



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENTIE

(21) Nr. cerere: **a 2022 00786**

(22) Data de depozit: **29/11/2022**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2024 BOPI nr. **5/2024**

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
ȘTIINȚE BIOLOGICE, BUCUREȘTI,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 296,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• CZEIZLER EUGEN, BD.BUCUREȘTI,
NR.24A, BL.1C, ET.2, AP.7, PLOIEȘTI, PH,
RO;

• ITCUȘ CORINA, STR.BISTRITI, NR. 1,
BL.35, SC.C, AP.1, SUCEAVA, SV, RO;
• POPA LAURA - IOANA, STR. A II - A,
NR.182, ET.1, AP.107, SULINA, TL, RO;
• TUŞA IRIS-MARIA, STR. ELIE CARAFOLI
NR. 12, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;
• PĂUN PAUL ANDREI, STR.VLĂDEASA,
NR.11, BL.C33, SC.A, AP.11, ET.1,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• PĂUN MIHAELA,
ALEEA COMPOZITORILOR, NR.13,
BL.OD5, SC.7, AP.248, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) CUSTOMIZAREA SECVENTELOR DE ACID DEZOXIRIBONUCLEIC PENTRU CONSTRUIREA UNEI STRUCTURI ADN ORIGAMI COMPLEXE DE TIP PIN

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de obținere a unei structuri de acid dezoxiribonucleic (ADN) origami sub formă de pin utilizată ca model de studiu al capacitatii de autoasamblare a secvențelor de ADN aplicabil la nivel educațional. Metoda, conform inventiei, constă în combinarea de secvențe sintetice scurte de ADN monocatenar (secvențe capsă) care determină plierea unei secvențe lungi de ADN monocatenar provenind de la

bacteriofagul M13mp18 (secvență scaffold) din care rezultă o structură ADN origami în formă predefinită de pin, având rigiditate mai mare față de abordarea clasică.

Revendicări: 1

Figuri: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



111

DESCRIEREA INVENTIEI

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MARCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2022 șc 786
Data depozit 29 -11- 2022

Autori: Eugen Czeizler, Corina Ițcuș, Laura Ioana Popa, Iris Tușa, Andrei Păun, Mihaela Păun

a). Customizarea secvențelor de acid dezoxiribonucleic pentru construirea unei structuri ADN origami complexe de tip pin

b). Invenția are utilitate în domeniul biotehnologilor și se referă la crearea unei combinații specifice de secvențe sintetice scurte de ADN monocatenar (denumite și secvențe capsă) ce determină plierea unei secvențe lungi de ADN monocatenar denumită și secvență scaffold în formă predefinită, cu o rigiditate mai mare față de abordarea clasică.

Combinăția este caracterizată prin aceea că secvențele capsă sunt generate într-o succesiune exactă de baze azotate care determină plierea secvenței scaffold în forma hexagonală predefinită prin legarea de aceasta (pe bază de complementaritate dintre bazele azotate) în anumite puncte fixe stabilite anterior, dar și modificarea manuală a unor secvențe astfel încât să asigure suprapunerea a două structuri pentru consolidarea rigidității acesteia.

c). Caracteristicile moleculei ADN care o fac potrivită pentru crearea unor astfel de structuri sunt conformația predictibilă a acestuia ce poate fi simulată cu diferite programe aceasta derivând din proprietățile moleculei de autoasamblare bazată pe complementaritatea dintre bazele azotate (A-T, C-G) (Zhang F., 2014).

Tehnica ADN Origami a fost introdusă în anul 2006 de către Rothermund pornind de la ideea propusă de către Seeman în anul 1982 (Seeman, 1982, Rothermund, 2006). Acest domeniu al nanotehnologiei ADN a avut o evoluție rapidă, pornindu-se de la formele bidimensionale propuse de Rothermund, la forme tridimensionale (Ke et. al., 2009, Andersen et.al., 2009), recent fiind introdus conceptul de structuri Meta-ADN (Yao și colab., 2020) și asocierea de structuri multiple cu ajutorul unor nanoparticule de aur (Fang și colab., 2019). Pumm și colaboratorii au dezvoltat un motor rotativ la scară nanometrică construit din ADN origami a cărui capacitați mecanice se apropie de cele ale motoarelor biologice (Pumm și colab., 2022). De asemenea, a fost descrisă utilizarea nanostructurilor ADN care codifică o genă umană intactă și o genă care codifică o proteină fluorescentă pentru integrarea genelor prin repararea direcțională prin omologie mediată de CRISPR. Transferul și integrarea genomică au fost realizate prin transfecție și electroporare facând posibilă editarea genetică (Lin-Shiao și colab., 2022).

d) Problema pe care o rezolvă invenția este reprezentată de găsirea unei soluții pentru sporirea gradului de complexitate a unei figuri simple, prin modificări minime și costuri scăzute.

Astfel, va fi posibilă construirea unei structuri în formă de pin care are ca și bază o formă plană compusă din două dreptunghiuri. Structura poate fi pliată cu secvențe scaffold pentru a crea o buclă lungă de ADN monocatenar.

Printre avantaje se pot enumera simplificarea și accelerarea procesului de proiectare a nanostructurilor ADN. Procesul obișnuit de proiectare în caDNAno este împărțit în patru etape. Mai întâi, forma dorită este aproximată prin inserarea helicelor în lattice predefinită (tip fagure/honeycomb sau geometria patrata/ square lattice geometry) și apoi este construită calea scaffoldului care trece între elicele vecine. Scaffoldul trebuie să includă încrucișări antiparalele pentru a conecta elicele vecine. Scopul este de a construi un scaffold într-o manieră rasterizată, ceea ce înseamnă că aceasta cale este continuă de la început până la sfârșit. Odată ce scaffoldul este finalizat, ar trebui introduse staple strands. În mod implicit, caDNAno introduce toate încrucișările (crossover) permise, cu excepția celor care sunt la cinci perechi de baze distanță de un crossover al scaffoldului între aceleași două helici. În continuare, staple strands sunt divizate în segmente mai scurte (cu lungimi de 18 - 49 pb) și în final, secvența de ADN sau ARN dorită este inserată în scaffold generându-se automat secvențele complementare de staple strands.

e) Fig1. Conexiuni ale secvențelor capsă. – În această figura sunt exemplificate conexiunile secvențelor capsă în programul caDNAno.

Fig 2. Vizualizare 2D a structurii ADN origami în formă de pin

Fig 3. Vizualizare 3D a structurii ADN origami în formă de pin

În figurile 2 și 3 s-a realizat vizualizarea grafică a modelului cu ajutorul programelor utilizate, vizualizare 2D și 3D, observându-se forma finală a structurii în formă de pin.

f) În acel sens, a fost creata forma de pin cu ajutorul programelor caDNAno și Maya.

Structurile rectangulare regulate ale pinilor urmează un model similar (secvențe capsă, pauze și suprimări) ca și baza originală a dreptunghiului. Un exemplu de conectare a trunchiului structurii de pin la dreptunghiurile bazei pot fi văzute în imaginea 1 (Fig 1).

În porțiunile în care se regăsesc mai multe spații de-a lungul secvențelor capsă ce conectează nivelele, au fost dublate conexiunile pentru a oferi structurii un caracter mai rigid. Pattern-ul a fost divizat în patru secvențe separate de ADN. Dreptunghiurile de bază utilizează secvența M13, de la baza pinului până la primul dreptunghi a celei de-a doua grupări (al treilea dreptunghi al pinului din partea de jos) conține secvența de ADN p7560, iar vârful pinului (al patrulea dreptunghi al pinului – partea de sus) folosește secvența de ADN M13mp18.

Construcția fiecărei secțiuni:

Trunchiul de bază

Pentru realizarea trunchiului de bază a fost mutat fiecare dreptunghi al bazei în sus sau în jos. Acest lucru a fost realizat pentru ca structura și pattern-ul intersecților secvențelor de tip capsă să fie același. De asemenea, au fost realizate intersecțări pentru unele dintre secvențele capsă din partea stângă a bazei la fel ca și pe secvențele de pliere.

Primul nivel de ramuri

Ramurile de pe primul nivel au fost realizate din două dreptunghiuri (cele mai mari ca și dimensiune din cadrul formei). Acestea au fost cele mai mari dreptunghiuri create pentru pin, iar pentru fiecare nivel au fost rasucite separat de la o trecere la alta pentru a realiza o formă triunghiulară pentru pin. A fost urmată structura bazei dreptunghiulare, realizând: pauze, intersecțări și ștergeri în cadrul același pattern. S-au adăugat conexiunile dintre cele două dreptunghiuri ca o singură intersecție de mijloc pe pliere și multiple încrucișări ale secvențelor capsă pe partea stângă și pe partea dreaptă.

Trunchiul de legătură (între nivelele de ramuri)

A fost creat un dreptunghi (una dintre cele mai mici piese din cadrul structurii). Acest mic dreptunghi, a fost creat de aceeași lungime ca și al celor două dreptunghiuri de bază. Singura diferență sunt intersecțările care conectează ramura de sus cu cea de jos, care sunt axate în partea dreapta fiind singura locație potrivită.

Nivelul al doilea de ramuri – gruparea secundară a dreptunghiurilor ramificate (din trei)

Din nou, a fost urmărit modelul dreptunghiurilor ce formează baza. Cea mai mare diferență este conexiunea intersecțărilor dintre cele trei dreptunghiuri. Există intersecțări între fiecare nivel iar în mijlocul acestora există o a doua intersecțare care păstrează aceeași locație pentru toate cele trei dreptunghiuri. Acest lucru a fost realizat pentru a stabiliza și restricționa flexibilitatea acestui nivel al dreptunghiurilor.

Ultima piesă de conexiune a trunchiului

Pentru această piesă s-a folosit modelul de conexiune dreptunghiular din mijlocul trunchiului.

Vârful pinului

Pentru vârf s-a încercat urmărirea modelului folosit în toate celălalte dreptunghiuri. Pentru conexiunile dintre intersecții a fost urmărită menținerea modelului intersecțării plierii în mijlocul dreptunghiurilor iar secvențele capsă distribuite pe ambele părți.

Din cauza restricțiilor privind plasarea intersectărilor, nu a fost posibil să realizăm un şablon, pe fiecare parte, deoarece fiecare rând de ADN necesită o intersectare diferită în cadrul fiecarui dreptunghi. Pentru fiecare segment s-a încercat să extinderea secvențelor de tip capsă în cadrul secvenței de pliere pe fiecare parte în concordanță cu potențialul de pliere a ADN-ului la capetele terminale.

Grila este împărțită de segmente de perechi de baze. Urmând pasul helicoidal într-o structură 2D (Fig2), se poate observa că, după două segmente complete, helixul se rotește, permitând o urmatoare pozitie crossover la o spirală vecină. Prin virajul helicoidal, structura proiectată va adopta în mod natural o ușoară întoarcere spre dreapta.

După 3 segmente complete, spirala se îndreaptă din nou spre direcția inițială. Totuși, se poate regla curbarea, răsucirea sau îndoirea structurii prin ștergerea sau inserarea perechilor de baze. Ștergerea perechilor de bază din segmente duce la un cuplu de stânga (mai puțin de 240 de rotații) și introducerea perechilor de bază determină un cuplu de dreapta (mai mult de 240 de rotații). Această funcție poate fi controlată complet, deoarece răsucirea sau îndoirea poate fi simulață.

Imagine ale structurii ADN Origami în formă (discretizată) de pin în toate etapele (

f). Structura obținută este formată din 2 secvențe scaffold (schelă) M13mp18 și una p7560 și o combinație de 863 de secvențe capsă:

Secvențe de ADN folosite pentru crearea structurii de ADN origami în formă de pin

Start	End	Sequence	Length	Color
1[23]	32[23]	??????GGCCCACACTACGGCGGGAGCAGGAACGAGTAATAAAA???????	48	#333333
85[80]	96[64]	GTATTAGATAATAGATTAGAGCCGCAACAGTGTATGCAAC????????	48	#f7931e
208[208]	74[208]	CTTCATCGCGGGATTATATAAAGCCTGTTA	32	#aaaa00
66[148]	57[148]	AGGGAGCCCGAGAAATCCCTGCCGG	26	#f74308
76[95]	78[96]	AACCGAGGTACGCAGTAGTTAGTAATGAGT	31	#03b6a2
18[207]	16[208]	CTTATGCGACGTTGGGAAGAAAAAAATAGCGA	32	#333333
90[223]	92[224]	TAATATTTAAAAACAGGAAGATTGTCTACAA	31	#f7931e
14[79]	12[80]	ATTCTGTCTAAATAAGAATAAACCAAAGAAC	32	#333333
95[64]	80[80]	????????TTCAAATATCGCGTTAGGAAGCCACATTCTGATTACAT	48	#333333
53[23]	24[23]	??????AACAAA???????	18	#333333
134[207]	132[208]	GATTTGTACAATCATAAGGGAACCACCTTGAA	32	#57bb00
96[127]	97[143]	TAGAGCTTAATTCTGCGAACGAGTAGATTAG	32	#888888
10[312]	37[312]	??????AAAATTAAGCAGCTGATAAAAGCAATAGATAAATTAA???????	49	#333333

0[312]	1[287]	??????CAGGGTGGTTTTCTTTCACCAGTGGAGAGGC	40	#333333
110[159]	111[175]	AGAACACCGAGTGTACTGGTAATAAGTTT	31	#333333
98[167]	106[160]	AACCGATTAGTTGCTGGATTGTA	23	#b8056c
36[312]	7[312]	??????TGCCA??????	17	#333333
38[143]	36[144]	TTTCAATTACCTTTACATCGGGATATCATT	32	#333333
42[312]	13[312]	??????CAAGC??????	17	#333333
92[95]	94[96]	AGGGGGTATACTGCGGAATGTCCATCAAAA	31	#7300de
23[96]	25[95]	GAGCCGCCCTTGATGATACAGGAAGGCTGAG	31	#333333
100[159]	102[160]	ACCAAGCGACCAGGCGCAGGTAGACGAGTAG	31	#f7931e
18[143]	16[144]	AGGGAAGCTTATCCAATCCAAAATTACCGC	32	#333333
109[64]	108[64]	????????CCGGAACCAGAGCCACTCATAATCAAATCA????????	48	#b8056c
1[288]	33[287]	AGGATCCCTGGTGCCGGAAACCAGAAGATCG	31	#333333
79[54]	80[54]	????????CCGCTTCCAGTCACCAGTCAC???????	36	#f74308
78[207]	89[207]	TTTTCAAGTAAATATTGCATTGTAGCCAG	32	#f74308
48[239]	46[240]	TTAGCCGGGACCTTCATCAAGAGGGATGGTT	31	#333333
136[111]	134[112]	TAAATGAAAGAAAAATCTACGTTAAAGAACT	31	#03b6a2
30[312]	1[312]	??????GCTGC??????	17	#333333
119[76]	118[76]	??????TTAACATTT???????	24	#f74308
80[127]	82[128]	AATACTAAGCGTAAGAATACGTGCCCTAAAAC	32	#aaaaa00
80[79]	92[64]	TGGCAGATTGGAAAATGTTAG???????	32	#f7931e
67[129]	66[149]	??????AGAACGGTACGCCAGTAA	26	#f74308
247]	93[247]	?????TAAAAATTAGGGTAGCTA??????	31	#7300de
83[54]	84[54]	??????AACACCGCCTGTCAATAGATAA???????	36	#f74308
66[164]	71[185]	GCCTGTCACCTAAAAGAGTCTGT	23	#57bb00
152[178]	153[178]	??????TAAGTGGTAA???????	22	#f74308
36[271]	34[272]	AAAGGCTATTGTTAAAATCGCATATAATTG	32	#333333
134[111]	132[112]	GGCTCATTATAAGGCTGCCCTGAACCCAAA	31	#888888
79[176]	77[175]	AATTTATCTCATCTCTGACCTGTTGAAA	31	#f74308
77[54]	78[54]	??????AGAACTGGCATGCGCTCACTGC???????	36	#f74308
74[159]	76[160]	TTTTTGTGAAATAGCAAAACATACGCCAG	31	#1700de
121[176]	127[175]	CTTCTGGTGAAGGGGGATGTGCTTAAGTGCAGAACACTCAA	47	#1700de
86[95]	88[96]	GCCAGGGTAGTGCCAAGCTTCTTCTAATC	31	#007200

97[144]	95[143]	TTTGACCAAAGAGGTCA TTTGCTCAGGATT	32	#f7931e
11[288]	13[287]	GCAAGGCATAAAATATGCAACTAATTAAATTGC	31	#333333
9[288]	11[287]	CCGTTCTAATAAAGCCTCAGAGCTCATACAG	31	#333333
117[76]	116[76]	??????AACGGCGATG???????	24	#cc0000
89[112]	87[111]	ACTCGTCGCCAAATAACCCCCGCCAGGAGAA	31	#f7931e
84[255]	83[255]	???ATCCTGATTGTTGGATTATAACAATAACGGATTGCCTGA???	47	#f74308
35[256]	37[255]	TTAATATTCAGGTCA TGCCTGACCGGAGAC	32	#333333
132[159]	134[160]	CTTCATCATTGAGATGGTGCTCCGACCTTA	31	#7300de
53[160]	53[191]	GGAATAGGTGTATCACCGTACTCCAGTACAA	31	#333333
48[175]	47[191]	ACATAAAGGTTAGCAAACGTAGATGAAAGAG	31	#333333
3[96]	5[95]	TAATCAGTGGAAAAACGCTCATGCTGACCTG	31	#333333
~[64]	31[63]	CTAAATCGATCAGAGCGGGAGCTAGAGAAGTG	32	#333333
37[192]	38[176]	TTTAAATGAAA TTT AGAACCCAATACCAAA	32	#333333
139[87]	138[112]	??????GTTTATCAGCTTGCTTCGAGGTGAATCCAAA	39	#f74308
89[64]	74[80]	????????TCTATGATACCGACAGCTGCCCTATTGAGCGTTAGACGG	48	#888888
38[47]	36[48]	GGAAACAGAACCTACCATATCAATTGTTGG	31	#333333
12[239]	10[240]	TCCCAATTAGGTGGCATCAATTCTGACCCCTG	31	#333333
142[131]	148[119]	TTTCATTTCAGAGAGGCTGAGA??????	29	#7300de
23[256]	25[255]	TGACAACAAACA AA AAAGGAATTCTAAAGTT	32	#333333
17[23]	48[23]	??????GTTGCTATTTCCAATATATCTACGAAGGTAAAT??????	48	#333333
79[144]	68[129]	GCGCCAGGCACACA ACTGGCCTTGCC TGAGTAGAAGAAC??????	47	#aaaa00
~[159]	110[160]	TTAGCGTCCAGAGCCGCCAGTACTGCTCACC	31	#b8056c
122[127]	124[128]	AAAGCTAATT T ACGCAAGGTAGGTAA	32	#aaaa00
39[23]	10[23]	??????AATCCT??????	18	#333333
6[312]	5[312]	??????TTTTTAACCACAGCCAGCTT??????	33	#333333
150[155]	149[175]	TACAATTCTGACAGTCTGGGGTTTGCTCAGTACCAAGGCG	43	#cc0000
91[208]	76[208]	AAAGCCCTGTTAAAAGAATAAA AGCC AACGC	32	#007200
42[175]	41[191]	GTAATTAGCCATATTAACAACCAGACCGG	31	#333333
2[312]	29[312]	??????CGAGCTCGAATTATTGGGCCGAATT CGTGGCGCC AG??????	49	#333333
28[312]	29[287]	??????GGTGGTTTCTTTCACCAGTGAGAGAGGCGGT	40	#333333
88[191]	90[192]	GTCACGTTCGCGTCTGGCCTCTAAATT	32	#f7931e
3[128]	5[127]	GTCCATACCAGAACAA T ATTACCGACAATAT	32	#333333

41[64]	43[63]	CGGAATCACAGCTAATGCAGAACGCCATT	32	#333333
107[176]	99[192]	CCCATGTATGAATTGTTACCAAGCGCC????	32	#f7931e
38[79]	36[80]	TTAACAAATAACAGAAATAAAGAAACAGATGAT	32	#333333
35[128]	37[127]	AGAAGTATAAAGAAACCACCAGAAAATATACA	32	#333333
47[256]	49[255]	ACAAGAACAAATCCCGACCTGCTCAGAATACA	32	#333333
6[175]	5[191]	ACCGAACGCCTAAACATGCCACGGATTGA	31	#333333
45[128]	47[127]	AGAAACGAACCCCTGAACAAAGTCAGAATACCC	32	#333333
46[111]	44[112]	TTGAGCGCTATTATTTATCCCAAACGCGAGG	31	#333333
32[271]	30[272]	GCCATTCTGTGCATGCCGCAGGTCTGTTCC	32	#333333
114[143]	122[128]	CCAAAAGAAAGTTACCTAAAGCCTCAGAGCAT	32	#f7931e
32[143]	30[144]	CAGCCATTTCTTGATTAGTAATAACGCCGCGC	32	#333333
+312]	51[312]	??????TAAACAACCTTCGCTGAGGACTTCAATGAGGCTTGC???????	49	#333333
46[143]	44[144]	AACTGAACCTTTGTTAACGTCCAGATATA	32	#333333
23[192]	24[176]	TTTATCAGAAAAGGAGCCTTAATAACAAATA	32	#333333
52[239]	50[240]	TTTTTCAACCGATAGTGCAGCGAACGAGG	31	#333333
62[164]	65[185]	TTAACACAGCAAGCGGTCCACGCT???????	30	#888888
102[191]	104[192]	CAGCAGCGCGATAGTGCAGCGACTAATTGTA	32	#aaaa00
4[207]	2[208]	TATTACGCATTAAGTTGGTAACGATAAAGTG	32	#333333
0[143]	1[127]	CAAAAGAATAGCCCGAGATAGGGTATTAGAG	32	#333333
87[144]	86[128]	ATTCATGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGG	32	#007200
41[160]	57[185]	TGAGAACGGCAGAGGTCCACTATTAAAGAACG???????	40	#f74308
~3[85]	124[85]	?????????CCTGTAATACCGGAGACAGTC?????????	37	#888888
51[192]	52[176]	ATCAGCTTAGGAGCCTTAATTGTAATGGAAA	32	#333333
140[159]	142[160]	AACCACCAATCCTCATTACCGGACACCAAAG	31	#f74308
37[256]	39[255]	AGTCAAATACCAAAAACATTATGATAATAGTA	32	#333333
8[79]	6[80]	CATCATAGGAAGGTTATCTAACAGCAAAT	32	#333333
126[127]	128[128]	AGGAATTAAAAACCAAAATAGCGACTGGATA	32	#7300de
147[176]	146[160]	CACCGTACTAGTACCGCCACCCCTCAGAACCG	31	#333333
63[129]	69[139]	????????AAAGAATATTTAGACTAACAGGGACCAGTGTCAA	43	#f74308
90[127]	92[128]	TGGTGTAAGCTTTCTGTGTGACAAATAG	32	#7300de
64[164]	69[185]	GGCGATATCCGTTGTAGCAATAC???	26	#1700de
120[95]	111[111]	GTTGGTGTATCGTAACTTGATATTGGAAAGCGCAGTCTCTGAATT	47	#f74308

114[127]	116[128]	GATTAAGAAAAGACACCACGGAATAAAGGCTA	32	#8888888
53[128]	52[144]	TGCCGTCGAGAGGGTTGATATAAGCCAGTAAG	32	#3333333
5[160]	7[159]	CTGATAGCAACCACCAGCAGAAGTTAGAAGT	31	#3333333
43[288]	45[287]	ACGAGAAATGCCAAAAGGAATTACTTAGGAAT	31	#3333333
18[175]	17[191]	GCAGCCTTGTAAACGTCAAAAACATTATAC	31	#3333333
40[271]	38[272]	TGGAAGTTAACATCCAATAAATCAAAGCTAAA	32	#3333333
41[192]	42[176]	AAGCAAACGAGCTCAAAGCGAACGCCAACAT	32	#3333333
47[224]	49[223]	GGCTGGCTAACGAGGCGCAGACGGAAGGCAC	31	#3333333
82[95]	84[96]	GCAGAAGAAGAGGCCAGCAGCAAATAGGAGCA	31	#8888888
22[111]	20[112]	TTTCATCGAGCCATTGGGAATGCAAAGAC	31	#3333333
35[192]	36[176]	TTGATAATGCATGTCAATCATATGACGTTATT	32	#3333333
5[192]	143[205]	ACCCCCAGGCCACTACTTGCCATC???????	30	#7300de
121[144]	127[143]	AGATCGCACCGTCGGATTCTCCGTAGCTTCATGTTAGAGAGGCTT	48	#3333333
37[96]	39[95]	ATTTTCAGCAAGAAAACAAAATTAGAACATC	31	#3333333
127[85]	128[85]	?????????ATAACCCCTCGATAAAATATTCA????????	37	#1700de
2[271]	0[272]	TCCTGTGTATCGGCCAACGCGCGGAGACGGGC	32	#3333333
82[223]	84[224]	CGCAGAGGTTTACATCGGGAGAACTTCTGA	31	#f74308
48[111]	46[112]	AATCAATAACGCAATAATAACGGAGGGTAA	31	#3333333
67[157]	67[185]	TGAGAAGTGTTTATAATCA????????	28	#f74308
11[192]	12[176]	ACCTGTTGATACATTGCAAATAAAATCAT	32	#3333333
148[143]	150[130]	AAGTATTAGGATAGCACCCCTGCC???????	30	#8888888
24[239]	34[240]	AGCAAACAAGCAAATTTAAATTTCATCAA	31	#3333333
45[224]	47[223]	AAAACGAACTTAACATTGTGAGGCGCATA	31	#3333333
86[159]	88[160]	CTCTTCGCGCACGACTAAACCGATCGTAGT	31	#1700de
138[227]	139[227]	????????AAGGCAGTTA???????	24	#57bb00
37[64]	39[63]	GCACGTAATTGATTCATTGAAATTACCTCTGTAAA	32	#3333333
120[127]	121[143]	ACGGCGGAACGACGACAGTATCGGCCTCAGGA	32	#3333333
35[160]	37[159]	CTCGTATTAAGTTGAGTAACATGAAACAAT	31	#3333333
114[95]	105[95]	CAAACGTAACATAAAGAAACGAACTCATCAGT	32	#1700de
13[128]	15[127]	ATATGCGTAGGCATTTCGAGCCAGCTGTCTT	32	#3333333
10[175]	9[191]	ATTCGCCTTACATCGGGAGAAACCCCTCATA	31	#3333333
81[176]	79[175]	TAATTACACTTAGATTAAGACGCCAATAGTG	31	#f74308

32[79]	30[80]	ATGGATTAATCAGTGAGGCCACCGTGTTC	32	#333333
2[143]	0[144]	GCGCGTAAGGAAAGCCGGCGAACGTTATAAAT	32	#333333
19[96]	21[95]	TAGCCGAAATAAGTTATTGTTCACCGTC	31	#333333
15[224]	17[223]	CCAATACTGACGATAAAAACCAATCTACGTT	31	#333333
83[160]	85[175]	TCAAATTAAAGTGGTCAGTGGTGAGTAACATTATCATTTGCG	46	#aaaa00
48[271]	46[272]	TGTGTCGACGGATATTCAATTACCCAAACACCA	32	#333333
51[23]	22[23]	??????GCCCA??????	18	#333333
146[159]	148[163]	CCACCCCTCAGGATGGAAAGGAATAGCCC	28	#aaaa00
82[255]	81[255]	???TTGCTTGAATACCAAGTTACATCAATATATGTGAGTGAAT???	47	#f74308
84[95]	85[111]	CTAACAAACCTTACAACAAATTGACAACTC	31	#b8056c
20[111]	18[112]	ACCACGGACAAAGTTACCAAGAGTTAACTGA	31	#333333
14[207]	14[208]	GAGGCTTTAAAATGTTAGACTGAAATATCG	32	#333333
104[159]	98[132]	GCGATTTTACAGGGAGAGGGGAGGCATAGTAAGAGCAAC????	44	#007200
50[143]	48[144]	AGCGCGTTGGCCGGAAACGTCAACCAGAACGC	32	#333333
29[23]	0[23]	??????ATCGAT??????	18	#333333
138[207]	136[208]	CGGGATCGTTTCAATGAGGAAGTTGGGAAAA	32	#cc0000
24[207]	22[208]	AAGGCTCCCTGCTTCGAGGTGATTTGAGGA	32	#333333
12[79]	10[80]	GCGAGAAATAACCTTGCTTCTGTAGAAACAAA	32	#333333
120[191]	121[207]	CAGCTGGCGCCGGAAACCAAGGCAAAGCGCCAT	32	#aaaa00
2[79]	0[80]	TGACGAGCTCGAGGTGCCGTAAAGACTATTAA	32	#333333
88[127]	90[128]	ATGTCCCGGTGGGCACGAATATAGCTCCTGGT	32	#007200
1^5[85]	126[85]	?????????AAATCACCATGCAACACTATC????????	37	#f74308
30[111]	28[112]	TGCTTGAGACGGGGAAAGCCGGGTGTTGTT	31	#333333
149[119]	148[144]	??????CTCCTCAAGAGAAGGATTAGGATTAGCAAACATGA	41	#007200
7[128]	9[127]	TCAATAGATGAGAACATTATCATTAGATTT	32	#333333
5[288]	7[287]	TCGCACTCATAGGAACGCCATCACATTAAAT	31	#333333
136[143]	141[143]	TCTAAAGTGAACAAACAGTAACACATTACAA	32	#888888
123[176]	112[160]	GTTTAGCTATCATACAGTTGCAGCGAGATAGGGTTGAGTGTGTT	46	#f74308
22[312]	49[312]	??????TGCAGGGAGTTAGCGCGAAGAGTTAAAGCGAAACAAA???????	49	#333333
137[87]	138[87]	??????GGATTTGCTTAATTGTATCG??????	33	#03b6a2
86[191]	88[192]	GCAACTGTAGGGGACGACGACAGTTGGGATAG	32	#cc0000
29[224]	31[223]	CAGTCGGCGAGCCGGAAAGCATAGGGTTTC	31	#333333

9[224]	11[223]	GTAAAGATTGCGGGAGAAGCCTGGGCGCG	31	#333333
45[23]	16[23]	??????TTTTTA??????	18	#333333
36[207]	34[208]	TAAAACATACAGAAAAGCCCCAAAACCCGTCGG	32	#333333
45[64]	47[63]	TTTCCAGAGTTAACCCAATAATAGAAAAGTA	32	#333333
10[47]	8[48]	ATTCATTATACTTCTGAATAATATGGCAAT	31	#333333
70[185]	79[162]	??????CCATCACGCAAATTAAACCATA	28	#f74308
15[288]	17[287]	AAAACGAGAACGCCAAAAGGAATGATTAGG	31	#333333
36[111]	34[112]	ATTATCATATAGATAATAACATTGCCAGCAG	31	#333333
33[64]	35[63]	GACCTGAAATATCAAACCCCTCAATTCTAAAAT	32	#333333
1[224]	3[223]	TTCCAGTCATACGAGCCGGAAGGCCAGGGTT	31	#333333
8[239]	6[240]	TGGAGCAAATAAGCAAATATTTAGCTTCAT	31	#333333
14[159]	116[160]	AATAATAAAATCAATAGACCAGTGCTTTAAA	31	#cc0000
0[175]	1[159]	GGTTCCGAAATCGGAAAATCCCTGGCGAGA	31	#333333
35[64]	37[63]	ATCTTAGATCAATATAATCCTGAAATTATTT	32	#333333
13[256]	15[255]	TCATTTTCAAAGCGGATTGCATCATATTATC	32	#333333
78[127]	80[128]	TAAAGTGTGGGAGAGGC GGTTGCTCATGGA	32	#333333
43[256]	45[255]	ATCCCCCTAACACTATCATAACCCATTACAG	32	#333333
122[159]	124[160]	TAGCAAAACCCATATTGGTCGAAAATT	31	#1700de
17[160]	19[159]	GATTTTTTACAGAGAGAATAACCCAAAAGA	31	#333333
101[176]	100[160]	ACAGAGGCCATCTTGACCCCCAGCGATTAT	31	#7300de
7[23]	38[23]	??????CAATATCTGGTATAATCCAGGGTTAGTACATAAATC??????	48	#333333
9[228]	129[228]	??????GCCCGAGGAA???????	26	#cc0000
40[207]	38[208]	CATTAGATTATTTCATTTGGGTTCAACG	32	#333333
30[239]	28[240]	ACAACATAAAACCTGCGTGCCACCCGTGAGA	31	#888888
50[111]	48[112]	CCCCTTATAAAATCACCACTAGCATTGTCAC	31	#333333
104[207]	122[192]	GGAGCCTTAATGACAACCTTCACGTTGCCAGTAGTAGCATTAACA	48	#f7931e
102[111]	112[96]	ATTACCCAGGAACCGAAAAGGGCGAAAAACCG	32	#888888
42[143]	56[129]	AATAAGAGCAACGCTCTCACTTGA??????	31	#f74308
43[64]	45[63]	ACGAGCATCCTTAAATCAAGATTACGAGCGTC	32	#333333
112[95]	103[95]	TCTATCAATATCTTACTAACAAAGGAGAAACA	32	#cc0000
4[239]	2[240]	TGGGAAGGCACGACGTTGTAAAACACAATT	31	#333333
52[47]	50[48]	GCCCCCTGAACCGCCACCCCTAGCCACCGGA	31	#333333

121[112]	108[112]	TTGAGGGGTTGACCGCCGCCACCTCATAGC	30	#f74308
113[108]	122[85]	TTAAGTACCAAAAACATTATGAC???????	31	#f74308
40[47]	38[48]	GGTTGAAGTGAATAACCTTGCTTTTAAT	31	#333333
16[143]	14[144]	GCCCAATAATTCCAAGAACGGGTACATGTAAT	32	#333333
110[191]	111[207]	AAGGATTACAGTGCCTTGAGTAACAGTCCCCG	32	#007200
1[288]	3[287]	GGTTGCGTCGTAATCATGGTCAGTCGACTC	31	#333333
11[160]	13[159]	GAAGAGTCGAGACTACCTTTAAGTATAAA	31	#333333
107[96]	120[96]	CGGAAACTAGCGTTACGCCATTAGGTCAC	30	#888888
53[288]	53[312]	TGTATGGGATTTGCTAA??????	24	#333333
46[207]	44[208]	ATGCGATTTGGGAAGAAAAATCTAGCGAGAG	32	#333333
4[143]	2[144]	GGTAATATCGCAAATTAAACCGTTGGTCACGCT	32	#333333
..[207]	36[208]	CAAGGATACAATGCCTGAGTAATGGTAATCG	32	#333333
40[312]	11[312]	?????ACAGC??????	17	#333333
58[164]	63[185]	TGTCAGTGTGCGCGTAACCAC???????	30	#1700de
32[239]	30[240]	GAAGGGCGGACGTTGAAAACGAAATTCCAC	31	#333333
134[175]	140[160]	AAATCCGCATGTTACTTCAGAGGCCACCAG	32	#b8056c
44[312]	15[312]	?????AGATA??????	17	#333333
136[159]	138[160]	ATTATTAGAAAGGAATTGGTAGCCGAGGCGA	31	#b8056c
28[111]	29[95]	CCAGTTGGAACAAGAGTCCACTCCCCGATT	31	#333333
144[159]	145[175]	GACTTGAGAAACCATCGATAGCAGCACCGTA	31	#1700de
48[143]	46[144]	AAAGACACTGGCATGATTAAGACTGGAGAATT	32	#333333
..[223]	97[247]	CAATAATGAAAAGGTGGCATCAATTCTACTAAT??????	39	#f74308
108[127]	110[128]	ATTTTCGGCTCAGAACCGCCACCCAGCATTGA	32	#03b6a2
49[23]	20[23]	?????ATTTTC??????	18	#333333
36[175]	35[191]	AATTTAAAAATCCTTGCCCGATAACCCGG	31	#333333
25[288]	25[312]	TTCTGTATGGGATTTGC??????	24	#333333
99[152]	94[160]	TTTAATCAGTCACACCCGAGAACATGACAGGCCGAGAACAT	39	#f74308
89[144]	87[143]	AATCGGCTTGCTGAATTGTCAACCGGTTGTGA	32	#888888
94[223]	96[224]	TCATATATGAGAACGCTTATTCTAACATC	31	#333333
100[95]	114[96]	CGCGACCTACGGTCAATCATAAGAACATACGCGAAGCCTATGTTAG	46	#1700de
121[208]	108[208]	TCGCCATTGTGCGGGCGCCGGAAACCCCTCAG	32	#1700de
6[111]	4[112]	AACAGTGCAGAACATCGTGGCACAGCCAGCCA	31	#333333

85[144]	83[143]	TTAAAAGTCAAATCAACAGTTGAACAAATATC	32	#7300de
115[76]	114[76]	??????TACATGAAAA???????	24	#7300de
75[112]	73[111]	AAGAATTGAGAGAGAATAACATACTAATTG	31	#888888
148[194]	149[194]	??????GAGAGCCGTC??????	22	#03b6a2
51[256]	53[255]	CAACAACCAACTAAAGGAATTGCGAAGTTTG	32	#333333
108[207]	125[207]	AACCGCCACGTACCAAGAGGGATCTCCACACAGATGGCTTGTTCATT	48	#aaaa00
28[175]	29[159]	TCCGAAATCGGAAAATCCCTAAAAGGAGC	31	#333333
47[128]	49[127]	AAAAGAACACGGAATAAGTTATCCATTACC	32	#333333
15[96]	17[95]	ATGTAGAATATTCTAAGAACGCGTCTTCCA	31	#333333
133[87]	134[87]	??????CATTAGTGAATACCAGTCAG??????	33	#57bb00
125[208]	102[208]	CCATATAACCAATTCTACGCGGGTGGTTTCAACCATCCGCTTTT	48	#333333
1[128]	23[127]	GCAAAATCCCTTAGCGTCAGACTAGAGCCGC	32	#333333
5[128]	7[127]	TTTGAAATGCGGTAGTATTAAACATAGAGCCG	32	#333333
78[95]	80[96]	GAGCTAACGCCAGCTGCATTAATTGCTGA	31	#1700de
24[271]	22[272]	TAGAAAGGACCATGCCACGCATGGGATCGT	32	#333333
40[175]	39[191]	TCCGGCTTCTGAGAGACTACCTCAATAACC	31	#333333
131[168]	141[175]	GGCGACATAAACGAAAAATACACTACCAAGAGCACCGCCTC	40	#333333
73[54]	74[54]	??????TATCCTGAATCACTGAACACCC???????	36	#f74308
153[135]	150[156]	??????CAGTGCCGTATAAACAGGATGA	29	#333333
43[23]	14[23]	??????CCTACG??????	18	#333333
7[224]	9[223]	AAGATTGTACAAGAGAACGATGATGTGTAG	31	#333333
11[175]	13[191]	ATGCCATTCAACAGTAGGGCTTAACCAGAC	31	#333333
103[96]	116[96]	CCAGAACCGTTAATAGTGGCAAGAGCAAAC	30	#cc0000
53[224]	52[240]	CTCATAGTTAGCGTAACGATCTAAATAATAA	31	#333333
99[132]	99[151]	????ACTATCATAACCTCG	20	#888888
52[312]	23[312]	??????ACACT??????	17	#333333
32[111]	30[112]	ATACCTACCATCACGCAAATTAAACTATGGT	31	#333333
21[64]	23[63]	AAATTATTTTGCCATCTTCTATGCCACCCCT	32	#333333
20[239]	18[240]	TACTTAGCGCTGACCTTCATCAATGAGATGG	31	#333333
13[224]	15[223]	AGTACCTTAGCCGAAAGACTTCGATAGCGT	31	#333333
12[47]	10[48]	ATTCATCAACAGTACATAAAATCATTTAACAA	31	#333333
118[175]	130[168]	TAATCATGTTCTGTGCTGTAGCTAAATATAATATTGA	40	#aaaa00

82[127]	84[128]	ATGCCATTACCTTGCTGAACCTAGGAATTG	32	#aaaa00
95[176]	93[175]	GTTGTACCAAGATTCAAAAGGGTGGAGACAG	31	#b8056c
122[191]	124[192]	TCCAATAAATATTTCATTTGGGGTAGATT	32	#f7931e
20[143]	18[144]	AAGGTGGCAATAATAACGGAATACATAAAAAC	32	#333333
36[143]	34[144]	TGCGGAACTAGACTTACAAACAATTAACACC	32	#333333
108[250]	107[250]	?????????TTAGTACCGCCTTCACAGAC???????	37	#03b6a2
58[185]	58[165]	?????????TGTAGCGGTACGC	21	#f74308
140[127]	135[127]	GGAGGTTGGACGATTGGCGATTTATAAAACG	32	#7300de
151[130]	152[135]	??????TATTCGGTAA??????	23	#f74308
34[239]	32[240]	CATTAATAACCGTGCATCTGCCAACTGTTGG	31	#333333
84[191]	85[207]	ATTATTTGAAACCACCAAGAAGGAGCGGAATTA	32	#f74308
111[1]	1[95]	GTTCCAGTTGGAACAAAGAGTCCCCTAAAT	31	#333333
7[160]	9[159]	ATTAGACTCTTGGCCGAACGTTAGTAACA	31	#333333
92[223]	94[224]	AGGCTATCTAAATTAAATGCCGGAGAGAACCC	31	#333333
93[208]	78[208]	CTAGCTGAAGGTCAATTCTTTAAGAGAAAAC	32	#cc0000
103[64]	102[64]	?????????TAAGGCTTGCCTGACCTGCTCATTAGTGAA???????	48	#888888
141[176]	132[160]	CCTCAGAGACCACCTAGCCGGAACAGGCGCATAGGCTGGCTGAC	46	#aaaa00
18[79]	16[80]	CGCTAATACCAACGCTAACGAGCGAGGCCTT	32	#333333
3[256]	5[255]	AGTGCCAATGCCATTAGGCTGCCAGTTG	32	#333333
47[160]	49[159]	CGCAGTATGTGGCAACATATAAAATGAAAC	31	#333333
104[191]	106[192]	TCGGTTTATTCAGCGGAGTGAGATCCAGACG	32	#57bb00
~^47]	18[48]	GACAAAAGCAATGAAATAGCAATCAAGAATT	31	#333333
20[312]	47[312]	??????AAAGTACAACGAAAGCTGCCAACGGAGGCTGCTCATT???????	49	#333333
34[143]	32[144]	GCCTGCAAGATAGCCCTAAAACATATTACCGC	32	#333333
146[143]	146[119]	CACCCCTCAGAGCCACCCACC??????	25	#888888
143[172]	147[175]	CATAATAAGTATAGGTGTAT	20	#03b6a2
118[239]	109[223]	?????????TTGCATGCCTGCAGGACGCCAGGAACGCCAGGTGTA	47	#f74308
107[64]	106[64]	?????????TAGCACCAATTACCACTCCAGCAAAATCACCAG???????	48	#b8056c
99[168]	105[175]	TTCATATGTCTGTATGAAACAAT	24	#333333
34[312]	33[312]	??????TTAACCAATACCACTCCAGCTTCC??????	33	#333333
46[271]	44[272]	GAACGAGTATTCACTAGTTGAGATGAGGCATA	32	#333333
78[79]	90[64]	ATTGCGTTGATTAAGACGATAAAG???????	32	#f74308

88[223]	90[224]	GAACAAACAACATTAATGTGAGCTAACGT	31	#aaaa00
14[143]	12[144]	TTAGGCAGTATACAAATTCTTACCACCTCCGG	32	#333333
147[119]	137[127]	??????CTCGTCACCAGAACGCCCTGTTCCAGTTCAAGCG	41	#333333
141[109]	140[109]	??????GGTCAAGGCA??????	22	#f74308
52[175]	51[191]	GCGCAGTCCCTCATTAAGGCCAGATCGGTTT	31	#333333
83[176]	81[175]	TTTCAGGTAAGATGATGAAACAAAACAAAAT	31	#f74308
81[54]	82[54]	??????ACGACCAGTAACGGTCAGTATT???????	36	#f74308
123[208]	113[211]	GAAAAGGTCTACTAATCAGC	20	#03b6a2
4[271]	2[272]	AGCGCCATGTTGCATGCCTGCAGTAGCTGTT	32	#333333
31[192]	32[176]	AGGCGATTCTGGCGAAAGGGGGATTATCGGCC	32	#333333
70[156]	67[156]	ACGTTATTGCCCTGCCCTGAAATCC	25	#f74308
31[312]	19[312]	??????GTATC??????	17	#333333
40[239]	38[240]	CAATTCTGTGGCATCAATTCTACCCCTGTAA	31	#333333
21[192]	22[176]	AACGGGTATTTCATGAGGAAGTAACCATCG	32	#333333
77[144]	75[143]	AAGAAACGCCGAAGCCCTTTAAAAGAGCAA	32	#57bb00
31[160]	33[159]	TGCCTGAGAATATCCAGAACAAATGCCATT	31	#333333
87[176]	86[160]	CCAGTTGTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGC	31	#f7931e
104[127]	106[128]	AGGACGTTAACTAATGCAGATACAAAGGTGAA	32	#f7931e
90[191]	92[192]	GTTAAATCTATGTACCCCGTTGAGTCTGGAG	32	#888888
94[191]	96[192]	TGTAGGTTAAAAACATTATGACCCAGAATTAG	32	#007200
3[288]	5[287]	TAGAGGATTCTGGTGCCGGAAACAGGAAGA	31	#333333
108[191]	110[192]	GCCACCACGTCGAGAGGGTTGATACTCAAGAG	32	#333333
52[271]	50[272]	AAAGGAACATGCCCACGCATAACATCGTCAC	32	#333333
16[79]	14[80]	TAGCGAACAAATATCCATCCTAATGTAAAGTA	32	#333333
56[185]	56[165]	??????TGGACTCCAACGTC	21	#f74308
49[224]	51[223]	CAACCTAAGGCTACAGAGGCTTTCTTAAAC	31	#333333
0[207]	0[176]	TGCCCCAGCAGGGAAAATCCTGTTGATGGT	32	#333333
18[111]	16[112]	ACACCCCTGTTGCCAGTTACAAATAGAAGGC	31	#333333
13[160]	15[159]	GCCAACGCATTTAACACGCCAATTAAACCA	31	#333333
33[256]	35[255]	GGACGACGCTTCCTGTAGCCAGCTTGTAAACG	32	#333333
131[152]	128[160]	ATTCAAAGAGCGCCAAGAAGTTTGCAAGCAACCGGCAG	39	#333333
5[64]	7[63]	CTGGCCAATAAGCATCACCTGCCAGTTGAA	32	#333333

47[96]	49[95]	ACCGAGGAGAAAATTATGGTGGATTAG	31	#333333
0[47]	30[23]	ACCGTCTATCAGGGCAAGTTTAAGGGATTT???????	39	#333333
88[159]	90[160]	GTCCTTAGGACGCATTCGGAACCAATAACA	31	#1700de
41[224]	43[223]	ACCTTAACCGAAAGACTTCAAAAGCGTCCA	31	#333333
16[239]	14[240]	TACCAGACGCCAATCGTCATAAAAAAGAT	31	#333333
4[175]	3[191]	GAGTAGAAATTAGTAATAAACATCGATGTGCT	31	#333333
111[208]	119[203]	TATAAACATAAGAGGCTGAGACTCTAAGTATACTCTCGCACGA	44	#03b6a2
32[175]	31[191]	TTGCTGGTTAGAAGAACTCAAACGTGCTGCA	31	#333333
36[79]	34[80]	GGCAATTGAGCACTAACAACTAACCTTGCTG	32	#333333
78[255]	77[255]	???ATGCTGATGCAAATCCAATCGACTAGAAAAAGCCTGTTAG???	47	#f74308
144[127]	139[143]	AATCACCATAACCATTAAAAAAGGCTTCTAACAGCTTGATACCGAT	48	#b8056c
4[143]	22[144]	GTCTCTGATTGACAGGAGGTTGAGGACAGAAT	32	#333333
87[64]	72[80]	????????TTGTAAAACGACGCCCTTCCCAGGCTAACGATTGCTATT	48	#03b6a2
59[129]	42[144]	????????AGGGAAGAAAGCGAAAACGTGGCGTCATCGAGGAGCCAGT	47	#f74308
72[255]	72[224]	???CGAGAACAGCAAGCCTTTTATTTTC	31	#f74308
22[271]	20[272]	CACCCCTAACACTCATTTGACCGCCTGATA	32	#333333
19[160]	21[159]	ACTGGCATCAAACGTAGAAAATACCATTAGC	31	#333333
28[79]	29[63]	ACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGTAAAGCA	32	#333333
50[239]	48[240]	GTAGCAACAAACGAAAGAGGCAAACATGTTAC	31	#333333
35[23]	6[23]	??????CAGAAT??????	18	#333333
127[112]	104[112]	ACGACGATCGAGGCATCATATGTTGCCACATTGGGAAGA	45	#03b6a2
115[144]	114[144]	GGAGAGGGAATGCCCTGTTGTCACCGGAATAC	32	#cc0000
80[191]	82[192]	AGCGATAGTTAACAAATTCTTTTATTACCTG	32	#f74308
124[191]	126[192]	AGTTGACAGTACGGTGTCTGGAAAGAGCTTA	32	#f74308
29[160]	31[159]	GGGCGCTACGTAACCACCAACACCACATCACT	31	#333333
47[288]	49[287]	GTAACAAAATTGTATCATGCCAGCGATTA	31	#333333
127[208]	104[208]	CCTTTGATTTGCGACATACGACCTAATGAGAACAACTCTCCAAA	48	#007200
44[143]	57[139]	GAAGGCTTACCGCACAGAAAGGACGGG	28	#f74308
92[247]	91[247]	?????TTTTGAGAGATATAAGCAA??????	31	#cc0000
134[159]	130[128]	ATTTCAACGGTTAAATTCAAGAAAGATTATCAGTTGA????????	48	#03b6a2
6[271]	4[272]	TCGCGTCTACGACAGTATCGGCCCTCCAGGCAA	32	#333333
6[143]	4[144]	GAGGTGAGGGCTATTAGTCTTAAGCCTTGCT	32	#333333

97[208]	82[208]	CGCGAGCTACAGGACAGTACCCGAATTAT	32	#f7931e
16[175]	15[191]	TTTTTATTACTCATCGAGAACAAACCAGAGGG	31	#333333
16[111]	14[112]	TTATCCGGACCAATCAATAATCGGTAAATAAG	31	#333333
73[176]	72[160]	TGTAGAAAAGATATAGAAGGCTTATCCGGTAT	31	#03b6a2
128[191]	129[207]	ATTCGAGCGAAGCAAAGCGGATTGCATCAAAA	32	#b8056c
109[176]	107[175]	TAAGTGCCCCCTCATTTCAGGGAAATAGGAA	31	#007200
44[175]	43[191]	ACCGCGCCTTATTTCATCGTAGGAGGGGGT	31	#333333
126[228]	127[228]	?????????GGTCATAAGA????????	26	#f7931e
79[163]	81[159]	AGAGTTGAGACGCCAGCCATTGAATGGC	29	#b8056c
97[64]	82[80]	?????????TAAAGTACGGTGTCTGGTTAAACCACGCTGTAAAACAG	48	#f74308
74[95]	76[96]	GAAGCGCACTAATATCAGAGAGACAGAAGGA	31	#57bb00
1[129]	79[143]	????????AGACGGGCGAAAAACGCGTATTGG	31	#f74308
113[76]	112[76]	????????ATAGCTAGCA???????	24	#888888
50[47]	48[48]	ACCGCCTTATTCAAAAGGTAACCGATT	31	#333333
8[111]	6[112]	ACAAAGAATAACAACAAATAGATCCGCCCTGC	31	#333333
20[271]	18[272]	AATTGTGTAACCGGATATTCAATTAGAGAAACA	32	#333333
17[128]	19[127]	CCATATTAGCATTAGACGGGAGAAGAAACCGA	32	#333333
10[207]	8[208]	ACGCAAGGATGCAATGCCCTGAGTAAACGGTAA	32	#333333
134[143]	140[128]	TTGTGAATGAGTAGTAGCCGCCAGCATTGACA	32	#57bb00
25[128]	24[144]	GTTTGCTCAGTACCAAGGCGGATAAAAGCGCA	32	#333333
35[96]	37[95]	AGCCGTCACATATTCTGATTATTGCGTAG	31	#333333
271]	42[272]	GTAAGAGCCAATGCTTAAACAGTTAGTC	32	#333333
96[247]	95[247]	?????AGTAGTAGCATAACGCAAGGA?????	31	#1700de
118[191]	120[192]	CCGAGCTCCAGGGTTTCCCAGTCTATTACGC	32	#b8056c
43[96]	45[95]	GTCTTCCGAACCTCCGACTTACAAATA	31	#333333
114[239]	105[223]	????????TATTGGCGCCAGGGGGAGAGGCAAAAAAGGAAAGGAAT	47	#aaaa00
83[112]	81[111]	CTAAAGCATAAAAATACCGAACGACCCCTCT	31	#cc0000
92[127]	94[128]	CGAGAGGCTCCCCCTCAAATGCTTGACTATT	32	#cc0000
9[192]	10[176]	TATTTAAATAAAAATTTAGAAAATAACGG	32	#333333
31[128]	33[127]	GCAATACTGCAACAGGAAAAACGCCCTTAATG	32	#333333
112[191]	114[192]	GAATAGCCCAGCGGTCCACGCTGCAGTGAGA	32	#aaaa00
24[79]	22[80]	GTAATAAGCCACCCCTCAGAGCCACAGCCCCCT	32	#333333

145[176]	137[179]	ATCAGTAGTGTAGCGCAGA	19	#007200
49[96]	51[95]	AGCCAGCATAGCGTTGCCATCTCCACCAGA	31	#3333333
13[96]	15[95]	CATAATTAAAGTACCGACAAAAGTTACGAGC	31	#3333333
31[256]	33[255]	GCCAAGCTCCATTCAAGCTGCGCAGTTGAGG	32	#3333333
44[239]	42[240]	CAGACGACGAATCGTCATAAATAAAGATTAA	31	#3333333
74[223]	76[224]	AGAACCGTACCGACAAAAGGTAATCTTACC	31	#f74308
137[192]	145[205]	TAAAGACTTCACCCCTCTCAAGTTT???????	30	#aaaa00
96[159]	97[175]	CTTTGATTTAGATACATTCGCAAATGGTC	31	#8888888
87[112]	86[96]	GCCAGGGTGCAGGCGATTAAGTTGGGTAAC	31	#007200
138[111]	136[112]	GGAGCCTTAAACAACCTTCAACAGACGTTAG	31	#b8056c
2[239]	0[240]	CACACAACGGGAAACCTGTCGTGTGGCCCTG	31	#3333333
5[64]	52[80]	GCTGAGACTCCTCAAGAGAAGGATGTCAGTGC	32	#3333333
76[207]	87[207]	TCAACAGTATAAGAGAGACCGTAAATCGGCCT	32	#f7931e
11[256]	13[255]	GTAGTAGCGTTTCATTCCATATAAAAGAGG	32	#3333333
12[111]	10[112]	CTGATGCATAATTTCCCTTAGACATTTCAA	31	#3333333
52[207]	50[208]	GCTCCAAAGCTTCGAGGTGAATTGAGGACTA	32	#3333333
135[128]	144[128]	AACTAACGTTGTCGTTAGCATTGCCAGCAA	32	#3333333
111[176]	109[175]	AACGGGGTGGATTAGCGGGGTTCAAGGCGGA	31	#57bb00
82[207]	93[207]	TCATTTCAGAATTACCAATGCCCTAACCGTT	32	#3333333
68[156]	65[156]	CACTTGCTGGAAAAATCCTGAGAG	25	#f74308
107[224]	119[239]	CTGTAGCAACCCCTCATGCCAACG???????	31	#8888888
~~[256]	41[255]	GTAGCATTTCATTCCATATAACAGAGAGGTCA	32	#3333333
28[47]	28[23]	GTCTATCACATCACCAA???????	24	#3333333
41[23]	12[23]	??????TGTCTA???????	18	#3333333
9[64]	11[63]	TAGAACCTAAACAAAATTAAATTACAATATATG	32	#3333333
103[224]	115[239]	ATAACCGATCTCCAAGGTTGCG?????????	31	#3333333
43[224]	45[223]	ATACTGCGGATAAAAACCAAAATACGTTAAT	31	#3333333
96[95]	97[111]	CTCAACATGAAGTTTCATTCCATATAACAGT	31	#03b6a2
28[239]	29[223]	GAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCCCGCTTC	31	#3333333
51[288]	53[287]	TCGGTCGCCAGTTTCAGCGGAGTGAATTTC	31	#3333333
102[207]	112[192]	GCAGGGATCTTTTCACTCCCTATAAAATCAAAA	32	#cc0000
46[175]	45[191]	AAAACAGGGCCTTACAGAGAGATATACCAAG	31	#3333333

16[271]	14[272]	ATAGTAAGCCTCAAATGCTTAACTATTATA	32	#333333
20[79]	18[80]	ATAGAAAACCCTTTAAGAAAAGTAATTGAG	32	#333333
143[109]	142[109]	??????ACTACTACAA???????	22	#03b6a2
123[112]	100[96]	GAGAAGCCATCGGTTGAAAAGTACAACGTCAGTGACCAGCCTGATAAATTGTGTCGAAATC	61	#cc0000
49[160]	51[159]	CATCGATAGTTGCCCTTAGC GTT CACAAAC	31	#333333
118[95]	109[95]	ATCAGCTCCAATAGGAGCCATCTCACCGGAA	32	#57bb00
129[85]	129[111]	????????TTGAATCCCCCTCAAATG	26	#b8056c
51[224]	53[223]	AGCTTGATCGTTGAAAATCTCCAAGACAGCC	31	#333333
57[140]	64[129]	GAAAATAAATCATT CCTCGTGCGGGAGC???????	35	#f74308
56[164]	61[185]	AAAGGCCGAATGC GCCGCTACAG???????	30	#aaaaa00
32[312]	3[312]	??????GGCAC???????	17	#333333
5[256]	17[255]	TGAATCCCAGCAACACTATCATAAACATTATTA	32	#333333
48[79]	46[80]	GCCAAAGAGCCGAACAAAGTTACCAACCCACA	32	#333333
105[144]	103[143]	AAAGGAATAAGAACTGGCTCATTATCAACTTT	32	#007200
10[239]	8[240]	TAATACTTCAAAAGGGTGAGAATGAGAGTC	31	#333333
136[207]	134[208]	TACGTAATCGATTATACCAAGCGCACACCGGA	32	#f74308
76[79]	88[64]	TAATAACGAGAGGGTAGGAGTGAC???????	32	#f7931e
80[207]	91[207]	GAATCCTTGAGACTACGCC TGAGATAATCAGA	32	#1700de
100[127]	102[128]	GTATCATCACTTGAAAGAGGGACAATCTTGAC	32	#b8056c
19[192]	20[176]	GAGGACAGGAACCGAACTGACCAATTACGCAG	32	#333333
113[212]	100[192]	AGGC GG CAAAATGAGGAAGTACGAAAGAGGCAAAAGAATACACT	44	#b8056c
191]	94[192]	CAAACAAGCCATCAATATGATATTGAGTAATG	32	#f74308
38[312]	9[312]	??????ATTAT???????	17	#333333
85[176]	83[175]	GAACAAAGCACGTAAAACAGAAAGCGTAGAT	31	#f74308
107[144]	105[143]	GCGACAGACGGAAAATTATT CATTATAACGCCA	32	#03b6a2
30[207]	28[208]	AGCCTGGGGCGTT GCGCTACTGCTGGTTGC	32	#333333
45[256]	47[255]	GTAGAAAGAGTAAATTGGGCTTGATAATCTG	32	#333333
148[162]	151[183]	GCGATTACCGTTCCAGTAAG???????	26	#1700de
74[127]	76[128]	GCCTTACAGTTAAGCCCAATAATGAAAAGTA	32	#57bb00
53[192]	52[208]	ACTACAACGCCGTAGCATTCCACAAAAAAAG	32	#333333
9[96]	11[95]	AAAACAGAGCAAAAGAAGATGATAATCGTCG	31	#333333
15[128]	17[127]	TCCTTATCGCAAGCAAATCAGATAATAAACAG	32	#333333

11[23]	42[23]	??????TTTTAATGGATTCTGACGATAAATAATAGATAAGT??????	48	#333333
14[312]	41[312]	??????AATCAAAAATCATGCTGTAAAATCAGGCTGTAGCTCA??????	49	#333333
130[167]	136[160]	CGGAAATTGGAAAAGGAGGGCTGA	23	#cc0000
1[64]	3[63]	TTTGCCCCACGTATAACGTGCTTAGACAGGA	32	#333333
44[79]	42[80]	TTTGAAAGGTAGAACCAATCAATCAATAAAC	32	#333333
3[23]	34[23]	??????AACAGGAGGCCTTGGCAGACATTCTGGCAAATCAA??????	48	#333333
49[128]	51[127]	ATTAGCAATTATCGGCATTTGGTTGAGGC	32	#333333
90[95]	92[96]	GTGGTGCTTACCGAGCTCGAATTTGCCAG	31	#888888
4[111]	2[112]	TTGCAACAGAGGCCACCGAGTAAGCTTAATG	31	#333333
12[312]	39[312]	??????TCAACATGTTAAGAATTATGTTAAAATTAGCAA??????	49	#333333
128[159]	129[175]	AGGGGGTAAATCAGGTCTTACCCCTGACTAT	31	#03b6a2
224	24[240]	GCCCTCATAGTTAGCGTAACGATGCGAATAA	31	#333333
84[127]	85[143]	AGGAAGGTTCCCTTGGCCGAACGTTATTAAATT	32	#f74308
58[156]	45[159]	GTTTGGGAGCGGGAGCAAATAAAAATGA	29	#f74308
33[23]	4[23]	??????GGGATT??????	18	#333333
112[159]	114[160]	CAGTTGGACCGAGGAAACTGGCACCGCCGC	31	#f74308
53[96]	52[112]	GCGGGGTTTGCTCAGTACCAAGGAGGTG	31	#333333
43[128]	45[127]	AAACCAAGATCCGGTATTCTAAGATCCAATA	32	#333333
24[47]	22[48]	TAACAGTGGCTCCCTCAGAGCCAATCAAAA	31	#333333
6[79]	4[80]	GAAAAATCCAGAGATAGAACCTTGAAATACC	32	#333333
0[79]	1[63]	AGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGATCAAGTT	32	#333333
109[204]	127[207]	CGTTCAAATATCTAATTGCT	20	#7300de
85[208]	95[207]	TCATCATAAGGGTTAGAACCTACCATACAGTACAAGGCAATGTAATAC	48	#f74308
137[180]	125[179]	GGCTCAACCTATCAACCGAGAAGGTAGCAA	30	#b8056c
76[223]	78[224]	AGTATAAACACCGGAATCATAATTCAAGACA	31	#f74308
75[54]	76[54]	??????TGAACAAAGTCGAATACCCAAA???????	36	#f74308
31[96]	33[95]	AGTCTGTCATTTGACGCTCAATGCACAGAC	31	#333333
72[79]	72[54]	TTGCACCCAGCTACAATT??????	26	#888888
17[192]	18[176]	CAGTCAGGATTTAAGAACTGGCTGAAAATA	32	#333333
143[144]	134[144]	GCCCTCATCCATGTACTTATTACATTTAATCA	32	#f7931e
109[96]	121[111]	CCGCCTCGATTGGCCCGTGCATCTGCCAGT	30	#b8056c
33[128]	35[127]	CGCGAACTCAGTGCCACGCTGAGAGAGGATT	32	#333333

64[148]	60[129]	TCAGATAGAATGAGCACGTATAACGTGCT???????	36	#f74308
7[256]	9[255]	ACGTTAATCTATCAGGTATTGCCAGGCCGA	32	#333333
111[144]	109[143]	ATGATAACACACCAGAGCCGCCCTCAGAGCC	32	#333333
126[191]	128[192]	ATTGCTGAGATTAGAGAGTACCTTGCCTTTA	32	#f74308
105[224]	117[239]	TGCGAATATTAGCGTCATAAAGT???????	31	#333333
39[224]	41[223]	TGAAAAGGCGAACGAGTAGATTTAGAGAGT	31	#333333
152[151]	146[144]	GCCTTGAGAACCTATTGTTAATGCAGCCCAATAGAACCGC	40	#888888
105[176]	103[175]	TTCAACAGTCAGCTTGCTTCGATTAAACAG	31	#b8056c
84[223]	85[255]	ATAATGGATTCTGATTATCAGATGATGGCAATTCAATATA???	47	#f74308
91[144]	89[143]	TCCGCTCATTCTCGAACTCTGACGGGCCTG	32	#007200
8[207]	6[208]	TCGTAAAAAATCAGAAAAGCCCCACAACCCGT	32	#333333
1[185]	62[165]	??????CACACCCGCCGCGC	21	#f74308
116[95]	107[95]	AAGAGAATTAATCGTAAATTAGAGAGCAAGGC	32	#03b6a2
25[64]	24[80]	ATTCTGAAACATGAAAGTATTAAGGTGTACTG	32	#333333
5[96]	7[95]	AAAGCGTACACGCTGAGAGGCCAGATATCTT	31	#333333
45[96]	47[95]	AACAGCCATAATATCAGAGAGATAGAAGGAA	31	#333333
2[175]	1[191]	CTAGGGCGGAAGAAAGCGAAAGGGAGCTAAC	31	#333333
106[159]	108[160]	AATATTGAATCAAGTTGAGCCCTAGCACCT	31	#aaaa00
120[159]	121[175]	GTAACAACCTCCAGCCAGCTTCCGGCACCG	31	#f7931e
119[108]	127[111]	AATAGAATCGTCTTACCAAG	20	#f74308
110[127]	111[143]	CAGGAGGTAGTAAGCGTCATACATGGCTTTG	32	#f7931e
112[112]	91[111]	TCATTGAATTTCGAAAGAAGTCGTAATCA	31	#f7931e
13[192]	14[176]	CGGAAGCATTGAGCTCAAAGCGAATTGAGA	32	#333333
18[271]	16[272]	CCAGAACGAAGATTCATCAGTTGATACGAGGC	32	#333333
8[312]	35[312]	??????TAATGCCGGAGAATCAGCTCGGAGAGGCAGCTCATT???????	49	#333333
93[176]	98[168]	TCAAATCAAGAACGATGAACGGACTAGCATCGACATTC	39	#1700de
133[192]	141[205]	CAGACGGTTCATGCCCTCAGAAC???????	30	#1700de
34[79]	32[80]	AACCTCAAAGCGTAAGAACATCGTGCCTGAA	32	#333333
23[288]	25[287]	TATTCGGTCAACAGTTCAGCGGAATGAATT	31	#333333
12[271]	10[272]	GTCTGGAAATTAAACATCCAATAAAATAAGCT	32	#333333
44[111]	42[112]	CGTTTAGTTATCATTCCAAGAAAAAAGGTA	31	#333333
40[111]	38[112]	AGAACGCGCATAGCGATAGCTTAATGATGAA	31	#333333

111[112]	119[107]	ACCGTTCCGTAGGCAGGTCAGACCCCTCAGAGTAATGGGACAAA	43	#f74308
45[160]	47[159]	AAATAGCAGAAGCGCATTAGACGCCTTATTA	31	#333333
39[128]	41[127]	CGCTGAGAGATGCAAATCCAATCGCTTACCAAG	32	#333333
22[79]	20[80]	TATTAGCGCATTAAAGGTGAATTACACAATCA	32	#333333
101[144]	100[128]	GTGTACAGCGAAACAAAGTACAACGGAGATT	32	#cc0000
125[112]	102[112]	TATTCAACAAGGGTGAGAAACGCCTCCTTAAATTGGCGATATT	45	#333333
34[175]	33[191]	AAACAGAGGAACGAACCACCAAGCATTGACCG	31	#333333
7[192]	8[176]	CGGTTGATCTAGCATGTCAATCATCAACTCGT	32	#333333
47[23]	18[23]	??????AGCATA??????	18	#333333
112[239]	103[223]	?????????GGTGGTCCGAAATCGAAAATCGTTAAAGGGCCCACGC	47	#b8056c
90[247]	89[247]	?????TATTAAATTGGAGTAACAAC?????	31	#333333
-[288]	23[287]	TTATACAAAAGGCCGCTTTGCAACCGATA	31	#333333
48[47]	46[48]	GAGGGAGGCGAACGCCCTTTAAAGAGCAAG	31	#333333
76[159]	68[157]	CTATCTTACAAAGACAAT	18	#1700de
20[207]	18[208]	TCATAAGGATGAACGGTGTACAGATGAATTAC	32	#333333
94[159]	96[160]	AAATCAAACCTTAATTGTAAGGAGGACACTC	31	#b8056c
9[160]	11[159]	GTACCTTGATTGCTTGAATACGACGCTGA	31	#333333
16[312]	43[312]	??????TGCAGATACATAATGACCATAACGACCATAAT??????	49	#333333
72[127]	74[128]	CGACTTGAAAATAAACAGGCCATAAAATAGCA	32	#aaaa00
21[160]	23[159]	AAGGCCGGACCGTAATCAGTAGCGCAGGTCA	31	#333333
12[143]	10[144]	CTTAGGTTCGATAGCTTAGATTAACAAGTTAC	32	#333333
-[191]	78[192]	ATTGAGAAGTGTGATAATAAGGCATATATT	32	#f74308
127[144]	116[144]	TTGCAAAACTAATGCACCCAAAAATTGGAG	32	#1700de
18[239]	16[240]	TTTAATTGAACTAACGGAACAACCCCTCGTT	31	#333333
118[143]	125[143]	TTGTAAACAGAAAAGCGATACATATTAAATGCC	32	#7300de
47[192]	48[176]	GACAGATGCCGAACGTACCAACTAAATACAT	32	#333333
13[23]	44[23]	??????ATTAAATGGTATGCAGAGAACAGACAGCTACAAT??????	48	#333333
81[144]	64[149]	AATATTGGCAACAGAACAGCTGTTCTTTAGGCCATGTT	43	#007200
128[127]	129[143]	GCGTCCAAAGTTAGAAAACGAGAACAT	32	#333333
88[95]	90[96]	TATTTACGTGCGGCCCTGCCATCTAAGCTAC	31	#57bb00
40[79]	38[80]	TAGTTAATATTAATTAATTCCATTACAT	32	#333333
51[64]	53[63]	CCCTCAGAACAGTGCCGTATAAAATTAAGAG	32	#333333

14[271]	12[272]	GTCAGAAGGCGGATGGCTTAGAGCAGTACGGT	32	#333333
10[143]	8[144]	AAAATCGCACGTCAAGATGAATATAATTAAATT	32	#333333
103[144]	101[143]	AATCATTGACCTTCATCAAGAGTAGATGAACG	32	#888888
1[192]	2[176]	TCACATTAGGGTGCTTAATGAGTAGCGGGCG	32	#333333
50[271]	48[272]	CCTCAGCACTCATTTGACCCCCCTGATAAAAT	32	#333333
8[47]	6[48]	TCATCAATCAGTTGCCAAATCAATGAACCTC	31	#333333
74[207]	86[192]	TCAACAATTGTCTTCGCCATTAGGCTGC	32	#b8056c
72[159]	74[160]	TCTAAGAAAAATAAGAAATAATTCACTCCGA	31	#aaaa00
39[288]	41[287]	AGGCAAAGATATGCAACTAAAGTATTGCTGA	31	#333333
120[239]	111[223]	?????????TGGGAAGGGCGATCGCAGGCTGCAGAAAGTATGTTAATGC	47	#888888
73[144]	72[128]	CCCAATCCCGCGAGGCCTTTCAGCGAACCTCC	32	#b8056c
1[224]	33[223]	CCAGTCACATCGGTGCGGGCCTCAGATGGC	31	#333333
78[191]	80[192]	TAGTTAATAAAATCATAGGTCTGAGAAAACAT	32	#f74308
104[111]	113[107]	AAAATCTAGAGTAGTATTACGCAGCTT	28	#f7931e
82[191]	84[192]	AGCAAAAGTTAACGTCAAGATGAATATATCAA	32	#f74308
95[208]	80[208]	TTTGCGGTTAAATGTTTTAATTCCCTTA	32	#f74308
15[160]	17[159]	AGTACCGCTTCATCGTAGGAATCTAAGAAC	31	#333333
130[197]	131[197]	?????????GGAGGTTGAG?????????	28	#333333
15[64]	17[63]	AGAAAAATCTCCGACTTGCAGGGATTATCCT	32	#333333
19[128]	21[127]	GGAAACGCAACATATAAAAGAAACTAGAGCCA	32	#333333
41[288]	43[287]	ATATAATGTCTTACCTGACTATTAGAAA	31	#333333
160]	59[185]	AGCCGTTCAATAGCCGCTAGGGCGCTGGCAAG???????	40	#f74308
122[228]	123[228]	?????????CAATTGGCAT????????	26	#f7931e
83[144]	81[143]	AAACCCTCTGCGCGAACTGATAGCGCACAGAC	32	#b8056c
38[111]	36[112]	ACAAACATGTTAACGTCAAGATGGGAGCGGA	31	#333333
39[96]	41[95]	CTTGAAAAAGAAAACTTTCAACCTGTTA	31	#333333
51[128]	53[127]	AGGTCAAGATGGCTTTGATGATAACGGATAAG	32	#333333
5[192]	6[176]	CCGTAATGCCGTGGAACAAACGGTTAAAAT	32	#333333
111[64]	110[64]	?????????CTCATTAAAGCCAGAACACAAACAAATAATC???????	48	#57bb00
80[95]	82[96]	AATGGATTGCCAACAGAGATAGAAACCACCA	31	#f7931e
42[239]	40[240]	GAGGAAGCTTGCTCTTGTATTGATTCC	31	#333333
87[208]	72[192]	CAGGAAGAAGCGCCATCTTATCATAATCATTACCGCGCCAAAGCAA	48	#03b6a2

108[111]	125[111]	CCCTTATGTCACCAAATTAAATTGTCATAAGTAAGACAATATGA	48	#f74308
94[95]	96[96]	AGATTAAGTAATTGAGCTTCAATGCTGTAG	31	#b8056c
102[127]	104[128]	AAGAACCGTTGAGATGGTTAATTACAGTC	32	#57bb00
53[40]	52[48]	CTGAAACATGAAAGTCAGTTAAT	23	#333333
129[208]	106[208]	AGATTAAGAAAGACTTGAAAACGTCGACTCTGTACAAACAAAGTTT	48	#f74308
30[79]	28[80]	TCGTTAGAGAACCTAAAGGGAGCATTAAAGA	32	#333333
76[255]	75[255]	???TATCATATGCGTTATACAAATAGTAATTCTGTCCAGACGAC???	47	#f74308
24[175]	23[191]	AATCCTCAGCCTTGATATTCACATGTATCGG	31	#333333
4[47]	2[48]	TATTTACAGATTAAAGGGATTTCCCTCGTTA	31	#333333
116[191]	118[192]	TAATTGCGGTTATCCGCTCACAATCCC GGTA	32	#03b6a2
28[207]	28[176]	CCCAGCAGGC GAAAATCCTGTTGATGGTGGT	32	#333333
143]	6[144]	TAAAAGTTAATACATTGAGGATATAAAACA	32	#333333
80[255]	79[255]	???AACCTTGCTTGTAAATCGTGGTTATATAACTATATGTAA???	47	#f74308
46[47]	44[48]	AAACAATGTCTTACCAACGCTAAGTTGCTAT	31	#333333
37[288]	39[287]	TTCTAGCTAAGCCTCAGAGCATATACAGGCA	31	#333333
116[239]	107[223]	?????????GTAAAGCCTGGGTGGCCGGAAGAACGATCTTACAACGC	47	#7300de
33[224]	35[223]	GCATCGTAGTGAGCGAGTAACAAACAGGAAG	31	#333333
53[256]	52[272]	TCGTCTTCCAGACGTTAGTAAATGAGAATAG	32	#333333
112[127]	114[128]	GTGGACTCAGCAGATAGCCGAACAACTGGCAT	32	#03b6a2
33[192]	34[176]	TAATGGGATGGGAACAAACGGCGGAGAAGATA	32	#333333
44[47]	42[48]	TTTGCACCAAAATAATATCCATCGCCTGTT	31	#333333
30[175]	29[191]	ACGCTGCGGGCGCTGGCAAGTGCTAACTCA	31	#333333
0[271]	1[255]	AACAGCTGATTGCCCTCACCGCCCCAGCTGC	32	#333333
86[223]	88[224]	CCAGGCAATCGCACTCCAGCCAGCTCCGTGG	31	#f74308
100[250]	100[224]	?????????TGCCACTACGAAGGCACC	26	#888888
10[111]	8[112]	TTACCTGAAATAAGAAATTGCGTTGCGGA	31	#333333
94[127]	96[128]	ATAGTCAGAGCAAACCTCAACAGGGATGGCT	32	#888888
31[23]	2[23]	??????AGACTA??????	18	#333333
9[256]	11[255]	GACAGTCATGTACCAAAAAACATTATACTAATA	32	#333333
65[157]	58[157]	TTGTCGGCAATAGGGTTGCA	20	#f74308
142[205]	137[191]	??????TTTCATAATCAAAATTAGCGTGAAGGCAC TTGAGGAC	46	#57bb00
144[205]	139[191]	??????GCCTTAGCGTCAGACCGACAGAAAGCAGCGAACCGATAT	46	#f74308

21[256]	23[255]	ACACTAAAGCAGCGAAAGACAGCAGCCGACAA	32	#333333
49[288]	51[287]	TACCAAGCGGCCGCTTTGCAGGGCGATATAT	31	#333333
34[47]	32[48]	GGTCAGTTGCCAACAGAGATAGACACCAGTC	31	#333333
45[288]	47[287]	ACCACATTGCTTGCCTGACGAGAAATCAAC	31	#333333
19[256]	21[255]	TTGACAAGCGAAATCCCGCACCTGAAAAGAAT	32	#333333
69[140]	77[143]	ACTAATACGAGCACATATAA	20	#f74308
23[64]	25[63]	CAGAACCGTTTAACGGGTCACTAACCTATT	32	#333333
88[247]	87[247]	?????CCGTCGGATTCTTCCGGCAC?????	31	#7300de
138[159]	139[175]	ATAATAATCGACAATGACAACAACCATGCC	31	#1700de
18[312]	45[312]	??????ATTCACTGAATATTCAACTTGAATAAGCAACTAATGC?????	49	#333333
52[111]	50[112]	TACTGGTACAGCATTGACAGGGAGGTATAGC	31	#333333
1[64]	100[64]	????????CCGGAACGAGGCGCAGGCTCCATGTTACTTAG???????	48	#1700de
21[96]	23[95]	ACCGACTTGGCATTTCGGTCATCACCTCA	31	#333333
100[223]	113[239]	AACCTAAATTCCATTAAACGGTAGCAGGGATGTTGAT???????	47	#f74308
40[143]	38[144]	TAAATGCTAGAGTCATAGTGAATATTATTCA	32	#333333
135[87]	136[87]	??????GACGTTGGGATTTCTGTATG??????	33	#b8056c
23[128]	25[127]	CGCCAGCAATTACCGTTCCAGTATTAGCGGG	32	#333333
64[185]	64[165]	??????GGTTGCCAGCA	21	#f74308
7[96]	9[95]	AGGAGCACACCACCAGAAGGGAGCTGCACGT	31	#333333
139[192]	138[208]	ATTCGGTCGCTGAGGCTTGCAAGGGCGCTTTG	32	#b8056c
13[288]	15[287]	TGAATATAAGGTCTTACCTGACAGTTAG	31	#333333
1^1[228]	125[228]	??????GATTCCAGTT???????	26	#007200
39[64]	41[63]	TCGTCGCTTCATCTCTGACCTAATAAACAC	32	#333333
16[47]	14[48]	AGCCTTAACAACAATAGATAAGTACAACATG	31	#333333
89[176]	87[175]	AAATAATTGGTAGATGGCGCTGCATCTG	31	#007200
85[54]	85[79]	??????TACATTGAGGATTAGAA	26	#f74308
22[239]	20[240]	AGGGTAGCTAAACGAAAGAGGCCTCCATGT	31	#333333
80[223]	82[224]	AATTAATTGGAAACAGTACATAAAAAATCG	31	#f74308
35[288]	37[287]	TGTTAAATGTAGCTATTTGAGTTCAACCG	31	#333333
17[256]	19[255]	CAGGTAGAAGTAGTAAATTGGCTGAGTAATC	32	#333333
43[192]	44[176]	AATAGTAAAAAGAAGTTTGCAGAACATCATT	32	#333333
23[23]	53[39]	??????CCACCGGAACCCCCGTATCTATT	32	#333333

87

90[159]	99[167]	TAAATCATCAAAGTTTATGTAATAATCTTATAGAAAA	39	#888888
11[96]	13[95]	CTATTAATAATCCAATCGCAAGAACCGGAAT	31	#333333
50[207]	48[208]	AAGACTTTACGTAATGCCACTACGTCAATCA	32	#333333
1[256]	3[255]	ATTAATGAGAAATTGTTATCCGCTGACGGCC	32	#333333
109[224]	121[239]	TCACCGTAGAACATGCAACTGT???????	31	#f74308
5[23]	36[23]	??????CACCAGTCACAAACCTCTGAAAGGTCTGAATAAT??????	48	#333333
25[160]	25[191]	CGAGAGGGTTGATATAAGTATAGCACCAGTA	31	#333333
19[288]	21[287]	AACGTAACGAGATTGTATCATCCCCAGCGA	31	#333333
56[156]	43[159]	GAAAAGAACAGAGCATTTCAACAAGCA	29	#f74308
33[160]	35[159]	AAAATACCGTGAGGCGGTAGTATTCGACAA	31	#333333
129[176]	118[176]	TATAGTCATTCAAAGGGTAACCGGAATTG	30	#aaaa00
192	4[176]	GCAAGGCGCAGCTGGCAAAGGGACTTGCCT	32	#333333
8[271]	6[272]	TACAAAGGATTTGTTAAAATTGAAAATAAT	32	#333333
91[64]	76[80]	????????ACGGAGGATCCCCGGGTGTTACCTCTCCTTATAAACGCAA	48	#7300de
102[159]	104[160]	GCTGGCTGTGAATTACCTATTCGGTGATAT	31	#7300de
42[111]	40[112]	AAGTAATTGCGTTATACAAATTCAAGACAA	31	#333333
35[224]	37[223]	ATTGTATAAGAGAACGATGAACGTAGGTA	31	#333333
116[175]	123[175]	CACTGCCCGGGAAACTACATTCATAAACCT	32	#aaaa00
14[47]	12[48]	TTCAGCTATTGAAATACCGACCGTTAGTTA	31	#333333
82[79]	94[64]	AGGTGAGGTAAAAGGGCGAAAGAC???????	32	#f74308
149[176]	134[176]	GATAAGTGGGTTGATGCCCTTCACCGGAAAAACACTTGTGTCG	45	#b8056c
14[159]	131[167]	TTAAATGCTAGATGGTTATGTTCAACACCACAAAAG	38	#7300de
104[250]	103[250]	????????CACGTTGAAAATATTCGGT???????	37	#7300de
25[192]	24[208]	CAAACCTACAACGCCGTAGCATTCCAAAAAA	32	#333333
102[250]	101[250]	????????CGCTGAGGCTTAAATACGTA???????	37	#007200
29[256]	31[255]	AATGAATCATTGTTATCCGCTACCGGCCAGT	32	#333333
24[239]	22[240]	TAATTTGATACCGATAGTTGCTCGGAACG	31	#333333
77[112]	75[111]	GAAAATACGCCAACAAAGTTACTAACCCAC	31	#333333
22[143]	20[144]	CAAGTTGACCAGTAGCACCATTACACATA	32	#333333
129[144]	118[144]	AAATCAAAATAGTAAAATCACATTATTTAAA	32	#f7931e
2[47]	0[48]	GAATCAGATGAACCACACCCAGGCGAAAA	31	#333333
106[127]	108[128]	TTATCACCTCGATAGCAGCACCGTCATCGGC	32	#888888

37[160]	39[159]	AACGGATTATCGCGCAGAGGCAGATTATCAA	31	#333333
95[112]	93[111]	AGACCGGAAAGCAAAGCGGATTGATAAATAT	31	#1700de
30[47]	28[48]	GCCGATTATGGGTCGAGGTGCCGAAAAACC	31	#333333
52[79]	50[80]	CTTGAGTAGCCGCCACCAGAACCATTCATAA	32	#333333
11[64]	13[63]	TGAGTGAACACTTTCAAATATATTGTGATAA	32	#333333
91[112]	89[111]	TGGTCATATGAGTAAACAGGGCTTGTAAGCA	31	#f74308
7[288]	9[287]	TTTGTAAAGGGTAGCTATTTTATATTCAA	31	#333333
33[288]	35[287]	CACTCCAGGGAACGCCATAAAATAAATTT	31	#333333
121[76]	120[76]	??????GGCGCAGATG??????	24	#57bb00
34[111]	32[112]	CAAATGAATGAATGGCTATTAGTCATGGAA	31	#333333
20[175]	19[191]	TATGTTAGGATTAAGACTCCTACTTTGAAA	31	#333333
.[175]	11[191]	AGGTCTGAAATAGTGAATTATCGGTCAATA	31	#333333
98[192]	89[175]	????AAAGACAAAAGGGTCAATCAAGCTCATTTTAACGCCATCAA	48	#57bb00
38[239]	36[240]	TACTTTGAAAGGGTAGAAAGGGAGTCTGG	31	#333333
7[64]	9[63]	AGGAATTGTCCTGATTATCAGATGGAAAGGGT	32	#333333
37[23]	8[23]	?????GGATGA??????	18	#333333
12[207]	10[208]	GACCATAAGCTATTTCATTTTATTTCA	32	#333333
74[255]	73[255]	???GACAATAAACACATGTTAGAAACCAAGTACCGCACTCAT???	47	#f74308
75[144]	73[143]	GAAACAATTAAACGTAAAAATGATTATTAT	32	#57bb00
37[128]	39[127]	GTAACAGTACCTGAGCAAAAGAAGGATTAAGA	32	#333333
81[112]	79[111]	GACCTGAACATTTGACGCTAAGAACCGC	31	#03b6a2
115[143]	123[143]	AGATCTACAAGTTATAGTAATGTGATAAAAAA	32	#cc0000
46[312]	17[312]	??????CAGAA??????	17	#333333
29[288]	31[287]	TTGCGTATTAATCATGGTCATAGGACTCTAG	31	#333333
22[175]	21[191]	ATAGCAGCAAACGTCAACCATGATTCCATTA	31	#333333
4[79]	2[80]	TACATTTCCAGAACCTGAGAAGGGTTGCTT	32	#333333
129[112]	106[112]	CTTTAAACTACTGCGATTGCGTAATCGCTGAAACCAGTCACCG	45	#03b6a2
2[111]	0[112]	CGCCGCTATAAAGGGAGCCCCGTGAGTGTT	31	#333333
136[227]	137[227]	????????TAAACTCCAT??????	24	#b8056c
29[96]	31[95]	TAGAGCTCGAGCACGTATAACGAGTAAAG	31	#333333
77[163]	70[157]	TAATGAAATTACGGAATTACGTGAATATGA	31	#f74308
139[176]	143[171]	CACGCATAAAGACAGCATCGGAAACGGCTACGTTTACGGT	43	#03b6a2

137[128]	145[143]	GAGTGAGATCTCAAAGCAAGGCCGGAAACGT	32	#03b6a2
76[127]	78[128]	AGCAGATAATACATAAAGGTGGCACGGAAGCA	32	#888888
116[159]	118[160]	TTCATCTACAGGAAGATTAGCTGGTCATGTA	31	#f7931e
106[207]	123[207]	GTCGTCTTATAGAAAGGTGAGCTAACGCCAGCGAACGACGCGAGCT	48	#b8056c
11[224]	13[223]	AGCTGAAACTGCGAACGAGTAGAGATTAGAG	31	#333333
9[23]	40[23]	??????TTGTTGGATTGAATTATATGTGAATACCGACCG???????	48	#333333
74[79]	86[64]	GAGAATTATTACCAACTCACGACG???????	32	#f74308
3[64]	5[63]	ACGGTACGGACGCTCAATCGTCTGGGGACATT	32	#333333
32[207]	30[208]	TACGCCAGAAGTGGTAACGCCAAAGTGTAA	32	#333333
19[23]	50[23]	??????AGAGCAAGAAAGGCACAGACGGAAACCTCAGAGCC???????	48	#333333
17[224]	19[223]	AATAAAACCAACTTAATCATTGCCAGGCGC	31	#333333
2[111]	132[87]	TCAACGTAACAAAGCTGCT???????	25	#03b6a2
14[239]	12[240]	TAAGAGGATAATTGCTCCTTTGCAGTTGAT	31	#333333
30[271]	28[272]	TGTGTGAAGGCCAACGCGCGGGGACGGGCAAC	32	#333333
10[79]	8[80]	CATCAAGAACCATATCAAAATTATGGAATTAT	32	#333333
109[144]	107[143]	ACCACCCCTAGACTGTAGCGCGTTAACAGTA	32	#f74308
85[112]	83[111]	GTATTAAATATCTAAAATATCTTGAAAAAT	31	#888888
78[223]	80[224]	AAGAACGCCCTCCGGCTTAGGTTGCGCTATT	31	#f74308
10[271]	8[272]	AAATCGGTAAATCACCCTCAATATGGAGAGATC	32	#333333
44[207]	42[208]	GCTTTGCAATGTTAGACTGGATTATCGCGT	32	#333333
111[224]	111[250]	CCCCCTGCCTATTCGGAA?????????	26	#7300de
112[112]	95[111]	TGATTCCAATTGCTGAATATAAAGCGAAC	31	#1700de
15[192]	16[176]	GGTAATAGTGCAAAAGAAGTTGGCAAGCCG	32	#333333
110[250]	109[250]	?????????CCTATTATTCTCTCAGGAGGT?????????	37	#888888
96[191]	97[207]	CAAAATTAGTTAGCTATTTTCAATTGGGG	32	#03b6a2
42[79]	40[80]	AACATGTTAATTACTAGAAAAAGATATATT	32	#333333
97[176]	95[175]	AATAACCTAGCAATAAAGCCTCACTAAATCG	31	#333333
77[176]	75[175]	TACCGACCTGCCATATTAACAGTAATT	31	#f74308
6[239]	4[240]	CAACATTAGTAACCGTGCATCTGGCAACTGT	31	#333333
123[144]	112[128]	TTTTAGATTAAGCAAAGAAGGAAAACAAGAGTCCACTATTAAAGAAC	48	#007200
57[149]	40[144]	CGAACCGTCTAACAGTAGACTATATG	27	#f74308
42[207]	40[208]	TTTAATTCTCCAACAGGTCAGGATAGTTGAC	32	#333333

84

49[192]	50[176]	GGGTAAAATTGAGGAAGTTCTGAGCGAC	32	#333333
118[159]	120[160]	TAAGCAAATAATGTGAGGGCGATGCAACGA	31	#007200
131[128]	131[151]	????????GATTTAGGAATACCCAC	24	#57bb00
100[191]	102[192]	AAAACACTTTGAGGACTAAAGACGTCACCCCT	32	#333333
38[271]	36[272]	TGGTTGTCACCATCAATATGATAAGATCTAC	32	#333333
17[64]	19[63]	GAATCTTATCAGAGAGATAACCCAAGCTATCT	32	#333333
17[96]	19[95]	GAGCCTAAAACAAGTCAGAGGGTAAGCAGA	31	#333333
81[160]	83[159]	TAAAGAAACATCTAGTCTTAAAATCAATA	31	#b8056c
37[224]	39[223]	AAGATTACGGGAGAACGCTTAGCGCGAGC	31	#333333
75[176]	73[175]	GGCAGAGGAGAAAAATAATATCCTACGAGCA	31	#f74308
86[127]	88[128]	GATGTGCTGGATGTTCTTAAGTTATGACA	32	#7300de
1[144]	132[128]	ACAAATAACCAGAGCCAATTGGGCAGAGTAATCTTGACAAGAACCGGA	48	#333333
29[128]	31[127]	GCGAGAAACCGCTACAGGGCGCGTCCGTTGTA	32	#333333
132[227]	133[227]	????????GACCAGAACT???????	24	#b8056c
28[271]	29[255]	AGCTGATTGCCCTTCACCGCCTGGGCTGCATT	32	#333333
72[223]	74[224]	ATCGTAGGTCCAAGAACGGGTATTCTAATGC	31	#f74308
34[207]	32[208]	ATTCTCCGTAGGTACGTTGGTGTTCGCTAT	32	#333333
4[312]	31[312]	??????TCCGGCACCGCCCCGGTACCGCTCCGGGTACCGA???????	49	#333333
49[256]	51[255]	CTAAACAGCGAAAGACAGCATCGGACAATGA	32	#333333
51[96]	53[95]	GCCGCCGCATAAGTTAACGGGTAGGATTA	31	#333333
114[191]	116[192]	CGGGCAACCCAGCTGCATTAATGAACTCACAT	32	#cc0000
21[312]	21[312]	??????AGGAC???????	17	#333333
38[175]	37[191]	GTTACAAACGCTGATTGCTTGTATATAT	31	#333333
145[109]	144[109]	??????ACCATGTAGC???????	22	#57bb00
21[23]	52[23]	??????AACCGATTGAGACCAGAGACCCCTAGCCTATTCGG???????	48	#333333
46[239]	44[240]	AATTTCAACTAACGGAACACATTGTTAC	31	#333333
9[128]	11[127]	CAGGTTAGCAGAGGCGAATTATTATCCTTGA	32	#333333
106[250]	105[250]	????????AGCCCTCATAGATAATTTTT????????	37	#f7931e
41[256]	43[255]	TTTTGCGAGCGGATTGCATCAAATTCTTGA	32	#333333
28[143]	29[127]	AAGAATAGCCCAGAGATAGGGTTGACGAACGTG	32	#333333
95[144]	93[143]	AGAGAGTAAATCAGGTCTTACCCCTAACAGT	32	#7300de
49[64]	51[63]	ACCGTCACACCGGAACCAAGAGCCACCA	32	#333333

93[64]	78[80]	?????????ACTGGATAGCGTCCAAATAGTAAACCTGTCGTTACATTA	48	#57bb00
145[144]	136[144]	CACCAATGCCATTGGGAACAACACTGTAACGA	32	#7300de
41[128]	43[127]	TATAAAGCAATATAAAGTACCGACCAGGTATT	32	#333333
50[79]	48[80]	TCAAAATCCGACTTGAGCCATTGTTACCAGC	32	#333333
45[192]	46[176]	TCAGGACGTTAAGAACTGGCTCATATAACATA	32	#333333
66[185]	66[165]	????????GTGAGGCCACCGAG	21	#f74308
50[175]	49[191]	AGAATCAAGCAGCACCGTAATCACATTAAC	31	#333333
30[143]	28[144]	TTAATGCAGGGAAAGGGAAAGAAAGCGTAAATCAA	32	#333333
1[128]	3[127]	CTTGACGGCCACCACACCCGCCGCAAGAGTCT	32	#333333
39[192]	40[176]	TGTTTAGCACATTCGCAAATGGTTTTAACCC	32	#333333
36[47]	34[48]	ATTATACTAATTGAGGAAGGTTACAATATCT	31	#333333
160]	5[159]	CTTCTTGAACTCAAACATATCGTGCAGCGAA	31	#333333
42[271]	40[272]	AGAAGCAAGATGGCTTAGAGCTAACGGTGT	32	#333333
60[185]	56[157]	????????GGCGCGTACTATGGTTGCTTGACGATGGTGGTTGC	43	#f74308
1[160]	3[159]	AAGGAAGGCTGGCAAGTGTAGCGTAGCAATA	31	#333333
11[128]	13[127]	AAACATAGGGGTTATATAACTATATTAGTATC	32	#333333
29[192]	30[176]	CATTAATTGTGCCTAACATGAGTGAGTAGCGGTC	32	#333333
146[194]	147[194]	??????AGGTTTCAGG???????	22	#f7931e
5[256]	7[255]	AGGGGACGGGCCTCCTGTAGCCAAATTGTAA	32	#333333
106[191]	108[192]	TTAGTAAACCGTAACACTGAGTTCCCTCAGA	32	#7300de
125[180]	114[176]	CTAACATTAGACTGTCGTGAGCTGAT	26	#888888
117[176]	116[176]	CAGGTCAGATATAATGTGAAATTTCGCGCT	30	#f7931e
19[64]	21[63]	TACCGAAGTTCATATGGTTACCAATTGACGG	32	#333333
105[96]	118[96]	TGAGATTCAATTGGAAACTAGTTGTTAA	30	#03b6a2
2[207]	0[208]	TAAAGCCTATTGCGTTGCGCTACCGCTGGTT	32	#333333
150[183]	152[152]	?????CGTCATACATGGCTTTGAGTGTACTTTAACGGGGTCAGT	46	#1700de
41[96]	43[95]	GTATCATACTGTCCAGACGACGAAATCGGCT	31	#333333
42[47]	40[48]	TATCAACAAGGCGTTAATAAGAAATTAAAT	31	#333333
93[144]	91[143]	TCAGAAAAAGACGACGATAAAAACAATTGTTA	32	#7300de
14[207]	12[208]	CGTTTAAACTCCAACAGGTAGTTAGTT	32	#333333
24[111]	22[112]	ACATGGCTACCAGAACCAACCGTAGCGCG	31	#333333
51[160]	53[159]	AAATAAATTCTGAATTACCGTTATAGCCC	31	#333333

82

73[112]	72[96]	CCAGTTACGGGAGGTTTGAAAGCCTTAAATC	31	#007200
79[112]	77[111]	CAACGCGCAAAGCCTGGGTGCCAACGTA	31	#1700de
46[79]	44[80]	AGAATTGAGCCTAATTGCCAGTTGCCGGAGG	32	#333333
134[227]	135[227]	??????AAAGTGAAC??????	24	#b8056c
86[247]	86[224]	?????CGCTTCTGGTGCCGGAAA	23	#f7931e
6[47]	4[48]	AAATATCACGACCAGTAATAAAAAATGGAT	31	#333333
6[207]	4[208]	CGGATTCTGGATAGGTACGTTGGCTTCGC	32	#333333
39[160]	41[159]	ATCATAGGAGGTTGGTTATATAGGCTTAAT	31	#333333
142[159]	144[160]	CCAGAAACAGTCACCGTCATTTCGGCACC	31	#f7931e
0[239]	1[223]	AGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCATGCCGCT	31	#333333
13[64]	15[63]	ATAAGGCGCAGACGACGACAATAACCTGAACA	32	#333333
2[256]	24[272]	TTGTCGTCTTCCAGACGTTAGTAAGTGAGAA	32	#333333
52[143]	50[144]	CGTCATACCGATTGGCCTTGATATCAGACTGT	32	#333333
21[224]	23[223]	CACCAACCAACGGCTACAGAGGCATTTCTTA	31	#333333
22[47]	20[48]	TCACCGGAGGAGGGAAAGGTAAATGCGCCAAA	31	#333333
68[185]	77[162]	??????TTCTTGATTAGTAATAACCC	28	#f74308
15[23]	46[23]	?????CGCCTGTTATATCAAGAACCTGAAAAATAGCAAT?????	48	#333333
18[47]	16[48]	GAGTTAAGGCACCCAGCTACAATGGTTTGA	31	#333333
3[224]	5[223]	TTCCCAGTGCATCGGTGCGGGCTGTAGATG	31	#333333
105[64]	104[64]	??????TTACAGGTAGAAAGATTAACGGAACACATTA???????	48	#333333
47[64]	49[63]	AGCAGATAACAAAGGGCGACATTGAATTATC	32	#333333
2[224]	25[223]	AACAGCTTCACGTTGAAAATCTCACAGACA	31	#333333
48[207]	46[208]	TAAGGGAAAACGGTGTACAGACCAATTACCTT	32	#333333
124[127]	126[128]	AGATTCAACGTTCTAGCTGATAAAACGCCAA	32	#333333
19[224]	21[223]	ATAGGCTGCGAACGAGGCGCAGTACGAAGG	31	#333333
23[160]	25[159]	GACGATTGTTAAAGCCAGAATGGAGTGCCGT	31	#333333
106[111]	123[111]	ACTTGAGCTAGGAATAAGAGTCTGCATATAAAAGAAAGGTTTGC GG	48	#b8056c
14[111]	12[112]	AGAATATACTAGAAAAAGCCTGTTGAAATG	31	#333333
118[127]	120[128]	TTTGTAACTGGCCTTCTGTAGCGGGAACAA	32	#03b6a2
8[175]	7[191]	ATTAATCTTACAAACAATTGAATGTACCC	31	#333333
72[191]	74[192]	GCAAATCACCAATCAATAATCGGCAGATAAGT	32	#f74308
5[224]	7[223]	GGCGCATCAATGTGAGCGAGTAAAAACAGG	31	#333333

140[205]	135[191]	??????CGCCACCCCTCAGAGCCCCGCCACCTGATAAAATCATCTTG	46	#cc0000
132[127]	142[132]	TATTCATTGAGAAACACCAGAACTACCTTATGCCTTGATTGAG	44	#aaaa00
132[207]	133[191]	AGAGGACAGATGAACGGGTACAGACGAGGCG	32	#7300de
25[96]	24[112]	ACTCCTCAAGAGAAGGATTAGGAAGCGTCAT	31	#333333
25[23]	24[48]	??????CAGTTAATGCCCTGCCTATTCGGGCCTTGAG	40	#333333
139[144]	143[143]	AGTTGCGCTTTTCACGTTAAAAATAGAAAGGAATTAGACACAGACA	48	#f74308
31[64]	33[63]	TTTTTATTTACATTGGCAGATTACCCCTCT	32	#333333
103[176]	101[175]	CTTGATACAAAGACAGCATCGGACAACGGCT	31	#03b6a2
17[288]	19[287]	AATACCACAAGGCTTGCCTGACCCCAAATC	31	#333333
32[47]	30[48]	ACACGACCGTACGCCAGAACCTAACAGGGAG	31	#333333
72[95]	74[96]	AAGATTAGGCGTCTTCCAGAGCAAAACAGG	31	#03b6a2
,96]	3[95]	CGGAACCCCAGGGCGCGTACTATTGTTTTA	31	#333333
114[175]	122[160]	TGCCCTTCCCTGAGAGAGGCAAGGCAAAGAAT	32	#57bb00
22[207]	20[208]	CTAAAGACAAATACGTAATGCCACACGGTCAA	32	#333333
33[96]	35[95]	AATATTTAAATCTAAAGCATCATAGATTAG	31	#333333
34[271]	32[272]	CGTCTGGCACAGTATGGCCTCAGGGCAAAGC	32	#333333
116[127]	118[128]	TCAGGTCAACCCCGGTTGATAATGTTAATAT	32	#f7931e
74[191]	76[192]	CCTGAACACATTTCAGGCCAGTAAGGGCTTA	32	#f74308

Se dă în continuare un exemplu de realizare:

EXEMPLU

Pentru construirea formei de pin se utilizează un amestec de concentrație 3 - 5 nM secvență scaffold și un exces de 18-20 ori din fiecare dintre secvențele capsă (indicate mai sus) într-un volum final de 100 µl.

Protocol:

1. TAE/Mg²⁺ - buffer (600 µl apa, 400 µl TAE 5X, 1000 µl MgCl₂ sau Acetat de magneziu);
2. În tub Eppi de 2 ml: 729 µl buffer, 1 µl staple x 221, 50 µl scaffold;
3. Vortex;
4. Transfer 100 µl în tuburi PCR;
5. Program PCR (90°C la 4°C în aproximativ 12 ore după cum urmează: de la 90° la 86°C cu o rată de 4°C per 5 min, de la 85° la 70°C cu o rată de 1°C per 5 min, de la 70° la 40°C cu o rată de 1°C per 15 min, și 40°C la 25°C cu o rata de 1°C per 10 min, ținute la final la 4°C)

Structurile obținute în urma acestui proces pot fi vizualizate cu ajutorul microscopiei de forță atomică.

g) Combinarea de secvențe ADN monocatenare ce permite asamblarea și obținerea structurii la nivel nanometric poate fi utilizată în domeniul biotehnologiilor la nivel educațional, servind ca model de studiu al capacității de autoasamblare a ADN-ului în cadrul laboratoarelor de profil din centre educaționale (licee, universități sau laboratoare de cercetare) putând fi comercializată sub formă de kit de reactivi de laborator fiind disponibile multiple abordări.

Biliografie

1. Zhang Y., Wang C., Dong Y., Wang D., Cao T., Wang S., Liu S., 2019, Fold 2D Waven DNA Origami to Origami Structures, *Adv. Funct. Mater.* 1-8.
2. Jung H., Zhang F., Shepherd T., Ratanaert S., Qi X., Yan H., Bathe M., 2019, Autonomous designed free-form 2D DNA origami, *Science Advances*, 5: aav0655.
3. Zhang F., Jiang S., Wu S., Li Y., Mao C., Liu Y., Yan H., 2015, Complex wireframe DNA origami nanostructures with multi-arm junction vertices, *Nature Nanotechnology*, 10, 779-784.
4. Rothemund P.W.K., 2006, Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns, *Nature*, 440, 297-302.
5. Andersen E.S., Dong M., Nielsen M., Jahn K., Subramani R., Mamdouh W. Et al., 2009, *Nature*, 459(7243), 73-76.
6. Pumm A.K., Engelen W., Kopperger E. et al. 2022,A DNA origami rotary ratchet motor. *Nature* 607, 492–498. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04910-y>
7. Lin-Shiao E., Pfeifer W.G., Shy B.R., Doost M.S., Chen E., Vykunta V.S., Hamilton J.R., Stahl E.C., Lopez D.M., Sandoval Espinoza C.R., Deyanov A.E., Lew R.J., Poirer M.G., Marson A., Castro C.E., Doudna J.A., 2022, CRISPR–Cas9-mediated nuclear transport and genomic integration of nanostructured genes in human primary cells, *Nucleic Acids Research*, Volume 50, Issue 3, Pages 1256–1268, <https://doi.org/10.1093/nar/gkac049>
8. Yao G., Zhang F., Wang F. et al., 2020, Meta-DNA structures. *Nat. Chem.* 12, 1067–1075 <https://doi.org/10.1038/s41557-020-0539-8>
9. Fang W., Jia S., Chao J. et al., 2019, Quantizing single-molecule surface-enhanced Raman scattering with DNA origami metamolecules, *Science Advances*, DOI: 10.1126/sciadv.aau4506
10. <http://perdix-dna-origami.org/>
11. <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>
12. <https://www.freecadweb.org/>

REVENDICĂRI

Revendicarea inventiei ‘Customizarea secvenelor de acid dezoxiribonucleic pentru construirea unei structuri ADN origami complexe de tip pin’ care se referă la crearea unei combinații specifice de secvențe sintetice scurte de ADN monocatenar (denumite și secvențe capsă) ce determină plierea unei secvențe lungi de ADN monocatenar provenind de la bacteriofagul M13mp18 (denumită și secvență scaffold) în formă predefinită, de pin cu o rigiditate mai mare față de abordarea clasică.

44

DESENE

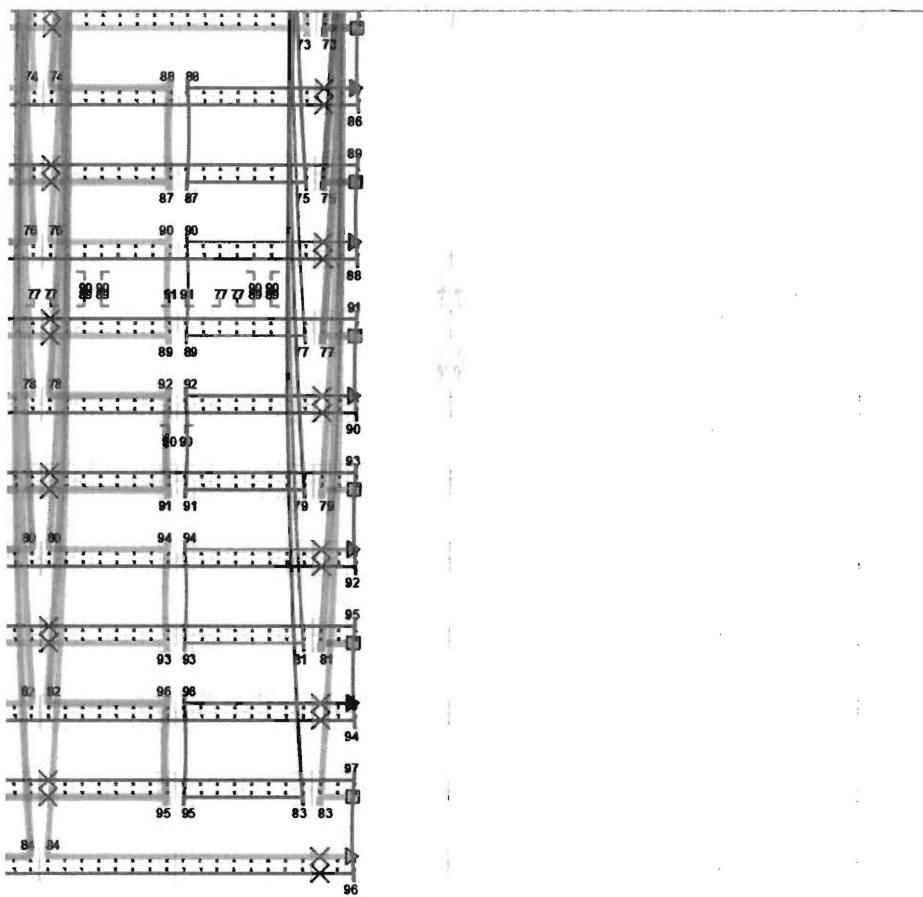


Fig1. Conexiuni ale secvențelor capsă.

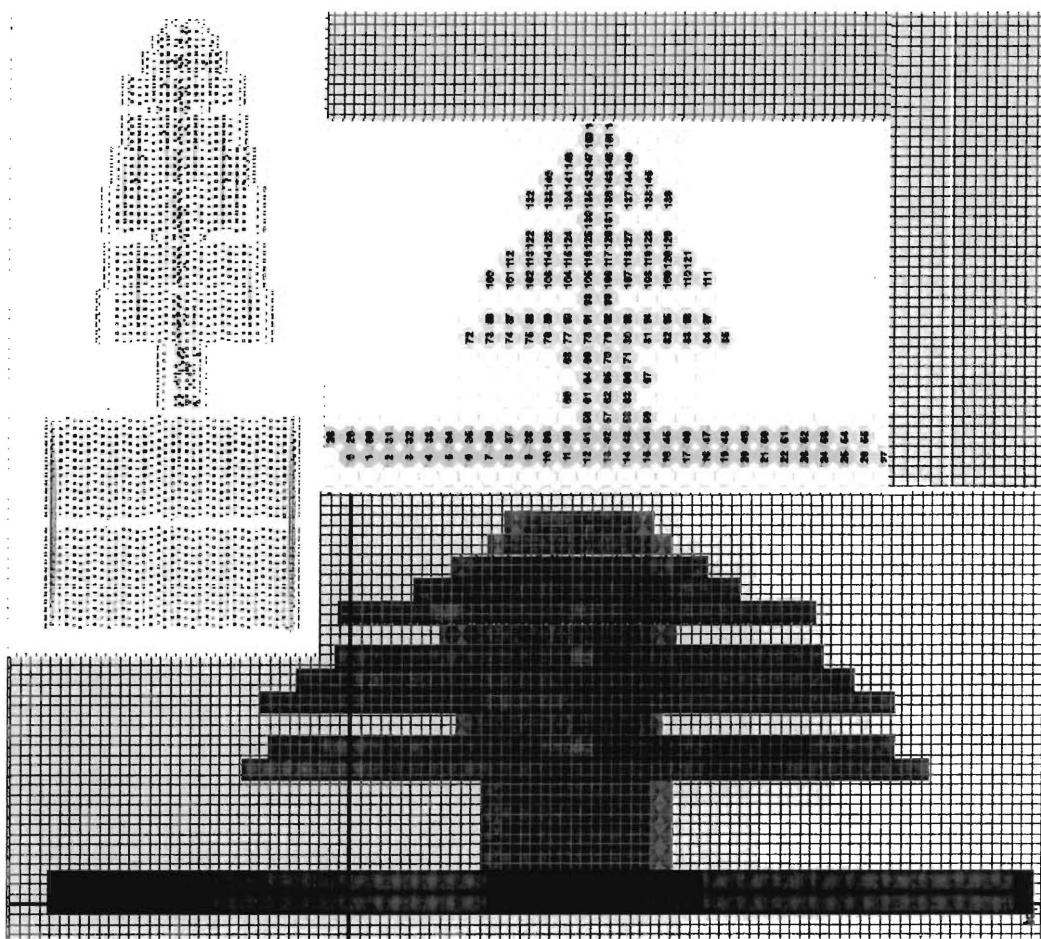


Fig 1 Vizualizare 2D a structurii ADN origami în formă de pin



Fig 3. Vizualizare 3D a structurii ADN origami în formă de pin