGAGGGTAGATGGGAAAGGTCATTCATGC  
AGCATCTTACTGAGCT

[0424] CACGTGGGCTCGTGGGCTCGTGGGCTCACCAGGTCCGTTAAAACCCAGCTCCTTCTCCAGAGGCTGTGTC  
TCACCGAGGGATGGTG

[0425] GCTTCTGCTGCCCCCTCCTCTCTGTAACCTGTGGCCGGCCGTCATGCTGAGCCACCCCCTCAATACAAGG  
CTCCAGATGTTTCTG

[0426] CTCACTGACCAGAGATAGCAGGAGGGGGACACCTGTTTGTGTCCTTGGACCCTAGAAAGAGGATGCTG  
GCAGAGCCGTGGTCAC

[0427] TTCTCTGTGAGATGTAGGTGGGGCAGGCAAGGCAGTTGGCCCCAGACACCAAAGGAAGTGGCTGACCCA  
CAAGGCCCCGGGACTC

[0428] TGGGCCAGGCCAGAGAGGGAGCTAGCCAGGCAACCGCAGACACATACTTACTTCTCGGCAGCTGTGGG  
CAGCTGGGCCAGCGAC

[0429] AGTGGCGGAGGCCAGGAATGACTTACTCTTAGGAATAGGTGCAGTTCAAGCCTGGAGGGAGGAAGCTCT  
AGGGTGCAGAGGCGGG

[0430] TGTGTGGAGGCCTCGCGTGCAGCTTATAATGAGGGAGCACGTGGCCAGCCTGGCCATAAGAGGGGCAGC  
TGCGTGGGGAGGCGTG

- [0431] GCTCAGGCCAGGCTGAGGGGAGTGAGCGGGCGCCAGCCTGCGGCCTGCTACCAGCCTCCAGCCACCTG  
CCCTCAGCCCTCCTTA
- [0432] GTAAGAGGGGGTGCTGGTGGTCCCCATCGCTGGGAAGAGGATGAAGTGAGTCGCAGCCCCGAGGACTCG  
CTCAGGACAGGGCAGG
- [0433] AGAACGTGGTGCATCTGCTGCTCTGAGCCTTCCAATGGCCGCTGGCGGGCGGGTGCAGGACGGGCCTCC  
TGCAGCCCAGGGGTGC
- [0434] GCAGCCGGCGGCTCCCCAGCCCCGTCCGCCTGCCTTGCAGATACGTGGCTTTCCTGAAGCTGTTCTT  
GGAGACGGCGGAGAAG
- [0435] CACTTCATGGTGGGCCACCGTGTCCACTACTATGTCTTCACCGACCAGCCGGCCGCGGTGCCCGCGTG  
ACGCTGGGGACCGGTC
- [0436] GGCAGCTGTCACTGCTGGAGGTGCGCGCTACAAGCGCTGGCAGGACGTGTCCATGCGCCGCATGGAGA  
TGATCAGTGACTTCTG
- [0437] CGAGCGGCGCTTCTCAGCGAGGTGGATTACCTGGTGTGCGTGGACGTGGACATGGAGATCCGCGACCA  
CGTGGGCGTGGAGATC
- [0438] CTGACTCCACTGTTCCGGCACCTGCACCCCGGCTTCTACGGAAGCAGCCGGGAGGCCTTACCTACGAG  
CGCCGGCCCCAGTCCC
- [0439] AGGCCTACATCCCTAAGGACGAGGGCGATTTCTACTACCTGGGGGGTCTTCGGGGGGTTCGGTGAAG  
AGATGCAGCGGCTCAC
- [0440] CAGGGCCTGCCACCAGGCCATGATGGTTCGACCAGGCCAACGGCATCGAGGCCGTGTGGCACGACGAGAG  
CCACCTGAACAAGTAC
- [0441] CTGCTGCGCCACAAACCCACCAAGGTGCTCTCCCCGAGTACTTGTGGGACCAGCAGCTGCTGGGCTGG  
CCCCCGTCTGAGGA
- [0442] AGCTGAGGTTCACTGCGGTGCCCAAGAACCACCAGGCGGTCCGGAACCCGTGAGCGGCTGCCAGGGGCT  
CTGGGAGGGCTGCCGG
- [0443] CAGCCCCGTCCCCCTCCCGCCCTTGGTTTTAGCAGAACGGGTAAACTCTGTTTCCTTTGTCCGTCCTGT  
TGTGAGTAACTGAAGC
- [0444] CTAGGCCCGTCCCCACCTCAAATCACACACACCCCTCCCGCCACAGAGACACCATTACATACACAG  
ACACACACAGAAAGAC
- [0445] ACAGACACAAAATCACACACACACCCTCCCGCCACAGAGACACACCGTTATACACACATACAGAGAAA  
GACACACACAGACACA
- [0446] CAATCACACACAGCCCCCTCCCGCCACAGAGACACACCATTACATACACAGACACACACAGAAAGACAC  
ACAGAGACACAAAATC
- [0447] ACACACACACCCTCCCGCCACAGAGACACACCATTACATACACAGACACACAATCACACACAGCCCCCT  
CCCGCCACAGAGACA
- [0448] CACCATTACATACACAGACACACACAGACACACAATCACAGATACCCCTCCCGCCATAGAGACACAC  
CGTTACACACACATAC
- [0449] ACAGAAAGACACACATAGACACACAATCACACACAGCCCCCTCCCTGCCACGGAGACACACCATTACATA  
CACAGACACACACAGA
- [0450] AAGACACACACAGACACAAAATCACATACACACCCTCCCGCCACAGAGACACACCATTACATACACAG

ACACACAATCACACAC

[0451] ACACCCCCGCCACAGAGACACACCGTTACATACACAGACACACAGACATACACAGACACACAGACACAC  
AATCACACACACAGCC

[0452] CCTCCCCGCCAGAGACACACCATTACACACACAGACACACACAGAAAGACACACATACACACAATCACA  
CACACCCTCTTCCTGC

[0453] CACAGAGACGCACCATTACATACACAGACCCAGACACACAGACACACAGAGACACAGACACACAAACAT  
AGACACACACACAGAC

[0454] ACACACCAGACACGCAAAGACACACAGACACAGATACACAGATACAAAGACACAGACATATAGACACAC  
AGACATGCACAGAGAC

[0455] ACATGGAGACACATGCAAAAATGCACAGAGAAAGACATACAGAAGTGTACACACAGACACATAGACCAC  
ACAGACACACAGACAT

[0456] GCATGCAAACACACAGACATGCAGACATGCACACAAAACACAGACGCACGCACACAGACTTAGGCAGCCC  
AAATTCAGCGCCTGGG

[0457] GCATAAGTTCCTGGAGGGGTGGCCACCTTCAGCCCCACGGTAAGGTCCTGAGGAACCTTCCCCTTAGA  
CAAGGGATCATGGAGG

[0458] AGGTCTCTTCCGGAGCCTGGAGGGAGGCCTCAAGTGGTCCTTCCACCTCGGCATCCCAAAGTGCTAGGA  
TTATAAGCATGAGCCA

[0459] CTGCACCTGGCCCCAACATCATTATTGAACAGACTGTCGTTCCACATTGTGTTTCTTGGCATTCTG  
TCAAAAATCAGTTGAC

[0460] TGTAATGCATGGATTCACTTCCGGGCTCTCTATTCTGTTTCATTGGTCTGTTTGTGTTTTATGCCAATA  
CCATGCTGTTTTGATT

[0461] ATTATAGCTTTATAGTATATTTTTGAAGTTAGGTAGTGTATTGTCTCCAGCTTTGTTCTTTTTGCTTAAG  
ATTGCTTTGGCTATTT

[0462] AGGGGTCTTTGTGGCCATTACTGACAGTTAAAATGGCCCTGGCTCATGTCTCCTGGGCCTCTACAGTAC  
TTTAGGTGGGAAGTA

[0463] CTGTGGCCACATGTCCCAACAGGCTGTGTGTGGCACCTGACAGTGCTTTGTGCCACTGTGGAGCAGGT  
GTTACTCCCTCATATG

[0464] AATTTTAGGATTATTTCAATTTATTTTCAGTGAAAAATGTCAATGAAATTTTGATAGGGATTGCATTGAAT  
CTGTAGATTGTTTGGG

[0465] GTTGATGGACATTTTAAACAATATTAATTCTTCCAATTCATGAACATGGGATGTCTTTTTTTTTGGCACC  
TGATCTCAGATATGGG

[0466] ACAGCTTTCTAATTATTTGTATCTTCAATTTCTTTCACAAATGTTTTATAGTTTTTCAGCATAACAGATCT  
TTCACCTCCTTGTTTG

[0467] GATTTATTTGCAAGTATTTTTGTAGCTATTGTAAATGACATCGTTTTCTTGATTTCTTTGTTAGGGTA  
TAGAAATGCTACAGAT

[0468] TGTTGTATGTTAATTTTATATCCTGCAACTTACTGATTCATTTATTCTAACATCTTATTGGTGAAT  
CTTTAGGGTTTTCTAT

[0469] AAGATCATGTCATCTGTAAACAGGGACAATTTAAGTCTTCCTTTCCAATTTGGATACCTTTTATTTCT  
TCCTCTTGCCTAATTA

[0470] TTTTGGCTGAGGGCCAACCTTGTGGGTTTGTGTTGTTGGTTTTTGTCTGTGTCTTTTGGTGTTCGTG  
TTGCTGGCTTTTCCAG

[0471] CACACAGTCGCAGATATATGAGGCAGAAAAGAAAACCCAGGGAACGCCTGTCATGTCATTCCCTCAGGTCC  
CAAGGTCCCTACATGG

[0472] TCTGCCTTCTTCTCTCCACCTTTTAGTGTGGCATAACATACGTTTATGTATGTAGTTATATATGTATG  
TGTAATACCCAGGGAA

[0473] ATATACAGGGATTTTAACTGTCTTAGTGTAGGGCGTGGGGACAGGTGCATCTATTCTACCTTGCCTGG  
AAGTGGAATAATCTTC

[0474] AAGAAATCAATTTATCACCAACTGGCATGACAGAACTCCTGGTTTAGTGTCTAGCTGTCCCACTAAAA  
TCAATCACCATGCCAT

[0475] CAGGCACTCTTCCCTCTGCTGTGTACTGGTACCTGAAACAGCGTCCAGCACCCCTGAGAGCACAGGAA  
GTCTGAGGGCAGGAAA

[0476] GAATGAACGCAGCTTCTTATGTGCCCCACCAATAATCCCAAATCGAGCACGGACCTGGGAGCTGAAGA  
GACAAGCTGGAGGTCA

[0477] GGCAGTTCTATTACTTAAGCCTGGTTCTTCTGACTTCAAAAGCCAGGCGCCACCCCATGCTCCTTCCC  
AGCAGAAGCTGGTTTT

[0478] CACCGGTCAGGAGGACAGGATGGCTATTCTGACCGTTGTACAGCAGTGCCACATCTCCTAGTTTCCA  
GAACATTTAATGTGTT

[0479] GCTGTGGAGGCCTGGCAGCTCTGAAGTAGCCCTTGCGCCAGGACAAACCGGGCTGGAGGGGTGGGG  
TGGGGTAAGCTGAAGC

[0480] TTCCAGTATCCCACGTGGGCATTCTGTTGCTGAGGGCAACCGCCCTCCCTGCAAGGGAGGGGAAGGAG  
CAGGCAGGCACACCCT

[0481] TCCTCCCTCCACATTTCACTGGAGTTGACCTGTGTCCTACTGTGGTTGCACCTGGACCAGCCCAGAGGG  
ACTGGAGTACTCTTC

[0482] CCGCA

[0483] 样本13测序序列:单倍型2为ABO\*BW.11分型

[0484] ACATAGACAGTATCGGGTTGCGCTGGGGGTACAAAATGAATTCAAAGCTCGAAACCAAATAGCCACC  
AGGTTTGAGTCTGTAT

[0485] TATTCTGGTGGTCCACTATAAAACAAAAATGTAGACTGGATACATTATATATACTATAATCAACAGTGAT  
TCATCAATTACACCAG

[0486] AGATGCCATAAAAAGAATAGCTCAACAATTAGGCCCTACCAGCCAGATGGCCTGGGAAAACAGGATAGC  
CCTTGACATGATATTG

[0487] GCCAAAAAAGGCGGAGTCTGTGTCATGATTGGGGTCCAATGTTGCACTTTTATCCCAATAACACAGC  
CCTGGACGGGACAATC

[0488] ACAAAGCCTTACAAGCCTTACCACCCTAGCAAATGAATTAGCCGAGAACTCTGGAATAGATGACCCT  
TTGCAGGTGTCATGGA

[0489] GAAATGGTTTGGAAAATGGAAGGGACTCATGACCTAAATCTTACCTCCCTGCAACAGTTACAGGTGT  
ACTCATCCTTGTGGGC

[0490] TGCTGTATCATACTTGTATTTCGTGGGTTAACCCAAAGGCTCATAGAAGCAGCTCTCACAAAACCTCC

CCCACCTCTCCCCATC

[0491] CATAGTCAGATAAGCTCTTGCTCCTAGATGATAAAGAAGAACAACAAAGCCAACCTCCTGTAAATAAAT  
TTGAAGGGGAAGAACT

[0492] ATAAAACAGAAGAGGGGAAATTGTTGGGACAACCTAAGTTCCTCTTCAAAGATTCAACTTCCTGGCCATA  
ACTTGGAACAAATCC

[0493] TACCCCTACAACCTTTTCAAAAAATCACACCTTTACCTTATTTGGGAAGGTTTAAGCATTAGCCTGTCCG  
GGTCAGCTTAGATTAT

[0494] GCGGCCAACCCCAGCCAATAGGGGAAGGACACAGAAACAGAACTGCGTTACCCCAGCCAATAGGGGA  
AGGACACAGAAACAGA

[0495] AACTGCGTTACCCCAGCCAATAGGGGAAGGACACAGAAACAGAACTGCGTTACCCCAGCCAATAGGGG  
AAGGACACAGAAACAG

[0496] AACTGCGTTAGGGATAAAAACCCCTTCCCTCCTTTGTTCAAGTGTGCTCTGGGATTGTAACAGGCACA  
GGCAGCACCCCTTCTAC

[0497] AGAAGTAAAAGTGACTTGCTGAGAAATTTCTAAGTGCGGGTTTCTTTTCGCTACACCAAGCACTTGT  
TCCAACACATGCAAAC

[0498] CAGAATGGAGGTCTCCCTGGACCTGGGTTTGGGCCACAAGCTTGCAAGACCTGGGCAAGACTGTTCCC  
TCTTCTGAACCAAGTC

[0499] CTTCCCTGGCCCAGCCGCTTGTGAGTAACACATCAGTTTCATGCTTACACCTCCTGGTCTTGTGAGTAA  
CACATCGGTTTCATGC

[0500] TTACACCTCCTGGTCTGACCGGGCTCTCCTTTCAGAGCCTTTTATTCCTCCCTCCTCTGAACACTG  
GCTGGCTGCTTTCAGG

[0501] GAAGAAGTTCAGGGCAGTGGCAGGGAGCTCCTTGCACATCGCCATGACAAATGTTTTATGGAAACAGTG  
AGCTGATGGGACGAGG

[0502] GGTCGGGGCTAGAAAAGTCAGCCAAAAGGTGTGAGAACCCGGACTAGCCCCAGCCCTGAACATGGCAGG  
CCACTGTGCCATGGTA

[0503] GGGGAGTGAAAGTTTCCCTCTGCTCCTCTTAGGGTTCAGCTGGGGCTCCTTACAAAAGAGAAAAACAG  
TTCATTAATGCATGTA

[0504] GTGCACCTCACTGAAGAAGCTTCAACAAAAAGCAACTCAGAACAGTGAAGTACTGGGTTATGGAGC  
AACTTCAACAAAGAAT

[0505] AATCAACGTGTGGGAAATGACAGGACCCAGGAGCGGTTTTAGGCTTCCAAGTTTGGGAAACCGGCA  
AGGTGAGTATTGGGAG

[0506] GAAACTAAGGCGGAAGTTTCATTCACAGAGCCCTAGGGTGCCTTCTTTCCTCTGGCTGATGCGTCTCTC  
TCCTATAATTTCCATC

[0507] CTGCCTCAGACAGCAGAGGGACAGGGCAGAGAGATTTCCCTGCTTCTGCTGCATCTTAGTTGCCTTC  
AACTCAAGATAATTTTC

[0508] TGAGGCTCATTTTGGAGTGACATATTCTGGTGTCCCTCACGGTACAGGGCACAGCCTCAGAGGACCAGA  
TCCACAGCTGATCACT

[0509] GAGCTCTTCCATGTGCCAGGCCCGTCCAGGGAGAACACTCAGCCCCACAAACAGGGCAGGTGGCACCAG  
GATGCTGGGCGGCAGC



[0510] CTAACCCTCAGCTCATGGGTGGGTGGAGTGGAGAGCACCCCTCCCCATGTGGGGCTCCCTGGTCGTGGAC  
CTGGAGACCACCAAGG

[0511] CTCTGCAGTCTCAGAAGTGGCCTGTTGGAATGGGGTCTGCAGGCAGGAAGCCTTGGGCCAGAGTCCCT  
CAGGGGCAGGAACACA

[0512] GCCCCAGGCTTGTCCACTTGTCCCTCTGAATAGTTAAGGGCTGCCACAGGGAAGTCCCTCCCTCC  
CTCCCTTCCCTCCCTTC

[0513] CTTCTGCCTCCCTCCCTCCCTTCTTTCCCTTTTCTTCTTTCATCCTCCCCTTTCTTCCCTTCTTACT  
GTGGTAAAATACACAT

[0514] AACATGAAATTTACCATCTCAACTATTTAAACACGCACAGTCCATGGTGTGAGTTCACACATCGT  
TGTACAGCCATCACCA

[0515] GCATCCATCTACAACACTCTTTTCATCTTCCAGACTGAAACTCAACACCGTTCACAGCTCCCCATTCC  
CGCCTTCCCCAGGCGC

[0516] CCACCATTCTCCTCTCTATTTCTACGAATTTGATGACTCCAGTCCCTCAGATATGTGGAATTGTGGCTG  
GGCACGGTGGTTCACA

[0517] TCTGTAATCCCAGCACTTTTCAGAGGCCAAGGCAGGCAAATCACCTTAGGTCAGGAGTCTAGAACAGCC  
TGGCCAACATGGTGAA

[0518] ACCCAGTCTCTACTAAAAATACAAAAATAAGCCGGGCATGGTGGCACACATCTGTGGTGCCAGCTACTC  
AGGAGGCTGAGGCGGG

[0519] AGAATCGCTTGAACCTGGGAGGCAGAGGTTGCAGTGAGCTGAGATCTCACCCTGCACTCCAGCCTGGG  
AGAGAGAGCGAGACTC

[0520] TGCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAGTTAATAGAATCGCATGGCATTTCCTTGTGGACTGGATTTTACTT  
AGCATAAGGCATCAAG

[0521] GCTCACCCACGCTGTAGCAGGTGTCAGCGTCTCCTCCCTTTCTAGGGCTGAGAAACATTCCATCTAGAG  
ACAGACTCACTCCGTG

[0522] CAGCCATGACGCCTTGGTGAACACCACGGCTGCTTCCAGCTTTTGGCTATGGTGAGTTCGGTTGCTAGG  
AACACAGATGTGCACA

[0523] TGTCTCTCCAGACCTCCTTTCAATTCCTTGGGTGTATACACAAAAGCAGGATTGCCAGCTCATAACGGT  
AATAATATTTTTATTT

[0524] TTATTTTTTGAGAAGGAGTCTTGCTATGTTGCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGGCATTTCCTGTTCACTG  
CAACCTCCACCTCCCA

[0525] AGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCGTCCCAAGTAGCTGGGATTACAGACTCGAGCCACCACGACCGG  
CTAATTTTTGTATTTT

[0526] TAGTGGAGATGGAGGATTCACCATGTTGCCAGGCTGGTCTCGAACTTCTGACCTCAAGTATCCGCCC  
GCCTCGGCCTCTGAAA

[0527] GTGCTAGGATTGTAGGCATGAGCCACCGCGCCCGCCTCGTACGGTAATTCTGTGTGATGTTTTGAGGA  
ATTGCCACAATTTTTT

[0528] CCTGCGCCTGCACCAGGGACACGTCTCGGAGCTGGCGAACTGGACTTGGGGTGGGAGGGAAAGGAAGCA  
TTAAAGATGCCCCAG

[0529] CTTTCACGGAGATGAGAACGGTGCCCCGGGAGGGCGGGACGGGATCAGGGTCTGTGAACGGGGTATCA

GTGTAAACTCCTCTGA

[0530] GAGATATCAGGAAAAGCAGGAAGAAGCCTCTGGGACCCTTCGGGAGGTA ACTCCTCTTCGCAGCGGGGC  
GCGCTCTCCAGTCCC

[0531] TGCAGCCGCCGCCCTCTCCTGAGCTTCTCGAGCGGACGCCAGGCAAGGGCGGGGGTTCGTAGCGGG  
GCGGAGCGGGGCTTTG

[0532] TCCACGGACCGCGGAAGAGGCTCAGGGCCCGCGCGGGCGCCGAGGGGGACTCGCTCGCAGGGGGA  
ACGCGAAGGTTCTCA

[0533] GTCTGCGGGACGCAGAGCTCCGTGGGGCCGCGAGCCGGGGCCGGGAAGCGACTCTGCCTAGGGGGACG  
TCGCGGGCGCGGGCA

[0534] CAGGGTCTGCGGGGCTGGAGGGCTACAGGCTGCGGCGCGCGAGCCGGAAGGCCGGGGATCGTGGGT  
TCTGGGGCCGAGCTT

[0535] CACGGTTTCGTCTCCCCCGCTCCCCGGGGAGCAGGATGTCAGGGGTTCGCCCCGCCGGGAGACAG  
GGTGTCAAGGGGCCCC

[0536] CGGGACGGGGCTTCAGGGCACCCGAGCCGCTCGGCCAGGGCGGGATGCGGGACAGGGCCCCAA  
GGTACCAGGGCCACGA

[0537] GGGGCGCGGGTCCCTTGGGGATGCGCGGAGGAGGCGCCGTCCTTCTAGCAGGGTCCCTGGGGA  
CCCGCGGCCGCTCCC

[0538] GCGCCCCTGTCCCCTCCCGTTCGGCCTCGGGAAGTCGGGGCGGGCGGGCGGGCCGGGAGGG  
GGCGCCTCGGGCTCAC

[0539] CCCGCCCCAGGGCCCGGGCGGAAGGCGGAGGCCGAGACCAGACGCGGAGCCATGGCCGAGGTGTTGC  
GGACGCTGGCCGTTGA

[0540] GTGCAGGCCTCGGCCCCGGGTGCCCGGAGGGAGCCGCTACCGCAGGGAATGCGGGGTGCACCCGACAG  
CCGGGCCGGGGTGGGG

[0541] GCGCCCAGGGCTGCGAGGCTTCAGGCCGGCCGCCGCCAGCCTCCGAGACCCTGCGTCTGGGGAGCC  
GGCGGGCAGGTGGGCT

[0542] CGGCCGCGCTGTGGGTGCTGGGACCCGAGGGAGGATGGGCGCGGTGGCGGGCCTGGCGGGGGGCTC  
GTCTCCGGGGTCCCCG

[0543] GGTCTGGTGAAGCGGGGTCCCTCGACGCCGTGGCGGTCTCCAGCCTCTCCTCGCCCCTCCACGCTCC  
CCGCTTCCATGAGCT

[0544] GCTATTTTACGACCTACCGCCCGACCCTGGACTAGGACAAGGCTCTGGGCTGCCCTGCCCGCCCCCA  
GCCCTTCCCTCGGGCA

[0545] CGGCGCCAGGCGCCCGGGTTGACCGGGAACAGCCTCCATACCCCAAACGCGGAGGCGCCTCGGGAAGG  
CGAGGTGGGCAAGTTC

[0546] AATGCCAAGCGTGACGGGGAACTGTGCCCGGGCCCTCAGGTGATATAGGAGTTAAGAAGAAATTATT  
GAGGCAACCAGATGCG

[0547] GTGACTCAGGCCTGTAACCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGGTGGATCACCTGTCCTTAATTTTCTTGG  
CGCCAGAAGATGAATT

[0548] GAGTATTTACCCAGACAACAACGTCGCTTCAGAGGGAGGGATGCAGAACGCAGGGCCACGGGGCGCAGG  
CTGCAGGCCAGTGAAC

[0549] CCCAACGCCAAAGGCCAGGGAGAGCCGGGTGGGGTACCCAGAGCCAGCACACAGCCCTTTAATTTAGAG  
GAGTGCTGTGTACACA

[0550] TCTGGGGAGAGATGTTTTACTTTGATTTGGAATCAGGTGGCGGATAAGGCATACTGAGGCCTGACTTGG  
TGAGGGCTCCTGCCCC

[0551] GGAGGTGCAGCCCTGGAGGAGCGGGAGGCAGAGGAGTGGAAAATTCATGAAGAAAACCGGGTATGGTGT  
AGGTTCGAGGCCCTGCC

[0552] CTCAGTAATGCTCACCATTTGTCAGTGTTTACTGTGAGGCAGCACTGTGTTTCAGTATCGCTGAGTTCTC  
AGGAAGGAACGGTAAA

[0553] TACTTCCCGGGTCATTCTTTCACCCACGGGAAAACAGGTTTGGAGAGATCTGGGACAGTGCTCTGGTCC  
CAGGCAGGAAGGGCTG

[0554] AGTGGGGCCTGGGACTCAGGTCTGACTGCAAACACCTGCCTCCTCCCTGTGCTGCCAGCGCCTTCCGGG  
TTCTTCCCTGTCCCTC

[0555] CTTTGTGGTCTTTGTTTTCCCTTTTTTGTCTTAATATGTTCAACGGATGTATAACAATAAACCGCACAT  
GAAAGGTACAGCTGGA

[0556] TACATCTTGACCCAGTCAAGATGATGAACACAGCTGCCACCCAGGAGTCTGTCCTGCCCCACAGGTTA  
TGCTGTCTTAGTTGGT

[0557] CTCATGTCAGGGAGCCTTGGAGGACCAGGGTCGGGCAGTTGGTCTCTATACTCCTGGGGTTCTGGCACT  
GGCTCTGGCCCATGAC

[0558] CGCACCCAAGACAAACGTCTTGAAGACTAAGAGGTTAGGTCTTTGAGAAACCTGGCAAATGAGTGCCCA  
TTCTCAGGTTACCCAC

[0559] ATTCTGCATGTTGATTTAGTCATCCAACCAATGTTGGTTGAACACTGATGAGAACAAGCAGGCCTGTGC  
TAGAAGGTGCCTGCAG

[0560] CCAGGAGCTGGTGAGCTGGTGTCTTAGGGACACCAATGGCGAGGGACCCAGTGTGTGAAATCTGGGG  
GACAAGCATGCCAGGG

[0561] AGAAGAGCTCACATGGGGAAGGCCCGCTCCACAAATCAGTCAGGCTTGTGGGGCGGGCAGGAGAGCA  
GGGTAGTGGAGTCAGA

[0562] GGGAGTGATCCCCGAAAGGCAGGAAGAGGACATGAGAGAGCCTTGGAGATGACGGTGAGGATGTGGTT  
GGTGGGCGGTGAGCTG

[0563] GGTGTCATGTGCTGGCTCCTTAGAGAATGCTCAGCTCCTTCACACCCATCATAATCCCTGGAGGACTGA  
GACCACGTGCAGGAGT

[0564] TTTGGAAGCTGGCAGTGCACCCAGTCCCGGCTCTCCTCCATTCTGGTGGGTCTCACCAGAGATTGGCCA  
AGAAGAGATCAAACCTG

[0565] TTCCTGGACCAAACCTGAGGGTGGGGCTGCTATCTCTCGCGGCCAATAACGAGATGCAGATGAACTGGG  
GAGAAAGAGAGTTTTTT

[0566] ATTTCTGTAACCAGTTACAAGGAGAAGACCTGGAAATTATCTCCAGACCAACTCAAATTACAAAGTTT  
TCCAGAGCTTATATAC

[0567] CTTCTAAGCTATATGTCTATGTGTAAGTGTGCATTCATCTCAAGACATAAGTAATTGACTTATGTTAAT  
CTATAACTAAGGTCTG

[0568] AGTCCTGAAGACCTTCTCTGGATCCTCAGTAAATTTACTTAATCTAAAACCCTTATCTTGTCTCCTAA

ATCATGGGGTTTGGG

[0569] AAGTTCCTTCAGACCCCCAGTAAACTTATTTGTGGAGTCCTGGGGAATTTCTTCAGATCCCCAATAAAA  
CTTGTTTAATCCTAAA

[0570] TGGGTCCTGTAAAGAATTCCTTCGTTATTTTGTTCATGCTTGAAGGCCAGGAAAGGTCTAGGCAAACT  
CTTGGTGGGATTTTGT

[0571] TATATCCAGCCTTTTTATAAGGGCACTGGCTTTTAATATTTAATTTAACCCTCAGTCAGTACTGAAA  
CAGTTGTTAGGGAGGC

[0572] CTGCGTTAGTGAGACCTGACCTGCCACAACACATCTTACTCGGAATGCTGCCATAACTTCAAAAAATC  
AGCTTTGACGGAGCCC

[0573] TACTGAACACACCTAGCATCTCTCTTCCTTCAGCTTAGGGTCAAGGGGCTGGGGTTGATGGCACCATTG  
AAAGAAACAGCTTTAT

[0574] TGCCGTGTCATTGATATGCCATAAAATTCACCTGTTCAAATGAATTATTTTCAGTTAGTTTACAGAGT  
TGTGAAATAAATTTTA

[0575] TAACTTTTCCATCCCCAGCCCACCAAACTCCCTGGAATCCTCCGCAGTCATTCCCCATTCCCACCTG  
GCCTCAGACAATCACT

[0576] TTCTGTCTCTCCAGTCTTGCCTTTTCTGGACAGTTCCTATGAATGGAGTCCTGTGTTACATGGTCTTTT  
GCATCTGACTTCCTTC

[0577] ACTTAGAATAATGATTCCGAGATTCATGTATGTTGTAGTATGTATCAGTATTTAATTCCTTTTTATTAC  
TGAATAATCCATTGTA

[0578] CAGATAGACCACATTTTGTATCCATTCATCAGCTGAAGGACATTTCCGGCTGTTTCTGCTTTTTTAGC  
TATTTTAAACTGCACG

[0579] CAGCACTGCTATGAACATTTGTGTACAAGACTTTGTGTGAACATGTTTTATTCTCTTGGGTTGATAC  
CCAGCAGAGGAATTGC

[0580] TGGGTCATACAGAAAGTCTGATTTAACATTTTAAGAACTAGCAAAGTGTTCCTCAAAGTACTGCCCC  
ATTTTACATTCCCATC

[0581] AGCAGTGTATAACGGTCTAATTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTTCTTTGAGACAAGGTTTTGCTCTGTCACC  
CAGGCTGGAGTGCAGT

[0582] GGCATGATCTTGGCTCACTGCAGCCTCAATCTTGGGCTCAATTGGTCTCCACCTCAGCCTCCTGA  
GTAGCTGGGACTACAG

[0583] GTGAGTACCACCACATCCAGCTAATTTTGTATTTTGGTAGAGATGGGGTTTTGCCATGTTGCCCAGG  
CTGTTCTCAAACCTCT

[0584] GGGCTCAAGTATCTGCCACCTCGGCCTCCCCAAGTCTGGGATTATAGGTGTGAGCCGCTGCGCCTG  
GCTGAGGGTTCCACTG

[0585] TCTGTACGTCTGCAGCAATACATACCATTCTGTGGGTAAGGTGGTATCTCATTATAGTTTTGATTT  
GCATTTCCCCAAGGTC

[0586] AAATGATGGCAAGTGGCTTTTCTGTGCTTTTGTAGCCATTTGTATATGTTTTGGTGAATGCCTGTTG  
AAATGTTTTGCCTTTT

[0587] TAAAAATTGAGTTGTCTCCTTTGTTTCAGTTTGTAGAGTTCTTACATACACAGTATCATATATATATAT  
ATATATATATATATAT

[0588] ATATATATATATATATATATATACACACCAGATATATGATTGCAAATATTTCAACCATCAATAGTTT  
AACACTTTTTTATTGG

[0589] TATTTTGAAGTAGAAAAGTTTTACATTTTGATCCATTCCAATTTATTAACTTTTCTTTTATTGTGTAT  
CTGGTATCATATCTAA

[0590] GAAATCTTAATCCAGTGTACAAAAGATTTAATCTTATGTTTTCTTCTAACCGCTTCTAGTTTATGTGT  
AAGAATCTGTCCATTT

[0591] TACCTAAGTTGCATAATTTGTTGGCAAACAGTTGTACATAGTATTTCCCTTGAAATCCTTTTAATCTCTG  
TAAGATTGGAATTGCT

[0592] GTCTCCTCTTTTAGTCTGATTTTAGTTATTTGTGTTCTCTCTCTCTGGTCAATGTAGCTAAAGCTT  
TGTCAATTCTCTTGAT

[0593] CTTTTAGAGAACTGCCATTTGATATTTTTTACTTTATCTTTTTCTTTCTGTTCTCTAGTTTATTGGT  
TTCCACTCTTCTCACT

[0594] TTGGGTTTAATTCGTTCTGTCTTTTCTTATTGTAGTTACTTACAATGGAAGCTTACACACTTGATTTAA  
GATTTTTTTTTCTAAT

[0595] GTAGACATTTACAGCTATAAATTTCCCTTGAAACACAGCTTAGTTATATCTCATAAATTTTGGTATGT  
TGTGTTTACATTTTCA

[0596] TTCAGCTCAGTGTATCTTTTGATTTTCTTCTTGACCCATTGCTTATTTAGAATTATGTTGTTTAATTT  
CTATGTATTTATAGGT

[0597] TTCCCAAATTTCTTTTGTTAATTTCTGATTTTCAATCCCCTGTGGCTAGAGAAGAACTCTGTGGATATC  
AGTCCTTTCGAATTTT

[0598] TCAGAATTGTTTTATGGTCCAGCATATGATTGACCTTGGACACTGTTCCATGTGCACTTGAGGAGAACG  
TGACTIONCGGCTCTTGC

[0599] CAGGTGGAGTGTCTAGAGATGTCAGTTGGTGTCCAGTGATGTCAAGTCATTTGTATCTACTGATTTTC  
TTTCTAATTATTCTAT

[0600] CCATTACTGAGAGTGGGGTAGGATTTTGGTGTCCAATTATTGTTTTTTTTGTTGTTTTTTTTTTTTTTTT  
TTTTTTTTTTTTTTGAG

[0601] GTGGAGTCTCACTTTGTCACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTATGATCACAGCTCACTGCAGCCCCACCT  
CCCAAGGCTTAGGTCA

[0602] CCTCAGCCTCTGAGTAGCTGCAACTACAGGCAAGTACCATCATGCCTAGCTGATTTTTGCATTTTTTA  
TAGACAGGGTTTTTGCC

[0603] ATGTTACTTAGGCTGGTCACGAACTCCTGGGCTCAAGTGACCCACCCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTG  
GGATTACAAGCGTGAG

[0604] TCACCATGCCTGGCCCAACCATTACTGGTGAATTGACTGTTTACCCTTCAATTCTGTGAGTTTTTGT  
TCATGTATTGCTGCGG

[0605] GATAATTAAGGAATCAGAGAGACCGATGGGGTTGAGGAGGAATTATTTAATTATTTAGGTGCACCGACC  
CAATCAGATTAACATC

[0606] CAAAGGACTGGGCCCCAAACAAAGAGTCAAGCTACCTTTAAGCATTGTGTTGGGGTGGGGGAGATTTG  
TGCAGGGGAAGAGTA

[0607] TTACAGAAGCAAGAAACAAAGACAGTTATTCAGTTAAGACATGCATTACATTATTTCTTACTTTTCAAG

GAACAACACGTTTTAT

[0608] GACTCAAGATTATCTGTTTAGTGACCTTGCAGCTGCACAGCTAGAGAAACAGAGTCTTCGCAATGCCTG  
GGAAAGGGAGAGATAA

[0609] GGCTCACTAGCCACAGAAAAACAGCCAGTTAATTTTTAAAGGACTCCAGCCCTTCTCTTCTCAAGGG  
GAATTGGTTTTTTTACA

[0610] TACAACCTGAGTTTTTGCTTACACAGTTTTTAATTTCTTTTAATTCCTGTTCTAGTATTTTGGGGCTAGG  
TTGTCAGGTATGTATA

[0611] TATTTCTGTTTGTATATTTTCGTGATGTATTCACCTTATATCATGGCAGAATGTTTCTCTTTAGTAAG  
ATTTTTGATCTTAAAA

[0612] AAGTCGGCCAGATGGGGTGGCTCATGCCTGTGATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGGCAGGTGGATCAC  
CTGAGGTCAGGAGTTC

[0613] AAGACTAGCCTGGCGAACATGGTGAAACCCCGTCTCTACTGAAAATACAAAAAATTAGCCAGCTGTGA  
TGGTGTGCGCCTGTAA

[0614] TCCCTGCTACTTGGGAGGCTGAGGCACGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCTGAGGTTACAGTCAGCCA  
AGATCGTGCCACTGCA

[0615] CTCCAACCTGGGTGATAGAGTGAGACTCTGTCTCAAAAAACAAAAAATTATTTAGTCTGACGTTAGC  
ATTTCTCCTCAAGCTC

[0616] CCTTACGGTTGTTTGCATAGCAAATCTACTATCCTTTTGCTTTGACCTATTTGTATCTTTGTTTCTAAA  
GTATGTATGTCTCTCA

[0617] CAGGCAGCATATAGTCAAAGCTTAAAAAATCCAGTCTAACGATCTCTGCCTTTTGATTGGCATGT  
TCATTCTATTCCCATT

[0618] CAATGTTATTATTGCTGTGGTTGGATTTCCATCTATCAGTTCACAATTTGTTTTCTATGTTTTATGCCT  
TTTTGTTCTTCTGTTC

[0619] ATCTTTTACTACCTTCTTTTGTATTAAGTATTTTCTAGTGTAGCATTAAATCCCTTTTTCTTTTAA  
GTGTATATTTTAAAGT

[0620] TATTTTGTAGTGTGGCTCCAGGGATTACAATATGCATTTTAATTTATCAGGATCTACTTCAGATTAA  
TACTAATTTTAGTAAA

[0621] ATACAGGAACCTTGACTCCAGTATAACTCCATTTCCCTCCCTCCTTGCTTGTGGTTTGTAGTATTATTGTC  
GTATATGTTTATCTAT

[0622] ATATGTTATAAACTCAACAACATGGTGTATAATTATTGTTTCACACAATCTTATTTCTTTTCAATTCA  
GTAAGACAAGTAAGGA

[0623] GAAAAACACTTTTCAAGTCTTTTATATTACACTGTATATTTATCACTGACTTTACTCTTGATTTCTTCC  
TGTATATTCAAGCTAT

[0624] TGTCTGGTGACCTTTCTTGCTCCAGTATATATAATAAATTCATTGCCTCCTTGCTCCTTTATGCTATT  
ATTGTCATATATATTA

[0625] TATATGTTTATGCTGTGAGCCCATCAGCTAAGTCAGCTTAGCAAGGTCTCAAGATACAAAGTCAATGAA  
TAAATCAGGCTGGGTG

[0626] TGGTGGCTCACACCTGCAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCAAGATAGGTAGATCACTTGAGGCCAGGAGT  
TTGAGAGCAGCCTGGC

[0627] CCACATGGCAAGACTCCATCTTTACAAAAATACAAAAAAAAAAAAAAAAAGTTGAGTGTGGTGGTGCGCCT  
GTAATCCCACCTACTT

[0628] GGGAGGCTGAGGCATGAGAATTGCTTGAACCCAGGAGGGAGAGGTTGCAGTGACTGGAGATCACACCAC  
TGCACTCCAGACTGGG

[0629] CAACAGGGCAAGACACAGTCTAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAGAAAAACAAGAATAAATCAATTATT  
TTTCTATAAATACTTGC

[0630] CACAATCAATTGAACCATGAAAAATTTTAAATACCATTTACAGTAGCATCATAAAACATGAAATATTTA  
GAGAATAATTTACCAA

[0631] ATTAGGAGAAATGTCTATAACAATTA AAACTGCAATATAAACCCAGGCACCATGGCTCATGCCTGTAATCC  
CAGCACTTTGGGAGGT

[0632] CAAGGTGGCCAGATCACTTGAGCCCAGAAGTTTGAGACCAGCCTGGGTGACATAGTGAGACCCTGTCTC  
TACAAAAAAAAAAAAAAAA

[0633] AATTAGCTGGGCATGGTGGCATGCACCTGTAGCCCCTGCTACTCAGGAGGCTGAGGTGAGAGGATGACT  
TGAGCCCAGTAGGCAG

[0634] AGATTGCAGTGCATTCCAGCCTGGGCTACACAGCAAGACCCTGACAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAA  
GAAGGTCACAAAAAAA

[0635] CAGAAAATGCAAAATATTGATGACAAAAATTAAGAAGACATAAATAAATGGAGAAATATACCATGCT  
CATGGATTGGAAGACT

[0636] TACATTGCTAAACTGTCACCTTCTCCCAGATGGATCTACAGAGTCCACATAATCTCACTTAAACTCCA  
GAAGAAATTTTTGTAA

[0637] AGTTGACAGCTGATTCTAAAATGTTACATAGTAATCAGAATAGGTTGATATTAGGATAGACAGATAGTT  
CAATGGAATAGAATGC

[0638] AGAGTTTAGAAATAGACCTACACAGAAATAGTCCATTGATTTTTTAAGAGTTGCTTTTTGATAAGAGTG  
CTAAGGTAATGTGATA

[0639] GAGAAAGGAAAGTATTTTCAATTCAAATGGCTGAAATGACTGGATATCCATTGAGGGAAGAAAGGGACT  
TTAGCCTTTACACAA

[0640] TACACAAAAATTATGGAATTCTGAAGAAAAATAAGAGAAAATGTTTCATGAACTGGGGTAGGCAAAAATT  
TAATAGATGAGGCAAA

[0641] AAAAAAAAAAGGCCAAACCATAAAAAATGGTTTCATTTTTATAAGGATAAATTAGAGTTTATAAAAAATT  
AACACTTCCCTTCAA

[0642] AGAAAAATTAAGGAAAAATGAATAAATAAGCCACCGACTGAGAGAAAATATTTGTTTTCTAAGAAGTAT  
TTTGTTTTTTCATTTTA

[0643] TGGGTTTCATAGTAGGTGTATATATTTATGGGGTCCCTGAGATATTGTGGTTCAGTCATAAATGGAAAA  
TTCACATCATGGAGAA

[0644] CTGGTATCCATCCTCTTGAGCAATTATCCTTTGTGTTACAAACAATCCAATACTCTTTTAGTTATT  
TTTATTCTTTTTTTTT

[0645] TTTTTTTGAGATGGAGTCTCGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGTGTGGTGGCGCCATCTCAACTCACTGC  
AACCTCCGCCTCCAG

[0646] GTTTAAGTGATTCTCCTGCCTCAGTTTCTGAGTAGCTGGGACTACAGGCACCCACCACCACGCCTGGC

TAGTTTTTGTATTTTT

[0647] AAACHTTTTTTTTTCTTTTTCTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTGAGATGGAGTCTCGCTCTGTGCCCCG  
GGCTGGAGTGCAGTGG

[0648] TGCAATCTCGGCTCACTGCAACCTCCGTCTCCCAGGTTGAGGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGT  
AGCTGGGATTACAGGC

[0649] ATGCGCCACCACACCAGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGGCAGGATTCACCGTGTGGTCAGGC  
TAGACTCGAATGCCTG

[0650] ACCTCGTGATCCACCACCTCGGCCTCCCAAAGTGCTGGGGTTACGGGCGTGAGCCACCACGCCTGGCC  
TTAGTTTTTGTATTTTT

[0651] TAGTAGAGATGAGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTGGTCTGAACTCCTGATCTCAGGTGATCCACCTG  
CCTCGGCCTCCCAAAG

[0652] TGCTGAGATTACAGGCATGAGCCACTGTGCCGACCTCTCTTTTAGTTATTTTTAAATGTGCAATTA  
TTATTATTGACTATAG

[0653] TCTCCCTGTTATGCTATCAAATACTGGGTCTTATTCATTCTTTCTATTTATTTGTACACATTAACCATC  
CCTACATAACCCTCTCA

[0654] CCCCTGCCACTACCCTTCCAAGTCTCTGCGAACCATCCTTCTATTCTCTATCTCCATGAGTTTAATTGT  
TTCGATGTTTTGATAC

[0655] TACAGATAAGTGAGAACATGCAGTGTCTGTCTCTGTGCCTGGCGAGAAAATATTTGTAATATTTGTA  
TTTGGCAAAGGACTTG

[0656] TATCCAAAATATAGAAATAAATTCTGCTCAATAATAAAAAGAGAAACAACCTAATGAGACCCAGTGTCT  
ACAAAAAGTAGAATAA

[0657] TTAGCCGGGCATGTTGGTGCATGTCTGTAGTCCCACCTAATCAGGAGGCTGAGGGGGAAAGATCACTTA  
AGCTCAGGAGTTCGAG

[0658] GTTGCAGCGAGCTGTGATCGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTAAGATCCTGTCTAAAAA  
AATAAAAATAGAGGGC

[0659] CAGGTGAGGTGGCTTATGCCTGTAATCCCAGCACATTGGGAGGCTGAGGCAGGTGGATTGCTTAAGCCC  
AGGAGTTCAAGACCAG

[0660] CCTGGGCAACATGGTGAAACCCCATCTCTACCAAAACCACAAAAAATCAGCTAGATGTGGTGCATGCCT  
ATAGTCTCAGCTACTC

[0661] AAAAGGCTGAGGTGGGAGGATCACCTGAGCCCAGGAAGTCGAGGCTGTAGTGAGCCATGATCATGCCAC  
CACACTCCAGCCTGGG

[0662] CAACTGGAGTGGGACTGTGCCCCCAAAAAATATATATAAGTAAATAAATAAATAAATAAATAAATAA  
GAGCTAAAGATCTGGA

[0663] CAGGCTTCATAAGAAGCAAGCAAATGGCCAATAAATACATGAAAAGATGATTTACCTCCTTAGTCATTG  
GACACACTTAGATAACC

[0664] ACTCCTCATCCACTAGCATGGCTAAAGGATAAAAAGAGTGACCATCAAGTGTGGCAAGGACTGTGGTTC  
TCGTACATTCTGGCG

[0665] GGAATGGAATAATTCAGTCACCACTTTGGAACACAGTTTGGCAGTTTCTTACAAAGTTAAACATACACTT  
ACCATATGACCCATCT



[0666] TTTCCATTCCCTTGGTATTTACTCAAGGGAAATGAAAACACAGGTCCACAAATACCTGCACATGAGTGTT  
TACAGAAGCTTTGTTG

[0667] CTAGTGGCCCCGAACAGTGAAAAAACACAGTGTCTGTCAATAGGAGACAGAATAAATGAATTGTGGCG  
GATTAACAATGGCGTG

[0668] CTTCTCAGAAATGAAAAAGAACGAACGATTGATACACGTGACAATATAGGTGAATCTTCAAACAGCAT  
GCGGTGTGATGCGGCC

[0669] AGACATAAAAGAGCATGTATCAGAGGATCCGTGTATGGGAAACGCCAGGGAATCAGATCCATGGTTGT  
CAGGGTCAGGAGGGAC

[0670] CTTACTGGGGTGATTACATGTGTACATACATTGTGTGAAACTCATCAAACCGTATACCTAAAGTGGGC  
ACATTTTATTGGATGT

[0671] AAGTTATCCCTCAAATTAATTAATTTTCAAAGTTTTAAAAAATGGAACATTTTTGCCACATTGAAGG  
AAAATTATTTCCACCA

[0672] AGATTTCCCTACAGCCAAACGATCTACCAACTACAAAAATGAAAAAATAATTTAGGACATGTAAAGTT  
CAAATGTTTTGCCTCC

[0673] CACGTTTCTGTTTCAAGAAGCTATTTCGAGATAAATCGCTCCGTGGTCACAGGACTTAGAAAGGTGGAGG  
TAAACACACACAAGCA

[0674] TTATAAGATAAGAAGTAACAGATGAATTAGTTGAAAGGGACTGATTTCCGGGGAAGGAATAGGAACTGG  
GCCAGGAGATAGACGC

[0675] CTTTCAGGCTTGCCCTTGTGAAAACGATAGTCCCCTCTACCTGCGGGGATAGGTTCCGAGATCCCCA  
GTGGATGTCTGAAACC

[0676] ACAGATAGTACCAAACCTACAGAGAGTATGTTTTCTCCTGTACACACATACCTATGATAGGGTTTAAT  
TTATAAATTAGGCACC

[0677] GGGTGGGATTAACAACCATAATTAATAGTAAAAATAGAACAATTATAACAATATACTGTCCGAGGCGGGT  
GGATCACTTGAAGTCA

[0678] GGAGATCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCTGTCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGG  
CGTAGTGGTGGGCGCC

[0679] TGTAACCCAGCTACTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATTGCTTGAACCCGGGAGGCGGAGGCTGTAGTG  
AGCCGAAGGTGCCCT

[0680] TTGCACTCCAGCCTGGGCAACGAGCAAAACTCCATCTCAAAAACAACAACAACAACAACAACAACA  
AAACAATATACTGTAA

[0681] TAAAGGTTACGTGAATGTGGTCTCTCTAAAAAATGTGTATATATCTTAGTTTGTGGGTTTTTTGTT  
GTTGTAGTTTTGTTTA

[0682] TTATTAAGAGACAGGGTCTTGCTCTGTTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGTGTGATCATGGCTTACTGCA  
GCCTTCACCTCCTAGG

[0683] CTCAAGTGATCCTTCCACCTCAGCCTCCTGGGACCAGAGGCATGCACCACTATGCCAGCTAATTGTTT  
TTTTTTTTTTTTTCTT

[0684] GATAGAAATGAGTTCTCACTATGTTGCCAGGCTGGTCTAGAACTCCTGGCTTCCAGCAATTCTGCTGG  
CTCAGCCTCCCAAAGT

[0685] CCTGGGATTATAGGCACGAGCCACGATGCCTGTCTCAAATATTTTACTGTACTGTACTCACCTATTA

TTGGCCTTTGGTTGAC

[0686] CATGGGTAAGTAACTCCAGCAAGCGAAGGTGTGGATAAGGGAAGTACTGTACGTGACTTTAATATAC  
ATAAAATCACCTTAAA

[0687] GACAATGATTGTTTCCAGAACATGAGCCTCTGAGACAGCAGGGAGATACTAGGGGAAGTTGGTGGCTCC  
TCTCCCTGGCAGGAAC

[0688] TGGTCTGGGCTCCTGGCTCAGCCTGGCCATGAGGCTGTCCTGGCCTCCCTCGGTGGGTTTCGACAGTGAC  
CTCGACGTGCTCATTT

[0689] CAGTGTGGTTTATTCCGGTCTCCAGGGGAAGGGGTGCTGAGTGAAGGAGGTCAATGGGAAGCCGGG  
GTGGCTCTCAGAGTCT

[0690] GCAGGAGCAGTCGGGCTGATGAGCTGGGAGGAGCAGACCGCTCCCTCTTCTCTGAGTGGGAGGAGGGC  
CAGATCTGGACTGGGT

[0691] TTGGAGATGCTCAGGTGGGGCTCAGAGCATCACCTGTGGGGCAGAGGGACCATCTTGGCAGATGAAGGC  
CCGTGCGAGGGTGTGA

[0692] TACCTGAATTACAAGGCGGGACAGGTAAAGTGGGGCAGGTGAGAGAAGGAGGGTGAGTGATGTGATTTT  
TCTACTCCTGTTTTCC

[0693] AGGAAAACCAAAATGCCACGCACTTCGACCTATGATCCTTTTCCTAATAATGCTTGTCTTGGTCTTGT  
TGGGTAAGACACATTT

[0694] GACCATCGAGGCTGGCCTGGTTTGGGGAGAAGTGACCACAGCAGCCAATCAGACCCATGGGGCCTCCCT  
GAGTCCCAAGTATC

[0695] ACAGTTATCAGGGTCTTAAGGACAGTTATTGCCTGCGTCCAGCTCTGGCGGAGGGTGTGCTTACTTGCT  
CCCTTATTTTAGCCTC

[0696] ACCTGGGCAACAGGCTCATCTCACTCCCATTTAAAATTTTCCTAAGTGTGGAGTCTGGGGCTGGGAGAG  
CAAGCCCCTTGCCAC

[0697] AATTGCGTGGCTGGGGTGGGGAAGGCAATTCTGGGTCCCAAGCTGTTAGTCGCTTCCAGACACAGAAG  
GTCCCAGAACCAAGAG

[0698] TGAAGTCACCTGTACCTCTACTGGGGCATCTCTGGACACGGTCTGGAAACTCCCTGACGTGGCCTC  
AGGGACTGCACTGACC

[0699] AAGGCACTGGTGGCGGGGGTGGAGGAGCTGGGGCTCTGGAGCTCCAGCAGGTGCCATACGTGAGCAA  
TATCCAGGGACCACC

[0700] CTCCTGCCACCTCCCGGTGTGGACGTGGCGAGGCGCCTGAGCTTTGCTGAGAACTTGCCCTACCTGC  
CTCGAGGCCTTGACAGC

[0701] TTCACCGGAACTCTTGTGCTCACGCTGCTGGCCGACCATGCACTTTTTGGAGGAAGGGACCAACAGG  
CAGTCTTCGTTCTGTG

[0702] TCCTGAGTCTTGGCACACTTCCTTTCTGCAGTTACGGGGTCCTAAGCCCCAGAAGTCTAATGCCAGGAA  
GCCTGGAACGGGGGTT

[0703] CTGGTGAAGTGCAGGGAAGAGCAGGTGGAGCATCCATGCTGGCCGGGGTGTGGCTGTGGGCGGGGTCC  
CACTCTGGGAACTCCC

[0704] CCTCCCTTCTGGGCCCGCTCTCTATGCTCTGCCAGTGTAGACATGCTCAACTCTGTGGCCTTGAAG  
GGTCACCTGGATACCT

[0705] CTGGAGTCAGCCTTGACCTCCCTTCTGACCTCCAGTCCCCAACTCCAGGCTTACCCAGAGTTCCCATGC  
ATGGTCTCTGCTCCCC

[0706] CATCCCCACCCCTCCTCCACCAGCCATCCTCAACTCTCCCTTTGCTCTCACCCCTACACTGGGTTC  
AATCCTGCCAGCCCTG

[0707] CTCTTCAGCAGCTCGCGTGCCCACTGGCCTCCCTGCCTTCGACGTCCTGCTCCAGGGCTCCGGTGGGGC  
TGCCCTCATCTCTGTG

[0708] ACAGCCTCAGACTTGTCTCCCCATCCCCATCAGCCCTGTCCCCCTTCTTCTCACAGCAGCTGGAGTGAT  
CTTTCCAGAACATAAG

[0709] GTAGGAGGCTCTCCATGATCTGATCCTGCCTTCCTGACCTCCCCAGCCTCATCTCTCCCTCCTCTGCCC  
TCGCCCTCTGTGCTCC

[0710] AGCCAACGTGGCCTGTCACCTCGTCCACCTGCCATACTGTCCTGACTCCAGGCCTTTGCCTGTGCTATGG  
CCTCTGTTGGGACCAC

[0711] TCTTGTCTCTCCCCTGCTGTGTCTGCTAATGCCACTCGTGTGAGTATCCATGGCTGCAGAACACACC  
ACTCCATCCATGGAAA

[0712] ACAATCACAATCATTGATTACTATCTCTCCCTGGGCTTCCTGGGGTGGACTGGGCTCAGCTGGGTGGTT  
CACTTTGGGGCCTCAG

[0713] CAGTCATGGGCAGACAGTGGCTGGGGTCACTGCAAAGACTCCCTGCATCTCTGGCAGTTGATGCTGGC  
TGTCATCTGAGACACC

[0714] TACCCAGGGCCTCTCCCTGGGGCCTGGGCTCCTGCTTAGCTTGGTTGGGAGGCTCCAAGACCAACATCC  
CAAGAAAGATGAGACA

[0715] GAAGCCAGATCACCTTTTTGGGCCTGGCTTCAGAAGTCACCCAGCATCACTTCTGCTGCATTTATTTCT  
TAGAAACACAGAATAT

[0716] CAGACCCCATCTCTTGATGGGAGGGGGCCTCATGGTTTGTAGACATGTTCTGAAACTCCACTCTGCCCG  
GCCTTGGCTTCGACGT

[0717] GTCTGGTGAATGTGTGGGCTGTGAGGCTCCCCGAACGTAGACCTCAGACTGCAACGCTGGCCGTTACAG  
GGTCTGGCACACGGGC

[0718] CCACGTCAGGCCCATCGCCACAGTGATGGTTGTTCTGTGACTGTTTCTGGTGGCCTCTGCTCCACACTC  
CAGGCTGACGCTGTGC

[0719] CCCTTCCACTGGGACCCTCGGGTGGCTTCCATGCACTTGTGCCCTAAATCCTGCTCCTAGACTAAACTT  
CATCTCCTGTGTTCTC

[0720] ATTCTGCAGCATGGCTGTTAGGGAACCTGACCATCTGCAGCGCTCTCGTTGCCAAGGTATAATGTCAG  
TGCCTCCCTTCAGTGG

[0721] CTCCCATGTCACAGAATTGCCTGCAGCCCTGGCACATGTGTGCCATGTGGGAGCTGGGGCAGGTCCCTC  
TTTCTCCTGTGGCTC

[0722] CGAGGGAGGGGGCCGCTCCTTCCCCAGTCTCTACCCTGACTTGGCCCTCGTCCTGCAGCCACTCAGAGA  
GCACGATGGAGCTGGA

[0723] GCTTCAGTTTTGACCAAATGCGTGTGCGCCGGCTTTTGTGTGTGTGTGTGTGTGATGGAGTCTCGCTCTG  
TCGCCAGGCTGGAGT

[0724] GCATTGGCACCATCTCTGCCCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGGCTCAAGTATTCTCCTGCCTCAGCCT

CCTGAGTAGCTGGGAT

[0725] TACAGGCGCCCACCACCACACCTGGCTAATTTTTGTATTTTAGCAGAGACAGCGTTTCACCATGTTGG  
CCAGGCTAGTCTTGAA

[0726] CTCCTGACTTCAAATGATCCGCCCCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAGGCATGAGCCCCGGC  
ACCTGGCCTTCAAATT

[0727] GGCTTTTAAAGAAGATGACCAGCTGGTCTGTTCTGTCTGGGGCCTTGGAGGGCTGTTTCCCAGGATGTG  
GGCCTTTATCAGTGCT

[0728] GACCTAGGCAATCAAGGCCAAGCTGGCCACACTGCTTTTGATTTTTTTTAAATTGTGATGAAATACGCT  
TAACATAAAATTTGCC

[0729] ATCTTAGTCATTTTGGAGTGTTCCAGTAGCTTTAAGTCCATTCACATTGCTGTGCAGCCATCACCACCAT  
CCATCTCCAGAACTCT

[0730] TTTTCATCTTGCCAACCTGAAGCTCTGTCCCCATAAAATAGCAACTCCATTTTCCCTCCCCAGCTCACC  
ATTCCATGGTCTGTTG

[0731] TTATGAGTCTGCTACTCCAACCTACCTTTTATAAGTGGAGTCAATGGTACCTGTGTTTTTATGTCGGGCT  
CAAATCACTGAGCGTG

[0732] ATGTCCTCACGGTCCATCCAGGTTGTACCAAGTGTGAGAATTCCTTCCTGTTTTCTGCTGACTCCCTG  
CTTTTAAAGGCCATCT

[0733] TGGACATTCAAATTGTGGCCATTACTGACAGTAAAAATGGCCCCGGCTCATGTCTCCTGAGCCTCTACA  
ATCCTTTAGGTGGGGA

[0734] CAGTACTGCGGCCACACGTCCCCACAGGCTGCGTGTGACACCTGACAGTGCTTTGTGCCACTGTGGAG  
CAGGTGTCACTCTCCC

[0735] ACTTCTCAGAGAGGAAGCCGGGCTCTGGAAGCCAGCAGCCCACAAGGAGGCCAGCAGGCTTCGGGCCC  
AGGTGGGGAGGTCTGC

[0736] ACATCTCAGGGCCTTTCCCTGGGAACAACCAGGGACAGAGGCCACACACCCAGCCTCCTCTCTGCCAC  
AGTGAATTGAGACACA

[0737] ACCCCTTACGTCCCTCCCAGCCTTAAGTCAAGTGGAAAGCAATGGCCCCTGAGGTCACTTAGTCCCTCT  
TGCCAGTTTGTAAGTG

[0738] CTGAATCAGAGACTCTGAGCTTTGGCCCTTTCCCGAGTTCCCGGGATTATGAGCTGACACAGCCCCCAA  
GCAACCACAGTGATTC

[0739] CAGCCTGGGAGTGTGGCCTTGGCGGGAGGGTCAATGCCAGTCATGGTTCAGCGGCTGTGCACACCCCT  
GCTTACCTGCATCCCA

[0740] CGCTTTCCATGCAAACCTCACGTGGCGGCGCTTTGTGCTTGACAGGATGGTCTACCCCCAGCCAAAGGTGC  
TGACACCGTGGTGAGT

[0741] AAAGTTACTGACACTGAAACTGAACGCAGCTCAAGGGGCTGTTCTGAAGGTATTAGAGGGCGGTTTCTCT  
TGATGTAAATCTCAGT

[0742] TGGGGCTGCTTCGTTCTCTCCTCTCAGATTCTCCTGACATCTGAATTCAGAGGCCACATGGCTGTCTCT  
CTTTCCCTTTGCTTTC

[0743] TCTGACTTGGTCTCTTGTTCCTGTCCCTTTGTTCTCCAAAGCCCCTGCAAAGGCCTGATAGGTACCT  
CCTACCTGGGGAGGGG

- [0744] CAGCGGGGTTGGGTGCTGGGAGGGTTTGTTCCTATCTCTTTGCCAGCAAAGCTCAGCTTGCTGTGTGTTCCCGCAGGTCCAAT
- [0745] GTTGAGGGAGGGCTGGGAATGATTTGCCCGTTGGAGTCGCATTTGCCTCTGGTTGGTTTCCCGGGGAA GGGCGGCTGCCTCTGG
- [0746] AAGGGTGGTCAGAGGAGGCAGAAGCTGAGTGGAGTTTCCAGGTGGGGGCGGCCGTGTGCCAGAGGCGCA TGTGGGTGGCACCTG
- [0747] CCAGCTCCATGTGGCCGCACGCTCTCTCCATGTGCAGTAGGAAGGATGTCTCGTGGTGACCCCTTGG CTGGCTCCCATTGTCT
- [0748] GGGAGGGCACGTTCAACATCGACATCCTCAACGAGCAGTTCAGGCTCCAGAACACCACCATTGGGTAA CTGTGTTTGCCATCAA
- [0749] GAAGTAAGTCAGTGAGGTGGCCGAGGGTAGAGACCAGGCAGTGTGAGTGACTGTGGACATTGAGGTC TCTCCTTGTGTTCAAG
- [0750] ACAGAGTGGGGTGGCGGCCAGCCTTGCTCCAGAGGGTAGATGGGAAAGGTCATTCATGCAGCATCT TACTGAGCTCACGTGG
- [0751] GCTCGTGGGCTTGTGGGCTCGCCAGGTCGGTAAAACCCAGCTCCTTCTCCAGAGGCTGCGTCTCACCCA GGGATGGTGGCTTCTG
- [0752] CTGCCCCCTCCTCTCTGTGACTGTGGCTGGCCGTCATGCTGAGCCACCCCTCAATACAAGGCTCCAGA TGTTCCTGCTCACTG
- [0753] ACCAGAGATAGCAGGAGGGGACACCTGTTTGCTGTCCTTGGACCCTAGAAAGAGGATGCTGGCAGAGC CGTGGTCACTTCTCTG
- [0754] TCAGATGTAGGTGGGGCAGGCAAGGCAGTTGGCCCCAGACACCAAAGGAAGTGGCTGACCCACAAGGCC CTGGGACTCTGGGCCA
- [0755] GGCCAGAGAGGGAGCTAGCCAGGCAACCGCAGACACATACTTACTTCTCGGCAGCTGTGGGCAGCTGG GCCAGCGACAGTGGCG
- [0756] GAGGCCAGGAATGACTTACTCTTAGGAATAGGTGCGGTTCAAGCCTGGAGGGAGGAAGCTCTAGGGTGC AGAGGCGGGTGTGTGG
- [0757] AGGCCTCGCGTGCAGCTTATAATGAGGGAGCACGTGGCCGGCCTGGCCATAAGAGGGGCAGCTGCGTGG GGAGGCGTGGCTCAGG
- [0758] CCAGGCTGAGGGGAGTGAGCGGGGCCAGCCTGCGGCCTGCTACCAGCCTCCAGCCACCTGCCCTCAG CCCTCCTTAGTAAGAG
- [0759] GGGGTGCTGGTGGTCCCCATCGCTGGGAAGAGGATGAAGTGAGTCGCAGCCCAAGGACTCGCTCAGGA CAGGGCAGGAGAACGT
- [0760] GGTGCATCTGCTGCTCTGAGCCTTCCAATGGCCGCTGGCGGGCGGGTGCAGGACGGGCCTCCTGCAGCC CAGGGGTGCACGGCCG
- [0761] GCGGCTCCCCAGCCCCGTCGCTGCCTTGCAGATACGTGGCTTTCCTGAAGCTGTTCTGGAGACG GCGGAGAAGCACTTCA
- [0762] TGGTGGGCCACCGTGTCCACTACTATGTCTTACCGACCAGCCGGCCGGTGGCCCGCTGACGCTGG GGACCGGTCGGCAGCT
- [0763] GTCAGTGCTGGAGGTGGGCGCCTACAAGCGCTGGCAGGACGTGTCCATGCGCCGCATGGAGATGATCAG

TGACTTCTGCGAGCGG

[0764] CGCTTCCTCAGCGAGGTGGATTACCTGGTGTGCGTGGACGTGGACATGGAGTCCGCGACCATGTGGGC  
GTGGAGATCCTGACTC

[0765] CGCTGTTGCGCACCCCGCACCCCAGCTTCTACGGAAGCAGCCGGGAGGCCTTACCTACGAGCGCCGGC  
CCCAGTCCCAGGCCTA

[0766] CATCCCCAAGGACGAGGGCGATTTCTACTACATGGGGGCGTTCCTCGGGGGGTCCGGTGCAAGAGGTGCA  
GCGGCTCACCAGGGCC

[0767] TGCCACCAGGCCATGATGGTTCGACCAGGCCAACGGCATCGAGGCCGTGTGGCAGCAGAGAGCCACCTG  
AACAAGTACCTACTGC

[0768] GCCACAAACCCACCAAGGTGCTCTCCCCGAGTACTTGTGGGACCAGCAGCTGCTGGGCTGGCCCGCCG  
TCCTGAGGAAGCTGAG

[0769] GTTCACTGCGGTGCCAAGAACCACCAGGCGGTCCGGAACCCGTGAGCGGCTGCCAGGGGCTCTGGGAG  
GGCTGCCAGCAGCCCC

[0770] GTCCCCCTCCCGCCCTTGGTTTTAGCAGAACGGGTAAACTCTGTTTCCTTTGTCCGTCCTGTTGTGAGT  
AACTGAAGCCTAGGCC

[0771] CCGTCCCCACCTCAAATCACACACACCCCCTCCCCGCCACAGAGACACCATTACATACACAGACACACA  
AAGACACACACAGACA

[0772] CAAAATCACACACACACCCTCCCCGCCACAGAGACACCATTACATACACAGACACACACAGAAAGACAC  
AGACACAAAATCACAC

[0773] ACACACCCTCCCCACCACAGAGACACACCATTACATACACAGACACGCAATCGCAGATACGCCCTTCGG  
GCCACAGAAACACACC

[0774] ATTACACACACATACACAGAAAGACACACACAGACACACAATCACACGCAGCCCCTCCCCGCCACAGAG  
ACACACCATTACATAC

[0775] ACAGACACACACAGAAAGACACACACAGACACAAAATCACACACACACCCTCCCCGCCACAGAGACACA  
CCATTACATACACAGA

[0776] CACACACAGACACACAATCACACACAGCCCCTCCCCGCCACAGAGACACACCATTACATACACAGACAC  
ACACAGACACACAATC

[0777] ACAGATACCCCCTCCCCGCCATAGAGACACACCGTTACACACACATACACAGAAAGACACACACAGCCC  
CTCCCTGCCACAGAGA

[0778] CACACCATTACATACACAGACACACACAGAAAGACACACACAGACACAAAATCACATACACATCCTCCC  
CGCCACAGAGACACAC

[0779] CATTACATACAGACACACACACACACAATCACACACACACCCCCGCCACAGAGACACACCGTTA  
CATACACAGACATACA

[0780] CACACACACACAGACATACACAGACACACACAGACACACAATCACACACATCCCCTCCCCGCCACAG  
AGACACACCATTACAC

[0781] ACACAGACACACACAGAAAGACACACATACACACAATCACACACACCCTCTTCTTGCCACAGAGACGCA  
CCATTACATACACAGA

[0782] CACAGACACACAGAGACACAGACACACAAAACATAGACACACACACACACACCAGACACGCAAAGACA  
CACAGACACAGATACA

[0783] CAGATACAAAGACACAGACATATAGACACACAGACATGCACAGAGACACATGGAGACACATGCAAAAAT  
GCACAGAGAAAGACAT

[0784] ACAGAAGTGTACACACAGACACATAGACCACACAGACACACAGACATGCATGCAAACACACAGACATGC  
AGACATGCACACAAAC

[0785] ACAGACGCACGCACACAGACTTAGGCAGCCCAAATTCAGCGCCTGGGGCATAAGTTCCTGGAGGGGTGG  
CCACCTTCAGCCCCCA

[0786] CGGTAAGGTCTGAGGAACCTTCCCCTTAGACAAGGGATCATGGAGGAGGTCTCTTCCGGAGCCTGGAG  
GGAGGCCTCAAGTGGT

[0787] CCTTCCACCTCGGCATCCCAAAGTGCTAGGATTATAAGCATGAGCCACTGCACCTGGCCCCAACATCAT  
TTATTGAACAGACTGT

[0788] CGTTTCCACATTGTGTTTCTTGGCATTCTGTCAAAAATCAGTTGACCATAAATGCATGGATTCACTTC  
CGGGCTCTCTATTCTG

[0789] TTTCAATTGGTCTGTTTGTTTTATGCCAATATCATGATGTTTTGATTATTATAGCTTTATAGTATATCT  
TGAAGTTAGGTAGTGT

[0790] ATTGTCTCCAGCTTTGTTCTTTTTGCTTAAGATTGCTTTGGCTATTTAGGGGTCTTTGTGGCCATTACT  
GACAGTTAAAATGGCC

[0791] CTGGCTCATGTCTCCTGGGCCTCTACAGTACTTTAGGTGGGGAAGTACTGTGGCCCACATGTCCAACA  
GGCTGTGTGTGGCACC

[0792] TGACAGTGCTTTGTGCCACTGTGGAGCAGGTGTTACTCCCTCATACGAATTTTAGGATTATTTTATTTA  
TTTCAGTGAAAAATGT

[0793] CAATGAAATTTTGATAGGGATTGCATTGAATCTGTAGATTGTTGGGGTGTATGGACATTTTAAACAAT  
ATTAATTCTTCCAATT

[0794] CATGAACATGGGATGTCTTTTTTTTGGCACCTGATCTCAGATATGGGACAGCTTTCTAATTATTTGTAT  
CTTCAATTTCTTTTAC

[0795] AAATGTTTTATAGTTTTTCAGCATAACAGATCTTTCCTTCCCTGGTTGGATTTAATTGCAAGTATTTTTT  
GTAGCTATTGTAAATG

[0796] ACATCGTTTTCTTGATTTCTTTGTTAGGGTATAGAAATGCTACAGATTGTTGTATGTTAATTTTATATC  
CTGCAACTTTACTGAT

[0797] TTCATTTATTCTAACATCTTATTGGTGAATCTTTAGGGTTTTCTATAAGATCATGTCATCTGTAAACA  
GGGACAATTTAAGTTC

[0798] TTCCTTTCCAATTTGGATACCTTTTATTTCTTCTCCTCTGCCTAATTATTTGGCTGAGGGCCAATTGT  
TGGGTTTTGTTGTTGTT

[0799] GGTTTTTGTCTGTGTCTTTTGGTGTTCGTGTTGCTGGCTTTTCCAGCACACAGTCACAGATATATGAG  
GCAGAAAGAAAACCCA

[0800] GGGAACTCCTGTCATGTCATTCTCAGGTCCCAAGGTCCCTACATGGTCTGCCTTCTTCTCTCCACCT  
TTAGTGTTTGATATAC

[0801] ATACGTTTATGTATGTAGTTATATATGTATGTGTAATACCAGGGAAATATACAGGGATTTTAACTGTC  
CTTAGTGTAGGGCGTG

[0802] GGGACAGGTGCATCTGTTCTACCTTGCTGGAAGTGGAAAAATCTTCAAGAAATCAATTTATCACCAAC

TGGCATGACAGAACTC

[0803] CTGGTTTAGTGTCTAGCTGTCCCCACTAAAATCAATCACCATGCCATCAGGCACTCTCTTCCCTCTGGT  
GTGTACTGGTACCTGA

[0804] AACAGCGTCCAGCACCCCTGAGAGCACAGAACGCAGCTTCTTATGTGCCCCACCCAATAATCCCAAATCG  
AGCACAGACCTGGGAG

[0805] CTGAAGAGACAAGCTGGAGGTCAGGCAGTTCTATTACTTAAGCCTGGTTCTTCCCTGACTCCAAAAGCCA  
GGCGCCACCCCATGCT

[0806] CCTTCCCAGCAGAAGCTGGTTTTTACCGGGTCAGGAGGACAGGATGGCTATTCCCTGACCGTTGTACAGC  
AGTGCCACATCTCCTA

[0807] GTTTCAGAACATTTAATGTGTTGCTGTGGAGGCCTGGCAGCTCTGAAGTAGCCCCTTGCGCCCAGGAC  
AAACCGGGCCTGGAGG

[0808] GGTGGGGTGGGGTAAGCTGAAGCTTCCAGTATCCCACGTGGGCATTCTGTTGCTGAGGGCAACGGCCCC  
TCCCTGCAAGGGAGGG

[0809] GAAGGAGCAGGCAGGCACACCCTTCCCTCCACATTTCACTGGAGTTGACCTGTGTCCTACTGTGGT  
TGCACCTGGACCAGCC

[0810] CAGAGGGACTGGAGTGACTCTTCCCGCA。

[0811] 本领域技术人员在考虑说明书及实践这里公开的发明后,将容易想到本公开的其他实施例。本申请旨在涵盖本公开的任何变型、用途或者适应性变化,这些变型、用途或者适应性变化遵循本公开的一般性原理并包括本公开未公开的本技术领域中的公知常识或惯用技术手段。说明书和实施例仅被视为示例性的,本公开的真正范围和精神由权利要求指出。

[0812] 应当理解的是,本公开并不局限于上面已经描述并在附图中示出的精确结构,并且可以在不脱离其范围进行各种修改和改变。本公开的范围仅由所附的权利要求来限。



## PacBio 接头退火程序

1.10xannealingbuffer 成分:	
组份	量
Tris-HCl, pH7.5	100mM
NaCl	1M
NFW	补充体系

2.退火体系:	
组份	量
10xannealingbuffer	10 $\mu$ L
BGBarcodeAdaptor(100M)	20 $\mu$ L
NFW	Upto100 $\mu$ L

退火程序(约 45min):		
温度	降温速度	时间
80°C		
80°C	0.1°C/s 降低	2min
75°C	0.1°C/s 降低	2min
70°C	0.1°C/s 降低	2min
65°C	0.1°C/s 降低	2min
60°C	0.1°C/s 降低	2min
55°C	0.1°C/s 降低	2min
50°C	0.1°C/s 降低	2min
45°C	0.1°C/s 降低	2min
40°C	0.1°C/s 降低	2min
35°C	0.1°C/s 降低	2min
30°C	0.1°C/s 降低	2min
25°C	0.1°C/s 降低	2min
4°C		Hold

退火接头-20°C保存。

图1

Sample 1	
Actions	Copy Remove Lock
Sample Name	HLA_2
Instrument Type	Sequel II
Application	HiFi Reads
Available Volume	16 uL
Sample Concentration	14 ng/uL
Insert Size	6150 bp
Internal Control	Sequel® II DNA Internal Control 1.0
Cleanup Anticipated Yield	50 %
Recommended Concentration on Plate	30-70 pM
Specify Concentration on Plate	200 pM Concentration on plate is out of recommended range.
Cells to Bind	1 cells
Number of SMRT Cells possible	0
Prepare Entire Sample	No
Sequencing Primer	Sequencing Primer v2
Binding Kit	Sequel® II Binding Kit 2.0
▶ Advanced Options	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Concentration on plate is out of recommended range.</li> <li>Too many cells requested for the</li> </ul>	

Import from Sample Setup Select Sample

Application Required HiFi Reads

Well Sample Name Required HLA\_TEST

Bio Sample Name Required HLA\_TEST

Sample Comment

Sample Well A01

Template Prep Kit Required SMRTbell® Express Template Prep Kit 2.0

Binding Kit Required Sequel® II Binding Kit 2.0

Sequencing Kit Required Sequel® II Sequencing Plate 2.0 (4 rxn)

DNA Control Complex Sequel® II DNA Internal Control 1.0

图2

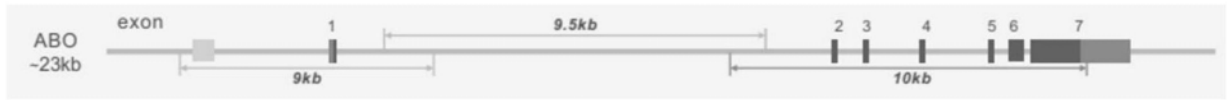


图3

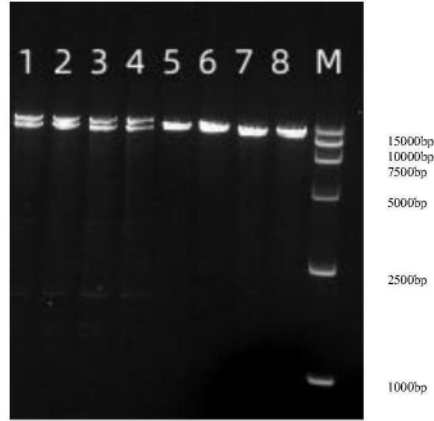


图4

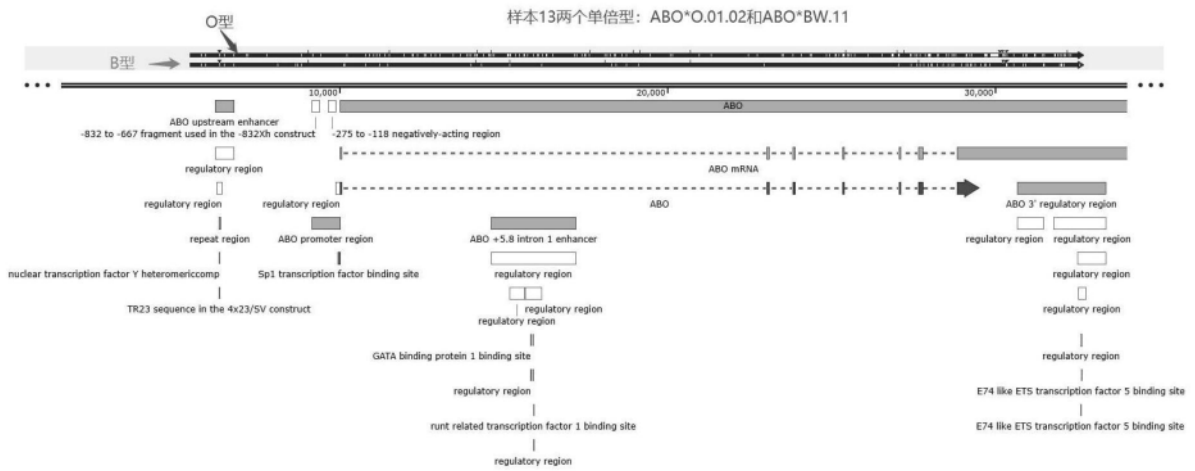


图5