

122018-2

국제
연구
네트
워크
기반
신변종
가축
감염병
에 대한
유전자
DB
구축 및
신속
현장
유전자
진단
키트
실용화
연구

최
종
보
고
서

2024

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

가축질병대응기술고도화지원사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004667-01

국제연구네트워크 기반 신변종 가축 감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구

2024.06.18

주관연구기관 / 포스트바이오(주)
공동연구기관 / (주)중앙백신연구소

농림축산식품부
(농림식품기술기획평가원)

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구”(개발기간 : 2022. 04. ~ 2023. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

납본일자 2024.06.18

주관연구기관명 : 포스트바이오(주) 천 두 성 (직인)
공동연구기관명 : (주)중앙백신연구소 윤 인 중 (직인)
위탁연구기관명 :

주관연구책임자 : 천 두 성 (인)
공동연구책임자 : 이 주 용 (인)
참여기관책임자 :

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

최종보고서							보안등급			
							일반[<input checked="" type="checkbox"/>], 보안[<input type="checkbox"/>]			
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		가축질병대응 기술고도화지원사업			
전문기관명 (해당 시 작성)	농림수산식품기술 기획평가원				내역사업명 (해당 시 작성)					
공고번호	농축 2022 - 17			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)				연구개발과제번호 RS-2022-IP122018		
				연구개발과제번호						
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB0710	100%	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%			
	농림식품과학기술 분류	RB0201	100%	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%			
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	국문									
	영문									
연구개발과제명	국문		국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구							
	영문		Research on the establishment of a gene DB for new strains of livestock infectious diseases based on an international research network and the practical application of a pen-side diagnostic kit							
주관연구개발기관	기관명	포스트바이오(주)		사업자등록번호		264-81-18840				
	주소	(12106) 경기도 남양주시 순화동로 282		법인등록번호		110111-5177830				
연구책임자	성명		천두성		직위		대표이사			
	연락처	직장전화	031-523-2731		휴대전화					
		전자우편	dscheon@ postbio.com		국가연구자번호		1010 1289			
연구개발기간	전체		2022. 04. 01 - 2023. 12. 31(21 개월)							
	단계	1년차	2022. 04. 01 - 2022. 12. 31(9 개월)							
	(해당 시 작성)	2년차	2023. 01. 01 - 2023. 12. 31(12 개월)							
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금
	현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	
총계	968,000	30,050	270,450	300,500				998,050	270,450	1,268,500
1단계	1년차	416,000	11,650	104,850				427,650	104,850	532,500
	2년차	552,000	18,400	165,600				570,400	165,600	736,000
n단계	1년차									
	n년차									
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)	기관명	책임자	직위	휴대전화		전자우편		비고		
	역할	기관유형								
공동연구개발기관	중앙백신 연구소	이주용	사장	010-9377-2106		jason.lee@ cavac.co.kr		공동	중소 기업	
위탁연구개발기관										
연구개발기관 외 기관										
연구개발담당자 실무담당자	성명		마희재		직위		이사			
	연락처	직장전화	031-523-2731		휴대전화					
		전자우편	hjma@ postbio.com		국가연구자번호		1151 6359			

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024 년 2 월 29 일

연구책임자: 천 두 성 (인)
주관연구개발기관의 장: 천 두 성 (직인)
공동연구개발기관의 장: 윤 인 중 (직인)
위탁연구개발기관의 장: (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명	가축질병대응기술고도화지원사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호			
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0710	100%	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%
	농림식품 과학기술분류	RB02201	100%	2순위 소분류 코드명	%	3순위 소분류 코드명	%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명	국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구						
전체 연구개발기간	2022.04.01.-2023.12.31. (21개월)						
총 연구개발비	총 1,268,500천원 (정부지원연구개발비: 968,000천원, 기관부담연구개발비 : 300,500천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[○] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]			기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							

연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<p>아프리카돼지열병, 고병원성 조류인플루엔자 등 산업동물의 감염병 중 돈군 또는 계군에 치명적인 감염을 유발할 수 있는 감염성 병원체에 대해 국내외에서 검출된 병원체의 유전자 DB를 구축하여 병원체의 변이에 대응하기 위한 인프라를 구축하고 대상병원체의 검출을 위한 현장진단시스템을 개발을 통해 감염병의 확산을 효율적으로 대응하는 진단툴을 제공하고 정확한 진단에 근거하여 신속한 사전행정조치 등의 시행을 통해 감염된 산업동물군의 대량매몰 등의 살처분에 소요되는 국가예산의 집행 및 행정적인 낭비를 최소화하고자 함.</p>
	전체 내용	<p>1) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 조사를 통한 진단타겟 선정</p> <ul style="list-style-type: none"> • 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협의를 통해 과제의 RFP에서 제시하는 질환군에 대한 국내외 발생조사 및 문헌검색 • 과제 RFP에서 제시하는 2종 이상의 신변종 가축감염병에 대한 병원체는 반드시 포함하며 그 외 가축감염병 중 현안이슈가 되어 현장진단이 필요한 감염성 병원체 타겟을 추가로 선정 <p>2) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 유전자분석법 확립 및 유전자 DataBase 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> • 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협업을 통해 신변종 가축감염병에 대한 유전자분석부위의 설정 및 블라스트분석 등 유전자 레벨의 유연관계 분석 <p>3) 고감도 유전자진단법(Taqman based Real time PCR)기반 진단법 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> • 대상타겟병원체 : 최소 2종 이상 • 민감도 : OIE 등에서 제시한 표준시험법과 비교과 비교하여 민감도 90%이상, 최소검출한계 100copies/Rx (Ct 35이하) • 특이도 : OIE 등에서 제시한 표준시험법과 비교하여 특이도 평가추가 (90%) <p>4) 현장진단을 위한 핵산추출과정과 핵산검출이 통합된 진단 카탈리지제조</p> <ul style="list-style-type: none"> • 기확보한 협업체계를 통한 현장용 진단장비와 연동 (기기제조업체와 NDA 체결 2019.11) • 시료의 주입만으로 핵산추출과 핵산검출이 가능한 시스템 구현 • 신변종 가축감염질환군에 대한 2종 이상의 진단카탈리지 개발 <ul style="list-style-type: none"> ✓ 아프리카돼지열병 ✓ 고병원성 조류인플루엔자 ✓ 그 외 연구기간중 새롭게 문제시 된 신종 감염병에 대한 질환군 추가 • 실험실검사결과와 비교평가 <ul style="list-style-type: none"> ✓ 민감도 : OIE 등에서 제시한 표준시험법 또는 실험실검사법 대비 민감도 95%이상, 최소검출한계 100copies/Rx (Ct 35이하)기진단법대비 ✓ 특이도 : OIE 등에서 제시한 표준시험법과 비교하여 특이도 평가추가 (95%)

전체 내용	<p>5) 분석적 성능검증을 위한 자료축적</p> <ul style="list-style-type: none"> • 주요 대상질환에 대한 표준품을 제작하고 개발대상 진단키트에 대한 분석적 성능시험에 활용 ✓ 민감도 : 표준품(농도확정)기반 최소검출한계 결정 ✓ 특이도 : 축종에 따라 문제시되는 기타 감염성 병원체 활용하여 특이도검증 <p>6) 현장적용을 통한 실효성인증 (임상적 성능평가)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 농림축산검역본부 또는 환경부 야생동물연구원 등 국내 검사네트워크 등에서 제공하는 검체를 활용하여 현장적용성 평가 ✓ 현장용 진단프로토콜개발 ✓ 현장용 진단시스템구축 ✓ 임상프로파일확보, 실험실진단평가를 통한 민감도/특이도평가 • 중앙백신의 국제네트워크를 통한 베트남 현지 실험실 등에서 제공되는 검체를 활용하여 현장적용성 평가 <p>7) 동물용 의약품 인허가추진(사업종료후 1년내 인허가확보)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 검사키트에 대한 임상평가 실시 (동물용의약품 임상평가기관) • 인허가 서류접수 2건 이상 (진단키트 2종 이상 개발완료, 임상시험 2건이상 추진) 	
	1단계 (해당시 작성)	<p>목표</p> <hr/> <p>내용</p>
	n단계 (해당시 작성)	<p>목표</p> <hr/> <p>내용</p>
		<p>목표</p> <hr/> <p>내용</p>

연구개발성과	<p>1) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 조사를 통한 진단타겟 선정</p> <ul style="list-style-type: none"> • 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협의를 통해 과제의 RFP에서 제시하는 질환군에 대한 국내외 발생조사 및 문헌검색하여 • 현안이슈 등을 고려하여 아프리카돼지열병(ASFV)와 고병원성 인플루엔자(HPAI) 등 2종의 신변종 가축감염병에 대한 병원체를 포함하여 과제를 수행 <p>2) 신변종 가축감염병 등에 대한 유전자분석법 확립 및 유전자 DataBase 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> • ASFV의 진단에서 가장 널리 사용되고 있는 p72 유전자를 타겟유전자로 사용하여 Taqman probe based real time PCR을 표준시험법으로 사용하였으며 A형 인플루엔자바이러스의 현장검출 및 고위험인플루엔자바이러스에 속하는 것으로 알려진 H5와 H7의 유전자형을 동시에 현장에서 검출할 수 있는 진단시스템을 개발하고 이를 임상시료에 적용하고자 하였다. • 해외 네트워크 등과의 협업을 통해 베트남 현지 수의과대학에서 2종의 감염병에 대한 다양한 임상시료의 확보 등을 유전자진단법개발 및 완성된 현장용 진단키트에 대한 해외임상을 광범위하게 수행하여 현장사용성 및 검사성능에 있어서 표준 시험법 (WOAH 표 유전자검사법)대비 동등이상의 우수한 성능을 확인하였음 • 유전자분석전문기관에 위탁하여 2종의 병원체에 대한 유전자분석법의 확립 및 유행주 및 변이주를 체계적으로 분석할 수 있는 유전자데이터베이스를 구축하여 향후 활용이 가능하도록 확립함 <p>3) 고감도 유전자진단법(Taqman based Real time PCR)기반 진단법 개발 및 분석적성능평가</p> <ul style="list-style-type: none"> • 대상타겟병원체 : ASFV • 개발키트종류 : ASFV(qPCR/POC qPCR) • 분석적 민감도 (최소검출한계) : 3 반복으로 10,000 copies/Rx부터 희석하여 검사한 결과 Ct 35를 기준으로 100 copies/Ex 이하의 검출한계를 보이는 것으로 확인 • 분석적 특이도 : 돼지에서 흔하게 발생할 수 있는 질환군인 PRRSV(American strain/European strain), Swine Influenza, Pasteurella multocida, PCV2, PCV3, Mycoplasma hyopneumoniae 등 10여 종의 병원성 미생물과는 반응성이 확인되지 않아 돼지유래의 병원성 미생물에 대한 특이도를 확인하였다.
--------	---

- 대상타겟병원체 : HPAI
- 개발키트종류 : HPAI(AIV screening, qPCR/POC qPCR)
- 분석적 민감도 (최소검출한계) : 3 반복으로 10,000 copies/Rx부터 희석하여 검사한 결과 Ct 35를 기준으로 100 copies/Ex 이하의 검출한계를 보이는 것으로 확인
- 분석적 특이도 : 조류에서 흔하게 발생할 수 있는 질환군 인 Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, avian pneumovirus, Mycoplasma gallisepticum, Staphylococcus, Chlamydomphila psittaci, Escherichia coli 등 10여 종의 병원성 미생물과는 반응성이 확인되지 않아 조류유래의 병원성 미생물에 대한 특이도를 확인하였다.

4) 현장적용을 통한 실효성 입증 (임상적 성능평가)

4-1) 아프리카돼지열병 (ASFV)

- ASFV의 발병이 확인된 농장으로부터 채취한 41두의 구강-비강 스왑, 전혈 그리고 비장 파쇄액 등의 3종류의 검체에 대해서 그리고 ASFV가 발병하지 않은 음성돈군에서 채취한 12두의 구강-비강 스왑, 비장파쇄액 등 검사를 수행한 총 147건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ ASFV Detection Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.
- ASFV의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 p72 유전자를 표적으로한 qPCR의 경우 79.7%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 94.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

WOAH SOP (ASFV qPCR p72)					XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)				
Total		WOAH ASFV qPCR			Total		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	98	25	123	Clinical sign based Dx	Positive	116	7	123
	Negative	0	24	24		Negative	0	24	24
	Total	98	49	147		Total	116	31	147

- 결론적으로 ASFV 양성돈군에서 확보한 123건의 양성검체 중 두가지 유전자검사법을 통해서 음성으로 확인된 7건을 제외한 116건을 실제 ASFV 양성검체로 음성돈군에서 확보한 24건의 검체와 양성돈군에서 확보하였지만 검사결과 음성으로 확인된 7건 등 31건을 음성검체로 간주하여 임상적인 민감도와 특이도를 재평가하면
- XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 민감도 100%, 특이도 100%로 확인되고 기준검사법인 WOAH의 ASFV qPCR의 경우 84.5%의 민감도와 100%의 특이도로 확인할 수 있었다.

4-2) 고병원성 조류 인플루엔자 (HPAI)

- 베트남 현지에서 H5N1 인플루엔자바이러스의 발병이 확인된 가금농장에서 확보한 40두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 4종류의 검체에 대해서 조류인플루엔자 바이러스가 음성으로 확인된 가금농장으로부터 확보한 23두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 252건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ AIV Screening Kit와 XQ HPAI Genotyping Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.
- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)의 경우도 같은 수준인 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

연구개발성과

WOAH SOP (AIV qPCR)				XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)					
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160
	Negative	0	92	92		Negative	0	92	92
	Total	154	98	252		Total	154	98	252

- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 71.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 가금류의 야외시료에서 고병원성 인플루엔자를 검출하는 용도보다는 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)에 대해 양성으로 확인된 검체를 이용하여 고병원성 인플루엔자의 H5와 H7을 검출하는 용도로 개발된 점을 고려할 때 산술적으로 계산된 전체검체에 대한 임상적인 민감도는 임상적 성능분석면에서 큰 의미를 부여할 수 없으나 감염이 의심되는 가금류의 호흡기시료나 폐장시료를 이용하는 경우 95%의 매우 높은 민감도로 H5 고병원성 인플루엔자를 검출하는데 많은 도움이 될 것으로 평가할 수 있다.

WOAH SOP (AIV qPCR)				XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)					
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Clinical sign based Dx	Positive	114	46	160
	Negative	0	92	92		Negative	0	92	92
	Total	154	98	252		Total	114	138	252

5) 동물용 의약품 허가추진(사업종료후 1년내 인허가확보)

- 진단키트 3종 (아프리카돼지열병 1종, 고병원성 인플루엔자 2종 등) 개발
- 분석적성능평가 및 해외임상평가 완료
- 종료후 1년내에 2종이상의 동물용 의약품에 대한 인허가완료

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과

1) 연구개발성과의 현장적용 방안

- 본 연구는 산업동물에서 치명적인 질환을 유발하는 아프리카돼지열병 및 고위험 인플루엔자에 대한 국내외 유행주에 대한 유전자 DB를 구축하여 병원체의 변이 발생에 대해 능동적으로 대처하고 대상질환의 병원체를 1시간 정도의 시간에 고감도로 검출하는 2종의 현장진단시스템의 구축과 현장적용으로 유행의 조기탐지 및 국내유입을 신속히 차단하기 위한 틀을 제공하는 것을 목표로 하는 과제로
- 진단용 시제품 3종의 개발완료되고 관련한 해외임상평가가 모두 성공적으로 수행되어 개발종료 후 즉시 동물의약품인허가를 추진하고 허가 후 바로 현장에 적용되는 현장적용형 연구로 특히 진단 후 감염동물의 이동금지, 매몰 등의 대규모 행정적 재정적절차에 대한 신속성을 위해 현장에서 활용가능한 진단법의 제시가 가능할 것으로 기대하며
- 특히 본 과제의 성공시 현장에서 다양한 고위험군의 산업동물의 감염병에 대한 신속하고 정확한 진단틀을 제공하므로서 진단결과에 합당한 항바이러스제 및 항생제 등의 처방을 용이 및 이동금지, 소각, 매몰 등의 법정 감염병의 추후 행정조치를 취하기 위한 과학적 근거에 기반한 틀로 활용될 것으로 기대함

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>2) 실용화·제품화 방안 및 사업화·기술이전</p> <ul style="list-style-type: none"> • 제품의 실용화는 진단키트의 개발을 주도하는 포스트바이오에 의해서 진행되며 제조사를 통해 제품화된 진단시스템 및 진단키트 등은 농림축산검역본부 및 환경부 야생동물 연구원 등에 의해서 질병을 조사하거나 현장을 파악하는 경우 다양한 수준의 실험자 또는 행정인력이 사용하는 경우에도 진단결과의 표준화수준을 높일 수 있는 진단툴로 임상현장에 폭넓게 보급될 수 있을 것으로 기대함 • 따라서 본 과제를 통해 도출된 개발품은 과제의 주관기관인 포스트바이오로부터 동물요의 의료기기 전문판매회사에 기술이전되어 사업화가 진행되어 매우 빠른 속도로 사업화가 진행될 수 있을 것으로 예상함. <p>3) 예상활용분야</p> <ul style="list-style-type: none"> • 본 사업의 주요목적인 고위험 신변종 가축감염병의 고감도 현장진단시스템의 보급은 기본적으로 활용할 수 있는 분야이며 현장진단적용을 통해 실효성을 확인한 경우 다른 축종 또는 반려동물, 인의 등의 다른 질환군으로 확대되어 국가위기를 초래하거나 인의 및 수의임상에서 주요하게 발생하는 감염병에 대한 조기검출-확산방지 등에 널리 활용할 수 있을 것으로 기대됨 • 나아가서 동물의약품으로 실효성이 검증되면 인체분야의 다양한 질병의 진단에도 활용이 확대될 것으로 예상됨. • 직접적으로는 본 연구과제의 궁극적인 목적인 대규모 발병이 문제시 되고 있는 아프리카돼지열병, 구제역, 고위험인플루엔자 등 현장의 신속한 진단이 즉각적인 행정조치로 이어져 전염병의 확산을 최소화 할 수 있는 질환군에 가장 먼저 활용될 것으로 판단되며 • 본 사업을 통해 개발된 현장진단체계는 타축종을 확대되어 공중보건학적인 위기와 축산업의 감염병으로 인한 확산방지를 통해 국가 가축전염병관리에 대한 효과적인 진단툴을 제공하여 축산 및 국가경제의 중요한 과학기술분야로 자리매김할 수 있을 것임. 												
	연구개발성과의 비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신제품		
								생명 정보	생물 자원			정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호				
국문핵심어 (5개 이내)	가축		신변종 감염병		현장진단		분자진단		실시간 유전자진단법				
영문핵심어 (5개 이내)	Livestock		Emerging infectious disease		Point-of-Care Testing		Molecular Diagnosis		Real-time PCR				

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 -----	9
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용 -----	29
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 -----	72
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도 -----	81
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 -----	82

별첨 자료 (참고 문헌 등)

- 1) 위탁 연구 보고서
- 2) 기술이전 계약서
- 3) 특허 출원서
- 4) 개발 제품 증빙 자료
- 5) 투자 유치 계약서

1. 연구개발과제의 개요

1) 연구개발과제의 필요성

□ 연구개발의 추진배경

2021년 한국과학기술기획평가원(KISTEP)의 「**동물감염병 대응기술개발사업**」에 대한 예비 타당성 조사보고서에 의하면

- 신변종 동물감염병의 반복적 발생으로 경제·사회적 심각한 손실 등의 지속발생이 국가위기관리 및 사회적으로 큰 현안이슈로 부각
- 최근 10년(11년~20년)간 고병원성 조류인플루엔자(AI), 구제역 등 국가 재난형 동물감염병이 반복 발생하고 최근 아프리카돼지열병의 새로운 유입되는 등 동물감염병 피해 발생 및 확산 총 12,116건의 동물감염병이 발생하여 가축 살처분, 농가보상금 지급, 이동제한, 축산물 가격 급등 등의 피해 발생
- 소·돼지 등 주요 가축의 피해뿐만 아니라 방역비용 및 살처분 등에 따른 농가보상금 지급 등 직접적 국가 재정 손실이 발생
- ✓ 지난 2011년부터 2018년까지 동물감염병 발생에 따라 가축 8,160만 마리를 살처분하였고, 2조 2,637억 원의 농가 보상금 지급되었고 동물감염병 발생은 2차적으로 물가변동에 의한 식탁물가 위협 등 경제적 피해를 유발하고 발생지역 이동통제로 국민의 일상생활에 제약을 초래하고 있음
- 특히 최근 유입된 아프리카돼지열병(ASF)으로 인해 경기북부 및 강원도 등에서 농가 피해 및 대규모 재정지출이 발생함
- ✓ 지난 2019년 이후 경기 북부 4개 시군의 농가에서 14건, 경기북부 및 강원도 지역의 야생멧돼지에서 677건의 아프리카돼지열병이 발생함에 따라 234개 농가 364,270마리(도태 제외)의 살처분이 이루어짐
- ✓ 살처분 매몰비용 293억원, 수매·도태 비용 207억원 외에도 234개 농가에 대한 살처분보상금 1,290억 원과 생계안정자금 22.1억 원의 재정지출이 발생
- 최근 생산과 소비 비중이 증가하며 농업에서 중요한 위치를 차지하고 있는 국내 축산업이 대규모·집단형 집약생산 형태로 변화되면서 동물감염병 피해 수준이 거대화·재난화되고 있음
- 국내의 대규모·집단형 집약생산 구조의 축산환경은 감염병 발생 시 병원체의 빠른확산이 일어날 수 있는 사육밀도가 높은 구조적 취약성으로인해 집단감염의 원인이 되고 있음
- ※ '95~'15년 농가당 평균 소 사육두수는 5마리에서 30마리, 돼지는 136마리에서 1,679마리, 닭은 928마리에서 5,369마리로 증가(농촌경제연구원('17.8))

- 선진국 대비 국내 동물감염병에 대한 진단 및 예방 등 국가위기를 초래할 수 있는 신종 동물감염병에 대한 대응기술 역량은 여전히 부족한 것으로 진단됨
- 동물감염병 대응은 선진국 중심으로 예찰·예방에 집중하고 있는 추세이나 국내에는 유입 차단 및 확산방지 차원의 살처분 대응외에는 대안이 없는 실정임
- 국내에서는 농림부, 농림축산검역본부 및 시도지사체 시험소 등과 연계하여 질병에 대한 모니터링사업을 추진하고 있으나 여러 실험실에서 동일한 수준으로 활용할 수 있는 고감도의 진단키트 및 현장용 진단장비의 보급이 매우 미진한 상황임
- 동물의약품이나 백신제품에 대한 수입의존도가 높고 국내 기술역량은 낮아 국내 동물감염병에 대한 사전대응역량의 제고가 시급한 편으로 이에 대한 장기적인 투자도 필요하지만 이와 동시에 현장에서 사전예찰 또는 유사질환의 발생시 신속하게 현장에서 병원체를 검출하기 위한 POCT 개념의 고감도 분자진단시스템의 개발 및 도입은 질병의 발생시 초기에 확산을 방지하고 이로 인한 행정비용의 최소화를 위해 단기적으로 매우 시급한 사안이라고 할 수 있음

□ 연구개발의 목표

- 2022년 농기평 「가축질병대응기술 고도화지원사업」의 주요한 사업목표인 국내 토착 질병 및 국내 유입 우려 신변종 가축감염병 중 비교적 최근에 유입되거나 병원체의 변이가 지속적으로 문제가 되는 아프리카돼지열병과 고병원성 조류인플루엔자에 대한 국제협력연구 강화를 목표로
- 주관기관인 주식회사 포스트바이오에서 기개발한 바 있는 아프리카돼지열병 현장용 리얼타임피씨알 키트 (환경부 야생동물연구원 공동연구) 및 꿀벌의 법정 감염병인 낭충봉아 부패병, 부저병 등에 대한 현장용 진단시스템개발 (2020년 농기평 농축산물안전유통소비기술 개발사업[역매칭 사업])에 대한 연구결과에 대하여 국내에서 가축질병중 가장 큰 문제를 유발하여 사회경제적 피해를 유발하는 아프리카돼지열병, 고위험조류인플루엔자 등의 신변종 가축감염병에 대한 국내외 네트워크를 활용하여 대상질환의 특성분석을 위한 빅데이터의 확보 및 국내 유입 및 발생시 조기대응을 위한 최신의 진단법을 확립하고 이를 상용화하고자 함.
- 국내외 산업동물 농가 및 야생동물(야생멧돼지, 야생철새 등)에 대한 검체를 활용하여 기존 실험실에 동물감염병을 확인하는 시스템인 리얼타임피씨알법의 결과와 대비하여 현장에서 핵산의 추출과 특정질환군의 유전자검출을 동시에 수행하는 현장진단용 분자진단 (POC qPCR Station with Diagnostic Kit)의 실효성을 검증하여 산업동물의 질환이 발생하는 현장에서 적용가능한 시스템의 현장보급 및 적용을 위한 상용화기술을 개발
- 아프리카돼지열병, 고위험조류인플루엔자 등의 현장진단키트에 대해 분석적 성능 및 임상적 성능검사 등의 자료확보를 통해 3등급 동물용 의료기기의 허가를 취득하고 현장에

보급하여 동물감염병을 조기에 검출하고 확산을 사전에 방지함으로써 대규모 동물의 매물, 사육 등으로 인한 재정적인 손실과 엄청난 행정비용의 손실을 최소화하고자 함.

□ 연구개발의 주요내용

- 국내외 협업을 통해 유입감시 및 조기대응이 요망되는 주요 신변종 가축감염병
 - ✓ 아프리카돼지열병, H5N1 등 고위험 조류인플루엔자 등 신변종 가축감염질환
- 국내 외 실험실과의 협업을 통한 각 동물질환에 대한 임상시료확보
 - ✓ 각 병원체 당 양성 최소 100건, 음성 최소 300건
- 대상질환에 대한 질병발생현황파악 및 유전자정보 DB 구축
- 고감도 유전자진단법 (Taqman based Real time PCR)기반 진단법 개발
- 현장진단을 위한 핵산추출과정과 핵산검출이 통합된 진단 카탈리제제조
- 동물용의료기기 임상평가 및 인허가를 위한 자료작성 및 제출

2) 연구개발 대상의 국내·외 현황

□ 동물감염병의 정의 및 종류

- 동물감염병(가축질병)은 「가축전염병 예방법」 제2조제2호 규정에 의한 가축전염병(제1종·제2종·제3종 가축전염병) 및 그 밖에 가축질병 등을 말함
 - ✓ 제1종 가축전염병: 우역, 우폐역, 구제역, 가성우역, 블루텅병, 리프트게곡열, 럼피스킨병, 양두, 수포성구내염, 아프리카마역, 아프리카돼지열병, 돼지열병, 돼지수포병, 뉴캐슬병, 고병원성 조류 인플루엔자 및 그 밖에 이에 준하는 질병
 - ✓ 제2종 가축전염병: 탄저, 기종저, 브루셀라병, 결핵병, 요네병, 소해면상뇌증, 큐열, 돼지오제스키병, 돼지일본뇌염, 돼지테센병, 스크래피(양해면상뇌증), 비저, 말전염성 빈혈, 말바이러스성동맥염, 말전염성자궁염, 동부말뇌염, 서부말뇌염, 베네수엘라 말뇌염, 추백리(병아리흰설사병), 가금티푸스, 가금콜레라, 광견병, 사슴만성소모성 질병 및 그 밖에 이에 준하는 질병
 - ✓ 제3종 가축전염병: 소유행열, 소아카바네병, 닭마이코플라스마병, 저병원성 조류인플루엔자, 부저병 및 그 밖에 이에 준하는 질병

□ 동물감염병 R&D의 범위

○ 동물감염병 R&D는 대응단계에 따라 사전대응연구(예찰, 예방)와 사후대응연구(진단, 확산방지, 사후관리)로 나눌 수 있으며 사전대응분야에 해당하는 예찰연구로는 기전연구, 확산예측, 국제공동연구 등이 있으며, 예방연구로는 검진키트개발, 백신개발 등이 있음. 사후대응분야에 해당하는 진단연구로는 진단키트개발, 기존 키트 고도화 등이 있으며, 확산방지 연구로는 확산경로, 검사키트개발 등, 사후관리연구로는 살처분·매물, 방역 등이 포함됨

구분	세부기술 분야	주요내용
사전대응 (유입차단/ 예찰/예방)	국내유입 대응 기술	공항항만 등 소독시스템 개발, 휴대 축산물 등 국경검역 위험요인 탐지 및 제거, 해외 발생 전염병 모니터링 및 정보공유 등
	모니터링 기술	야생조류 이동 추적, 철새 등 야생조수류 군집지역 감시, 야생조수류 침입 차단, 야생동물 감염추적 및 치료 등
	규명·변이·추적 감시 기술	원인기전 규명, Virus 유전형 DB 구축 및 특성평가, 병원성 잠재력 및 전파가능성 진단, 바이러스 저항인자 발굴 및 활용 등
	예찰관리 기술	방역·사육관리 통합 모니터링, 폐사체 수거 및 진단기술, 전염병 조기발견 인식능력 향상, 축사 및 기기 잔류 바이러스 제거·검출 등
사후대응 (진단/치료/ 사후관리)	동물용의약품 기술	백신후보주 라이브러리, 백신 조성물 개발 및 대량생산, 보조첨가제, 동물용 의료기기, 평가 기법(항바이러스, 항원성) 표준화 등
	진단 기술	고감도 감염병 진단, 다병종 통합 진단플랫폼 구축, 진단 시간 및 절차 단축, 간이 현장진단 키트 등
	확산예측 및 방지 기술	위험요인 분석, 역학조사 체계 고도화 및 활용, 전파경로 추적 및 예측, 방역프로그램 개발, 질병 전파 위험요인 분석·저감, 축산차량 감시 및 제어, 소독방역 등
	살처분 기술	유리기반 살처분 기법 개발, 사체 처리기법 고도화, 사체 처리 잔류물질 정화 및 활용기법 등
	매몰지 관리 기술	매몰지 환경 관측, 오염물질 유출 및 확산방지, 매몰지 조기 소멸 등

□ 동물감염병 예찰 및 진단 기술 동향

○ 동물감염병 관련 유전자 분리, 기능구명, 특성규명 등 연구를 통한 질병 예측·진단 기술을 개발하는 추세이며, ICT 기술을 활용한 예찰시스템 구축 중으로

- ✓ 미국 농무부(USDA, 미국), 연방과학산업연구기구(CSIRO, 호주)는 소 유전체 연구를, 유럽연합은 돼지 유전체 연구를, 일본은 말 유전체를 집중적으로 연구하고 있으며 또한, 해외 주요국가에서는 가축전염병 통제를 위해 생체정보를 기반으로 한 가축활동을 감시하는 기술, 가축질병 위험도를 예측하기 위한 시스템 기술, 재난발생시 공공영역에서 즉시 통지하고 방제하는 시스템 기술, 원격으로 질병 진단 기술 등을 개발하고 있음
- ✓ 국내 농업진흥청에서는 소·돼지·닭·개·염소 5종의 차세대염기서열(NGS), 단일염기서열변이칩(SNP chip) 정보를 연구자에게 제공하고 있으며, 농림축산검역본부는 KT와 협력하여 국가동물방역통합시스템(KAHIS) 데이터 및 조류인플루엔자(AI) 의 확산 경로 예측 모델을 개발

○ 디바이스의 소형화·자동화·집적화를 통해 다중질환, 다중마커가 신속·정확하게 스크리닝이 가능한 동물감염병 멀티스크리닝 진단 플랫폼을 개발 중

- ✓ 동물감염병 진단기기 분야는 우수한 성능을 바탕으로 디바이스의 소형화, 자동화를 통해 정확·편리성을 지향한 기술을 개발 중
- ✓ 임상화학 분야 및 면역학 분야에서는 두 분야가 융합된 대형 장비를 통해 다양한 종류의 검사를 수행할 수 있도록 변화하는 추세
- ✓ 바이오마커 키트 시장은 초기 성장단계로 임상개발을 위한 바이오마커 발굴 및 검증에 대한 투자가 지속적으로 요구되고 있음

○ 기술선진국 중심으로 병원체 감별을 위한 진단 기초연구, 병원체 특이 바이오 마커 개발 및 활용성 연구 등 진단 및 진단법 효율화를 위한 연구가 지속적으로 진행 중

- ✓ 전통적 진단법인 PCR, real-time PCR 등을 이용한 유전자 진단법은 미국(로슈사, 바이오라드 사 등)을 중심으로 유럽의 여러 국가들에서 PCR 기기를 개발 중임
- ✓ 나노입자를 이용한 다양한 진단방법, 다양한 바이오센서들을 활용한 진단 방법 등 새로

운 기술을 이용한 진단법 연구가 활발히 진행 중임

- ✓ 정량적 면역진단에 필요한 진단용 형광체로 프탈로사이아닌을 사용하고 있으나 이는 특허장벽으로 다른 여러 나라에서 사용하는 데에 한계가 있어, 미국, 스웨덴 등 의 나라에서 형광체를 이용한 진단기기를 개발하고 있음

○ 국내에서는 국가연구개발사업을 통해 유전자 진단법 또는 면역학적 진단법 등 전통적인 진단법 연구 중심으로 기술개발을 추진 중

- ✓ 사스나 조류인플루엔자와 같은 고위험성 병원체의 경우는 높은 생물 안전시설의 필요 등으로 연구가 제한적이기 때문에 항원-항체를 이용한 간단한 면역학적 진단을 제외하고는 연구가 많이 이뤄지지 못한 실정
- ✓ 병원체의 면역학적 진단기술은 (주)SD에서 인플루엔자바이러스 및 RS바이러스 (RSV, respiratory syncytial virus) 항원진단시약을 개발하여 판매 중

□ 통합형 유전자 진단의 개념

- 랩온어칩 기술은 NT, IT, BT의 대표적 융합기술의 한 예로 유전자 칩 (DNA chip)이나 단백질 칩 (Protein chip), 세포 칩 (Cell chip) 등과 같은 다양한 종류의 바이오칩이 많이 거론되고 있음. 이는 MEMS (Micro electro mechanic system)나 NEMS (Nano electro mechanic system)와 같은 기술을 이용하여 시료의 희석, 혼합, 반응, 분리, 정량 등 시료의 모든 전처리 및 분석 단계를 하나의 칩 위에서 수행하도록 하는 기술을 의미함.



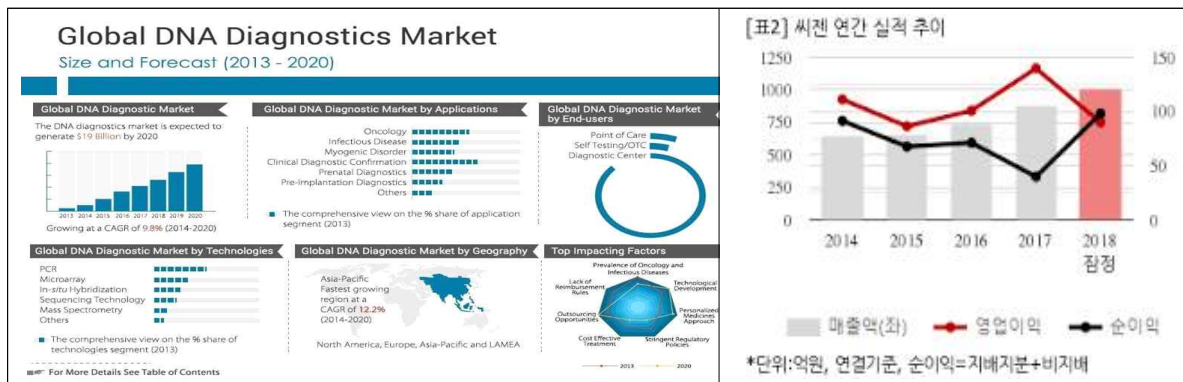
기존의 랩기반 유전자 진단 과정(위)과 랩온어칩에서 수행되는 진단과정의 비교

- 랩온어칩은 여러 요소기술들이 복합적으로 적용되어야 하는 바이오칩의 결정체로 지금까지 개발되고 있는 배열형태의 바이오칩에 대한 요소기술에 마이크로/나노플루이딕스 기술을 기반으로 모세관 전기영동기술, 마이크로 밸브 및 펌프 기술, MEMS/NEMS 가공기술, 세포여과기술, 미세표면 식각기술, 검출기술과 의료네트워크기술, 더 나아가 단일분자검출 및 조작기술까지 적용해야 하는 고도화된 융합기술임.

- U-healthcare의 개념이 확산되면서 대형의 임상실험실용 진단기기를 소형으로 구현하여 간편하게 진단이 가능한 Point-of-care testing (POCT) 진단기기의 수요는 지속적으로 증가하고 있음.
- POCT 진단기기 시장은 2008년 106억 달러규모이며 2012년 까지 연평균 11% 성장할 전망이며 전문가용으로 에이즈, 간염 등의 감염진단 및 혈중성분 분석기, 개인용으로는 당뇨환자용 혈당분석기 중심으로 상용화가 가능하리라 예상되며, 향후 조기 진단 및 예방관리 등 U-health 개념이 확산될 경우, 편리하고 신속한 진단이 가능한 POCT 진단기기 수요가 지속적으로 증가할 전망이다.
- 전자·화학 기술, 반도체 제조 기술 등을 접목한 다양한 신개념 POCT 진단기기 개발이 전 세계적으로 활발하게 전개 중이며, 극소량의 유체를 제어하는 기술을 활용해 샘플 전 처리부터 검출까지 하나의 칩에서 처리할 수 있는 ‘Sample-in-answer-out’ 시스템을 갖춘 통합 LOC 기술도 활발하게 연구되고 있고, 이에 따라 LOC 기술기반 휴대용 회전식 유전자 진단 통합 디바이스 개발은 국가적인 차원에서 원천기술을 확보하는데 있어 중요함.

□ 통합형 유전자 진단시장 확장가능성

- 최근 형광 프로브 등을 이용한 리얼타임 피씨알(실시간 유전자진단법)의 개발 등 분자진단분야의 기술발전으로 분자진단의 시장규모가 기존 면역진단시장의 성장규모를 추월하였고 대규모 랩을 중심으로 분자진단시장이 활발히 성장하고 있음. 분자진단시장의 성장은 전 세계적인 추세이며 특히 한국을 포함한 신흥아시아시장에서 연평균성장률이 12%를 넘을 정도로 매우 빠르게 성장하고 있는 분야임.
- 국내에서 분자진단키트를 생산하는 선두기업인 씨젠의 경우 2010년 상장이후 가파른 성장세를 보이고 있으며 2018년 매출 1000억원을 예상하는 기업으로 성장하고 있음.



분자진단시장의 성장규모 및 분자진단관련 국내제조사의 최근 실적동향

- 하지만 현재 바이오 랩에서 사용되는 일반 기술들은 고가의 분석 장비와 다량의 값비싼 시료를 사용하기 때문에 비용이 많이 들고 장시간의 분석 시간을 요하게 됨. 또한 분석

장비의 bulkiness(조작 어려움)로 인해 각 생물반응 단계의 통합이 어려워 샘플 전처리 과정에 샘플 오염의 가능성을 항상 내포하고 있으며 현장에서 얻어진 샘플로부터 질병 관련 유전자 현장 진단 등에도 한계를 보이고 있음.

- 따라서, 이러한 기존의 유전자 진단 기법의 단점을 극복하고 현장에서 유전자 진단이 가능한 고효율, 고감도의 새로운 병원체 유전자 분석 미세 통합 시스템이 요구되고 있으므로 본 실현의 대안으로 랩온어칩 (Lab-on-a-chip: LOC) 기술이 각광을 받고 있음.
- 랩온어칩을 이용한 현장진단용 의료기기가 개발되는 경우 매우 다양한 감염병 현장 진단에 응용할 수 있음. 최근 대규모의 사람 또는 가축의 감염병에 있어 신속하고 간편한 현장진단용기기가 보급된다면 그 유용성은 경제적인 가치로 평가할 수 없을 정도로 큰 파급 효과가 있을 것으로 판단됨.
- 일례로, 인플루엔자 바이러스는 최근 팬더믹 신종 인플루엔자 및 조류독감의 대유행으로 전 세계적으로 경제·산업적으로 큰 피해를 주고 있으며, 이에 따라 인플루엔자 바이러스 대유행시 이를 효과적으로 진단, 대처할 수 있는 현장 유전자 진단용 통합형 시스템이 요구됨.
- 그 외 최근 SARS나 MERS 등에서 보는 것처럼 치사율이 높으면서 전염력도 높은 악성 변종의 출현가능성도 예상할 수 있으므로 호흡기를 통한 감염성 질병의 조기진단에 대한 필요성이 더욱 강조되고 있으며, 전 세계적으로 급속하게 확산되고 있는 팬더믹 질환을 정량적, 정성적으로 신속하게 현장 진단할 수 있는 U-healthcare 모니터링 시스템 개발이 필요함.

3) 연구개발의 중요성

□ 주요 대상질환의 발생현황 및 사회경제적 피해

가. 아프리카돼지열병

아프리카돼지열병(African Swine Fever, ASF)은 치명적인 바이러스성 출혈성 돼지 전염병으로 이병률이 높고 급성형에 감염되면 치사율이 거의 100%에 이르기 때문에 양돈 산업에 엄청난 피해를 주는 질병이다. 따라서, 이 질병이 발생하면 세계동물보건기구(OIE)에 발생 사실을 즉시 보고해야 하며 돼지와 관련된 국제교역도 즉시 중단되게 되어있고 우리나라에서는 이 질병을 가축전염병예방법상 제1종 법정전염병으로 지정하여 관리하고 있다.

사람이나 다른 동물은 감염되지 않고 돼지과(Suidae)에 속하는 동물에만 감염되는데, 사육 돼지와 유럽과 아메리카대륙의 야생멧돼지가 자연숙주이다. 아프리카 지역의 야생돼지인 혹멧돼지(warhog), 숲돼지(giant forest hog) 또는 bushpig는 감염이 되어도 임상증상이 없어 아프리카돼지열병 바이러스의 보균숙주 역할을 하고 있다. 돼지 말고는 유일하게 Ornithodoros spp. 에 속하는 물렁 진드기(soft tick)가 이 바이러스를 보균하고 있다가 돼

지나 야생멧돼지를 물어서 질병을 전파하는 역할을 하는 매개체로 작용한다.

아프리카돼지열병바이러스(ASFV)는 아스파바이러스과(Asfarviridae), 아스피바이러스속(Asfivirus)에 속하는 약 200nm 정도의 DNA 바이러스이다. ASFV는 유전자 염기서열 분석을 통해 총 23개의 유전형(genotype)으로 구분되고 있다. 아프리카돼지열병 바이러스는 병원성에 따라 보통 고병원성, 중병원성 및 저병원성으로 분류된다. 고병원성은 보통 심급성(감염 1-4일 후 돼지가 죽음) 및 급성형(감염 3-8일 후 돼지가 죽음) 질병을, 중병원성 균주는 급성(감염 11-15일 후 돼지가 죽음) 및 아급성(감염 20일 후 돼지가 죽음)형 질병을 일으킨다. 저병원성은 풍토병화 된 지역에서만 보고되었으며 준임상형 또는 만성형 질병을 일으킨다.

이병률(감염된 동물의 비율)은 감염된 바이러스와 노출 경로에 따라 달라지며 자연 감염 시 잠복기는 4일에서 19일까지 다양하다. 폐사율은 고병원성 바이러스에 감염된 경우 거의 100% 폐사되는 것이 특징이며 만성형에서는 20% 이하이다. 일부 풍토병화된 지역에서는 바이러스에 대한 돼지의 적응으로 인해 고병원성에 감염된 돼지에서의 생존률이 좀 더 높아질 수 있다.

ASFV는 정상적으로 입이나 비강을 통해 돼지에 들어가지만 피부 또는 피하를 통해서나 진드기에 물려서, 또는 흙을 파헤치는 동작을 할 때 들어가는 경우도 있다. 과거에 비발생 지역으로 바이러스가 유입된 경로는, 특히 공항만에서, 열처리 되지 않은 돼지고기 잔반을 돼지에 급여하여 발생한 경우가 많았다.

① 직접전파

감염된 동물이 건강한 동물과 접촉할 때 발생한다. 감염성이 있는 침, 호흡기 분비물, 오줌과 분변에 바이러스가 대량 존재하기 때문에 이러한 물질과 접촉하면 효과적으로 전파된다. 돼지가 죽은 후에도 혈액과 조직에 바이러스가 존속할 수 있기 때문에 감염동물의 조직을 포함하고 있는 열처리하지 않은 잔반을 돼지에 급여하면 신속하게 전파된다. 부검 중 또는 돼지들끼리 싸우는 중에 흘린 피, 혈액이 섞인 설사 등으로 인해 환경에 바이러스가 대량으로 오염될 수 있다.

② 간접전파

환경에 저항성이 강한 ASFV가 오염된 차량, 사료 및 도구 등 비생체접촉매개물(fomites)에 의해 바이러스가 전파될 수도 있다. 장거리 간접전파 방법 중 한 가지는 열처리하지 않은 돼지고기 산물로 오염된 잔반을 돼지에 급여하는 관행이다. 덜 조리된 돼지고기, 건조·훈연·염장 처리된 돼지고기, 혈액, 돼지에서 유래한 사체잔반(carcass meal) 등을 돼지에 급여하면 질병이 전파될 수 있다.

③ 매개체 전파

ASFV에 감염된 *Ornithodoros* spp. 물렁진드기가 돼지를 흡혈할 때 돼지에 바이러스를 전달

한다. 감염된 진드기는 또한 짝짓기나 자궁내 감염 등을 통해 다른 진드기나 자손 진드기에 바이러스를 전달할 수 있다. 돼지우리에 살면서 ASFV를 유지하고 전파하는 물렁진드기의 역할은 아프리카와 이베리아 반도에서 자주 증명된 바 있다. 경진드기가 ASFV의 생물학적 매개체로 작용한다는 증거는 없다. 모기나 무는 파리 같은 흡혈곤충도 ASFV를 기계적으로 전파할 수 있을 것이다.

임상증상은 바이러스의 병원성, 감염된 돼지의 품종(breed), 바이러스 노출 경로, 감염량 및 그 지역에서의 풍토병 상태 등과 같은 요인들에 따라 임상증상과 병리학적 병변이 매우 다양하게 나타난다.

① 심급성형(Peracute)

심급성형은 고병원성 바이러스에 감염되어 나타나며, 41-42°C의 고열, 식욕결핍, 무기력, 호흡항진 및 피부의 충혈이 나타나는 것이 특징이다. 보통 임상증상이 시작된 지 1-4일 만에 돼지가 갑자기 죽고 장기에 뚜렷한 병변이 나타나지 않는다.

② 급성형(Acute)

2-1. 급성형의 임상증상: 가장 일반적으로 나타나는 유형이며 고병원성이나 중병원성 바이러스에 의해 유발된다. 거의 대부분의 감염된 돼지는 발열이 시작된 지 1주일 후에 쇼크로 죽으며 일반적으로 입과 코 주변에 기포가 관찰된다(사진 1).

2-2. 급성형의 병변

충혈성 비장비대증: 비장의 크기가 정상보다 6배까지 커질 수 있는 특징적인 충혈성 비장비대증을 나타내는데, 이때 비장 변연부가 둥그렇게 되고 만져보면 무르고 검보라색이며 복강 전체를 차지할 만큼 커질 수 있다.

출혈성 림프절: 주로 위와 간 및 신장의 림프절 수질에 출혈을 나타내며 따라서 이환된 림프절 단면부위가 가끔 대리석 양상을 보인다.

각종 장기에 점상출혈: 신장의 수질부위와 신우, 그리고 방광 점막, 심외막, 심내막 및 흉막 부위에 점상출혈이 있다.

③ 아급성형(Subacute)

아급성형은 중병원성 바이러스로 인해 발생하며 이환된 동물은 급성형에 감염된 돼지와 유사하나 덜 뚜렷한 임상증상을 나타낸다. 그러나, 아급성형에서 보이는 출혈이나 부종 같은 혈관성 변화들은 급성형에서 보고된 것보다 훨씬 더 심하다. 비록 일시적이긴 하지만 심한 혈소판 감소증의 발현과 관련이 있는 출혈은 이 질병의 초기와 중기 단계에서 관찰된다. 일반적으로 유산이 아급성형의 첫번째 임상증상이다. 이환된 돼지들은 보통 7-20일 이내에 죽고 폐사율은 30~70% 범위에 달한다.

④ 만성형(Chronic)

저병원성 바이러스에 의해 발생하며 다른 유형과 달리 만성형은 혈관 병변이 없고 섬유소성

홍막염 또는 심낭염, 흉부유착, 괴사성 폐염, 섬유소성 관절염/관절주위염 및 괴사성 피부병 변 뿐만 아니라 편도선과 혀에 괴사 부위과 같은 세균이 연루된 병변이 존재하는 것이 특징이다.

만성형은 스페인, 포르투갈과 도미니카공화국에서 관찰되었지만 아프리카나 사르디니아과 같이 장기적으로 바이러스가 존재했던 나라에서는 보고된 적이 없다. 따라서, 만성형은 1960년대에 스페인 등 이베리아 반도에서 수행한 백신접종 연구에 사용된 아프리카돼지열병 바이러스가 자연적 진화를 거쳐 나타났을 것이라고 추정되고 있다.

아프리카돼지열병의 실험실적 진단법으로는 혈액 및 내부 장기에서 바이러스를 검출하는 방법과 감염돈의 혈청에서 항체를 검출하는 방법이 있다. 바이러스 검출법으로는 중합효소연쇄반응(PCR)을 비롯하여 직접면역형광법(DIFT), 항원검출 ELISA가 있다. 또한, 가검물에서 직접 바이러스를 분리할 수 있으며, 혈구흡착검사를 통해 ASFV의 존재여부를 확인할 수 있다.

바이러스 분리를 위한 혈액은 초기 발열 증상이 있을 때 채혈한 검체가 이상적이며, 비장 및 림프절과 같은 장기는 냉장상태로 실험실에 의뢰하면 된다. 감염돈의 혈청을 이용한 항체를 검출법은 OIE-ELISA(간접법)와 상용화된 항체검출용 ELISA를 이용하여 1차 선별검사를 진행하고 면역탁본법(IB), 면역과산화효소시험(IPT), 간접형광항체법(IFA)을 통해 최종 평가할 수 있다.

항체 검사용 혈청은 감염 후 8~21일 이내의 회복기 돼지 검체가 좋으며, 용혈된 검체는 위양성 반응을 나타낼 수 있으므로 판독에 주의해야 한다. ASF는 질병의 진행 단계가 빠르고 다양하며 불현성 감염된 돼지도 존재할 수 있으므로 실험실에서는 반드시 항원 및 항체검사를 함께 수행하여 정확하게 감염여부를 파악해야 한다.

나. 고병원성 조류인플루엔자

일반적으로 조류인플루엔자는 고병원성·저병원성·비병원성으로 구분되는데 이중 고병원성(HP:Highly Pathogenic)은 전염성이 높고 폐사율이 100%에 이르기 때문에 한국을 포함한 대부분의 나라에서 주요 가축전염병으로 분류·관리하고 있음

조류인플루엔자 바이러스(AIV)는 16개의 Hemagglutinin(HA)과 9개의 Neuraminidase(NA)의 조합에 따른 아형이 있으며, 이 가운데 H5, H7 등 2개의 혈청형이 가금류에 가장 치명적인 고병원성임. 고병원성 조류인플루엔자(HPAI)는 높은 폐사율과 심각한 산란율을 유발하기 때문에 전·후방 관련 산업모두에 막대한 경제적 손해를 입힘

고병원성 조류인플루엔자(HPAI) 발생사례를 살펴보면

○ 해외사례

HPAI는 1997년 홍콩에서 처음 발생하였으며, 그 이후 장기간 잠복기를 거쳐 2003년 10월

에 베트남에서 다시 발생하여 인근 아시아 국가(라오스·캄보디아·홍콩·일본·태국·인도네시아·중국·한국)로 옮겨 갔음. 2009년 8월 현재까지 전 세계적으로 인간의 HPAI 감염사례는 15개국 총 438명으로 이중 12개국에서 262명이 사망했음. 사망사례의 대부분은 질병에 감염된 가금과 한 지붕아래 함께 생활하면서 직접 접촉하거나 가금의 생피를 마신 경우 등이었으며, 열처리 가공육의 섭취와 사람과의 접촉을 통한 감염 및 사망사례는 없었음

○ 국내사례

지금까지 총 3차례 발생했는데, 1차는 '03.12.10~'04.3.20까지(102일간) 전국 10개 시·군에서 19건 발생, 2차는 '06.11.22~'07.3.6까지(104일간) 전국 5개 시·군에서 7건 발생, 3차는 '08.4.1~'08.5.13까지(43일간) 전국 19개 시·군·구에서 총 33건 발생. 방역조치는 역학적 상황에 따라 닭·오리 등 살처분 및 매몰했으며, 전파양상은 철새에 의한 유입, 오염된 텃새·사람·차량에 의한유입 및 전파로 추정하고 있으며, 방역비용은 1차 때 살처분보상금 등 1,531억원, 2차 때 582억원, 3차 때 6,488억원으로 추정됨

HPAI는 접촉·전파·오염으로 발생하는데 노출되는 경로는 ①감염된 야생동물 또는 가금류와 직접 접촉, ②(농)기구·차량·다른 물건 등이 매개체가 되어서 전파, ③사람의 신발·옷·머리카락·피부 등이 AIV에 오염, ④오염된 물, ⑤AIV에 오염된 먼지 또는 비말 등에 의한 전파 등 5가지로 요약됨. 최근 조류인플루엔자가 빈번하게 발생하며 겨울철뿐만 아니라 봄철에도 일어나고 있어 발생시기가 확대되고 있음. 또한 발생에서 확산까지 시차가 짧아져 전파속도가 매우빨라지고 있음

현재까지 세계적으로 HPAI가 '감염된 사람에서 다른 사람으로 전파(사람→사람)'되는 인체간 감염에 의해 사망한 예는 없는 것으로 보고되고 있음. 그러나 지금과 같이 일부 동남아 국가나 아프리카 등지에서 HPAI가 조기에 근절되지 않고 지속적으로 발생하고 확산되어 간다면 그만큼 새로운 인플루엔자 바이러스의 출현 위험성은 높아진다고 알려져 있음. 사람간 감염이 실제 일어날 가능성은 확률적으로 매우 낮은 편이지만, HPAI가 근절되지 않고 국내에서 토착화하거나 또는 야생조류와 가금류 간에 순환감염이 지속적으로 일어난다면 새로운 변이주가 출현할 가능성도 전혀 배제할 수 없는 실정임

4) 과제수행과 관련한 선행연구실적

○ 동물감염질환에 대한 넓은 이해도와 경험 (주관연구책임자)

- 본 사업 참여연기관의 연구책임자는 수의사 및 수의학박사로 1998년에서 2013년까지 약 15년간 인체감염병에 대한 진단 및 분석을 주관하는 질병관리본부에서 사람 위장관염에 대한 감염병의 연구업무를 수행한 바 있으며
- 2015년부터 현재까지 포스트바이오(주)의 대표이사로서 팜애니랩이라는 반려동물의 실험실검사를 주관하는 표준진단실험실의 대표수의사로서 국내 주요 대형 동물병원의 감

염병에 대한 병성감정을 리얼타임피씨알법을 이용하여 개발하고 적용하여 수행하고 있음.

- 2019년에는 진단범위를 확대하여 돼지, 꿀벌, 반려동물 등의 법정전염병을 진단하는 가축병성감정기관으로 등록된 바 있으며 2020년 환경부에서 주관하는 야생동물 진단기관으로 지정 등록 하였으며
- 2020년 신규로 추진하는 동물용의료기기 임상실시기관으로 선정되어 동물용의료기기 (진단키트) 등에 대한 개발에서 인허가에 이르는 일련의 과정에 대한 이해도가 매우 높아 본 과제의 목적인 인수공통감염질환에 대한 현장진단키트의 개발 및 인허가추진을 효율적으로 수행할 역량을 보유하고 있음.

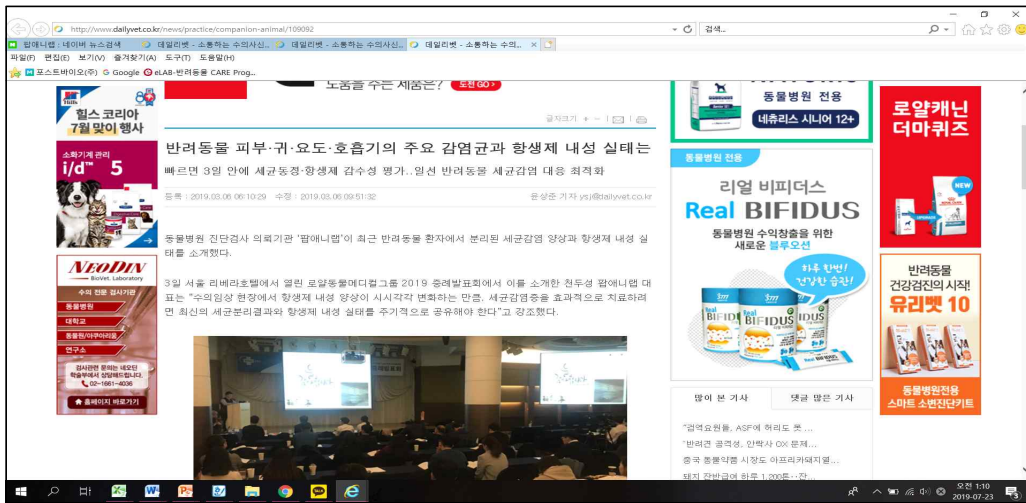
○ **반려동물전문수탁랩 운영을 통한 진단노하우 및 질병관리경험 (포스트바이오)**

- 2021년 현재까지 팝애니랩은 약 2,000여처 동물병원을 고객으로 확보하고 있으며 매년 4만건 이상의 검체를 의뢰받아 리얼타임 피씨알을 활용한 감염병검사, 항체가검사, 알러지검사 등의 면역진단검사 및 병리조직검사 등의 종합적인 진단서비스를 제공하고 있음.
- 반려동물의 질병진단에 대해 IT 전문업체와 검사환류용 웹사이트를 기획하고 웹사이트를 통해 검체의 의뢰, 검사리포트 생성, 그리고 검사결과와 환류 등을 검사결과 DB의 효율적인 관리 및 쌍방 커뮤니케이션에 활용하고 있음.

공지사항	더보기	학술정보	더보기	QnA	더보기
[휴무공지] 1/30 ~ 2/02 설명절 휴무 안내해 드립니다	2022-01-24	[데일리벳] 가을 별칭격 반려견 바베시아 '주인보', 9월 들어 급증	2021-10-01	올라이드 박스 중 보내주세요	2022-02-07
[휴무공지] 12/25, 1/1 토요일, 크리스마스 및 신정 휴무 안내해 드립니다.	2021-12-09	수의임상에서 중요한 세균감염진단 어제, 오늘 그리고 내일(토)	2020-12-22	조직검사 의뢰 및 적합공으로 결제 문의	2022-02-03
[기사] 꿀벌농가 살리는 '농촌분야부패병, 부저병 진단기술' 개발	2021-11-03	수의임상에서 중요한 세균감염진단 어제, 오늘 그리고 내일(토)	2020-12-22	검사용기 신청합니다	2022-01-22
[10월 대재 휴무 안내] 10/4(월), 10/11(화) 임시휴무입니다.	2021-09-29	가톨릭 바베시아 급증... 10월말부터 다소 소강	2020-11-18	미결제부분	2022-01-21
[주식 휴무 안내] 9.19 ~ 9.22 휴무입니다.	2021-09-10			결제용기는 요청하면 보내주시나요?	2022-01-11

포스트바이오가 운영중인 팝애니랩의 웹기반 진단의뢰시스템 메인화면

- 현재 팝애니랩에서 검사하는 분자진단키트는 모두 포스트바이오(주)에서 개발하여 공급되는 제품으로 감염성 병원체의 유전자 검사의 개발에 대한 연구역량을 기 확보하고 있다.



- “ 빈혈환자 의뢰혈액 691건 중 145건서 바베시아 양성..가을철 집중.... 동물병원 진단 검사 의뢰기관 ‘팍애니랩’이 2016년 9월부터 올해 9월까지 2년간 빈혈환자로부터 의뢰된 혈액 691건을 검사한 결과 145건이 바베시아 양성으로 나타났다. 감염성 원인이 의심된 경우에 의뢰된 혈액이긴 하지만 21%에 달하는 양성률을 기록한 것이다. ” (2018년 10월 10일 데일리벳기사내용 발췌)

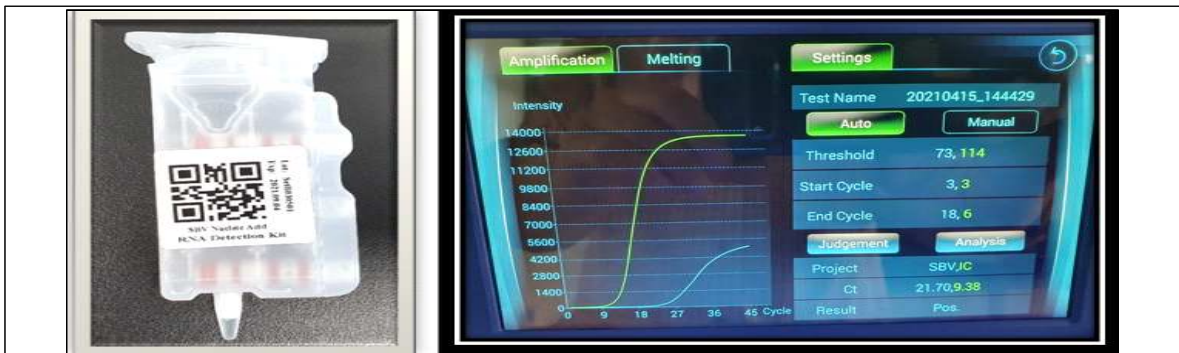


- “ 동물병원의 의뢰를 받아 감염병·알러지 검사를 수행하고 있는 진단기관 ‘팍애니랩’이 최근 개, 고양이의 위장관 및 상부호흡기 감염병 원인체 분리동향을 소개했다. 천두성 팍애니랩 대표는 5일 코엑스에서 열린 펫서울 카하 수의학술세션에서 연자로 나서 PCR 기법을 활용한 2018년 감염병 원인체 진단 통계를 전했다. 천두성 대표는 “반려동물 양육은 개가 고양이보다 많지만, 팍애니랩 정밀검사 의뢰 비중은 고양이가 더 높다”며 “개에 비해 고양이는 감염병 현장진단키트 구성이 여의치 않은 것이 요인”이라고 말했다. ” (2018년 8월 6일 데일리벳기사내용 발췌)



○ 2020년 농기평 연구사업에 선정되어 꿀벌 법정감염병에 대한 현장진단용 통합형 유전자 진단키트 개발 및 상용화성공

- 주관기관이 포스트바이오는 한국양봉농협과 공동으로 2020년 농기평에서 주관하는 농축산물안전유통소비기술개발사업 (역매청사업)에 지원하여 “친환경 꿀벌 사육을 위한 주요 꿀벌 감염병 현장진단 시스템 개발 및 임상적용 연구”를 통해 꿀벌의 법정 감염병 3종에 대한 현장 진단용 키트의 개발에 성공하였으며 농기평에서는 이를 성공적인 사업수행으로 홍보하여 “꿀벌농가 살리는 '낭충봉아부패병, 부저병 진단기술' 개발, 사용이 간편해 양봉장에서 의심충을 넣고 1시간이면 진단가능, 낭충봉아부패병과 부저병 확산 방지에 큰 도움”이라는 기사로 기사화한 바 있음.



현장용 진단카트리지와 검사결과 예시



현장용 진단검사키트 개발관련 신문기사

○ 국제네트워크 추진세부내역 (중앙백신연구소)

※ 국제 공동 연구 추진계획

(1) 추진 배경

ASF

- 아프리카 돼지열병(ASF)은 아프리카와 유럽을 넘어 이미 중국과 아시아 여러 국가에 전파되어 있는 상황이며, 한국에서도 2019년 9월 사육 돼지에서 최초발병이 있었으며, 현재는 지속적으로 멧 돼지에서 발병이 남하하는 상황이므로, 언제든지 사육 돼지에서도 추가발병이 발생할 수 있는 상황임
- 2022년 2월 11일 현재, 사육 돼지에서 16건, 멧돼지에서 2,100건이 발생하고 있는 상황입니다.
- 아프리카 돼지열병(ASF)은 매년 아프리카와 유럽의 양돈 산업에 큰 경제적 피해를 초래하였고, 한국을 포함한 아시아 국가들로 유입되면서 대규모 피해가 발생하고 있음
- 베트남의 경우, ASF가 사육 돼지에서도 꾸준히 발병하고 있고, 현재까지 상용화된 ASF 백신이 없어, 조기진단과 차단 방역으로 질병 전파를 차단하고 있음
- 국내에서 발병하고 있는 ASFV는 genotype 2 group에 속해 있고, 베트남에서 주로 발병하고 있는 ASFV도 genotype 2 group에 속하고 사육 돼지에서도 광범위하게 ASF가 발병하여, 다양한 시료를 구할 수 있는 베트남과 국제공동연구를 추진할 필요가 있음

<베트남 지역 국제협력 네트워크>

- 베트남에서 발생한 아프리카 돼지 열병(ASF)은 바이러스가 지속하여 출현하고 있으며, 이러한 바이러스는 아시아에서도 발생하고 있으며, 큰 경제적 피해를 초래하고 있음.
- 중국의 경우 중국에서 발생한 신종 병원체가 해외에 피해를 일으킨다는 점을 국가적으로 인정하지 않으려 하고 있음. 이에 따라 새로운 바이러스 출현 등에 대한 정보를 공용 database 등에 공개하고 있지 않으며, 학회 등에서도 중국의 바이러스가 퍼진 것이 아니라는 주장을 하고 있음.
- 이에 따라 중국뿐 아니라 다양한 동남아시아 지역(베트남)의 바이러스 정보를 확인한다면 중국의 정보를 간접적으로 알 수 있어 선제 대응에 중요한 정보가 될 수 있음.

HPAI

*국내에서 발병하고 있는 HPAI의 혈청형들은 H5N1, H5N8, H5N6, H5N8이며, 발생 기간별 혈청형은 아래와 같습니다.



발생기간	혈청형
2003-2004	H5N1
2006-2007	H5N1
2008	H5N1
2010-2011	H5N1
2014-2016	H5N8
2016-2017	H5N6, H5N8
2017-2018	H5N6
2020-2021	H5N8
2021- 현재	H5N1

*국내에서 최근 2년간 HPAI로 인한 살처분 수수는 아래와 같습니다.
 20/21년은 예방적 살처분을 포함한 숫자이며, 21/22년은 예방적 살처분을 미포함한 수치이지만, 전반적으로 HPAI로 인한 경제적 피해가 심각하다는 것을 알 수 있습니다.



1. HPAI 발생동향

	20/21년 (수수/발생건/축종 내 비율) 발생기간: 2020.11.26 - 2021.4.6.	21/22년 (수수/건)* 발생기간: 2021.11.08 -
전체 살처분 수	2,825만수/15%/109건	385만수/34건
산란계	1,675만수/23.4%/46건	250만수/11건
산란중계	22만수/37.3%/1건	0건
육용중계	111만수/13.1%/5건	1.3만수/1건
육계	698만수/7.4%/2건	15만수/2건
오리	208만수/26.3%/42건	12만수/7건
	출처: 양계연구2월호 및 농림축산식품부	출처: 농림축산식품부

*21/22 예방적 살처분 미포함

*베트남에서 문제시되는 HPAI의 혈청형은 H5N1으로 국내에서 dominant 하게 발병하는 혈청형 중 하나입니다. 2004년 이후 HPAI의 발병은 줄었지만 (FAO Vietnam, 2017), 여전히 베트남 양계사업에 심각한 피해를 주고 있습니다. (World Organization for Animal Health, 2018). WHO 자료에 따르면, 총 64명의 사람이 H5N1의 감염으로 사망했으며, 사람에게서의 발병은 2014년 이후로 없지만, 여전히, 발병위험이 크다고 할 수 있습니다.

2004년부터 2011년까지 분리된 H5N1 바이러스를 전장 분석을 통해서, 총 48개의 genotype을 분류할 수 있었고, 12개의 distinct haemagglutinin clades (Boender et al., 2007)과 subclades (1, 1.1, 2.3.4 [1-3], 2.3.2.1 [a-c] 3, 5, 7.1, 7.2) (Creanga et al., 2013; Tung et al., 2013)를 확인하였습니다.

*베트남은 2020년부터 H5N1에 대해서 피해를 줄이기 위해서, 살처분 정책에서 백신 정책으로 변경했지만, 현재까지는 killed vaccine만 허용하고 있는 상황입니다. 당 연구에서 개발될 “랩온칩”은 베트남 농장에서 HPAI의 예찰활동등에 유용하게 사용될 수 있는 바, 베트남 공동연구자들의 적극적인 협력이 가능합니다.

(2) 성공가능성

□ The Nong Lam University & Raho-6와의 협력사업

- 중앙백신연구소는 베트남 대학의 Dr. Duy와 아프리카 돼지열병(ASFV)에 정보 상호 교류 연구를 수행하고 있음. 중앙백신연구소는 ASF 바이러스에 감수성 있는 세포주 연구를 수행하고, RAHO-6는 본 연구와 관련한 ASF 바이러스 제공 및 BSL2 & BSL3 시설 사용에 협력하기로 MOU를 체결함.
- 중앙백신연구소는 Nong Lam University, Raho-6와 ASF 백신연구를 진행하고 있어, ASFV 현장진단용 ”랩온칩“과제를 추진하는데, 기 확보된 시료들과, 추가로 시료 확보 가능함.
- Dr. Duy는 기 확보된 HPAI 시료들을 일부 가지고 있고, 추가로 확보 가능함

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING

Amongst

ChoongAng Vaccine Laboratories Co., Ltd., a company established and operated under the laws of Korea, at 59-3, HwaAm-Dong, YuSeung-Gu, DaeJeon, Korea (hereinafter "CAVAC").

and

Veterinary pathology lab, College of Veterinary medicine, Seoul National University, established and operated under the laws of Korea at Kwanaek-ro 1, Kwanaek-Gu, Seoul, Korea (hereinafter "Veterinary Pathology")

and

Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam university, established and operated under the laws of Vietnam, at Kp 6, Linh Trung ward, Thu Duc District, Ho Chi Minh City, Vietnam (hereinafter "Faculty").

and

The Regional Animal Health Office No. 6, Department of Animal Health, established and operated under the laws of Vietnam, at 521/1 Hoang Van Thu, Ward 4, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam (hereinafter "RAHO-6")

Based on existing needs and capacities, the related parties agreed to establish a Memorandum of Understanding for cooperation in the research and development of the Vaccine against African Swine Fever (ASF). The roles and mission are proposed for the parties as follows.

CAVAC will:

- Supply materials, consumables, specific cell lines for ASF isolation and technical technology support related to ASF vaccine research and manufacturing.
- Allow experts of related parties to work and receive technical training at the unit.

Veterinary Pathology will:

- Supply specific cell lines for ASF isolation and experts for technical support related to ASF vaccine research.
- Allow experts of related parties to work and receive technical training at the unit.

Faculty will:

- Coordinate the research activities of the project in Vietnam and provide expertise, experience and experts to conduct research and development of ASF vaccines.
- Allow the experts of the parties involved to work and receive technical training at the unit.

RAHO-6 will:

- Allow the use of field ASF virus collected from the field for the epidemiological, pathological researches and development of potential vaccines at its unit.
- Allow experts of CAVAC and related parties to work, study at the agency in which can use level 2 biosafety laboratory (BSL2) and level 3 (BSL3)

Parties will:

- Agreed to protect the IP and related products produced from this ASF study, including the technology process for manufacturing ASF vaccines successfully in this partnership.

The MOU is made by consensus among the parties (CAVAC, Veterinary Pathology, Faculty and RAHO-6). This MOU shall become effective upon the official signing by the authorized officials of parties (CAVAC, Veterinary Pathology, Faculty and RAHO-6). Validity is valid for maintenance unless there is any other party's opinion with the mutual consent of the other parties. This MOU shall end on Dec. 31, 2023, unless the Parties have agreed in writing to extend this MOU.

Veterinary Pathology	Faculty
College of veterinary medicine Seoul National University Professor Chungho Cha	Faculty of Animal science and Veterinary Medicine Nong Lam University A/Prof. Le Quang Thong
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023
RAHO-6	CAVAC
Regional Animal Health Office No. 6, Department of Animal Health, Head Thu Huy Hoang	ChoongAng Vaccine Laboratories Co., Ltd CEO & President Dr. In-Joong Yoon
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023

<베트남과의 ASFV 관련 MOU>

BẢN GHI NHỚ

GIỮA

Công ty vắc-xin ChoongAng, là một công ty được thành lập và hoạt động theo luật pháp Hàn Quốc tại địa chỉ 59-3, HwaAm-Dong, YuSeung-Gu, DaeJeon, Hàn quốc (Sau đây gọi là "CAVAC").

Và

Phòng thí nghiệm bệnh lý, Trường thú y, Đại học quốc gia Seoul (Hàn Quốc), được thành lập và hoạt động theo luật pháp Hàn Quốc tại địa chỉ Kwanaek-ro 1, Kwanaek-Gu, Seoul, Korea (Sau đây gọi tắt là "Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU")

Và

Khoa chăn nuôi thú y, Trường Đại học Nông Lâm, TP.HCM, được thành lập và hoạt động theo luật pháp Việt Nam, tại địa chỉ tại Kp 6, P. Linh Trung, Thủ Đức, TP. HCM (Sau đây gọi tắt là "Khoa CNTY").

Và

Chi cục Thú y Vũng VI, Cục Thú y, được thành lập và hoạt động theo luật pháp Việt Nam tại địa chỉ 521/1, Hoàng Văn Thụ, Quận Tân Bình, TP. HCM (Sau đây gọi tắt là "RAHO-6").

Dựa trên nhu cầu và năng lực hiện có, các bên liên quan đã đồng thuận lập Bản ghi nhớ xác định hợp tác trong nghiên cứu phát triển và chế tạo vắc-xin Dịch tả lợn châu phi (ASF). Vai trò và công việc được đề xuất cho các bên như sau:

CAVAC sẽ:

- Cung cấp nguyên vật liệu, đồng tế bào chuyên biệt cho phân lập ASF và hỗ trợ công nghệ kỹ thuật liên quan đến nghiên cứu chế tạo và sản xuất vắc-xin ASF.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.

Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU sẽ:

- Cung cấp đồng tế bào chuyên biệt cho phân lập ASF và chuyên gia hỗ trợ công nghệ kỹ thuật liên quan đến nghiên cứu chế tạo vắc-xin.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.

Khoa CNTY sẽ:

- Điều phối chung các hoạt động nghiên cứu trong dự án tại Việt Nam và cung cấp chuyên môn, kinh nghiệm và chuyên gia để thực hiện nghiên cứu phát triển vắc-xin ASF.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.





RAHO-6 sẽ:

- Cho phép sử dụng nguồn ASF virus thực địa thu thập phục vụ cho dự án nghiên cứu dịch tễ, bệnh lý và phát triển vắc-xin tiềm năng tại đơn vị.
- Cho phép chuyên gia của CAVAC và các bên liên quan đến làm việc, nghiên cứu trong đó có thể sử dụng phòng thí nghiệm an toàn sinh học cấp 2 (BSL2) và cấp 3 (BSL3) tại cơ quan.

Các bên sẽ:

- Đồng thuận bảo mật, quyền sở hữu trí tuệ, và sản phẩm liên quan tạo ra từ nghiên cứu này, bao gồm cả quy trình công nghệ kỹ thuật chế tạo vắc-xin ASF thành công trong hợp tác này.

Bản ghi nhớ này được lập theo sự đồng thuận giữa các bên (CAVAC, Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU, Khoa CNTY và RAHO-6). Bản ghi nhớ sẽ có hiệu lực khi ký kết chính thức của các bên (CAVAC, Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU, Khoa CNTY và RAHO-6). Hiệu lực có giá trị duy trì trừ khi có ý kiến khác của một bên bất kỳ với sự đồng thuận chung của các bên còn lại. Bản ghi nhớ này giữa các bên sẽ kết thúc vào ngày 31 tháng 12 năm 2023, trừ khi các Bên liên quan đồng ý gia hạn bằng văn bản chính thức.

RAHO-6	Khoa CNTY
Chi cục Thú y Vũng VI Cục thú y Phó Chi Cục trưởng Thu Huy Hoàng	Khoa Chăn nuôi Thú y Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM Phó giáo sư Lê Quang Thong
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023
Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU	CAVAC
Phòng thí nghiệm bệnh Khoa thú y Đại học quốc gia Seoul (Hàn Quốc) Giáo sư Chungho Cha	Công ty TNHH ChoongAng Chủ tịch Tiến sỹ In-Joong Yoon
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023

BẢN GHI NHỚ

GIỮA

Công ty vắc-xin ChoongAng, là một công ty được thành lập và hoạt động theo luật pháp Hàn Quốc tại địa chỉ 59-3, HwaAm-Dong, YuSeung-Gu, DaeJeon, Hàn quốc (Sau đây gọi là "CAVAC").

Và

Phòng thí nghiệm bệnh lý, Trường thú y, Đại học quốc gia Seoul (Hàn Quốc), được thành lập và hoạt động theo luật pháp Hàn Quốc tại địa chỉ Kwanaek-ro 1, Kwanaek-Gu, Seoul, Korea (Sau đây gọi tắt là "Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU")

Và

Khoa chăn nuôi thú y, Trường Đại học Nông Lâm, TP.HCM, được thành lập và hoạt động theo luật pháp Việt Nam, tại địa chỉ tại Kp 6, P. Linh Trung, Thủ Đức, TP. HCM (Sau đây gọi tắt là "Khoa CNTY").

Và

Chi cục Thú y Vũng VI, Cục Thú y, được thành lập và hoạt động theo luật pháp Việt Nam tại địa chỉ 521/1, Hoàng Văn Thụ, Quận Tân Bình, TP. HCM (Sau đây gọi tắt là "RAHO-6").

Dựa trên nhu cầu và năng lực hiện có, các bên liên quan đã đồng thuận lập Bản ghi nhớ xác định hợp tác trong nghiên cứu phát triển và chế tạo vắc-xin Dịch tả lợn châu phi (ASF). Vai trò và công việc được đề xuất cho các bên như sau:

CAVAC sẽ:

- Cung cấp nguyên vật liệu, đồng tế bào chuyên biệt cho phân lập ASF và hỗ trợ công nghệ kỹ thuật liên quan đến nghiên cứu chế tạo và sản xuất vắc-xin ASF.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.

Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU sẽ:

- Cung cấp đồng tế bào chuyên biệt cho phân lập ASF và chuyên gia hỗ trợ công nghệ kỹ thuật liên quan đến nghiên cứu chế tạo vắc-xin.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.

Khoa CNTY sẽ:

- Điều phối chung các hoạt động nghiên cứu trong dự án tại Việt Nam và cung cấp chuyên môn, kinh nghiệm và chuyên gia để thực hiện nghiên cứu phát triển vắc-xin ASF.
- Cho phép chuyên gia của các bên liên quan đến làm việc và tập huấn công nghệ kỹ thuật tại đơn vị.





RAHO-6 sẽ:

- Cho phép sử dụng nguồn ASF virus thực địa thu thập phục vụ cho dự án nghiên cứu dịch tễ, bệnh lý và phát triển vắc-xin tiềm năng tại đơn vị.
- Cho phép chuyên gia của CAVAC và các bên liên quan đến làm việc, nghiên cứu trong đó có thể sử dụng phòng thí nghiệm an toàn sinh học cấp 2 (BSL2) và cấp 3 (BSL3) tại cơ quan.

Các bên sẽ:

- Đồng thuận bảo mật, quyền sở hữu trí tuệ, và sản phẩm liên quan tạo ra từ nghiên cứu này, bao gồm cả quy trình công nghệ kỹ thuật chế tạo vắc-xin ASF thành công trong hợp tác này.

Bản ghi nhớ này được lập theo sự đồng thuận giữa các bên (CAVAC, Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU, Khoa CNTY và RAHO-6). Bản ghi nhớ sẽ có hiệu lực khi ký kết chính thức của các bên (CAVAC, Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU, Khoa CNTY và RAHO-6). Hiệu lực có giá trị duy trì trừ khi có ý kiến khác của một bên bất kỳ với sự đồng thuận chung của các bên còn lại. Bản ghi nhớ này giữa các bên sẽ kết thúc vào ngày 31 tháng 12 năm 2023, trừ khi các Bên liên quan đồng ý gia hạn bằng văn bản chính thức.

RAHO-6	Khoa CNTY
Chi cục Thú y Vũng VI Cục thú y Phó Chi Cục trưởng Thu Huy Hoàng	Khoa Chăn nuôi Thú y Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM Phó giáo sư Lê Quang Thong
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023
Phòng thí nghiệm bệnh lý SNU	CAVAC
Phòng thí nghiệm bệnh Khoa thú y Đại học quốc gia Seoul (Hàn Quốc) Giáo sư Chungho Cha	Công ty TNHH ChoongAng Chủ tịch Tiến sỹ In-Joong Yoon
	
Date: 28/7/2023	Date: 28/7/2023

<베트남과의 ASFV 관련 MOU 체결(베트남어)>

(3) 상대국 공동연구기관 및 공동연구책임자의 실적·연구능력

○ Dr. Duy

- Professor: The University of Nong nam University (Vietnam)
- 중심 연구분야: 신·변종 바이러스의 생태학, 진화 및 병인론, 수의 병리학.
- 돼지 감염병 관련하여 지속적인 연구를 수행하고 있으며, 꾸준히 SCI 급 저널에 논문을 발표함.

<Manuscript>

- Comparative evaluation of the efficacy of commercial and prototype PRRS subunit vaccines against an HP-PRRSV challenge, 2018, J Vet Med Sci.
- High levels of contamination and antimicrobial-resistant non-typhoidal Salmonella serovars on pig and poultry farms in the Mekong Delta of Vietnam, 2015, Epidemiol Infect.
- An epidemiological investigation of Campylobacter in pig and poultry farms in the Mekong delta of Vietnam, 2014, Epidemiol Infect.
- Time course of tissue remodelling and electrophysiology in the rat sciatic nerve after spiral cuff electrode implantation, J Neuroimmunol.

○ Dr. Toan (부총장 of Nong nam University)

- Professor: The University of Nong nam University (Vietnam)
- 중심 연구분야: 신·변종 바이러스의 생태학, 수의학.

<Manuscript>

- A phase 2/3 double-blind, randomized, placebo-controlled study to evaluate the safety and immunogenicity of a seasonal trivalent inactivated split-virion influenza vaccine (IVACFLU-S) in healthy adults in Vietnam, 2019, Hum Vaccin Immunother.
- Immunogenicity and reactogenicity of ten-valent versus 13-valent pneumococcal conjugate vaccines among infants in Ho Chi Minh City, Vietnam: a randomised controlled trial, 2019, Lancet Infect Dis.
- Evaluation of different infant vaccination schedules incorporating pneumococcal vaccination (The Vietnam Pneumococcal Project): protocol of a randomised controlled trial, 2018, BMJ Open.
- Dengue epidemiology in selected endemic countries: factors influencing expansion factors as estimates of underreporting, 2015, Trop Med Int Health.

○ Dr. Bach duc luu : RAHO-6 president (BSL3⁺)

- 베트남 호치민 RAHO-6 기관장으로써, 베트남에서 발생하는 다양한 동물 감염병에 대한 연구와 방역을 통제함.

(4) 연구비, 연구인력, 연구시설 등의 이용 및 분담내용

- 베트남 연구실에 매년 1개월에서 3개월간의 직접적인 연구원의 체류를 통해 현지에서의 아프리카 돼지열병(ASF) 바이러스의 분리 동정 및 진단키트용 항원개발에 직접적으로 수행할 예정이다.
- 또한, 베트남 연구실의 실질적인 연구원을 국내로의 초청을 통한 국제 세미나 개최 등 정기적인 교류를 수행할 예정이다.
- 서신 및 정기적인 학회활동을 통해 지속적 자문활동을 요청할 계획이며 해외 유래 병원체에 대한 정보를 공유할 예정이다.
- 연구결과에 대해 정보를 교환하고 공동 학술 활동 예정이다.
- 중앙백신연구소는 베트남에 공동연구 기관인 Nong Lam 대학과 Raho-6에 공동연구비를 지원할 예정이다(BSL-3 사용료).

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 연구개발과제의 최종 목표

아프리카돼지열병, 고병원성 조류인플루엔자 등 산업동물의 감염병 중 돈군 또는 계군에 치명적인 감염을 유발할 수 있는 감염성 병원체에 대해 국내외에서 검출된 병원체의 유전자 DB를 구축하여 병원체의 변이에 대응하기 위한 인프라를 구축하고 대상병원체의 검출을 위한 현장진단시스템을 개발을 통해 감염병의 확산을 효율적으로 대응하는 진단툴을 제공하고 정확한 진단에 근거하여 신속한 사전행정조치 등의 시행을 통해 감염된 산업동물군의 대량매몰 등의 살처분에 소요되는 국가예산의 집행 및 행정적인 낭비를 최소화하고자 함.

2) 연구개발과제의 단계별 목표

○ 연구개발 목표 (1차년도)

- 주관연구기관(포스트바이오)

: 대상질환 유전자 진단법 개발 → 유전자분석기관 용역을 통한 유전자 DB구축
(위탁연구 ; 주식회사 코스모진텍)

: 환경부 야생동물연구원, 농림축산검역본부 등 국내 연구네트워크 구축

: 고감도 유전자진단법 개발 및 현장 진단카탈리지 구현

(아프리카돼지열병 등 2종 질환)

: 대상질환군 현장진단키트에 대한 성능평가수행(분석적, 임상적성능평가)

- 참여기관(중앙백신)

: 베트남 등 해외기관과의 글로벌 연구네트워크 구축

: 아프리카돼지 열병 등 2종 질환에 대한 해외임상 및 성능평가수행

○ 연구개발 목표 (2차년도)

- 주관연구기관(포스트바이오)

: 대상질환 유전자 진단법 개발 → 유전자분석기관 용역을 통한 유전자DB구축
(위탁연구 ; 주식회사 코스모진텍)

: 환경부 야생동물연구원, 농림축산검역본부 등 국내 연구네트워크 구축

: 고감도 유전자진단법 개발 및 현장 진단카탈리지 구현

(아프리카돼지열병 등 2종 질환)

: 대상질환군 현장진단키트에 대한 성능평가수행(분석적, 임상적성능평가)

: 3등급 동물용 의료기기 허가를 위한 문서작업 및 접수

- 참여기관(중앙백신)

- : 베트남 등 해외기관과의 글로벌 연구네트워크 구축
- : 아프리카돼지 열병 등 2종 질환에 대한 해외임상 및 성능평가수행
- : 최종 진단제품에 대한 해외 성능평가를 통한 상용화연구

3) 연구개발과제의 내용

○ 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 조사를 통한 진단타겟 선정

- 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협의를 통해 과제의 RFP에서 제시하는 질환군에 대한 국내 외발생조사 및 문헌검색
- 과제 RFP에서 제시하는 2종 이상의 신변종 가축감염병에 대한 병원체는 반드시 포함하며 그 외 가축감염병 중 현안이슈가 되어 현장진단이 필요한 감염성 병원체 타겟을 추가로 선정

【아프리카돼지열병바이러스(ASFV)】

2. 역사 I. ASF의 이해

1921년 아프리카 케냐에서 최초 보고된 이후 주로 아프리카지역 풍토병(Endemic)으로 발생

1957~1995년 아프리카 앙골라 지역에서 포르투갈(리스본)로 최초 유입된 이후 스페인('60), 프랑스('64), 이탈리아('67), 벨기에('85) 등 유럽 확산

2007년 조지아(Republic of Georgia)의 Poti 항구에 들어온 선박에서 유래한 잔반을 인근 돼지에 급여함으로써 동유럽과 러시아에 유입

다수의 동유럽(헝가리, 루마니아 등) 및 러시아에서 지속 발생 중

2018년~현재

✓ '18.8월 아시아 최초로 중국에서 발생한 이후 '19년에 들어 몽골, 베트남, 캄보디아 등 확산 중



3-1. 원인체 I. ASF의 이해

원인체: *Astivirus*(*Astroviridae* 속)
* *Astroviridae*: African Swine Fever And Related Viruses

혈액이나 분변, 타액 등 바이러스 다량 포함

대식세포에 침입하여 면역계 파괴 (에이즈와 같은 맥락)

이중나선구조의 DNA 바이러스 (200nm로)

RNA에 비해 DNA 바이러스는 안정성이 높음(주변환경과 소독제에 저항성 다)

잠복기 4~19일

숙주방어용 중화항체 생산이 거의 없으며 유전형이 다양(24개)



3-2. 바이러스의 생존기간 I. ASF의 이해

구분	ASFV 생존기간	구분	ASFV 생존기간
뼈가 있거나 없는 상태의 고기, 다진고기	105일	내장	105일
소금에 절인 고기	182일	(건조) 피부 / 지방	300일
조리된 고기(70°C에서 최소 30분간)	0일(생존불가)	4°C에서 보관한 혈액	18개월
말린 고기	300일	실온에서 배양물	11일
훈제 및 짬뽕 제거된 고기	30일	부패된 혈액	15주
냉동 고기	1,000일	오염된 돼지 우리	1개월
냉장 고기	110일		

출처: EFSA Journal, 2018; 8(3): 1556
- 제시된 생존기간은 알려진(추정) 최대 기간을 반영한 자료이며, 주변 온도 및 습도에 따라 변동 가능

온도, pH 저항성 강함


- 불활화: 70°C, 30분
- pH: 4~10 사이에서 안정(유기물이 존재할 경우 그 범위는 넓어짐)

4. 감수성 동물 I. ASF의 이해

감염숙주: 돼지과(Suidae) 동물

- 사육돼지에서 높은 감수성(감염)
- 아프리카 야생돼지(Wart hog, Bush pig, Forest hog): 무중상 보균
- 유럽 야생멧돼지(*Sus scrofa*): 사육돼지와 같은 폐사율
- 사람은 ASF 바이러스에 감염되지 않음



아프리카형 유입형

(출처: Wikipedia, 2015)

- 아프리카돼지열병 (African Swine Fever)은 1921년 아프리카 케냐지역에서 최초로 보고된 이후 아프리카의 풍토병으로 지속적으로 발생하였으나 1950년대 후반 아프리카지역에서 유럽으로 유입되어 유럽의 멧돼지와 집돼지에서 모두 대규모의 발병이 진행되어 전유

렵으로 확산되었으며 2000년대 초반 유행이 동유럽과 러시아로 확대되었고 이후 중국을 포함한 동남아시아 지역으로 확산되고 있음.

- 아프리카돼지열병 (African Swine Fever)을 유발하는 바이러스는 약 200nm크기의 동물바이러스중 가장 큰 바이러스의 일종으로 숙주(사육돼지, 야생돼지 및 멧돼지 등)에 감염되는 경우 1-3주간의 잠복기를 거쳐 대식세포 등 면역세포에 감염되어 숙주의 면역체계를 파괴하는 특징을 가진다.
- 바이러스는 이중나선구조의 DNA 핵산을 가진 바이러스로 외부 환경에 매우 안정하여 냉장조건에서 약 100일, 냉동조건에서는 약 1,000일동안 감염성을 유지하는 것으로 알려져 있고 피부 등에 오염되어 건조되는 경우 약 1년간 감염력이 유지되는 특징을 가지고 있음



- 아프리카돼지열병 (African Swine Fever)은 2019년 당시 총 51개국에서 발생하고 있으며 2022년 현재는 전 세계 5개의 대륙에서 바이러스의 감염이 이미 상재되어 발생되고 있으며 특히 우리나라가 포함된 아시아의 경우 중국과 우리나라를 포함하여 13개 국가에서 발생이 지속되고 있는 것으로 발표되었으며 주된 전염원의 경우 바이러스에 오염된 육류 등을 급이하는 경우와 야생멧돼지를 통한 사육돼지로의 전파가 가장 주요한 것으로 보고 되고 있다.

(표 1) 세계 ASF 발생현황(OIE - WAHIS)

발생지역	아시아	유럽	아프리카	아메리카	오세아니아
발생건수	1,077 (야생 1,519)	3,414 (야생 17,084)	155	225	4
발생두수	89,682 (야생 1,707)	963,484 (야생 29,091)	13,003	8,642	500
폐사두수	399,425	1,337,161	20,350	15,130	397
발생국가	대한민국 북한 중국 베트남 필리핀 인도네시아 홍콩 말레이시아 태국 부탄 미얀마 인도 동티모르	불가리아 에스토니아 독일 헝가리 라트비아 리투아니아 몰도바 북마케도니아 폴란드 루마니아 러시아 세르비아 슬로바키아 우크라이나 이탈리아	코트디부아르 나미비아 나이지리아 남아프리카 탄자니아 잠비아	도미니카공화국 아이티	파푸아뉴기니

2. 임상증상을 통한 예찰 - 사진(1/2) IV. 농장 차단방역 지도 요령

돼지들이 한데 걸터앉음 증상출혈 소견(귀) 사지발달 및 복부 팽창 증상

비장 출혈 혈액성, 장액성의 비루 피부 충혈 및 괴사

*인용출처: www.rhpi-livestock.edu, Center for Food Security and Public Health, Iowa State University

2. 임상증상을 통한 예찰 - 사진(2/2) IV. 농장 차단방역 지도 요령

다양한 충출혈(피하) 증상들

* 출처: Chlosters of Swine, 10th Ed (2012)

2-1. ASF 진단법 - 부검(2/4) 참고자료

사진으로 보는 부검소견 (비장 종대)

2-1. ASF 진단법 - 부검(4/4) 참고자료

사진으로 보는 부검소견 (다양한 장기 충·출혈)

- ASFV에 감염된 돼지의 경우 4-19일간의 잠복기를 거쳐 대식세포 등 면역세포에 감염되어 숙주의 면역체계를 파괴하게 되는데 이때 발생하는 가장 큰 병리학적인 변화를 피부 등이 청색증, 전신장기의 출혈과 종대, 비장종대 그리고 다양한 부위에서 발생하는 피하의 충출혈증상을 관찰할 수 있다.

4-1. ASF 진단법 - PCR 등 참고자료

ASF 유전자 항원 진단

- ✓ PCR : 가장 일반적으로 사용
- ✓ 바이러스 분리(VI) 및 혈구흡착시험(HAD)
 - 바이러스 확인법으로서 시간과 노력이 많이 소요되므로 표준실험실에서만 사용
- ✓ 면역형광법(DIF) : 감염조직에서 확인

ASF 항체 진단

- ✓ ELISA
 - 가장 일반적으로 사용
 - 상용화된 키트(INGENASA, IDvet 등) 사용 가능
- ✓ 확진법: Immunoblotting, Immunoperoxidase test(IPT) 사용

4-2. ASF 진단법 - PCR 등(모식도) 참고자료

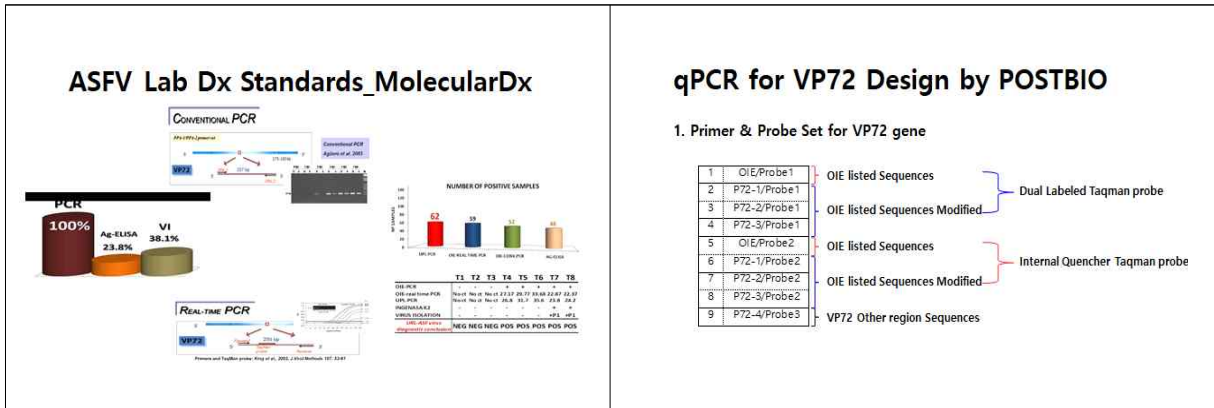
ASFV Differential Dx

- Classical swine fever (CSF or hog cholera)**
 - not possible to differentiate ASF and CSF by clinical or post-mortem examination; essential to send samples for laboratory examination
- Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)
- Erysipelas
- Salmonellosis
- Aujeszky's disease (or pseudorabies) [younger swine]
- Pasteurellosis
- Other septicaemic conditions

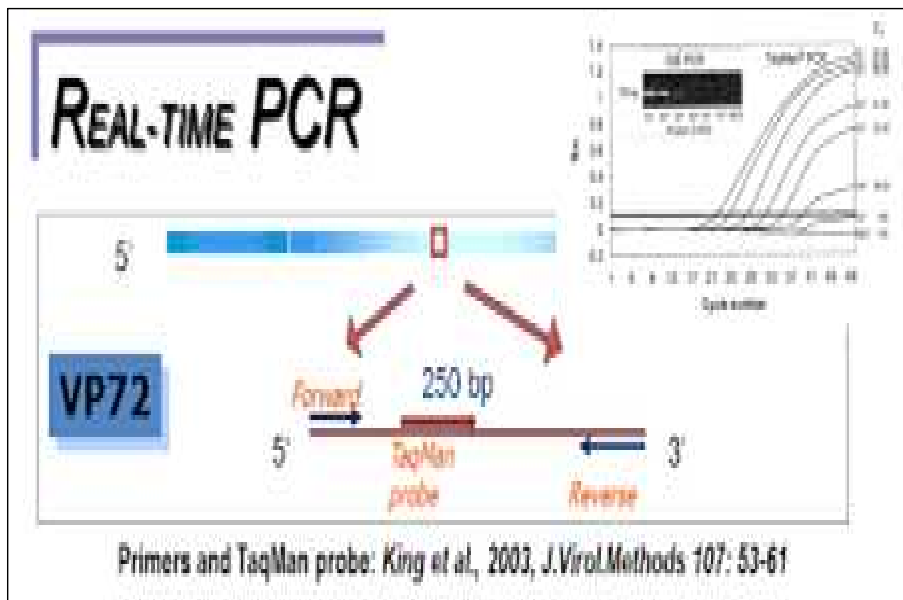
ASFV Lab Dx

AVAILABLE VALIDATED DIAGNOSTIC TESTS IN USE

ANTIBODY DETECTION TECHNIQUES	VIRUS DETECTION TECHNIQUES
<ul style="list-style-type: none"> • ELISA K3* • ELISA OIE • ELISA ID-VET* • ELISA-Svanova* 	<ul style="list-style-type: none"> • Virus Isolation/HAD • FAT (DIF) TEST • Antigen ELISA K2* • PCR Conventional-Aguero • Real timePCR-King
<p>Ab PENSIDE test*</p> <p>Confirmatory tests:</p> <ul style="list-style-type: none"> • IB TEST • IPT TEST • IFA TEST <p>* COMMERCIAL KITS</p>	<p>UPL PCR</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR Multiplex • PCR Tignon • PCR Tetracore* • Tetracore/ARS



- ASFV에 감염이 의심되는 돼지의 폐사체를 부검하여 육안병변과 조직병리학적인 진단을 수행하는 경우라도 바이러스 감염에 대한 확진은 어려운 관계로 바이러스감염에 대한 확진은 대부분 실험실 진단에 의존하게 된다.
- 진단은 크게 항원-항체반응에 의한 면역학적 진단법과 유전자검출법으로 분류되며 면역학적 진단의 경우 ELISA 및 lateral flow 방식의 바이러스항체 또는 항원을 검출하는 방법이 널리 사용되고 있으며 유전자 진단법의 경우 ASFV의 유전자중 가장 conserved 한 부위로 알려진 p72 유전자가 유전자진단에 추천되는 부위로 알려져 있으며 세계 동물 보건 기구 (WOAH; World Organisation for Animal Health)에서는 Convetional PCR, Taqman probe based real time PCR 그리고 등온증폭법인 LAMP 등이 등재되어 표준시험법으로 활용되고 있으며 실험실 진단법 중 유전자진단법이 가장 직접적이고 민감도가 우수한 방법으로 널리 사용되고 있다.
- 본 과제의 수행을 위해서도 ASFV의 진단에서 가장 널리 사용되고 있는 p72 유전자를 타겟유전자로 사용하여 진단법을 개발할 예정으로 개발된 유전자검사의 비교평가는 WOAH에서 제시한 유전자검사법 중 Taqman probe based real time PCR을 표준시험법으로 사용할 예정이다.

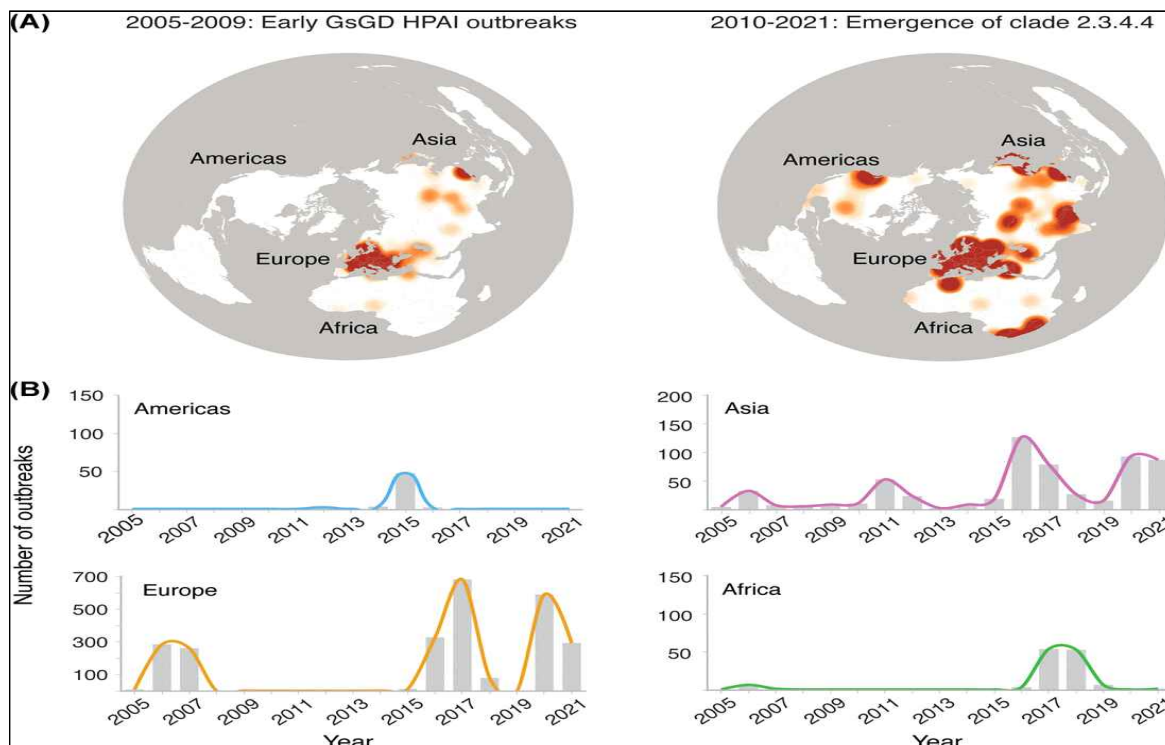


WOAH에서 추천하는 Taqman probe 기반 리얼타임피씨알의 타겟유전자 부위에 대한 정보

【고병원성인플루엔자바이러스(HPAI)】

Influenza A (Infects a wide range of animals including birds)	A Subtypes Avian (Can infect humans) H5N1 H7N3 H7N7 H7N9 H9N2 H10N8 Swine (Can infect humans) H1N1 H1N2 H3N2 Most common human H1N1 H3N2	HPAI vs LPAI HPAI H5N1 LPAI H5N1 HPAI H5N8 LPAI H5N8 Subtypes can be classified as high path or low path based on the ability of the specific virus strain to kill chickens in the lab setting.
Influenza B (Mainly infects humans)		
Influenza C (Infects humans and pigs but more rare than types A and B)		
Influenza D (Infects cattle)		

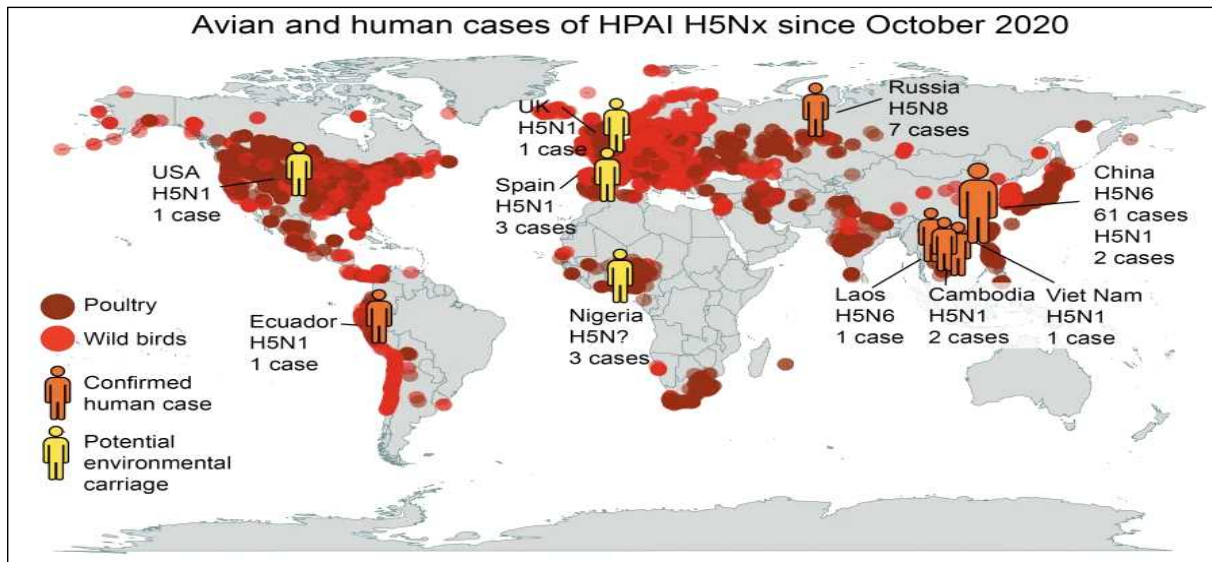
- 인플루엔자는 크게 A형에서 D형의 4가지 타입으로 현재까지 보고되어 있으며 주로 신변 동바이러스의 출현 및 인수공통감염병으로 주로 문제를 유발하는 타입은 A형 인플루엔자 바이러스로 확인된다.
- A형 인플루엔자바이러스의 경우 조류, 포유류 등 다양한 숙주에서 감염이 유발되며 특히 돼지의 경우 중간숙주로서 조류와 포유류에서 유래한 바이러스가 혼입되어 변종의 바이러스가 생성되는 mixing bath 역할을 하는 것으로 보고되어 있다.
- 본 과제의 주제가 되는 H5와 H7의 일부 고위험 인플루엔자 바이러스들은 매년 철새와 닭, 오리 등의 가금류에서 높은 폐사율을 유발하는 고병원성 인플루엔자바이러스로 알려져 있으며 전세계적으로 이들에 대한 조류의 감염사례가 증가하고 있으며



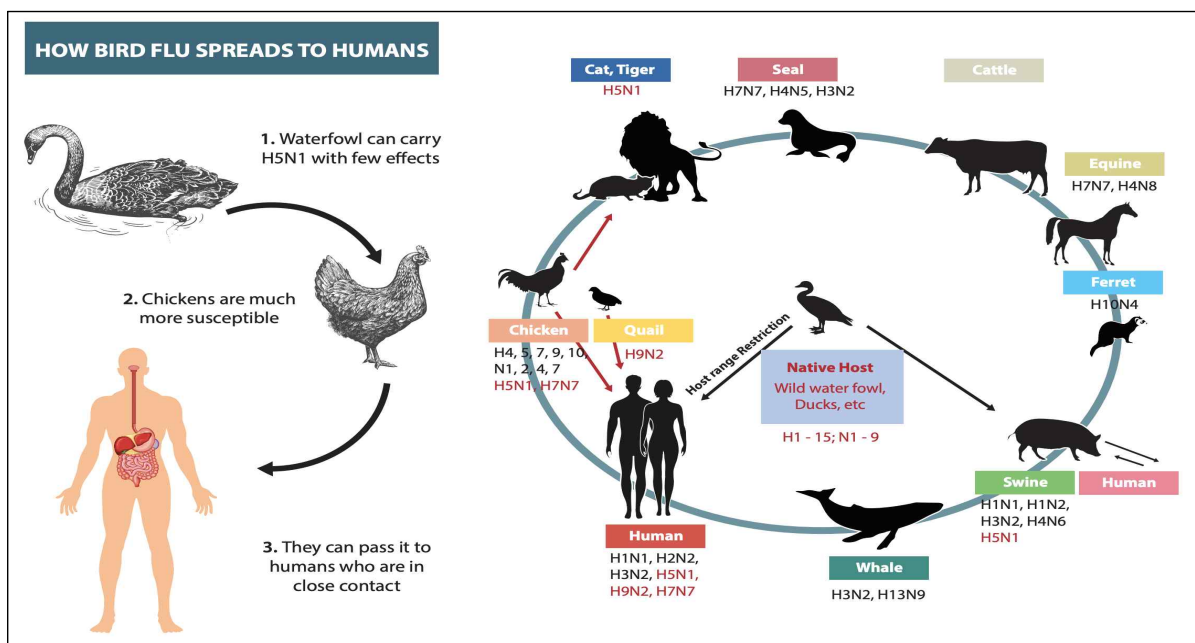
- 2005년 8월 2일부터 2021년 3월 22일까지 세계동물보건기구(WOAH)에 보고된 야생 및 사육 조류(즉, 가금류가 아닌 조류)의 고병원성 조류 인플루엔자(HPAI) 발생보고에 따르면 패널 A는 야생조류와 사육조류에 신종 A/거위/광둥/1/1996 유사(GsGD) 고병원성 HPAI 바이러스가 확산된 이후(왼쪽), 야생조류에 적응한 2.3.4.4 클레이드 바이러스가 진

화한 이후(오른쪽) 검출 사건(빨간색)이 지리적으로 상대적으로 발생한 시기를 나타냅니다. 패널 B는 연도별 HPAI 발생 검출의 상대적 발생 현황을 나타있어 2015년 이후 발병이 전세계적으로 증가하고 있음을 보여주고 있다.

- 이 중 특히 H5N1 형의 경우 조류에서 사람 또는 기타 포유류로의 숙주친화성 변이가 지속적으로 보고되어 고병원성 인플루엔자바이러스가 조류 뿐 아니라 사람을 포함한 포유류에서도 높은 치사율을 보이는 심각한 발병을 유발할 수 있는 중요한 질병으로 관심이 집중되고 있는 실정이다.



- 상기의 그림은 2020년 10월 이후 조류 및 인간 HPAI H5Nx의 질병발생사례(2023년 2월 28일 기준)로 이중 인간 확진 사례(주황색)와 PCR 양성이지만 환경 오염의 결과일 수 있는 무증상 또는 실제 감염 없이 바이러스만 검출된 사례(노란색)를 구분되어 있습니다.



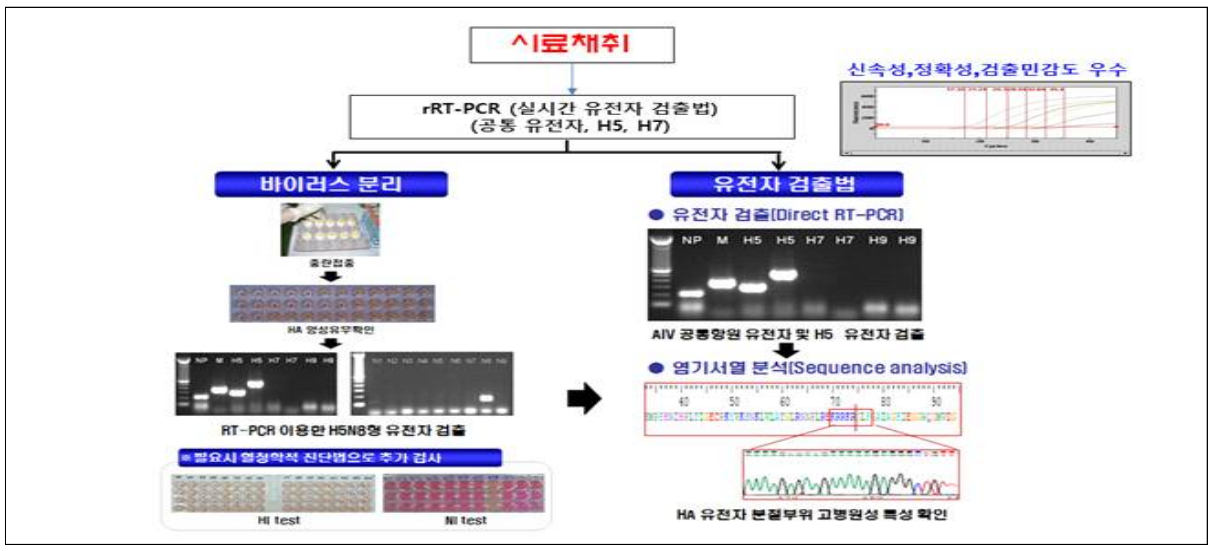
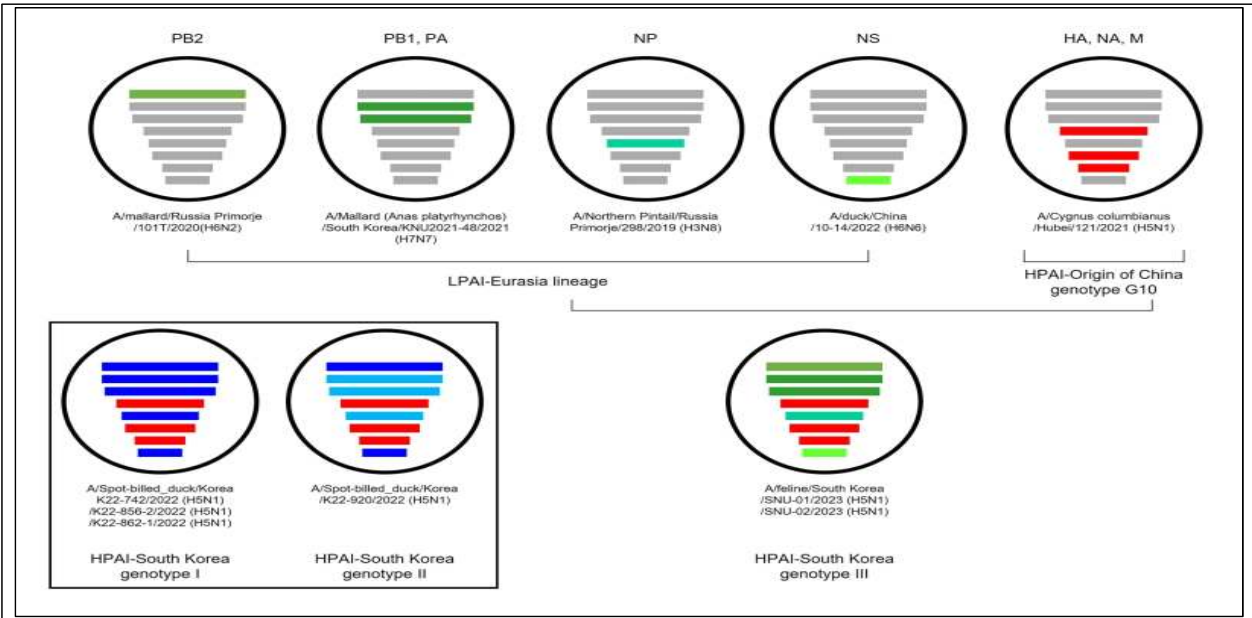
- 이처럼 고병원성 인플루엔자는 사람감염사례 이외에도 다양한 포유동물에서 확인된 바 있으며 특히 대표적인 H5N1형의 고병원성 인플루엔자의 경우 돼지, 고양이, 사자 등에서 확인되었으며 특히 최근에 국내에서 야생고양이에서 바이러스에 오염된 오류사료를 생식으로 급식하고 대규모의 폐사가 발생한 사례가 국내에서도 발생한 바 있다.



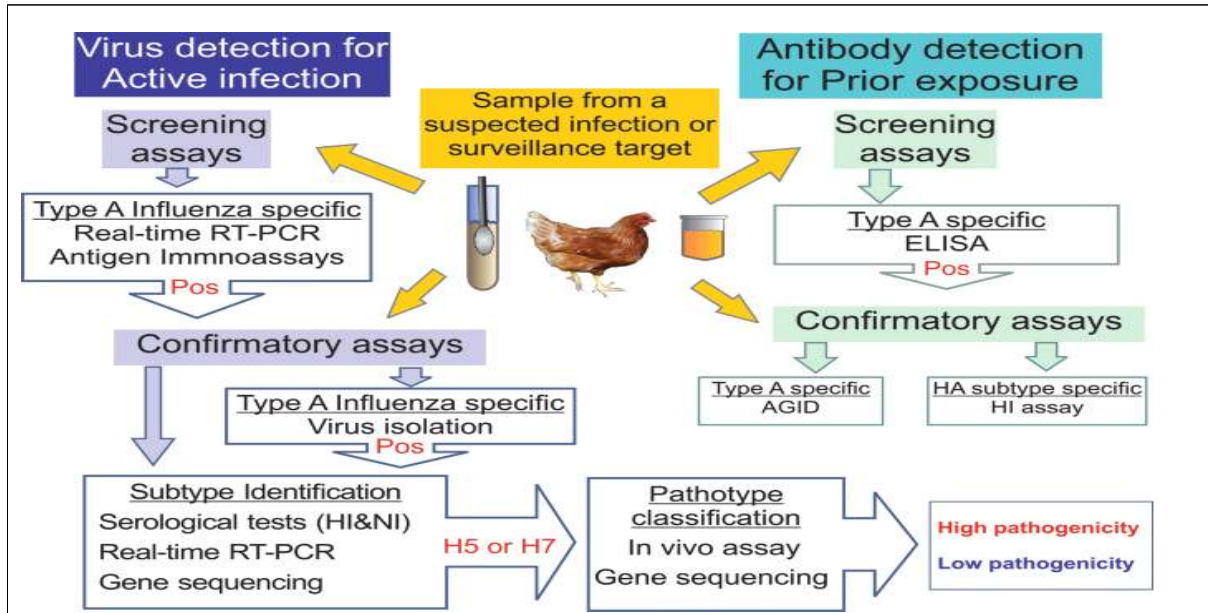
Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023

Kyungmoon Lee^a, Minjoo Yeom^a, Thi Thu Hang Vu^b, Hai-Quynh Do^a, Woosung Na^c, Mikyung Lee^d, Dae Gwin Jeong^e, Doo-Sung Cheon^f and Daesub Song^a

^aDepartment of Virology, College of Veterinary Medicine and Research Institute for Veterinary Science, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea; ^bCollege of Pharmacy, Korea University, Sejong, South Korea; ^cCollege of Veterinary Medicine, Chonnam University, Gwangju, South Korea; ^dSocial Cat Clinic, Gyeonggi, South Korea; ^eKorea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, South Korea; ^fPostbio, Gyeonggi, South Korea



- 상기의 절차는 국내 농림축산검역본부의 조류인플루엔자 정밀진단프로토콜에 게시된 고병원성 조류인플루엔자의 진단 및 확인절차로 1차적으로 M 유전자와 HA유전자를 타겟으로 A형 인플루엔자의 검출 및 HA 유전자형 분석을 수행하고
- 이후 집단발병이 의심되는 사례에서 A형 인플루엔자와 H5 또는 H7형의 바이러스가 검출되면 바이러스를 분리하고 동시에 유전자형 분석을 통해 고병원성여부를 확인하는 절차를 수행하게 된다.



- 한국과는 다르게 다른 외국의 표준실험실의 경우 고병원성 조류인플루엔자의 집단발병이 의심되는 경우 한국과 유사하게 A형 인플루엔자바이러스의 항원 또는 유전자를 검출하여 스크리닝검사하고 바이러스가 검출되는 경우 바이러스를 분리하고 이후 추가적인 염기열 분석을 통해 고병원성여부를 확인하는 절차를 진행하는 것으로 알려져 있다.
- 감염상황을 스크리닝하고 이후에 이후 집단발병이 의심되는 사례에서 A형 인플루엔자와 H5 또는 H7형의 바이러스가 검출되면 바이러스를 분리하고 동시에 유전자형 분석을 통해 고병원성여부를 확인하는 절차를 수행하게 된다
- 따라서 본 과제에서는 조류와 포유류에서 문제를 유발할 수 있는 A형 인플루엔자바이러스의 현장검출 및 고위험인플루엔자바이러스에 속하는 것으로 알려진 H5와 H7의 유전자형을 동시에 현장에서 검출할 수 있는 진단시스템을 개발하고 이를 임상시료에 적용하고자 하였다.

○ 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 유전자분석법 확립 및 유전자 DB 구축

- 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협업을 통해 신변종 가축감염병에 대한 유전자분석부위의 설정 및 블라스트분석 등 유전자 레벨의 유연관계 분석
- 주관연구기관이 국내 유전자분석기관에 위탁으로 각 병원체에 대한 유전자분석사이트 (예 HPAI GeneNet, ASFV GeneNet 등)을 구축하고 연구시점까지 NCBI 등 국제적인 유전자 DB에 축적된 해당바이러스의 유전자정보 및 본 연구를 통해 국내와 베트남현지에서 확보한 바이러스의 염기서열데이터를 입력하고 블라스트, 유연관계분석 등 기본적인 유전자분석이 가능한 사이트를 구축

첨부자료. 유전자분석 및 관련웹사이트 구현관련 위탁용역보고서 (최종보고서, 코스모진텍)

(최종보고서)

유전자 분석 및 소프트웨어 (Sequence Align) 개발

수행기관: (주) 코스모진텍

2023. 12. 31

(주) 코스모진텍

목 차	
I. 사업개요	1
1. 배경 및 목적	1
2. 주요사업내용	1
3. 과업 내용	2
4. 추진 일정 및 연내 계획	3
II. ASV 유전자 NGS, Data 분석	31
III. HPAI 유전자 NGS, Data 분석	82

1. 사업개요

가. 사업명: 유전자분석 및 소프트웨어개발(Sequence Align)

나. 사업기간: 계약일로부터 2023년 12월 31일까지

다. 소요예산: 100,000천원 (부가세 포함)

라. 계약방법: 수의계약

1. 배경 및 목적

- 현재 유전자분석(NGS, Sanger) 데이터의 정보 처리량이 요구량이 커져 Sanger Sequencing Data의 유전자 자동화 분석이 절대적으로 필요한 상황이 되었음.
- Sanger Sequencing Data를 효율적으로 Asfv, 시퀀싱 효율적으로 유전형의 타입을 Align 하여 자동 분석하고 데이터베이스화 하여 서버에 저장하고 통계자료를 얻을 수 있도록 함에 있음.
- 유전자분석을 하는 데 있어 Human Error를 줄이고 노동시간을 절감하여 생산성을 향상시키기 위함.

2. 주요사업내용

- 유전체 변이 분석, Align, type 분석.
- 유전체 유전형 분석 (Asfv, AI)
- 유전자 데이터 베이스화 하여 통계 분석

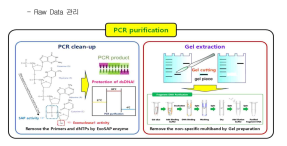
3. 과업 내용



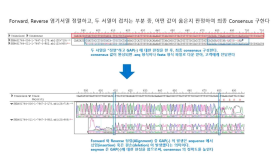
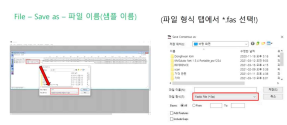
구 분	담당 업무 및 기능
소프트웨어	가. Raw Data 관리 및 분석 나. Sequence Assemble 다. Complement Contig 라. 유전자 Sequence SNPs 확인
유전자분석 (NGS)	가. Asfv 분석(NGS) 나. 시퀀싱(NGS)

4. 추진일정

가. Raw Data 분석 및 분석: 2022년 9월 30일 까지 완료

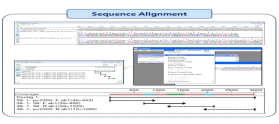


나. Sequence Assemble 분석: 2022년 10월 30일 까지 완료



3.1.1 Sequence Assemble 분석 예시

다. Complement Contig 분석 및 3월: 2022년 11월 까지

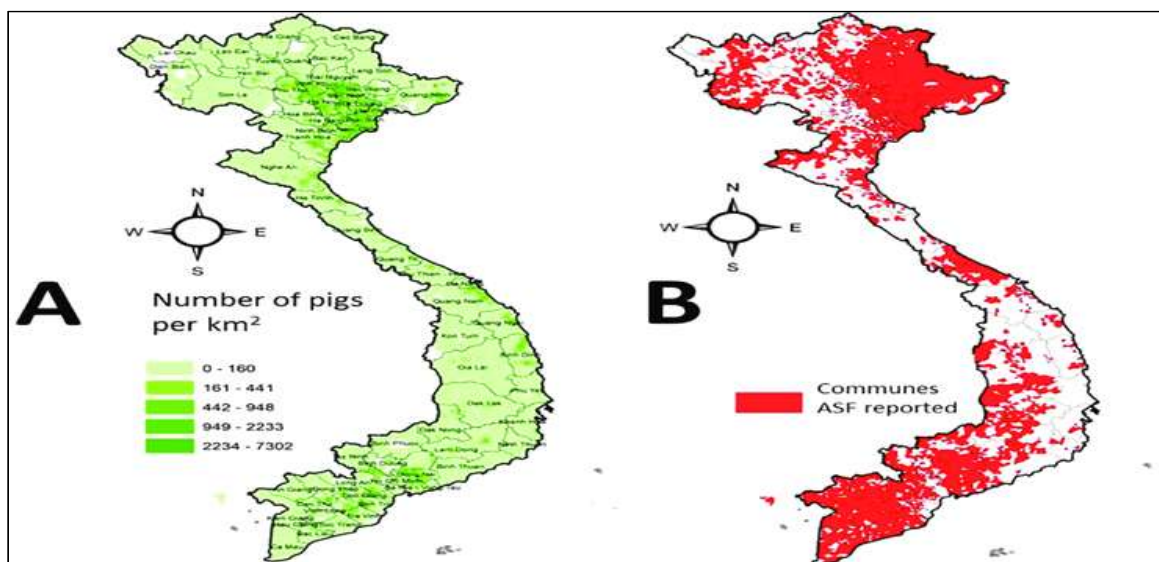
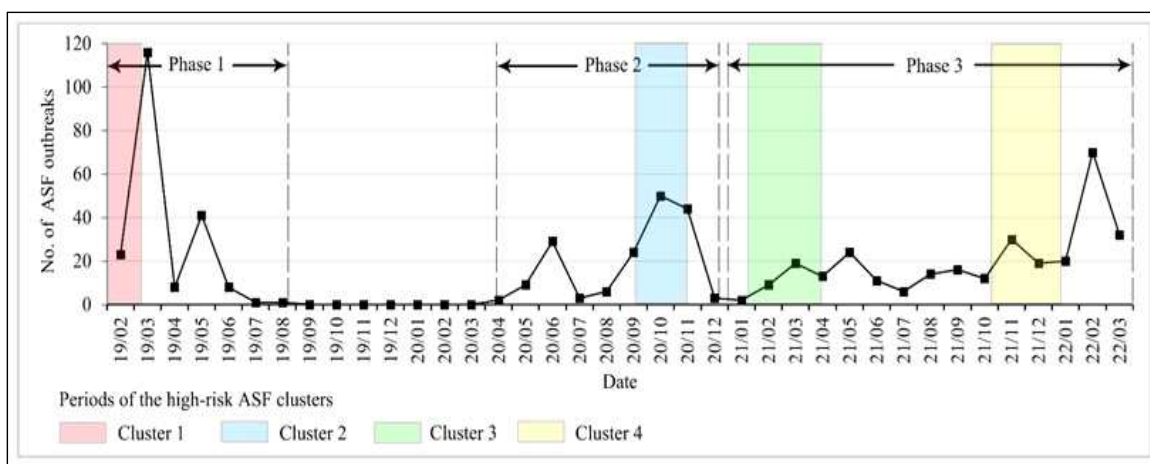


3.1.2 Alignment 예시

□ 신·변종 고위험 동물감염병 발생 국가와의 국제 협력 네트워크 구축

■ ASFV POC qPCR 키트 임상평가를 위한 베트남 발생 ASF 바이러스 관련 샘플 확보

- 현재 베트남의 호치민 내 돼지농장의 약 70% 이상 ASFV에 감염된 상태로 상재지역으로 파악되고 있음



■ The Nong Lam University(이하 NLU, 베트남) 와의 연구용역계약 체결

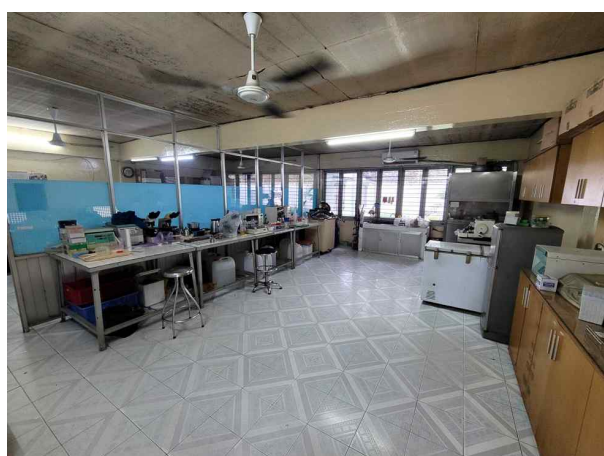
- 지난 수년간에 걸쳐 중앙백신연구소는 베트남 대학의 Dr. Duy 교수팀과 아프리카 돼지열병(ASFV)에 정보 상호 교류연구를 수행하고 있음. 본 과제의 ASFV 평가를 위한 현장진단용 키트 평가를 위한 연구용역계약을 맺음.
- The Nong Lam University에서는 ASFV 발병농가에서 개체별 다양한 검체(Swab, 장기 혈액 등)를 확보하여 현장진단용 키트를 평가하였음.
- 계약 당시 ASFV, HPAI 진단평가를 동시에 진행하기로 하였으나, 베트남 현장의 검체 수급 상황으로 1차년도(2022년)에는 ASFV 진단평가를 2차년도(2023년)에는 HPAI 진단평가를 중점으로 계획을 변경함.

Research Service Agreement

This Research Service Agreement (“Agreement”) is made and entered into as of May. 25th 2022 (“Effective Date”), by and between Choong Ang Vaccine Laboratories Co., Ltd. (CAVAC), having its principle offices at 1476-37, Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34055, Republic of Korea and Dr. Do Tien Duy (Dr. Duy), having its principle offices at 160/7 Linh Trung St., Linh Trung Ward, Thu Duc Dist, HCMC, Vietnam. CAVAC is called “Party A”, and Dr. Duy is called “Party B” hereinafter

Article 1. Definitions

- 1.1. Research Service Requester (Party A) : CAVAC (Choong Ang Vaccine Laboratories Co., Ltd.)
- 1.2. Research Service Provider (Party B) : Dr. Do Tien Duy (Nong Lam University, NLU)
- 1.3. Name of Research Service:
 - 1.3.1. Collect a reasonable amount of positive and negative samples for the evaluation of the diagnostic device
 - 1.3.2. Conduct the evaluation
- 1.4. Check the regulation of diagnostic device registration in Vietnam



Nong Lam University(베트남)와의 현장진단용키트 평가 연구용역계약 (방문당시사진 및 실험실시설)

표 1. 중앙백신연구소와 베트남과의 세부 시험계획

ASFV 샘플채취 세부내역	HPAI 샘플채취 세부내역																																																																																																																			
<p>Appendix 1. Details of the test request</p> <p>1. sample collection</p> <p>1.1. ASFV</p> <p>Table 1. Sample collection Plan</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Year</th> <th rowspan="2">samples</th> <th colspan="2">ASFV</th> </tr> <tr> <th>Positive</th> <th>Negative</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="4">'22 (Year 1)</td> <td>Whole Blood</td> <td>40</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>homogenized tissue</td> <td>30</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>Swab sample</td> <td>30</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>100</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">'23 (Year 2)</td> <td>Whole Blood*</td> <td>40</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>homogenized tissue</td> <td>30</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>Swab sample</td> <td>30</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>100</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table> <p>Table 2. Sampling Details</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>sample part</th> <th>Whole Blood</th> <th>homogenized tissue</th> <th>Swab sample</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Whole Blood</td> <td>Whole Blood</td> <td>Spleen</td> <td>Swab the nose and mouth area with a cotton swab.</td> </tr> <tr> <td>capacity</td> <td>10ml / ea</td> <td>10-20g / ea</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Storage method</td> <td>Whole blood stored in anticoagulant tubes (EDTA or Heparin)</td> <td>Store in a 50ml tube</td> <td>Put 1ml of qPCR Lysis buffer (or PBS buffer) in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube</td> </tr> <tr> <td>Storage temperature</td> <td colspan="3" style="text-align: center;">-70°C (in Deep freezer)</td> </tr> </tbody> </table>	Year	samples	ASFV		Positive	Negative	'22 (Year 1)	Whole Blood	40	40	homogenized tissue	30	30	Swab sample	30	30	Total	100	100	'23 (Year 2)	Whole Blood*	40	40	homogenized tissue	30	30	Swab sample	30	30	Total	100	100	sample part	Whole Blood	homogenized tissue	Swab sample	Whole Blood	Whole Blood	Spleen	Swab the nose and mouth area with a cotton swab.	capacity	10ml / ea	10-20g / ea	-	Storage method	Whole blood stored in anticoagulant tubes (EDTA or Heparin)	Store in a 50ml tube	Put 1ml of qPCR Lysis buffer (or PBS buffer) in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube	Storage temperature	-70°C (in Deep freezer)			<p>1.2. HPAI</p> <p>Table 3. Sample collection Plan</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Year</th> <th rowspan="2">samples</th> <th colspan="2">HPAI</th> </tr> <tr> <th>Positive</th> <th>Negative</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5">'22 (Year 1)</td> <td>Serum</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Homogenized tissue</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Swab sample</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Feces</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>100</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td rowspan="5">'23 (Year 2)</td> <td>Serum</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Homogenized tissue</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Swab sample</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Feces</td> <td>25</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>100</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table> <p>Table 4. Sampling Details</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>sample part</th> <th>Serum</th> <th>homogenized tissue</th> <th>Swab sample</th> <th>Feces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Serum</td> <td>Serum from which RBCs have been removed by blood sampling</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>capacity</td> <td>3ml / ea</td> <td>10-20g / ea</td> <td>-</td> <td>5-10g / ea</td> </tr> <tr> <td>Storage method</td> <td>Store in a 15ml tube</td> <td>Store in a 50ml tube</td> <td>Put 2ml of PBS in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube</td> <td>Store in a 50ml tube</td> </tr> <tr> <td>Storage temperature</td> <td colspan="4" style="text-align: center;">-70°C (in Deep freezer)</td> </tr> </tbody> </table>	Year	samples	HPAI		Positive	Negative	'22 (Year 1)	Serum	25	25	Homogenized tissue	25	25	Swab sample	25	25	Feces	25	25	Total	100	100	'23 (Year 2)	Serum	25	25	Homogenized tissue	25	25	Swab sample	25	25	Feces	25	25	Total	100	100	sample part	Serum	homogenized tissue	Swab sample	Feces	Serum	Serum from which RBCs have been removed by blood sampling	-	-	-	capacity	3ml / ea	10-20g / ea	-	5-10g / ea	Storage method	Store in a 15ml tube	Store in a 50ml tube	Put 2ml of PBS in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube	Store in a 50ml tube	Storage temperature	-70°C (in Deep freezer)			
Year			samples	ASFV																																																																																																																
	Positive	Negative																																																																																																																		
'22 (Year 1)	Whole Blood	40	40																																																																																																																	
	homogenized tissue	30	30																																																																																																																	
	Swab sample	30	30																																																																																																																	
	Total	100	100																																																																																																																	
'23 (Year 2)	Whole Blood*	40	40																																																																																																																	
	homogenized tissue	30	30																																																																																																																	
	Swab sample	30	30																																																																																																																	
	Total	100	100																																																																																																																	
sample part	Whole Blood	homogenized tissue	Swab sample																																																																																																																	
Whole Blood	Whole Blood	Spleen	Swab the nose and mouth area with a cotton swab.																																																																																																																	
capacity	10ml / ea	10-20g / ea	-																																																																																																																	
Storage method	Whole blood stored in anticoagulant tubes (EDTA or Heparin)	Store in a 50ml tube	Put 1ml of qPCR Lysis buffer (or PBS buffer) in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube																																																																																																																	
Storage temperature	-70°C (in Deep freezer)																																																																																																																			
Year	samples	HPAI																																																																																																																		
		Positive	Negative																																																																																																																	
'22 (Year 1)	Serum	25	25																																																																																																																	
	Homogenized tissue	25	25																																																																																																																	
	Swab sample	25	25																																																																																																																	
	Feces	25	25																																																																																																																	
	Total	100	100																																																																																																																	
'23 (Year 2)	Serum	25	25																																																																																																																	
	Homogenized tissue	25	25																																																																																																																	
	Swab sample	25	25																																																																																																																	
	Feces	25	25																																																																																																																	
	Total	100	100																																																																																																																	
sample part	Serum	homogenized tissue	Swab sample	Feces																																																																																																																
Serum	Serum from which RBCs have been removed by blood sampling	-	-	-																																																																																																																
capacity	3ml / ea	10-20g / ea	-	5-10g / ea																																																																																																																
Storage method	Store in a 15ml tube	Store in a 50ml tube	Put 2ml of PBS in a 50ml tube and put a cotton swab in the tube	Store in a 50ml tube																																																																																																																
Storage temperature	-70°C (in Deep freezer)																																																																																																																			

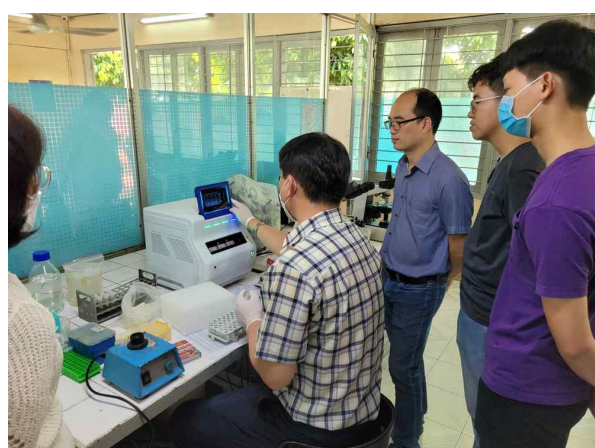
- The Nong Lam University는 Raho-6(베트남 정부기관)의 도움으로 각 농가로부터 ASFV의심 검체들에 대한 진단 의뢰를 받고, 검체를 수거하여 바이러스의 감염여부를 검사하는 베트남 남부지역의 레퍼런스랩의 역할을 수행하고 있음.
- The Nong Lam University는 ASFV 발병농가에서 총 36개체(양성 24개, 음성 12개)의 개체별 다양한 검체(Swab, 장기 혈액 등)를 확보하였음.

■ ASFV 발병 검체 확보 시스템 구축

- 2022년 8월 (주)포스트바이오와 (주)중앙백신연구소 관련자가 NLU에 방문하여 키트 전달 및 사용법등을 담당자에게 숙지 시킴
- 비교 대조품으로 Real time PCR in laboratory (OIE standard)을 사용하여 개발용 키트와 비교평가 하였음.

베트남 출장 세부 수행사항

일자	수행사항
22.08.08	<ul style="list-style-type: none"> • 연구용역계약 체결 • 시험계획 논의, 합의 • 검체 정보 확인, 기입 • 샘플 전처리 • 개발용 키트 세팅 및 사용법 인수인계
22.08.09 ~ 10	<ul style="list-style-type: none"> • 개발용 키트 평가 / 반복 test • 샘플 추가 확보
22.08.11	<ul style="list-style-type: none"> • 개발용 키트 평가 • 추후 시험계획 논의



현장진단용키트 ASFV 검체 평가 (현장사진)



■ National Institute of Veterinary Research(이하 NIVR, 베트남) 와의 연구용역계약 체결

- 중앙백신연구소는 베트남 하노이에 위해 있는 국립수의학연구소(NIVR)와 아프리카 돼지열병(ASFV)에 정보 상호 교류연구를 수행하고 있음. 본 과제의 ASFV 평가를 위한 현장진단용 키트 평가를 위한 연구용역계약을 맺음.

- NIVR에서는 ASFV Challenge를 통해 감염 농도, 감염 시점, 감염된 개체의 장기(심장, 폐, 간, 췌장 등)별 검체를 확보하여 향후 개발용 진단키트의 데이터 구축하고자 하였음.

<u>Research Service Agreement</u>	
<p>This Research Service Agreement ("Agreement") is made and entered into by and between Choong Ang vaccine Laboratories Co., Ltd. (CAVAC), a corporation duly organized and existing under the laws of South Korea, with principal offices at 1476-37, Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34055, Republic of Korea, hereinafter called "Party A",</p>	
<p>And</p>	
<p>National Institute of Veterinary Research (NIVR) a leading institute in Veterinary field with principal office at 86 Truong Chinh, Phuong Mai, Dong Da, Hanoi, Vietnam, hereinafter called "Party B".</p>	
<p>Article 1. Definitions</p>	
<p>1.1. Research Service Requester (Party A) : CAVAC (Choong Ang Vaccine Laboratories Co., Ltd.)</p>	
<p>1.2. Research Service Provider (Party B) : NIVR (National Institute of Veterinary Research)</p>	
<p>1.3. Name of Research Service : Collect the positive samples for the evaluation of diagnostic device & conduct the evaluation</p>	

National Institute of Veterinary Research(베트남)와의 현장진단용키트 평가 연구용역계약

중앙백신연구소와 NIVR과의 세부 시험계획

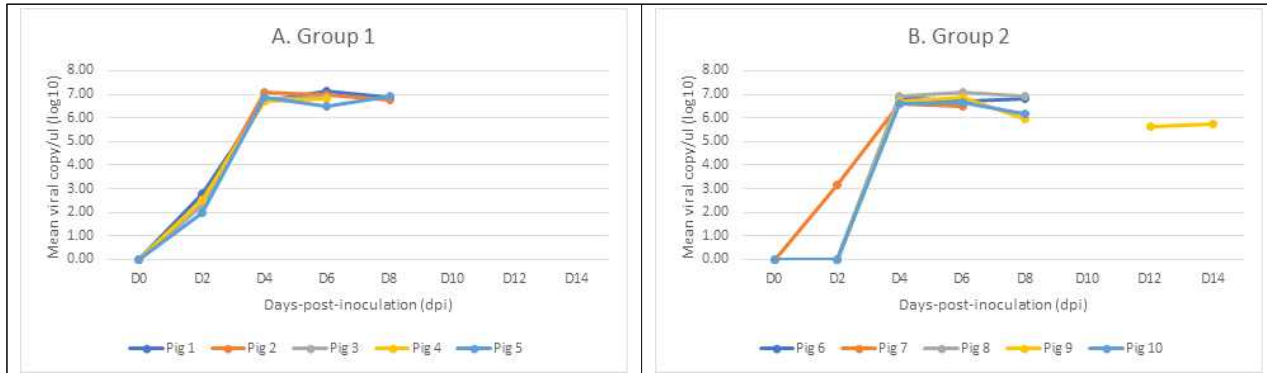
Table 1. Animal information					
Group	Vaccine Program		Heads	Pig No.	Note
	Inoculum	Challenge			
G1	NIVR/TH/Vietnam (10 ² HAD ₅₀ /does)		5	G1-1 ~ G1-5	10 head x 6 time = 60 samples
G2	NIVR/TH/Vietnam (10 ³ HAD ₅₀ /does)	1 Shot / I.M	5	G2-6 ~ G2-10	
G3	Negative (PBS)		3	G3-11 ~ G3-13	3 head x 6 time = 18 samples

- 연구계약서에 따라 시험한 ASFV challenge virus의 농도별(10², 10³ HAD₅₀/dose)의 검체 확보 및 감염시점에 따른 진단키트의 민감도 테스트 실시

■ ASFV challenge 검체 확보

- ASFV challenge virus 접종 Group 1(102 HAD50/dose), Group 2(103 HAD50/dose) 각 5마리, 음성대조 Group 3 (PBS) 3마리를 이용하여 공격접종 후 12일간 채혈 및 체온 측정을 실시하였음.
- 시험결과 ASFV challenge virus 농도에 따른 Group별 시험돈은 대부분 공격접종 후 7~9일 내 폐사 하였으며, 병변 확인 결과 ASFV 증상을 보임에 따라 양성개체로 판단하였음.
- 진단키트 테스트 결과 공격접종 후 6일차까지는 detection 되지 않았으나, 8일 이후 채혈한 검체에서 양성임을 확인하였음.
- 비교 대조품으로 Real time PCR in laboratory (OIE standard)을 사용하여 평가 하였음.

- 각각의 개체로부터 혈액 및 면봉(구강, 비강 및 직장) 샘플을 수집하였음. 폐사 직후 부검을 실시했으며, 11개 장기 및 조직(간, 비장, 서혜부/장간막/악하 림프절, 폐, 편도선, 결장, 심장, 신장) 샘플을 수집하였음.



실험적으로 감염된 돼지 혈액에서 관찰된 ASFV 배설 패턴 Real time PCR 결과 (A) Group1: 10^3 HAD₅₀;(B)Group2: 10^3 HAD₅₀



내장출혈. A. 편도선 B. 턱밑 C. 서혜부 D. 장간막 E. 심장 F. 폐 G. 간 H. 비장 I. 신장 J. 결장 K. 돼지 항문 출혈 L. 돼지 콧구멍 출혈

현장진단용키트 ASFV 검체 평가 (현장사진)



□ 고병원성 조류 인플루엔자(HPAIV)에 대한 해외임상 및 성능평가수행

■ HPAIV 발생 국가와의 국제 협력시스템 구축

- 1차년도에 Nong Lam university(이하 NLU)_수의과대학NRU 와의 연구용역계약에 따라 본 연구에 필요한 고병원성 조류인플루엔자 바이러스에 대한 감염 개체의 검체별 진단키트 성능평가를 국제공동연구 기관인 NLU 에서 2차년도(2023년)에 용역 수행하였음.
- Nong Lam University에서는 HPAI에 발병된 오리, 닭 농가에서 개체별 다양한 검체(Serum, Lung, respiratory swab, feces)를 확보하여 주관기관인 포스트바이오에서 개발한 현장진단용 키트를 평가하였음.



HPAIV 질병의 개발품 평가를 위한 Nong Lam University(베트남) 방문 사진

Table 1. Sample count used in the study

Samples	Oral-naso pharyngeal swab	Whole blood	Lung tissue	Feces	Total
Clinical ducks (n=24)	40	40	40	40	160
Negative chicken (n=23)	23	23	23	23	92

SAMPLING LIST FOR AIV (HPAI) TEST

1. Positive suspected

- **Species:** Duck
- **Age:** 25 days
- **Type of samples:** Serum, lungs, respiratory swab, feces
- **Number of samples:**
 - 40 samples for serum
 - 40 samples for lungs
 - 40 samples for respiratory swab
 - 40 samples for feces
- **Coding samples:**
 - Blood (serum): B-number-P (B1P, B2P,.....)
 - Lung: L-number-P (L1P, L2P,....)
 - Respiratory swab: R-number-P (R1P, R2P,...)
 - Feces: F-number-P (F1P, F2P,....)In which "P" stands for "positive"

2. Negative suspected

- **Species:** Chicken
- **Age:** 55 days
- **Type of samples:** Serum, lungs, respiratory swab, feces
- **Number of samples:**
 - 50 samples for serum
 - 50 samples for lungs
 - 50 samples for respiratory swab
 - 50 samples for feces
- **Coding samples:**
 - Blood (serum): B-number-N (B1N, B2N,.....)
 - Lung: L-number-N (L1N, L2N,...)
 - Respiratory swab: R-number-N (R1N, R2N,...)
 - Feces: F-number-N (F1N, F2N,...)In which "N" stands for "negative"

베트남 HPAI에 감염된 조류 발병 농가에서 확보한 다양한 조류의 검체 리스트



HPAIV 질병의 현장진단키트 평가를 위한 실험 수행 사진

○ 고감도 유전자진단법(Taqman based Real time PCR)기반 진단법 개발

- 대상타겟병원체 : ASFV, HPAI
- 민감도 : WOH 등에서 제시한 표준시험법과 비교과 비교하여 민감도 90%이상, 최소검출한계 100copies/Rx (Ct 35이하)
- 특이도 : 표준시험법과 비교하여 특이도 평가추가 (90%)

○ 분석적 성능검증을 위한 자료축적

- 주요 대상질환에 대한 표준품을 제작하고 개발대상 진단키트에 대한 분석적 성능시험에 활용
 - ✓ 민감도 : 표준품(농도확정)기반 최소검출한계 결정
 - ✓ 특이도 : 축종에 따라 문제시되는 기타 감염성 병원체 활용하여 특이도검증

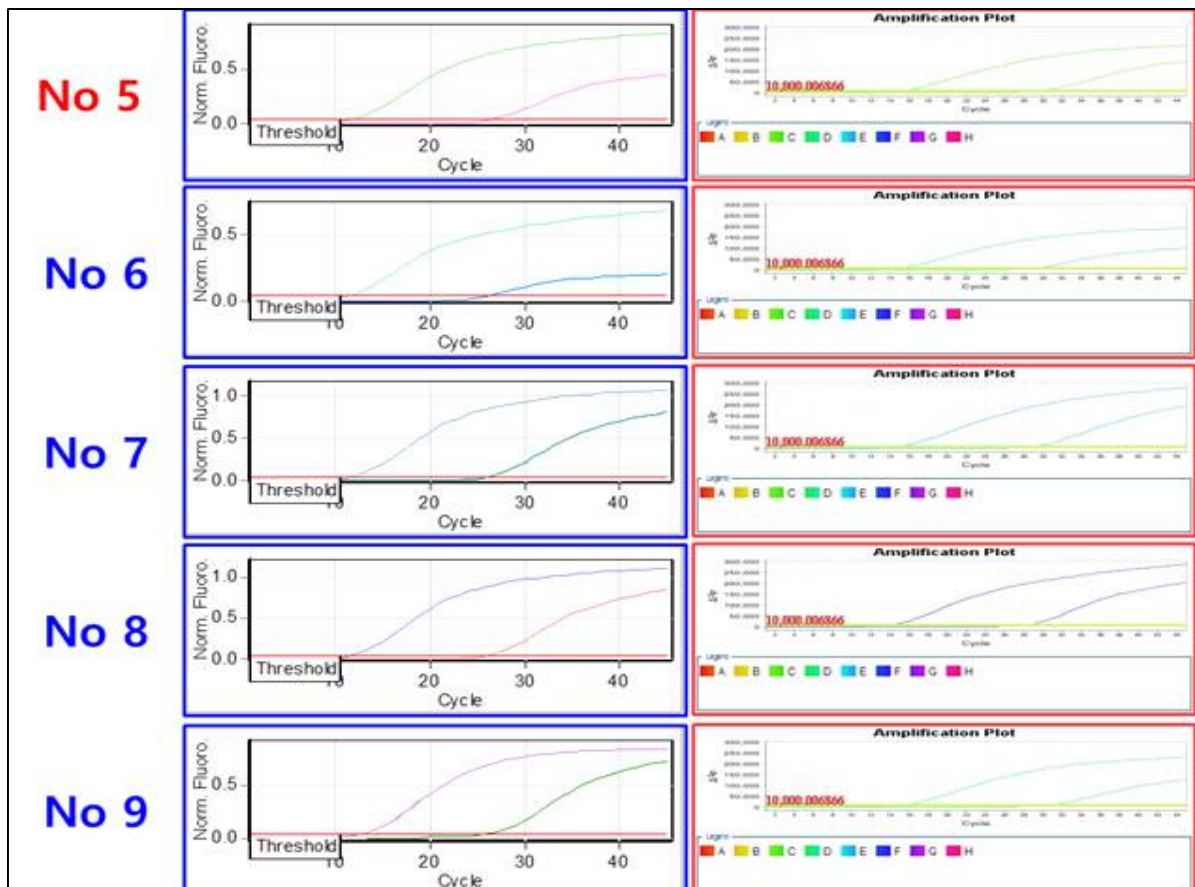
【아프리카돼지열병바이러스(ASFV)】

qPCR for VP72 Design by POSTBIO

1. Primer & Probe Set for VP72 gene

1	OIE/Probe1	OIE listed Sequences	Dual Labeled Taqman probe
2	P72-1/Probe1		
3	P72-2/Probe1		
4	P72-3/Probe1		
5	OIE/Probe2	OIE listed Sequences	Internal Quencher Taqman probe
6	P72-1/Probe2		
7	P72-2/Probe2		
8	P72-3/Probe2	OIE listed Sequences Modified	
9	P72-4/Probe3		
VP72 Other region Sequences			

PCR Mix No		QPCR Machine1		QPCR Machine2_ABI7500		QPCR Machine3	
		10 ⁷	10 ³	10 ⁷	10 ³	10 ⁷	10 ³
1	OIE/Probe1	13.03	27.3	18.14	30.03	14.16	28.53
2	P72-1/Probe1	13.03	27.9	17.36	31.98	13.77	28.1
3	P72-2/Probe1	12.56	26.7	15.89	28.88	13.61	27.53
4	P72-3/Probe1	12.66	26.4	15.86	29.20	13.6	27.79
5	OIE/Probe2	12	26.8	15.39	30.27	13.52	27.78
6	P72-1/Probe2	11.85	26.8	15.34	29.58	13.25	23.71
7	P72-2/Probe2	11.78	26.1	15.12	29.18	13.41	27.37
8	P72-3/Probe2	11.84	26.1	14.32	28.43	13.41	27.37
9	P72-4/Probe3	13.0	26.38	15.64	29.18	14.49	28.43



Mix No.	ID	ABI7500			FAM	ABI_7500T_C_10000-1	FAM	ABI_7500T_C_10000-2	FAM	ABI_7500T_C_10000-3
		CT	CT	CT	Amplification Plot	Amplification Plot	Amplification Plot	Amplification Plot	Amplification Plot	
OIE/Probe2	10 ^{^3}	30.20	33.53	34.43	10 ^{^3} 30.20	10 ^{^3} 33.53	10 ^{^3} 34.43	10 ^{^3} 30.20	10 ^{^3} 33.53	10 ^{^3} 34.43
	10 ^{^2}	33.55	38.57	38.71	10 ^{^2} 33.55	10 ^{^2} 38.57	10 ^{^2} 38.71	10 ^{^2} 33.55	10 ^{^2} 38.57	10 ^{^2} 38.71
	10 ^{^1}	42.64	41.78	ND	10 ^{^1} 42.64	10 ^{^1} 41.78	10 ^{^1} Undet	10 ^{^1} Undet	10 ^{^1} Undet	10 ^{^1} Undet
	10 ^{^0}	ND	ND	ND	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet
P72-2/Probe2	10 ^{^3}	29.36	29.76	28.51	10 ^{^3} 29.36	10 ^{^3} 29.76	10 ^{^3} 28.51	10 ^{^3} 29.36	10 ^{^3} 29.76	10 ^{^3} 28.51
	10 ^{^2}	31.57	32.89	32.52	10 ^{^2} 31.57	10 ^{^2} 32.89	10 ^{^2} 32.52	10 ^{^2} 31.57	10 ^{^2} 32.89	10 ^{^2} 32.52
	10 ^{^1}	36.95	35.38	37.55	10 ^{^1} 36.95	10 ^{^1} 35.38	10 ^{^1} 37.55	10 ^{^1} 36.95	10 ^{^1} 35.38	10 ^{^1} 37.55
	10 ^{^0}	37.31	38.91	ND	10 ^{^0} 37.31	10 ^{^0} 38.91	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} 37.31	10 ^{^0} 38.91	10 ^{^0} Undet
P72-3/Probe2	10 ^{^3}	30.14	30.01	30.56	10 ^{^3} 30.14	10 ^{^3} 30.01	10 ^{^3} 30.56	10 ^{^3} 30.14	10 ^{^3} 30.01	10 ^{^3} 30.56
	10 ^{^2}	31.75	33.82	33.55	10 ^{^2} 31.75	10 ^{^2} 33.82	10 ^{^2} 33.55	10 ^{^2} 31.75	10 ^{^2} 33.82	10 ^{^2} 33.55
	10 ^{^1}	36.34	38.01	38.24	10 ^{^1} 36.34	10 ^{^1} 38.01	10 ^{^1} 38.24	10 ^{^1} 36.34	10 ^{^1} 38.01	10 ^{^1} 38.24
	10 ^{^0}	ND	ND	ND	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet
P72-4/Probe3	10 ^{^3}	30.79	30.50	30.65	10 ^{^3} 30.79	10 ^{^3} 30.50	10 ^{^3} 30.65	10 ^{^3} 30.79	10 ^{^3} 30.50	10 ^{^3} 30.65
	10 ^{^2}	32.84	33.98	32.63	10 ^{^2} 32.84	10 ^{^2} 33.98	10 ^{^2} 32.63	10 ^{^2} 32.84	10 ^{^2} 33.98	10 ^{^2} 32.63
	10 ^{^1}	36.85	37.30	37.00	10 ^{^1} 36.85	10 ^{^1} 37.30	10 ^{^1} 37.00	10 ^{^1} 36.85	10 ^{^1} 37.30	10 ^{^1} 37.00
	10 ^{^0}	37.92	40.21	38.94	10 ^{^0} 37.92	10 ^{^0} 40.21	10 ^{^0} 38.94	10 ^{^0} 37.92	10 ^{^0} 40.21	10 ^{^0} 38.94
Combination1	10 ^{^3}	29.31	29.34	29.37	10 ^{^3} 29.31	10 ^{^3} 29.34	10 ^{^3} 29.37	10 ^{^3} 29.31	10 ^{^3} 29.34	10 ^{^3} 29.37
	10 ^{^2}	32.67	32.65	32.99	10 ^{^2} 32.67	10 ^{^2} 32.65	10 ^{^2} 32.99	10 ^{^2} 32.67	10 ^{^2} 32.65	10 ^{^2} 32.99
	10 ^{^1}	35.44	38.66	37.78	10 ^{^1} 35.44	10 ^{^1} 38.66	10 ^{^1} 37.78	10 ^{^1} 35.44	10 ^{^1} 38.66	10 ^{^1} 37.78
	10 ^{^0}	ND	ND	38.06	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} 38.06	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} Undet	10 ^{^0} 38.06
Combination2	10 ^{^3}	29.44	28.34	29.70	10 ^{^3} 29.44	10 ^{^3} 28.34	10 ^{^3} 29.70	10 ^{^3} 29.44	10 ^{^3} 28.34	10 ^{^3} 29.70
	10 ^{^2}	31.67	33.49	29.87	10 ^{^2} 31.67	10 ^{^2} 33.49	10 ^{^2} 29.87	10 ^{^2} 31.67	10 ^{^2} 33.49	10 ^{^2} 29.87
	10 ^{^1}	36.61	36.18	37.29	10 ^{^1} 36.61	10 ^{^1} 36.18	10 ^{^1} 37.29	10 ^{^1} 36.61	10 ^{^1} 36.18	10 ^{^1} 37.29
	10 ^{^0}	38.95	38.26	39.29	10 ^{^0} 38.95	10 ^{^0} 38.26	10 ^{^0} 39.29	10 ^{^0} 38.95	10 ^{^0} 38.26	10 ^{^0} 39.29

- ASFV 대상 최적의 타겟 프라이머-프로브 시퀀스 선정
 - ✓ 표준시험법으로 제시된 WOAH(전 OIE) p72 유전자 기반 리얼타임피씨알법
 - ✓ p72 부위를 그대로 사용하거나 다른 부위를 선정하여 다양한 조건에서 시험을 수행하였으며 검사결과 WOAH에서 표준시험법으로 사용하던 프로브를 변형한 조건(p72-4/Probe4)에서 가장 민감한 검사결과를 보이는 것으로 확인되었다.
 - ✓ 다양한 조건의 시험결과 단독사용의 경우 Ct 40을 기준으로 reaction 당 1copy의 검출 한계를 가지는 것으로 확인되어 기존의 WOAH 기준인 Ct 38을 적용하는 경우라도 reaction 당 10 copies의 민감도를 보여 검사키트의 개발기준인 100 copies의 민감도보다 우수한 검사결과를 보이는 것으로 확인하였다.
- 최종 ASFV qPCR 키트에 대한 임상시험평가결과
 - ✓ 불활화과정을 거친 다양한 시료에서 바이러스의 핵산을 추출한 후 표준시험법과 새롭게 개발된 ASFV의 qPCR을 비교하여 시험을 진행한 결과
 - ✓ 총 83개의 시료 중 표준시험법으로 양성으로 확인된 44개의 시료 중 42개에서 양성으로 확인되어 임상적 민감도 95.5%로 확인되었으며 표준시험법으로 음성으로 확인된 39개의 시료에 대해서는 39개 모두에서 음성으로 확인되어 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

		ASFV qPCR (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH qPCR	Positive	42	2	44
	Negative	0	39	39
	Total	42	41	83

Serial no	Sample ID	ASFV qPCR_POSTBIO		ASFV qPCR_WOAH	
		ASFV Ct	Results	ASFV Ct	Results
ASFV_PB-1	WP2	25.62	Positive	31.49	Positive
ASFV_PB-2	WP9	29.31	Positive	34.38	Positive
ASFV_PB-3	WP11	15.31	Positive	19.4	Positive
ASFV_PB-4	WP13	21.4	Positive	30.4	Positive
ASFV_PB-5	WP14	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-6	WP15	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-7	WP16	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-8	WP18	Underdetermined	Negative	34.2	Positive
ASFV_PB-9	WP19	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-10	WP20	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-11	WP22	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-12	WP23	23.84	Positive	33.29	Positive
ASFV_PB-13	WP24	29.63	Positive	31.58	Positive
ASFV_PB-14	WP25	20.77	Positive	26.75	Positive
ASFV_PB-15	WP27	Underdetermined	Negative	34.87	Positive
ASFV_PB-16	WP31	27.4	Positive	32.94	Positive
ASFV_PB-17	WP32	14.63	Positive	17.56	Positive
ASFV_PB-18	WP33	20.83	Positive	28.07	Positive
ASFV_PB-19	WP34	25.35	Positive	32.17	Positive
ASFV_PB-20	WP35	27.14	Positive	33.93	Positive
ASFV_PB-21	WP36	28.37	Positive	35	Positive
ASFV_PB-22	WP37	17.15	Positive	24.77	Positive
ASFV_PB-23	WP38	24.39	Positive	32	Positive
ASFV_PB-24	WP39	17.13	Positive	25.26	Positive
ASFV_PB-25	WP40	26.08	Positive	34.1	Positive
ASFV_PB-26	WP41	16.12	Positive	17.84	Positive
ASFV_PB-27	WP42	19.86	Positive	30.61	Positive
ASFV_PB-28	WP44	32.07	Positive	34.46	Positive
ASFV_PB-29	WP46	15.29	Positive	21.21	Positive
ASFV_PB-30	WP47	14.01	Positive	19.04	Positive
ASFV_PB-31	WP48	19.19	Positive	24.92	Positive
ASFV_PB-32	WP49	18.55	Positive	27.87	Positive
ASFV_PB-33	WP50	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-34	WP51	23.39	Positive	30.4	Positive
ASFV_PB-35	WP52	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-36	WP54	19.14	Positive	26.64	Positive
ASFV_PB-37	WP55	23.4	Positive	31.28	Positive
ASFV_PB-38	WP56	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-39	WP57	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-40	WP58	15.13	Positive	20.43	Positive

Serial no	Sample ID	ASFV qPCR_POSTBIO		ASFV qPCR_WOAH	
		ASFV Ct	Results	ASFV Ct	Results
ASFV_PB-41	WP59	27.53	Positive	33.81	Positive
ASFV_PB-42	WP60	30.17	Positive	33.89	Positive
ASFV_PB-43	WP61	26.07	Positive	29.48	Positive
ASFV_PB-44	WP62	28.96	Positive	33.07	Positive
ASFV_PB-45	WP63	26.89	Positive	31.57	Positive
ASFV_PB-46	WP64	14.02	Positive	22.42	Positive
ASFV_PB-47	WP66	23.03	Positive	30.72	Positive
ASFV_PB-48	WP68	22.72	Positive	29.23	Positive
ASFV_PB-49	WP69	21.94	Positive	27.93	Positive
ASFV_PB-50	WP70	24.54	Positive	34.05	Positive
ASFV_PB-51	WP71	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-52	WP74	26.89	Positive	33.25	Positive
ASFV_PB-53	WP76	19.58	Positive	25.67	Positive
ASFV_PB-54	WP77	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-55	WP78	19.53	Positive	25.71	Positive
ASFV_PB-56	WP80	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-57	WP82	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-58	WP83	27.52	Positive	33.26	Positive
ASFV_PB-59	WP86	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-60	1N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-61	2N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-62	3N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-63	4N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-64	5N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-65	6N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-66	7N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-67	8N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-68	9N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-69	10N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-70	11N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-71	12N_B	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-72	1N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-73	2N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-74	3N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-75	4N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-76	5N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-77	6N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-78	7N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-79	8N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-80	9N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-81	10N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-82	11N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative
ASFV_PB-83	12N_S	Underdetermined	Negative	Underdetermined	Negative

【고병원성인플루엔자바이러스(HPAI)】

- A형 인플루엔자바이러스 스크리닝검사용 M 유전자 타겟 qPCR 패널 확보
- 인플루엔자 유전자 분절 8개 중 M 유전자를 표적유전자로 후보 패널을 디자인하고 다양한 바이러스주를 대상으로 가장 민감도가 높은 패널을 최종 스크리닝 키트로 선정

Ser.N	Sample	Dilution	1.	2.	3.	19. AIV_U_S3-	20. AIV_U_S3-	21. AIV_U_S3-1/S3-
			AIV_U_S1xAS1_U-P1_FAM	AIV_U_S2xAS2_U-P2_FAM	AIV_U_S4xAS4_U-P4_FAM	1xAS3_U_P3_FAM	2xAS3_U_P3_FAM	2xAS3_U_P3_FAM
1	H1N1	10 X.D	17.49	-	-	18.21	17.95	18.18
2	H2N2	10 X.D	30.56	-	-	33.54	32.45	33.23
3	H3N8	10 X.D	17.14	17.60	18.66	17.70	17.13	17.4
4	H4N6	10 X.D	14.92	28.22	27.94	18.71	17.83	18.15
5	H5N3	10 X.D	22.04	23.86	24.81	23.91	22.73	23.19
6	H6N5	10 X.D	23.27	22.32	23.16	24.40	23.87	24.02
7	H7N1	10 X.D	17.94	17.13	17.94	18.31	17.93	17.88
8	H8N4	10 X.D	18.46	35.98	-	19.02	18.73	18.51
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	15.47	14.75	-	16.24	15.9	16.35
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	17.12	19.35	-	18.86	18.13	18.41
11	H10N7	10 X.D	21.47	18.70	17.10	16.45	16.24	16.37
12	H11N6	10 X.D	20.66	21.66	23.32	21.66	21.5	21.55
13	H11N9	10 X.D	16.37	30.99	-	17.19	16.83	16.56
14	H12N5	10 X.D	21.87	-	-	22.80	22.15	22.05
15	O130	10 ^7	23.08	25.16	-	25.53	14.95	24.86
16	Y280	10 ^7	21.25	-	-	23.42	22.53	22.68

- 조류 유래 A형 인플루엔자의 스크리닝검사를 위해 바이러스의 M 유전자를 표적으로 6가지 조건의 qPCR 패널을 디자인하였으며 6개의 후보패널을 대상으로 H1에서 H12번을 모두 포함하는 16개의 분리주에 대한 반응성을 검증하였다.
- 6가지의 후보패널 중 4개의 경우 비슷한 수준으로 16개의 분리주에 반응성을 보였으며 2개의 후보패널의 경우는 일부 H 유전자 패널에서 반응성이 떨어지는 것을 확인하였고 4개의 후보 중 가장 Ct가 빠른 패널을 선정하여 A형 인플루엔자 바이러스의 스크리닝 패널로 선정하였다.

Ser.N	Sample	Dilution	1.	PostBio_Set 1		intron	
			AIV_U_S1xAS1_U-P1_FAM	AIV_U_S1xAS1_U-P1_FAM	A.IPC-HEX	M-FAM	IPC-HEX
1	H1N1	10 X.D	17.49	16.60	22.56	18.76	21.55
2	H2N2	10 X.D	30.56	32.93	30.92	32.95	21.79
3	H3N8	10 X.D	17.14	16.24	21.83	18.14	21.05
4	H4N6	10 X.D	14.92	13.96	20.54	15.30	20.88
5	H5N3	10 X.D	22.04	22.21	25.17	22.68	22.22
6	H6N5	10 X.D	23.27	22.97	26.88	23.62	21.38
7	H7N1	10 X.D	17.94	16.74	22.37	18.22	21.21
8	H8N4	10 X.D	18.46	17.39	22.85	18.80	21.16
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	15.47	14.61	21.87	15.47	21.36
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	17.12	16.55	21.70	18.83	21.60
11	H10N7	10 X.D	21.47	19.87	20.44	16.26	21.21
12	H11N6	10 X.D	20.66	19.74	25.57	20.74	22.00
13	H11N9	10 X.D	16.37	15.49	19.44	16.52	21.00
14	H12N5	10 X.D	21.87	20.95	26.00	22.18	21.47
15	O130	10 ^7	23.08	21.99	26.66	25.49	25.49
16	Y280	10 ^7	21.25	20.31	26.31	23.61	23.61

- A형 인플루엔자 바이러스의 스크리닝검사를 위해 선정된 최종 패널을 진단키트화 하여 Internal processing control을 첨가한 후 현재 조류인플루엔자의 검출을 위해 상용화된 "I"사의 제품과 비교하여 평가한 결과 16개의 분리주 중 1개의 분리주를 제외하고 상용화 제품 대비 동등이상의 민감도를 보이는 것으로 확인하였다.

- A형 인플루엔자바이러스 HA 유전자형 분석을 위한 HA 유전자 타겟 qPCR 패널 확보
- 인플루엔자 유전자 분절 8개 중 HA 유전자를 표적유전자로 H5,7,9을 검출하기 위한 후보 패널을 디자인하고 다양한 바이러스주를 대상으로 민감도와 특이도가 가장 우수한 수준으로 확인된 패널을 최종 유전자형 키트로 설정

Ser.N	Sample	Dilution	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
			AIV_H5_S1xAS1_H5_P1-FAM	AIV_H5_S2xAS2_H5_P2-1-FAM	AIV_H5_S2xAS2_H5_P2-2-FAM	AIV_H5_S3xAS3_H5_P3-FAM	AIV_H5_S4xAS4_H5_P4-FAM	AIV_H5_S5xAS5_H5_P5-FAM	AIV_H5_S6xAS6_H5_P6-FAM
1	H1N1	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
2	H2N2	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
3	H3N8	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
4	H4N6	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
5	H5N3	10 X.D	-	34.08	-	-	27.63	-	32.26
6	H6N5	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
7	H7N1	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
8	H8N4	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
11	H10N7	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
12	H11N6	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
13	H11N9	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
14	H12N5	10 X.D	-	-	-	-	-	-	-
15	O130	10 ^7	-	-	-	-	-	-	-
16	Y280	10 ^7	-	-	-	-	-	-	-

- 조류 유래 A형 인플루엔자의 H5 유전자형의 검출을 위해서 바이러스의 HA 자를 표적으로 7가지 조건의 qPCR 패널을 디자인하였으며 7개의 후보패널을 대상으로 H1에서 H12 번을 모두 포함하는 16개의 분리주에 대한 반응성을 검증하였다.
- 7가지의 후보패널 중 3개의 경우에서 H5형의 분리주에 반응을 보였으며 3개의 후보 중 가장 Ct가 빠른 패널을 선정하여 A형 인플루엔자 바이러스의 스크리닝 패널로 선정하였다.

Ser.N	Sample	Dilution	11.	12.	13.	14.	15.	16.
			AIV_H7_S1xAS1_H7_P1-1-TR	AIV_H7_S1xAS1_H7_P1-2-TR	AIV_H7_S2xAS2_H7_P2-TR	AIV_H7_S3xAS3_H7_P3-TR	AIV_H7_S4xAS4_H7_P4-TR	AIV_H7_S5xAS5_H7_P5-TR
1	H1N1	10 X.D	-	-	-	-	-	-
2	H2N2	10 X.D	-	-	-	-	-	-
3	H3N8	10 X.D	-	-	-	-	-	-
4	H4N6	10 X.D	-	-	-	-	-	-
5	H5N3	10 X.D	-	-	-	-	-	-
6	H6N5	10 X.D	-	-	-	-	-	-
7	H7N1	10 X.D	-	-	-	19.14	23.54	-
8	H8N4	10 X.D	-	-	-	-	-	-
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	-	-	-	-	-	-
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	-	-	-	-	-	-
11	H10N7	10 X.D	-	-	-	-	-	-
12	H11N6	10 X.D	-	-	-	-	-	-
13	H11N9	10 X.D	-	-	-	-	-	-
14	H12N5	10 X.D	-	-	-	-	-	-
15	O130	10 ^7	-	-	-	-	-	-
16	Y280	10 ^7	-	-	-	-	-	-

- 조류 유래 A형 인플루엔자의 H7 유전자형의 검출을 위해서 바이러스의 HA 자를 표적으로 6가지 조건의 qPCR 패널을 디자인하였으며 6개의 후보패널을 대상으로 H1에서 H12 번을 모두 포함하는 16개의 분리주에 대한 반응성을 검증하였다.

- 6가지의 후보패널 중 2개의 경우에서 H7형의 분리주에 반응을 보였으며 2개의 후보 중 가장 Ct가 빠른 패널을 선정하여 A형 인플루엔자 바이러스의 스크리닝 패널로 선정하였다.

Ser.N	Sample	Dilution	17.	18.
			AIV_H9_S1xAS1_H9_P1-Cy5	AIV_H9_S2xAS2_H9_P2-Cy5
1	H1N1	10 X.D	-	-
2	H2N2	10 X.D	-	-
3	H3N8	10 X.D	-	-
4	H4N6	10 X.D	-	-
5	H5N3	10 X.D	-	-
6	H6N5	10 X.D	-	-
7	H7N1	10 X.D	-	-
8	H8N4	10 X.D	-	-
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	25.59	17.17
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	29.48	27.50
11	H10N7	10 X.D	-	-
12	H11N6	10 X.D	-	-
13	H11N9	10 X.D	-	-
14	H12N5	10 X.D	-	-
15	O130	10 ^7	35.44	24.05
16	Y280	10 ^7	38.66	30.81

- 조류 유래 A형 인플루엔자의 H9 유전자형의 검출을 위해서 바이러스의 HA 자를 표적으로 2가지 조건의 qPCR 패널을 디자인하였으며 2개의 후보패널을 대상으로 H1에서 H12 번을 모두 포함하는 16개의 분리주에 대한 반응성을 검증하였다.
- 2가지의 후보패널 중 2개의 경우에서 H9형의 분리주에 반응을 보였으며 2개의 후보 중 가장 Ct가 빠른 패널을 선정하여 A형 인플루엔자 바이러스의 스크리닝 패널로 선정하였다.

Ser.N	Sample	Dilution	PostBio			
			8. AIV_H5_S4xAS4_H5_P4-FAM	14. AIV_H7_S3xAS3_H7_P3-TR	18. AIV_H9_S2xAS2_H9_P2-Cy5	A.IPC-HEX
1	H1N1	10 X.D	-	-	-	23.28
2	H2N2	10 X.D	-	-	-	31.95
3	H3N8	10 X.D	-	-	-	22.50
4	H4N6	10 X.D	-	-	-	21.15
5	H5N3	10 X.D	32.68	-	-	26.01
6	H6N5	10 X.D	-	-	-	29.07
7	H7N1	10 X.D	-	17.68	-	22.86
8	H8N4	10 X.D	-	-	-	23.60
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	-	-	18.27	19.14
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	-	-	29.37	22.69
11	H10N7	10 X.D	-	-	-	20.47
12	H11N6	10 X.D	-	-	-	27.69
13	H11N9	10 X.D	-	-	-	19.85
14	H12N5	10 X.D	-	-	-	27.84
15	O130	10 ^7	-	-	26.09	26.86
16	Y280	10 ^7	-	-	33.74	28.33

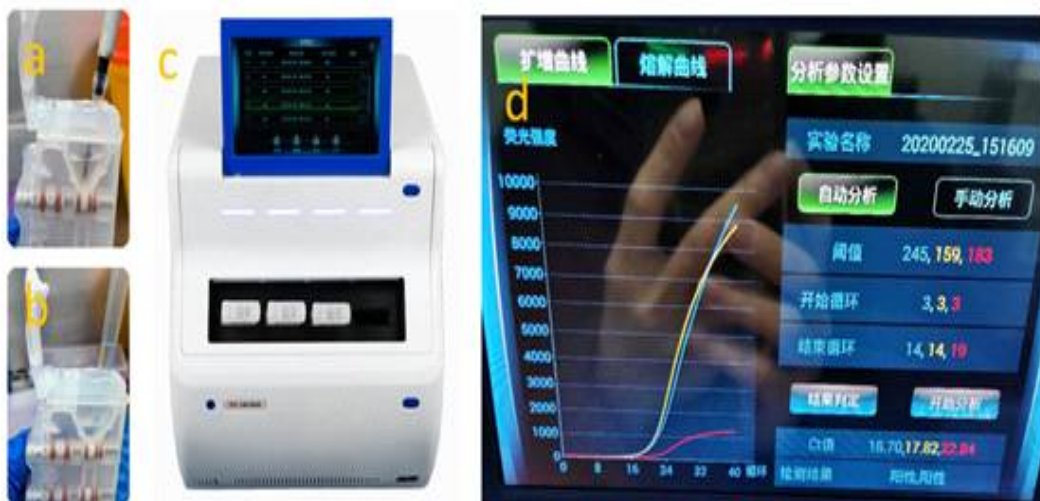
- A형 인플루엔자 바이러스의 HA 유전자형 (H/7/9)을 결정하기 위해 선정된 최종 패널을 진단키트화 하여 Internal processing control을 첨가한 후 현재 조류인플루엔자의 검출을 위해 평가한 결과 16개의 분리주를 대상으로 각각의 유전자형을 특이적으로 검출하는 것을 확인하였으나 H5의 경우 다중반응검사에서 단독반응검사에 비해 반응성이 현저하게 감소하는 것을 확인하여 추가적으로 반응조건을 조절하여 최종 조건을 확정하였다.
- 반응성의 개선을 위해 다양한 qPCR용 마스터믹스를 적용하여 다중검사법에 대한 평가를

수행하였으며 검사에 사용한 마스터믹스 중 1개에서 H5, H7에 대해서 적절한 수준의 반응성을 확인하여 HA 유전자형 결정을 위한 최종 qPCR 패널과 가장 최적의 반응을 보이는 마스터믹스를 선정하여 최종의 반응조건을 결정하였다.

Ser.N	Sample	Dilution	PostBIO_Set 2			APBIO RT		TaKaRa RT	
			8, AIV_H5_S4xAS4_H5_P4-FAM	14, AIV_H7_S3xAS3_H7_P3-TR	A.IPC-HEX	8, AIV_H5_S4xAS4_H5_P4-FAM	14, AIV_H7_S3xAS3_H7_P3-TR	8, AIV_H5_S4xAS4_H5_P4-FAM	14, AIV_H7_S3xAS3_H7_P3-TR
1	H1N1	10 X.D	-	-	23.61	-	-	-	-
2	H2N2	10 X.D	-	-	31.16	-	-	-	-
3	H3N8	10 X.D	-	-	22.59	-	-	-	-
4	H4N6	10 X.D	-	-	21.46	-	-	-	-
5	H5N3	10 X.D	35.68	-	26.15	24.44	-	27.15	-
6	H6N5	10 X.D	-	-	29.11	-	-	-	-
7	H7N1	10 X.D	-	17.45	22.91	-	22.41	-	19.30
8	H8N4	10 X.D	-	-	23.68	-	-	-	-
9	H9N2 (Y430)	10 X.D	-	-	20.93	-	-	-	-
10	H9N2 (Y280)	10 X.D	-	-	23.01	-	-	-	-
11	H10N7	10 X.D	-	-	20.60	-	-	-	-
12	H11N6	10 X.D	-	-	27.27	-	-	-	-
13	H11N9	10 X.D	-	-	19.34	-	-	-	-
14	H12N5	10 X.D	-	-	27.32	-	-	-	-

○ 현장진단을 위한 핵산추출과정과 핵산검출이 통합된 진단 카트리지제조

- 기확보한 협업체계를 통한 현장용 진단장비와 연동 (기기제조업체와 NDA 체결 2019.11)
- 시료의 주입만으로 핵산추출과 핵산검출이 가능한 시스템 구현
- 신변종 가축감염질환군에 대한 2종 이상의 진단 카트리지 개발
 - ✓ 아프리카돼지열병
 - ✓ 고병원성 조류인플루엔자
- 실험실검사결과와 비교평가
 - ✓ 민감도 : WOAH 등에서 제시한 표준시험법 또는 실험실검사법 대비 민감도 95%이상, 최소검출한계 100copies/Rx (Ct 35이하)기진단법대비
 - ✓ 특이도 : WOAH 등에서 제시한 표준시험법과 비교하여 특이도 평가추가 (95%)



현장용 리얼타임피씨알 기기의 구성 및 스펙

○ 분석적 성능검증을 위한 자료축적

- 주요 대상질환에 대한 표준품을 제작하고 개발대상 진단키트에 대한 분석적 성능시험에 활용
 - ✓ 민감도 : 표준품(농도확정)기반 최소검출한계 결정
 - ✓ 특이도 : 축종에 따라 문제시되는 기타 감염성 병원체 활용하여 특이도 검증
- 최소검출한계의 경우 3반복으로 10,000 copies/Rx부터 희석하여 검사한 결과 Ct 35를 기준으로 100 copies/Ex 이하의 검출한계를 보이는 것으로 확인하였으며 병원체의 특이성을 검증하기 위해 돼지에서 흔하게 발생할 수 있는 질환군인 PRRSV(American strain/European strain), Swine Influenza, Pasteurella multocida, PCV2, PCV3, Mycoplasma hyopneumoniae, Mycoplasma hyorhinitis, Bordetella bronchiseptica, Haemophilus parasuis, Streptococcus suis 2, Actinobacillus pleuropneumoniae, TGEV, PEDV, Clostridium perfringens, Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Rotavirus group A, Rotavirus group C 등 18종의 병원성 미생물들과는 반응성이 확인되지 않아 돼지유래의 병원성 미생물에 대한 특이도를 확인하였다.

○ 현장적용을 통한 실효성 입증 (임상적 성능평가)

- 농림축산검역본부 또는 환경부 야생동물연구원 등 국내 검사네트워크 등에서 제공되는 검체를 활용하여 현장적용성 평가
 - ✓ 현장용 진단프로토콜개발
 - ✓ 현장용 진단시스템구축
 - ✓ 임상프로파일확보, 실험실진단평가를 통한 민감도/특이도평가
- 중앙백신의 국제네트워크를 활용하여 국제공동연구를 통해서 BL3 시설이 확보된 베트남의 공동연구시설에서 보유한 베트남 현지 유행 아프리카돼지열병 및 고병원성 조류인플루엔자에 대한 시료를 확보하여 기존의 진단법과 본 연구를 통해 개발된 POC 개념의 리얼타임피씨알 디바이스를 비교하여 임상적성능을 평가하는 등 국제적인 공동연구를 진행함.
- 현장용 진단키트의 개발 및 임상시험평가를 위해 하기와 같이 현장용 진단키트의 진단프로토콜을 완성하였으며 ASFV, AIV 유전자의 현장진단을 위해 간략한 전처리 등을 거쳐 전혈, 혈청, 조직분쇄액, 구강 및 비강스왑, 분변 등을 검사하기 위한 프로토콜을 제시하였다.

【아프리카돼지열병바이러스(ASFV)】

【현장용 진단키트의 프로토콜 (XQ Station _ ASFV XQ_P001)】

XQ-Station 관련 사용 설명서

검사 안내

- ▶ 검사명 : ASFV
- ▶ 미그네틱 비드 필요량 : 50µl
- ▶ 샘플 종류 및 필요량
 - ①. 전설 50µl + PBS 450µl
 - ②. 초흡기(구강/비강) 검체 희석 배파 100µl
 - ③. 파쇄한 비강 검체 희석 배파 50µl + PBS 450µl
- ▶ 카트리지 : XQP001(B0007) B
- ▶ 전처리 과정 있음 (검사 준비 참고)

검사 준비

[전설]

1. 전설 50µl의 PBS 450µl를 잘 섞어 준비합니다. → 준비한 샘플 50µl 사용

[초흡기]

1. 구강 검체 희석 배파 50µl + 비강 검체 희석 배파 50µl를 잘 섞어 준비합니다. → 준비한 샘플 100µl 사용

[파쇄]

1. 파쇄한 비강 검체 희석 배파 50µl와 PBS 450µl를 잘 섞어 준비합니다. → 준비한 샘플 50µl 사용
2. 카트리지의 원형질체를 파이펫팅 또는 분쇄한 검체를 이용하여 구멍을 뚫은 후 1에서 준비한 각 샘플과 미그네틱 비드 50µl를 넣습니다.
3. 파이펫팅 하여 또는 카트리지의 뚜껑을 닫은 후 흔들어 샘플과 buffer를 잘 섞어줍니다.



Assay on Demand P ● STB | ●
공생체 바이오

검사 방법

1. 기기의 전원을 키고 예연의면 중정의 Rapid Run 버튼을 클릭합니다.
 
2. 다음 화면이 나오면 Sample info에 테스트할 샘플의 정보를 입력, Detect Name 옆의 아이콘을 클릭한 후 카트리지에 부착되어 있는 QR코드를 스캔합니다.
 - ▶ 카트리지에 QR코드가 없는 경우 예연의면의 Library를 클릭하여 원하는 프로토콜을 선택 후 진행
3. 만약 기기에 실험 프로토콜이 입력되어 있지 않은 경우, 아래의 같은 메시지 창이 나오면 Confirm을 클릭한 다음 카트리지가 들어있던 박스에 부착되어 있는 QR코드를 스캔하여 프로토콜을 입력한 후 진행합니다.
 
4. 테스트를 진행할 채널을 선택한 후 카트리지를 넣습니다.
 
5. 채널 선택 후 입력한 정보가 있는지 확인 후 Run을 클릭하여 검사를 시작합니다.
 
6. 아래의 같은 Running interface에서 실험 진행상황을 확인할 수 있습니다.
 
7. 다른 채널의 진행상황을 확인하고 싶을 경우 아이콘을 클릭하여 다른 채널을 선택합니다.
 

Assay on Demand P ● STB | ●
공생체 바이오

결과 확인

1. 실험이 끝난 후 Data analysis 페이지에 들어가면 결과를 확인할 수 있습니다. 이때, Auto-Analysis를 클릭하면 Threshold, Start cycle, End cycle이 자동 적용되어 분석결과가 도출됩니다. Manual 분석이 필요하다면 Manual 버튼을 클릭하여 원하는 수치를 입력 후 Analysis를 클릭합니다.
 
2. 결과를 Export 하기 위해서는 예연의면의 Database 버튼을 클릭 후 원하는 결과미알을 선택하여 Export 합니다.
 

```

                ***
                Export 시, USB에 <ASFV_ASG> 폴더가 생성되고,
                'Protocol name_Sample number_Test cycle' 형식으로
                파일이름이 지정됩니다.
            
```



Assay on Demand P ● STB | ●
공생체 바이오

 Possible Negative의
 검사수치를 변경하고
 평가판 Judgement를
 설정하여 변경합니다.

Assay on Demand P ● STB | ●
공생체 바이오

**Clinical Evaluation Data performed
by Vietnamese Reference Laboratory (ASFV)**

	Respiratory						Blood						Spleen					
	PCR			XQ-STATION			PCR			XQ-STATION			PCR			XQ-STATION		
	Coc	Resu	Ct	Resu	Ct samp	Ct IC	Coc	Resu	Ct	Resu	Ct samp	Ct IC	Coc	Resu	Ct	Resu	Ct samp	Ct IC
R1T	+		21.48	+	15.48	27	B1T	+	17.86	+	13.44	26.75	S1T	-	∞	+	15.72	25.70
R2T	+		25.12	+	18.91	25.73	B2T	+	20.51	+	16.83	26.63	S2T	-	∞	+	18.37	26.55
R3T	+		22	+	17.67	28.23	B3T	+	19.93	+	15.48	27.5	S3T	-	∞	+	17.24	26.39
R4T	+		23.32	+	18.95	27.3	B4T	+	19.21	+	14.85	27.65	S4T	-	∞	+	14.95	26.55
R5T	+		24.91	+	19	26.55	B5T	+	20.65	+	16.17	27.17	S5T	-	∞	+	18.17	25.91
R6T	+		23.21	+	19.02	28.28	B6T	+	19.5	+	13.66	26.74	S6T	-	∞	+	19.33	28.00
R7T	+		21.03	+	18.02	29.21	B7T	+	17.9	+	14.53	26.7	S7T	+	22.48	+	14.56	26.33
R8T	+		25.34	+	20.54	26.67	B8T	+	17.16	+	16.04	28.52	S8T	-	∞	+	12.59	25.22
R9T	+		24.98	+	19.02	24.19	B9T	-	∞	-	∞	26.68	S9T	+	32.08	+	26.80	21.96
R10T	+		22.7	+	17.15	28.24	B10T	+	18.57	+	15.12	24.96	S10T	+	19.71	+	17.10	25.03
R11T	+		21.41	+	19.24	26.44	B11T	+	19.74	+	15.31	24.1	S11T	+	22.88	+	18.13	24.12
R12T	+		17.41	+	13.42	24	B12T	+	17.72	+	12.7	24.2	S12T	-	∞	+	15.41	24.08
R13T	+		20.23	+	16.73	25.69	B13T	+	19.01	+	15.3	25.8	S13T	-	∞	+	16.45	26.03
R14T	+		17.78	+	14.05	26.72	B14T	+	17	+	12.03	25.07	S14T	-	∞	+	15.12	25.58
R15T	+		20.55	+	15.42	26.46	B15T	+	16.86	+	12.54	23.5	S15T	+	19.45	+	14.40	24.93
R16T	+		32.33	+	27.4	26.6	B16T	+	28.71	+	21.17	23.95	S16T	+	30.52	+	27.59	26.68
R17T	+		22.38	+	12.79	20.36	B17T	+	18.67	+	15.47	25.74	S17T	+	20.56	+	15.44	25.97
R18T	+		19.52	+	14.79	25.71	B18T	+	16.27	+	10.03	26.94	S18T	-	∞	+	13.79	24.20
R19T	+		21.95	+	13.69	28.65	B19T	-	∞	+	12.78	27.4	S19T	+	18.72	+	15.34	25.41
R20T	+		25.3	+	19.04	27.53	B20T	+	16.07	+	14.44	26.91	S20T	+	17.69	+	14.17	26.03
R21T	+		22.1	+	16.8	26.53	B21T	-	∞	+	12.11	26.65	S21T	+	18.69	+	12.48	25.89
R22T	+		21.38	+	14.86	27.36	B22T	+	15.2	+	11.55	27.38	S22T	+	16.3	+	13.83	25.53
R23T	+		18.91	+	13.12	28.32	B23T	-	∞	+	15.26	27.43	S23T	+	17.2	+	16.81	27.52
R24T	+		22.15	+	17.82	27.54	B24T	+	∞	+	14.61	27.59	S24T	+	17.78	+	14.38	27.43
R25T	+		18.31	+	25.34	21.79	B25T	+	16	+	14.4	25.5	S25T	+	21.24	+	19.03	25.00
R26T	+		18.19	+	20.08	33.74	B26T	-	∞	+	12.88	26.69	S26T	+	20.78	+	17.88	24.91
R27T	+		21.47	+	29.12	22.58	B27T	+	17.51	+	13.87	∞	S27T	+	19.75	+	16.12	24.91
R28T	+		20.81	+	26.08	19.1	B28T	+	14.58	+	13.18	24.8	S28T	+	19.43	+	15.94	24.00
R29T	+		19.56	+	23.14	24.39	B29T	+	16.89	+	19.21	32.73	S29T	+	18.05	+	14.56	25.07
R30T	+		18.25	+	11.52	22.3	B30T	+	17.89	+	19.62	23.18	S30T	+	19.05	+	16.30	24.08
R31T	+		19.22	+	13.04	26.69	B31T	-	∞	+	26.42	31.47	S31T	+	21.65	+	18.07	24.64
R32T	+		24.46	+	17.59	26.41	B32T	+	19.4	+	15.07	21	S32T	+	24.79	+	22.38	25.73
R33T	+		23.96	+	17.95	27.07	B33T	+	17.81	+	12.88	21.71	S33T	+	21.19	+	19.36	25.26
R34T	+		24.22	+	19.04	25.79	B34T	-	∞	+	11.46	26	S34T	+	20.01	+	18.48	23.90
R35T	+		22.75	+	16.28	27.5	B35T	+	15.06	+	22.08	17.6	S35T	-	∞	-	∞	28.27
R36T	+		20.43	+	14.26	26.65	B36T	+	18.62	+	17.22	24.82	S36T	-	∞	-	∞	25.82
R37T	+		18.24	+	13.4	26.72	B37T	+	16.63	+	13.76	26.37	S37T	-	∞	-	∞	26.16
R38T	+		23.22	+	17.07	26.69	B38T	+	16.8	+	14.17	28.1	S38T	-	∞	-	∞	27.05
R39T	+		25.1	+	13.38	26.51	B39T	+	17.77	+	15.95	25.79	S39T	-	∞	-	∞	26.17
R40T	+		21.07	+	25.07	20.03	B40T	+	16.23	+	15.23	24.04	S40T	-	∞	-	∞	26.30
R41T	+		18.19	+	12.67	25.78	B41T	+	16.36	+	13.76	25.09	S41T	+	18.53	+	15.19	25.41
R1N	-		∞	-	∞	26.48	X						S1N	-	∞	-	∞	24.67
R2N	-		∞	-	∞	28.36							S2N	-	∞	-	∞	25.91
R3N	-		∞	-	∞	24.06							S3N	-	∞	-	∞	24.05
R4N	-		∞	-	∞	27.3							S4N	-	∞	-	∞	24.88
R5N	-		∞	-	∞	25.71							S5N	-	∞	-	∞	23.88
R6N	-		∞	-	∞	25.1							S6N	-	∞	-	∞	23.6
R7N	-		∞	-	∞	25.21							S7N	-	∞	-	∞	25.44
R8N	-		∞	-	∞	25.05							S8N	-	∞	-	∞	25.42
R9N	-		∞	-	∞	25.32							S9N	-	∞	-	∞	27.36
R10N	-		∞	-	∞	25.11							S10N	-	∞	-	∞	26.54
R11N	-		∞	-	∞	26.14							S11N	-	∞	-	∞	26.79
R12N	-		∞	-	∞	23.37							S12N	-	∞	-	∞	26.38

- 베트남 현지에서 실시한 임상시험평가에서는 ASFV의 발병이 확인된 농장으로부터 채취한 41두의 구강-비강 스왑, 전혈 그리고 비장파쇄액 등의 3종류의 검체에 대해서 그리고 ASFV가 발병하지 않은 음성돈군에서 채취한 12두의 구강-비강 스왑, 비장파쇄액에 대해서 WOH에서 제시한 표준시험법과 본 사업을 통해서 개발한 XQ Station 용 ASFV Detection Cartilage와 검사결과를 샘플에 따라서 그리고 진단방법에 따라 정리하였다.
- 비교적 ASFV Detection Cartilage에서의 실험결과가 표준시험법에 비해서 임상적인 민감도가 우수하였고 검출된 결과의 Ct 값을 비교해 보면 약 4-5정도의 차이를 보여 약 50 배정도의 검출민감도를 보이는 것으로 확인되었다.

- 검사를 수행한 양성농장에서의 123건 (41두의 3종의 검체)와 음성농장에서의 24건(12두의 2종의 검체) 등 147건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ ASFV Detection Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.

WOAH SOP (ASFV qPCR p72)					XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)				
Oro-Nasal Swab		WOAH ASFV qPCR			Oro-Nasal Swab		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	41	0	41	Positive	41	0	41	
	Negative	0	12	12	Negative	0	12	12	
	Total	41	12	53	Total	41	12	53	
Whole blood		WOAH ASFV qPCR			Whole blood		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	33	8	41	Positive	40	1	41	
	Negative	0	0	0	Negative	0	0	0	
	Total	41	1	41	Total	41	1	41	
Spleen homogenates		WOAH ASFV qPCR			Spleen homogenates		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	24	17	41	Positive	35	6	41	
	Negative	0	12	12	Negative	0	12	12	
	Total	24	29	53	Total	41	12	53	
Total		WOAH ASFV qPCR			Total		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	98	25	123	Positive	116	7	123	
	Negative	0	24	24	Negative	0	24	24	
	Total	98	49	147	Total	116	31	147	

- ASFV의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 p72 유전자를 표적으로한 qPCR의 경우 79.7%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 94.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- 하지만 임상적으로는 ASFV가 발병한 농장의 샘플이지만 현장용 진단키트에서 음성으로 확인된 검체 7건 (Whole blood 1건, Spleen homogenate 6건)의 경우 두가지 검사법에서 모두 음성으로 확인되어 검체에 바이러스가 존재하지 않은 가능성이 높은 것으로 사료된다.

Oro-Nasal Swab		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	41	0	41
	Negative	0	12	12
	Total	41	12	53

Whole blood		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	33	0	33
	Negative	7	1	8
	Total	40	1	43

Spleen homogenates		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	24	0	24
	Negative	11	18	29
	Total	35	18	53

Total		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	98	0	98
	Negative	18	31	49
	Total	116	31	147

- ASFV의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 p72 유전자를 표적으로한 qPCR의 경우 79.7%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 94.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- 결론적으로 ASFV 양성돈군에서 확보한 123건의 양성검체 중 두가지 유전자검사법을 통해서 음성으로 확인된 7건을 제외한 116건을 실제 ASFV 양성검체로 음성돈군에서 확보한 24건의 검체와 양성돈군에서 확보하였지만 검사결과 음성으로 확인된 7건 등 31건을 음성검체로 간주하여 임상적인 민감도와 특이도를 재평가하면
- XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 민감도 100%, 특이도 100%로 확인되고 기준검사법인 WOAH의 ASFV qPCR의 경우 84.5%의 민감도와 100%의 특이도로 확인할 수 있었다.
- 추가적으로 한국내에서 ASFV 음성돈군에서 채취한 25건의 검체(전혈 10건, 구강-비강스왑 10건, 조직파쇄액 5건 등)에 대한 검사결과를 포함하여 표준시험법을 기준으로 55건의 양성과 49건의 음성시료 등 총 104건의 임상시료에 대한 검사결과를 기준으로 임상시험평가를 완료하였다.
- ✓ 총 104개의 시료 중 표준시험법으로 양성으로 확인된 55개의 시료 중 54개에서 양성으로 확인되어 임상적 민감도 98.2%로 확인되었으며 표준시험법으로 음성으로 확인된 49개의 시료에 대해서는 49개 모두에서 음성으로 확인되어 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

		XQ ASFV Dx Catrilage (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH qPCR	Positive	54	1	55
	Negative	0	49	49
	Total	54	50	104

Serial No	Sample ID	WOAH_qPCR		XQ-STATION		
		Result	Ct	Result	Ct sampl	Ct IC
ASF_C_1	V_ASFV_R1	+	21.48	+	15.48	27
ASF_C_2	V_ASFV_R2	+	25.12	+	18.91	25.73
ASF_C_3	V_ASFV_R3	+	22	+	17.67	28.23
ASF_C_4	V_ASFV_R4	+	23.32	+	18.95	27.3
ASF_C_5	V_ASFV_R5	+	24.91	+	19	26.55
ASF_C_6	V_ASFV_R6	+	23.21	+	19.02	28.28
ASF_C_7	V_ASFV_R7	+	21.03	+	18.02	29.21
ASF_C_8	V_ASFV_R8	+	25.34	+	20.54	26.67
ASF_C_9	V_ASFV_R9	+	24.98	+	19.02	24.19
ASF_C_10	V_ASFV_R10	+	22.7	+	17.15	28.24
ASF_C_11	V_ASFV_R11	+	21.41	+	19.24	26.44
ASF_C_12	V_ASFV_R12	+	17.41	+	13.42	24
ASF_C_13	V_ASFV_R13	+	20.23	+	16.73	25.69
ASF_C_14	V_ASFV_R14	+	17.78	+	14.05	26.72
ASF_C_15	V_ASFV_R15	+	20.55	+	15.42	26.46
ASF_C_16	V_ASFV_R16	+	32.33	+	27.4	26.6
ASF_C_18	V_ASFV_R18	+	19.52	+	14.79	25.71
ASF_C_19	V_ASFV_R19	+	21.95	+	13.69	28.65
ASF_C_20	V_ASFV_R20	+	25.3	+	19.04	27.53
ASF_C_21	V_ASFV_R21	+	22.1	+	16.8	26.53
ASF_C_22	V_ASFV_R22	+	21.38	+	14.86	27.36
ASF_C_23	V_ASFV_R23	+	18.91	+	13.12	28.32
ASF_C_24	V_ASFV_R24	+	22.15	+	17.82	27.54
ASF_C_25	V_ASFV_B1	+	17.96	+	13.44	26.75
ASF_C_26	V_ASFV_B2	+	20.51	+	16.83	26.63
ASF_C_27	V_ASFV_B3	+	19.93	+	15.48	27.5
ASF_C_28	V_ASFV_B4	+	19.21	+	14.85	27.65
ASF_C_29	V_ASFV_B5	+	20.65	+	16.17	27.17
ASF_C_30	V_ASFV_B6	+	19.5	+	13.66	26.74
ASF_C_31	V_ASFV_B7	+	17.9	+	14.53	26.7
ASF_C_32	V_ASFV_B8	+	17.16	+	16.04	28.52
ASF_C_33	V_ASFV_B9	-	∞	-	∞	26.68
ASF_C_34	V_ASFV_B10	+	18.57	+	15.12	24.96
ASF_C_35	V_ASFV_B11	+	19.74	+	15.31	24.1
ASF_C_36	V_ASFV_B12	+	17.72	+	12.7	24.2
ASF_C_37	V_ASFV_B13	+	19.01	+	15.3	25.8
ASF_C_38	V_ASFV_B14	+	17	+	12.03	25.07
ASF_C_39	V_ASFV_B15	+	16.86	+	12.54	23.5
ASF_C_40	V_ASFV_B16	+	28.71	+	21.17	23.95
ASF_C_41	V_ASFV_B17	+	18.67	+	15.47	25.74
ASF_C_42	V_ASFV_B18	+	16.27	+	10.03	26.94
ASF_C_44	V_ASFV_B20	+	16.07	+	14.44	26.91
ASF_C_46	V_ASFV_B22	+	15.2	+	11.55	27.38
ASF_C_55	V_ASFV_T7	+	22.48	+	14.56	26.33
ASF_C_57	V_ASFV_T9	+	32.08	-	∞	24.88
ASF_C_58	V_ASFV_T10	+	19.71	+	17.1	25.03
ASF_C_59	V_ASFV_T11	+	22.88	+	18.13	24.12
ASF_C_63	V_ASFV_T15	+	19.45	+	14.4	24.93
ASF_C_64	V_ASFV_T16	+	30.52	+	27.59	26.683
ASF_C_65	V_ASFV_T17	+	20.56	+	15.44	25.97
ASF_C_67	V_ASFV_T19	+	18.72	+	15.34	25.41
ASF_C_68	V_ASFV_T20	+	17.69	+	14.17	26.03
ASF_C_69	V_ASFV_T21	+	19.69	+	13.88	25.89
ASF_C_70	V_ASFV_T22	+	16.93	+	12.83	25.53
ASF_C_71	V_ASFV_T23	+	17.2	+	13.81	27.52
ASF_C_72	V_ASFV_T24	+	17.79	+	14.38	27.43

Serial No	Sample ID	WOAH_qPCR		XQ-STATION		
		Result	Ct	Result	Ct sample	Ct IC
ASF_C_73	V_ASFV_R25N	-	∞	-	∞	26.48
ASF_C_74	V_ASFV_R26N	-	∞	-	∞	28.36
ASF_C_75	V_ASFV_R27N	-	∞	-	∞	24.06
ASF_C_76	V_ASFV_R28N	-	∞	-	∞	27.3
ASF_C_77	V_ASFV_R29N	-	∞	-	∞	25.71
ASF_C_78	V_ASFV_R30N	-	∞	-	∞	25.1
ASF_C_79	V_ASFV_R31N	-	∞	-	∞	25.21
ASF_C_80	V_ASFV_R32N	-	∞	-	∞	25.05
ASF_C_81	V_ASFV_R33N	-	∞	-	∞	25.32
ASF_C_82	V_ASFV_R34N	-	∞	-	∞	25.11
ASF_C_83	V_ASFV_R35N	-	∞	-	∞	26.14
ASF_C_85	V_ASFV_T25N	-	∞	-	∞	24.67
ASF_C_86	V_ASFV_T26N	-	∞	-	∞	25.91
ASF_C_87	V_ASFV_T27N	-	∞	-	∞	24.05
ASF_C_88	V_ASFV_T28N	-	∞	-	∞	24.88
ASF_C_89	V_ASFV_T29N	-	∞	-	∞	23.88
ASF_C_90	V_ASFV_T30N	-	∞	-	∞	23.6
ASF_C_91	V_ASFV_T31N	-	∞	-	∞	25.44
ASF_C_92	V_ASFV_T32N	-	∞	-	∞	25.42
ASF_C_93	V_ASFV_T33N	-	∞	-	∞	27.36
ASF_C_94	V_ASFV_T34N	-	∞	-	∞	26.54
ASF_C_95	V_ASFV_T35N	-	∞	-	∞	26.79
ASF_C_96	V_ASFV_T36N	-	∞	-	∞	26.38
ASF_C_97	K_ASFV_B1	-	∞	-	∞	19.71
ASF_C_98	K_ASFV_B2	-	∞	-	∞	22.14
ASF_C_99	K_ASFV_B3	-	∞	-	∞	22.23
ASF_C_100	K_ASFV_B4	-	∞	-	∞	20.74
ASF_C_101	K_ASFV_B5	-	∞	-	∞	22.9
ASF_C_102	K_ASFV_B6	-	∞	-	∞	19.06
ASF_C_103	K_ASFV_B7	-	∞	-	∞	24.19
ASF_C_104	K_ASFV_B8	-	∞	-	∞	22.57
ASF_C_105	K_ASFV_B9	-	∞	-	∞	23.24
ASF_C_106	K_ASFV_B10	-	∞	-	∞	21.56
ASF_C_107	K_ASFV_R1	-	∞	-	∞	21.66
ASF_C_108	K_ASFV_R2	-	∞	-	∞	21.24
ASF_C_109	K_ASFV_R3	-	∞	-	∞	21.28
ASF_C_110	K_ASFV_R4	-	∞	-	∞	22.32
ASF_C_111	K_ASFV_R5	-	∞	-	∞	21.6
ASF_C_112	K_ASFV_R6	-	∞	-	∞	21.69
ASF_C_113	K_ASFV_R7	-	∞	-	∞	21.78
ASF_C_114	K_ASFV_R8	-	∞	-	∞	19.81
ASF_C_115	K_ASFV_R9	-	∞	-	∞	19.55
ASF_C_116	K_ASFV_R10	-	∞	-	∞	20.27
ASF_C_117	K_ASFV_T1	-	∞	-	∞	20.38
ASF_C_118	K_ASFV_T2	-	∞	-	∞	24.27
ASF_C_119	K_ASFV_T3	-	∞	-	∞	24.44
ASF_C_120	K_ASFV_T4	-	∞	-	∞	22.01
ASF_C_121	K_ASFV_T5	-	∞	-	∞	21.77

별첨자료. 베트남에서 수행한 국제임상시험결과리포트 (ASFV)

Official Report Evaluation of the effectiveness of the ASFV DNA detection kit (XQ-Station) compared with OIE-based real-time PCR

A/Prof. Duy Do Ten and Research Team
Faculty of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Nong Lam University-HCMC,
Quarter 6, Linh Trung ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam; Email:
duy.doiten@hcmul.edu.vn; Tel: (+84) 91 835 67 44.

Abstract
African swine fever (ASF) is a dangerous infectious disease of domestic pigs and wild boars caused by the African swine fever virus (ASFV). Rapid and effective diagnosis is crucial to prevent the spread and minimize economic losses in livestock production. This study evaluated the efficiency and accuracy of the ASF nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) compared with the standard real-time PCR method, recommended by OIE (p72 real-time PCR). A total of 41 pigs suffered from clinical symptoms in the ASF outbreak and 12 healthy pigs from ASF-negative farms were sampled. Each pig collected 3 kinds of samples, including oropharyngeal swabs, whole blood, and spleen tissue. The XQ-Station POCT real-time PCR had higher positivity (94.31%) of testing result than OIE p72 real-time PCR (9.87%). The highest rate of ASFV DNA detection was observed in oro-nasopharyngeal swabs (100%) in both OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR. The positive rate of whole blood and spleen tissue were 80.48% and 58.53% for OIE p72 real-time PCR and were 97.56%, and 85.37% for XQ-Station POCT real-time PCR, respectively. There was a statistical difference of Ct value between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). The overall ASFV detection rate of the samples was statistically different between the OIE p72 real-time PCR and the XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). There was statistical difference of the detection rate in oropharyngeal swabs, spleen tissue and whole blood samples between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). XQ-Station POCT real-time PCR had better sensitivity due to its ability to detect ASFV DNA at low concentrations. The results showed that the XQ-Station POCT real-time PCR has a high sensitivity when compared with OIE p72 real-time PCR because of its ability to detect low ASFV loads in various types of samples.
Keywords: swine, ASF, ASFV, OIE-based real-time PCR, POCT, OIE p72.

Introduction

African swine fever (ASF) is an infectious disease that has recently devastated the swine industry. It is a viral disease caused by the African swine fever virus (ASFV) with general systemic clinical manifestations such as high fever, lethargy, anorexia, fast-spreading, extremely high mortality, and difficulty in the differential diagnosis. In the current situation, there have many efforts to prevent and treat the disease; however, none have been proven effective (Wright, 2022); this is a matter of concern in the livestock industry.

ASFV is a double-stranded DNA virus in the *Asfarviridae* genus of the *Asfarviridae* family (Alpojo et al., 2013). ASF was first documented in Kenya in 1921 (Eustace Montgomery, 1921); however, it has only been in recent years that the disease has become notable. According to FAO, only after one year of the outbreak, almost 5 million pigs in Asia died or were culled due to the spread of ASFV. At that time, the loss was about 10% of the total pig population in China, Vietnam, and Mongolia (FAO, 2019).

In 2019 Vietnamese pig farming was heavily affected by African swine fever. From the beginning of February 2019 to July 22, 2019, after only 6 months of discovery, African swine fever occurred in 6616 communes in 588 districts of 62-63 provinces. The number of destroyed pigs was 3.7 million, equivalent to the destroyed weight of 211.5 thousand tons. As of December 19, 2019, African swine fever occurred in 8,527 communes in 667 districts of all localities nationwide, with a total of nearly 6 million destroyed pigs, equivalent to a total weight of 340.8 thousand tons. The country's total pig herd in December 2019 decreased by 25.5% compared to the same period in 2018 (General Statistics Office of Vietnam, 2021).

Like the outbreak of COVID-19, farmers have been accepting that co-living with the ASF is inevitable. Early detection of the disease is required to implement sanitary and biosecurity control measures to prevent the spread of the disease. A good laboratory diagnosis and interpretation provides relevant information on infection dynamics that will be very helpful in deploying effective control-eradication programs. However, at present, diagnostic methods such as immunofluorescence and immunohistochemistry need at least two days to get results (Do & Nguyen, 2018) and do not meet the needs of medical professionals. PCR tests are the first choice for early detection of the ASFV genome in epidemic situations, although not all such tests are fully sensitive to the low viremia levels, which can be most

often evident in infected animals of endemic zones, but it needs to be equipped with modern machines and highly skilled technicians and is not suitable for rapid diagnosis at the farm. From the above issues, point of care testing (POCT) is becoming the world trend because it solves the problem of the ability, simplicity, and convenience it brings when it does not require too much infrastructure and human technique. This study aimed to evaluate the effectiveness and detection ability of the African swine fever virus nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR method) compared with OIE p72 real-time PCR.

Materials and Methods

Sampling

The study had 159 samples, of which 123 were suspected to be positive for ASFV, taken from ASF outbreaks in a province, Vietnam and 36 samples of 12 healthy pigs collected from a negative farm. Following the specification that each pig with clinical signs, 3 types of the sample were taken, including oro-nasopharyngeal swabs, whole blood, and spleen tissue. These farms had clinical manifestations of ASF or were positive with the rapid test method on representative livestock of the farm. The sampling detail was shown in Table 1.

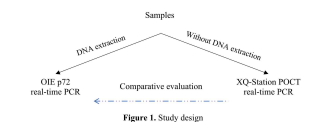
Table 1. Sample count used in the study

Sources	No. of pigs	Oro-nasopharyngeal swab	Whole blood	Spleen tissue	Total
Positive farms	41	41	41	41	123
Negative farms	12	12	12	12	36
Total	53	53	53	53	159

Sample Preparation and Testing

Samples were transported to the laboratory in a cool container (2-8°C) and then divided into two parts; one was taken for DNA extraction and tested with the standard real-time PCR method, recommended by OIE (OIE p72 real-time PCR) and the rest was tested directly by the XQ-Station POCT real-time PCR without DNA extraction simultaneously by the same technician (Figure 1). The oro-nasopharyngeal fluid was obtained by mixing oral and nasal swabs in a 1:1 ratio. The spleen tissue suspensions were obtained by crushing 1 gram of tissue with 9 grams of PBS 1X, then centrifuging at 3000rpm for 5 minutes and collecting

the supernatant. Whole blood was anticoagulated by EDTA then extracted DNA for OIE p72 real-time PCR and tested directly for XQ-Station POCT real-time PCR.



Real-time PCR

DNA extraction was performed according to the instructions for use included in the GeneJET Genomic DNA Purification Kit, 250 prep (K0722, Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's instructions (Thermo Fisher Scientific, 2016). Real-time PCR was performed following OIE protocol (King et al., 2003).

XQ-Station POCT real-time PCR

Sampling the cartridge: open the lid of the test cartridge, break the sealing film, and add 50 μ L of magnetic beads and 10 μ L internal control (mix is fully suspended before use), and test sample into the cartridge (100 μ L with the oro-nasopharyngeal swab, 25 μ L of blood mixed from 50 μ L whole blood and 450 μ L of PBS 1X, or 50 μ L of spleen sample mixed from 50 μ L spleen tissue suspension and 450 μ L of PBS 1X, mix by repeatedly pipetting 10 – 15 times, then close the lid. Software operation: on the AIOS Automatic Integrated Gene Detection System version: V-1.0 (POSTBIO Co., Ltd, Korea), click to enter the "Library" interface of the instrument, choose the ASFV protocol, a dialog appears, input the name of the sample, then OK. After the corresponding dialog appears, select a channel, and insert the test cartridge into the selected channel lightly. Pay attention to the direction of the cartridge with the barcode side up. Click the run button in the lower right corner, and the program enters the running interface. After the test is finished and the data is effective, click the "Analysis" button to do data analysis. And the software performs automatic data analysis and determines the qualitative result of the evaluated sample. 3.4.3.2. Result in judgment and explanation: The test data analysis was processed automatically by software, including

baseline, threshold judgment, and Ct value, and then judges the qualitative result was according to the Ct value and the preset judgment standard as Table 2:

Table 2. Quality judgment of test results

Result	FAM (ASFV)	ROX (Internal control)	Result Judgment	Quality Judgment	Solution
1	Positive	Positive	Sample: ASFV nucleic acid positive	Acceptable	No
2	Positive	Negative	Sample: ASFV nucleic acid positive	Acceptable	No
3	Negative	Positive	Sample: ASFV nucleic acid negative	Acceptable	No
4	Negative	Negative	Test failure	Unacceptable	Retest

Statistical analysis

The data were compiled and statistically analyzed using Excel 365 software (Microsoft Corporation, USA), processed by IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corporation, USA), and R 4.2.2 software with integrated development environment RStudio 2022.07.2 Build 576 (Posit, USA). The statistical significance of the positivity rate between the two methods in each sample type was performed by SPSS. Pearson Chi-square or Fisher's exact test was selected based on the minimum expected count value. If the minimum expected count value was greater than 5, the Pearson Chi-square was considered; otherwise, the value of Fisher's exact test was considered. The difference value $P < 0.05$ was considered significant. The degree of similarity between testing techniques is the percentage of high agreement between the results of the two testing techniques. Cohen's Kappa value (κ) was used to assess the significance of the agreement between random outcomes (Landis & Koch, 1977). ROC curve analysis was applied to evaluate the effectiveness of the ASFV DNA detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) compared with OIE p72 real-time PCR technique in the ASF diagnosis based on the area under the curve (AUC). Each point on the ROC curve was

the coordinate corresponding to the true positive frequency (sensitivity) on the vertical axis and the false positive frequency (1-specificity) on the horizontal axis. The more the curve deviates to the top and the left, the clearer the distinction between positive and negative states. Accuracy was measured by the area under the ROC curve; if the area was between 0.8 – 0.9, a good test; 0.6 – 0.8, the fair test; 0.5 – 0.6, no diagnostic value (Zweig & Campbell, 1993).

Results

In 123 suspected positive samples taken from 41 sick or/and dead pigs, there were 116 positive samples from the XQ-Station POCT real-time PCR, accounted for 94.31%, meanwhile 98 positive samples from the OIE p72 real-time PCR which accounted for 79.67%. The 36 samples with suspected negativity showed all negative results. The testing results were described in Table 3.

Table 3. Summary of results of 2 test methods

	OIE p72 real-time PCR		Total
	Positive	Negative	
XQ-Station POCT real-time PCR	97	18	115
	1	7	8
Total	98	25	123

Among 123 ASFV-positive suspected samples, the highest rate of ASFV DNA detection was observed in oro-nasopharyngeal swabs (100%) in both OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR. The positive rate of whole blood and spleen tissue were 80.48% and 58.53% for OIE p72 real-time PCR and were 97.56%, and 85.37% for XQ-Station POCT real-time PCR, respectively. There was a statistical difference of Ct value between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). There was statistical difference of the detection rate of the samples was statistically different between the OIE p72 real-time PCR and the XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). There was statistical difference of the detection rate in oropharyngeal swabs, spleen tissue and whole blood samples between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$).

Table 4. The results in detection of ASFV in ASFV-positive suspected samples

Testing methods	Samples		Positivity		Ct value	
	Types	Number	n	%	Range	Mean
OIE p72 real-time PCR	Oropharyngeal swab	41	41	100	17.41 - 32.33	21.48
	Whole blood	41	33	80.48	14.55 - 28.71	17.77
PCR	Spleen tissue	41	24	58.53	16.3 - 32.08	19.73
	Oropharyngeal swab	41	41	100	11.52 - 29.12	17.59
XQ-Station POCT real-time PCR	Whole blood	41	40	97.56	10.03 - 26.42	14.57
	Spleen tissue	41	35	85.37	12.48 - 27.59	16.12

XQ-Station POCT real-time PCR had better sensitivity due to its ability to detect ASFV DNA at low concentrations, which the comparison of Ct values between the two methods for three types of samples was also shown in

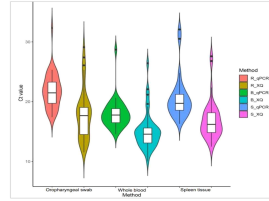


Figure 1.

7

concentrations will provide an opportunity to diagnose the presence of viruses in secretions with low concentrations earlier during incubation. However, previously used testing techniques had a low ability to detect viruses in secretions. In this study, diseased pigs were clinically collected in the paroxysmal phase, when the pathogen was excreted through orifices. However, we need more extensive research to confirm this difference between the test methods in different types of samples.

Conclusions

The African swine fever virus nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) showed high sensitivity, detecting the presence of DNA in the sample then much better than reference method. The study indicated that the oro-nasopharyngeal swab is the good and alternative sample for ASFV screening based in XQ-Station POCT real-time PCR. This sample type is a non-invasive, quick, and convenient sample to collect.

To increase the persuasiveness of the study, several extensive experiments need to be carried out. Among them can be mentioned, such as diluting the extract with different dilutions before performing real-time PCR or using a third reliable method that can also be considered.

References

- Acharya, K. R., Dhand, N. K., Whittington, R. J., & Plain, K. M. (2017). PCR Inhibition of a Quantitative PCR for Detection of *Mycobacterium avium* Subspecies *Paratuberculosis* DNA in Faeces: Diagnostic Implications and Potential Solutions. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00115>
- Alajo, A., Andrés, G., del Rosal, M., & Salas, M. L. (2013). Chapter 534—African Swine Fever Virus Polypeptide Processing Protease. In N. D. Rawlings & G. Salvesen (Eds.), *Handbook of Proteolytic Enzymes (Third Edition)* (3rd ed., Vol. 2, pp. 2385–2390). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.100532-9>
- Dai, T. D., & Nguyen, P. H. (2018). *Đặc Hành Chẩn Đoán Bệnh Học Truyền Nhiễm Trâu Heo. Nhà xuất bản Nông nghiệp*.

10

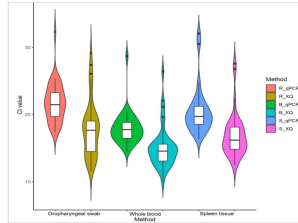


Figure 2. Comparison of Ct values between the two methods for three types of samples. Data in the left of each sample type were represented for OIE p72 real-time PCR (pPCR) and data in the right of each sample type are represented for XQ-Station POCT real-time PCR (XQ).

From the 123 samples analyzed, the kappa index was 0.36, the similarity between XQ-Station POCT real-time PCR and OIE p72 real-time PCR was fair consistency. Through the study, it was easy to see that the sensitivity is relatively high, reaching 98.98%. This was followed by accuracy, positive predictive value, and negative predictive value of 84.55%, 84.35%, and 87.50%, respectively.

Discussion

8

Related studies have been published, for example, a field-deployable diagnostic for identifying influenza A (H7N9) carried out by Ken Inui's research team. Insulated isothermal reverse transcriptase PCR (iRT-PCR) was used to determine the H7 antigen of the H7N9 avian influenza virus. The obtained results had a sensitivity and specificity of 98% and 100%, respectively (Inui et al., 2019). Thereby, it can be seen that the difference in sensitivity and specificity between XQ-Station POCT real-time PCR and iRT-PCR method in this study is extensive, especially in specificity.

In detail, if considering each sample type, the oro-nasopharyngeal sample gave 100% similarity between the two methods. This shows that detection ability of XQ-Station POCT real-time PCR on this type of sample is very sensitivity compared to the reference method. The difference in positivity rates between the two methods raises the question of whether the reference method (OIE p72 real-time PCR) was sensitive enough to detect ASFV. Three hypotheses were proposed, one due to unintentional mispairing of components in PCR reaction, leading to false-positive results of XQ-Station POCT real-time PCR (Garafadnov et al., 2020). Since the components inside a cartridge were product secrets, it was not easy to unravel. In addition, the positivity of ASFV by XQ-Station POCT real-time PCR may not be false. All these samples were taken from pigs at the ASF outbreaks and showed clinical signs. The possibility that those samples were indeed positive cannot be ruled out. This may be due to bias in OIE p72 real-time PCR results. One of the possibilities may be that the DNA concentration in the extract was too high, leading to the inhibition of the fluorescence reading of the real-time PCR reaction (Acharya et al., 2017). Or it may be because the amount of DNA in the extract was below the detection threshold of the reference method. If the cause was those things, it could be seen that the detection ability of XQ-Station POCT real-time PCR was excellent, as it can detect even samples with high DNA concentrations to inhibit the reference method, or the amount of DNA was less than the limit of detection (LOD), which was presumed 10⁶ (King et al., 2003); that is, XQ-Station POCT real-time PCR can detect earlier the presence of viral DNA at low concentrations (with lower LOD than OIE p72 real-time PCR).

Regardless of the method, the oro-nasopharyngeal swab sample gave a higher positive rate, followed by the whole blood and spleen tissue samples. In ASFV pathogenesis studies, blood was the early detection of the virus, and subsequent virus detection in secretions such as nasal, oral, and fecal secretions was lower and progressively higher at the time of clear clinical manifestations (Walczak et al., 2022). The ability to detect viruses at low

9

- Eustace Montgomery, R. (1921). On A Form of Swine Fever Occurring in British East Africa (Kenya Colony). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 34, 159–191. [https://doi.org/10.1016/S0368-1742\(21\)80031-4](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(21)80031-4)
- FAO. (2019, August). *FAO - News Article: One year on, close to 5 million pigs lost to Asia's swine fever outbreak*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/news/story/01/01/1204553/en#>
- Garafadnov, R. R., Galimova, A. A., & Sakhabutdinova, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 39(9), 1251–1269. <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1803354>
- General Statistics Office of Vietnam. (2021, April 8). *Livestock of pig has recovered*. General Statistics Office of Vietnam. <https://www.gso.gov.vn/en/data-and-statistics/2021/04/livestock-of-pig-has-recovered/>
- Inui, K., Nguyen, T., Tseng, H.-J., Tsai, C. M., Tsai, Y.-L., Chung, S., Padungtod, P., Zhu, H., Guan, Y., Kalpravidh, W., & Claes, F. (2019). A field-deployable insulated isothermal RT-PCR assay for identification of influenza A (H7N9) shows good performance in the laboratory. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 13(6), 610–617. <https://doi.org/10.1111/irv.12646>
- King, D. P., Reid, S. M., Huchings, G. H., Grenson, S. S., Wilkinson, P. J., Dixon, L. K., Bastos, A. D. S., & Drew, T. W. (2003). Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *Journal of Virological Methods*, 107(1), 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00189-1](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00189-1)
- Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*, 33(1), 159. <https://doi.org/10.2307/2529310>
- Oura, C. A. L., & Arias, M. (2021). Chapter 3.9.1. – African swine fever (infection with African swine fever virus). In *OIE Terrestrial Manual 2021*. OIE. https://www.woah.org/fileadmin/Html/eng/Health_standards/tahm/3.09.01_ASF.pdf
- Thermo Fisher Scientific. (2016). *User Guide: GeneJET Genomic DNA Purification Kit*. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0012663_GeneJET_Genomic_DNA_Purification_Kit_UG.pdf

11

- Walczak, M., Szczotka-Bochman, A., Zmudzki, J., Juszkiewicz, M., Szymankiewicz, K., Nisenczak, K., Piroz-Niliter, D., Liu, L., & Revilla, Y. (2022). Non-Invasive Sampling in the Aspect of African Swine Fever Detection—A Risk to Accurate Diagnosis. *Viruses*, 14(8). <https://doi.org/10.3390/v14081756>
- Wright, C. (2022, September 26). *African swine fever: No treatment yet*. The Pig Site. <https://www.thepigsite.com/articles/african-swine-fever-no-treatment-yet>
- Zweig, M. H., & Campbell, G. (1993). Receiver-swine-fever characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*, 39(4), 561–577.

12

【고병원성인플루엔자바이러스(HPAI)】

【현장용 진단키트의 프로토콜 (XQ Station _ AIV/HPAI XQ_B0049-E)】

POBANILAB

XQ-Station 간편 사용 설명서

검사 안내

▶ 검사명1 : AV01 / 키트리지 : B0049 E ▶ 검사명2 : HPAV1 / 키트리지 : B0049 E
 ▶ 미그네틱 비드 필요량 : 10µl ▶ 전처리 과정 없음
 ▶ Internal Control 필요량 : 10µl
 ▶ 샘플 종류 및 필요량 : 호흡기 검체 희석 배액 200µl

검사 준비

1. 키트리지의 원장필름을 피아렛 또는 투명한 골체를 이용하여 구멍을 뚫은 후 준비한 샘플 200µl의 미그네틱 비드 10µl, Internal Control 10µl를 넣습니다.
2. 피아렛 밑에 또는 키트리지의 뚜껑을 닫은 후 겔을 샘플과 Buffer를 잘 섞어줍니다.

검사 방법

1. 기기의 전원을 키고 예연하면 중정의 Rapid Run 버튼을 클릭합니다.
 
2. 다음 화면이 나오면 Sample info에 테스트 할 샘플의 정보를 입력, Detect Name 옆의 아이콘을 클릭한 후 키트리지에 부착되어 있는 QR코드를 스캔합니다.
 ⇒ 키트리지에 QR코드가 없는 경우 예연하면의 Library를 클릭하여 원하는 프로토콜을 선택 후 진행
 
3. 만약 기기에 실험 프로토콜이 입력되어 있지 않은 경우, 아래의 같은 메시지 창이 나오면 Confirm을 클릭한 다음 키트리지가 들어있던 박스에 부착되어 있는 QR코드를 스캔하여 프로토콜을 입력한 후 진행합니다.
 
4. 테스트를 진행할 채널을 선택한 후 키트리지를 넣습니다.
 

Assay on Demand P ● STB | ●
공소특허번호

검사 방법

1. 기기의 전원을 키고 예연하면 중정의 Rapid Run 버튼을 클릭합니다.
 
2. 다음 화면이 나오면 Sample info에 테스트 할 샘플의 정보를 입력, Detect Name 옆의 아이콘을 클릭한 후 키트리지에 부착되어 있는 QR코드를 스캔합니다.
 ⇒ 키트리지에 QR코드가 없는 경우 예연하면의 Library를 클릭하여 원하는 프로토콜을 선택 후 진행
 
3. 만약 기기에 실험 프로토콜이 입력되어 있지 않은 경우, 아래의 같은 메시지 창이 나오면 Confirm을 클릭한 다음 키트리지가 들어있던 박스에 부착되어 있는 QR코드를 스캔하여 프로토콜을 입력한 후 진행합니다.
 
4. 테스트를 진행할 채널을 선택한 후 키트리지를 넣습니다.
 
5. 채널 선택 후 입력한 정보가 있는지 확인 후 Run을 클릭하여 검사를 시작합니다.
 
6. 아래의 같은 Running interface에서 실험 진행상황을 확인할 수 있습니다.
 
7. 다른 채널의 진행상황을 확인하고 싶을 경우 아이콘을 클릭하여 다른 채널을 선택합니다.
 

Assay on Demand P ● STB | ●
공소특허번호

결과 확인

1. 실험이 끝난 후 Data analysis 페이지에 들어가면 결과를 확인할 수 있습니다. 이때, Auto-Analysis를 클릭하면 Threshold, Start cycle, End cycle이 자동 적용되어 분석결과가 도출됩니다. Manual 분석이 필요하다면 Manual 버튼을 클릭하여 원하는 수치를 입력 후 Analysis를 클릭합니다.
 
2. 결과를 Export 하기 위해서는 예연하면의 Database 버튼을 클릭 후 원하는 결과데이터를 선택하여 Export 합니다.
 

 Export 시, USB에 <AGC_RESULT> 폴더가 생성되고, Protocol name, Sample number, Test cycle이 형식으로 파일이름이 지정됩니다.

 Result navigation
 검사수치를 변경하고
 평가판 Judgement를
 설정하여 변경합니다.

Assay on Demand P ● STB | ●
공소특허번호

Assay on Demand P ● STB | ●
공소특허번호

Clinical Evaluation Data performed by Vietnamese Reference Laboratory (AIV)

Ct RawData Result Interpretation by sample	Respiratory									Lung								
	Realtime-PCR			XQ-STATION (AIV)			XQ-STATION (HPAI)			Realtime-PCR			XQ-STATION (AIV)			XQ-STATION (HPAI)		
	Code	Result	Ct	Result	Ct samp	Ct IC	Result	Ct samp	Ct IC	Code	Result	Ct	Result	Ct samp	Ct IC	Result	Ct samp	Ct IC
	R1P	Pos	20.37	Pos	10.68	17.11	Pos	14.34	20.35	L1P	Pos	20.65	Pos	13.26	15.91	Pos	17.97	17.10
R2P	Pos	18.62	Pos	9.16	15.28	Pos	11.41	17.11	L2P	Pos	22.48	Pos	16.12	16.04	Pos	18.86	17.06	
R3P	Pos	24.95	Pos	11.71	17.68	Pos	12.89	17.31	L3P	Pos	19.00	Pos	10.33	16.14	Pos	15.55	17.59	
R4P	Pos	17.99	Pos	8.78	17.18	Pos	10.65	18.38	L4P	Pos	19.45	Pos	12.04	16.20	Pos	16.04	17.12	
R5P	Pos	17.71	Pos	7.18	15.19	Pos	9.84	15.92	L5P	Pos	25.71	Pos	15	18.90	Neg	∞	17.11	
R6P	Pos	21.04	Pos	12.08	15.18	Pos	13.09	17.04	L6P	Pos	20.85	Pos	13.36	18.13	Pos	16.57	16.85	
R7P	Pos	21.88	Pos	11.78	15.76	Pos	13.45	16.04	L7P	Pos	20.92	Pos	15.24	19.14	Pos	17.19	17.68	
R8P	Pos	20.10	Pos	9.14	15.05	Pos	12.50	16.77	L8P	Pos	22.51	Pos	17.16	19.88	Pos	19.00	17.00	
R9P	Pos	18.98	Pos	10.48	18.42	Pos	11.67	15.35	L9P	Pos	22.79	Pos	17.26	18.79	Pos	25.25	16.58	
R10P	Pos	19.24	Pos	9.96	19.11	Pos	11.67	16.25	L10P	Pos	20.57	Pos	15.26	19.06	Pos	17.08	16.39	
R11P	Pos	16.77	Pos	7.90	19.24	Pos	9.72	16.08	L11P	Pos	19.25	Pos	14.47	18.91	Pos	17.68	15.67	
R12P	Pos	17.82	Pos	10.40	19.20	Pos	12.06	16.28	L12P	Pos	17.12	Pos	14.26	19.12	Pos	16.42	17.07	
R13P	Pos	18.94	Pos	11.15	17.38	Pos	14.40	15.00	L13P	Pos	16.96	Pos	17.96	19.35	Pos	16.76	16.65	
R14P	Pos	18.25	Pos	10.31	18.29	Pos	13.75	17.17	L14P	Pos	19.54	Pos	18.03	18.72	Pos	20.02	17.57	
R15P	Pos	16.13	Pos	10.57	18.44	Pos	12.11	16.23	L15P	Pos	17.22	Pos	15.96	18.15	Pos	15.30	17.03	
R16P	Pos	17.81	Pos	12.00	20.10	Pos	12.17	14.39	L16P	Pos	20.90	Pos	17.80	19.69	Pos	17.61	16.65	
R17P	Pos	15.83	Pos	10.03	18.22	Pos	11.52	16.29	L17P	Pos	23.16	Pos	21.25	18.92	Pos	20.71	16.74	
R18P	Pos	16.11	Pos	9.72	19.18	Pos	12.32	16.20	L18P	Pos	29.41	Pos	15.05	18.10	Pos	18.02	17.89	
R19P	Pos	18.17	Pos	11.65	18.31	Pos	15.22	16.77	L19P	Pos	21.08	Pos	18.96	18.85	Pos	18.91	15.62	
R20P	Pos	19.82	Pos	13.40	19.93	Pos	15.42	17.22	L20P	Pos	17.99	Pos	16.35	19.07	Pos	15.16	16.96	
R21P	Pos	17.09	Pos	9.35	18.15	Pos	12.76	16.46	L21P	Pos	22.77	Pos	19.31	20.38	Neg	∞	16.58	
R22P	Pos	16.75	Pos	9.11	19.18	Pos	11.24	17.06	L22P	Pos	19.30	Pos	15.95	18.65	Pos	18.16	16.97	
R23P	Pos	17.36	Pos	10.47	18.04	Pos	11.27	16.68	L23P	Pos	19.74	Pos	20.68	18.93	Pos	17.16	16.79	
R24P	Pos	17.18	Pos	10.43	18.41	Pos	13.00	16.37	L24P	Pos	22.88	Pos	32.27	17.52	Neg	∞	17.08	
R25P	Pos	19.30	Pos	8.91	16.46	Pos	11.16	17.15	L25P	Pos	23.84	Pos	22.29	19.00	Pos	23.21	15.88	
R26P	Pos	18.63	Pos	11.87	17.07	Pos	13.61	16.10	L26P	Pos	21.00	Pos	19.02	19.00	Pos	23.66	16.74	
R27P	Pos	16.64	Pos	8.61	16.46	Pos	10.06	16.79	L27P	Pos	22.00	Pos	17.19	17.00	Pos	20.00	18.84	
R28P	Pos	21.88	Pos	10.61	16.34	Pos	16.05	16.17	L28P	Pos	22.17	Pos	19.87	16.08	Pos	21.59	19.37	
R29P	Pos	17.17	Pos	10.27	15.55	Pos	13.21	16.78	L29P	Pos	24.63	Pos	19.83	18.04	Pos	20.73	19.72	
R30P	Pos	18.17	Pos	12.29	17.28	Pos	13.53	15.15	L30P	Pos	24.26	Pos	21.45	18.96	Neg	∞	18.81	
R31P	Pos	17.80	Pos	19.03	17.26	Pos	14.56	17.18	L31P	Pos	17.65	Pos	14.05	18.17	Pos	18.09	18.83	
R32P	Pos	21.58	Pos	15.94	18.81	Pos	19.42	15.15	L32P	Pos	22.29	Pos	16.00	17.83	Pos	20.56	20.31	
R33P	Pos	17.06	Pos	10.32	18.20	Pos	11.08	15.15	L33P	Pos	16.53	Pos	7.62	19.59	Pos	15.20	19.41	
R34P	Pos	17.15	Pos	9.29	19.24	Pos	12.62	16.74	L34P	Pos	17.23	Pos	14.00	18.19	Pos	17.52	17.28	
R35P	Pos	19.30	Pos	10.43	18.23	Pos	13.13	17.14	L35P	Pos	20.36	Pos	16.13	18.79	Pos	14.41	19.14	
R36P	Pos	16.95	Pos	9.50	16.94	Pos	11.71	16.88	L36P	Pos	19.22	Pos	17.86	17.83	Pos	18.48	19.30	
R37P	Pos	20.01	Pos	11.54	16.23	Pos	13.09	15.09	L37P	Pos	16.55	Pos	11.33	19.03	Pos	18.52	19.29	
R38P	Pos	21.58	Pos	14.76	17.97	Pos	16.32	17.53	L38P	Pos	20.35	Pos	16.96	19.94	Pos	20.90	20.41	
R39P	Pos	17.40	Pos	7.82	17.57	Pos	12.02	16.26	L39P	Pos	18.23	Pos	13.25	17.77	Pos	16.00	18.86	
R40P	Pos	20.85	Pos	11.88	16.53	Pos	14.76	17.19	L40P	Pos	19.73	Pos	15.07	18.10	Pos	16.45	18.68	
R1N	Neg	∞	Neg	∞	17.3	Neg	∞	15.62	L1N	Neg	∞	Neg	∞	18.05	Neg	∞	16.88	
R2N	Neg	∞	Neg	∞	15.33	Neg	∞	15.67	L2N	Neg	∞	Neg	∞	17.24	Neg	∞	16.30	
R3N	Neg	∞	Neg	∞	19.96	Neg	∞	16.71	L3N	Neg	∞	Neg	∞	18.14	Neg	∞	17.10	
R4N	Neg	∞	Neg	∞	16.84	Neg	∞	16.00	L4N	Neg	∞	Neg	∞	18.11	Neg	∞	16.14	
R5N	Neg	∞	Neg	∞	17.59	Neg	∞	15.62	L5N	Neg	∞	Neg	∞	18.18	Neg	∞	16.88	
R6N	Neg	∞	Neg	∞	20.11	Neg	∞	16.83	L6N	Neg	∞	Neg	∞	16.25	Neg	∞	18.52	
R7N	Neg	∞	Neg	∞	16.5	Neg	∞	16.14	L7N	Neg	∞	Neg	∞	17.08	Neg	∞	17.97	
R8N	Neg	∞	Neg	∞	18.48	Neg	∞	15.95	L8N	Neg	∞	Neg	∞	17.47	Neg	∞	16.71	
R9N	Neg	∞	Neg	∞	18.04	Neg	∞	15.84	L9N	Neg	∞	Neg	∞	18.09	Neg	∞	16.07	
R10N	Neg	∞	Neg	∞	19.32	Neg	∞	15.94	L10N	Neg	∞	Neg	∞	19.00	Neg	∞	17.26	
R11N	Neg	∞	Neg	∞	19.76	Neg	∞	16.08	L11N	Neg	∞	Neg	∞	19.84	Neg	∞	15.92	
R12N	Neg	∞	Neg	∞	18.90	Neg	∞	17.69	L12N	Neg	∞	Neg	∞	19.18	Neg	∞	15.82	
R13N	Neg	∞	Neg	∞	19.76	Neg	∞	19.36	L13N	Neg	∞	Neg	∞	19.00	Neg	∞	19.90	
R14N	Neg	∞	Neg	∞	17.04	Neg	∞	19.56	L14N	Neg	∞	Neg	∞	19.02	Neg	∞	18.88	
R15N	Neg	∞	Neg	∞	19.94	Neg	∞	17.76	L15N	Neg	∞	Neg	∞	19.88	Neg	∞	20.63	
R16N	Neg	∞	Neg	∞	18.79	Neg	∞	19.41	L16N	Neg	∞	Neg	∞	18.84	Neg	∞	18.76	
R17N	Neg	∞	Neg	∞	18.81	Neg	∞	18.62	L17N	Neg	∞	Neg	∞	19.00	Neg	∞	19.79	
R18N	Neg	∞	Neg	∞	19.92	Neg	∞	18.79	L18N	Neg	∞	Neg	∞	20.33	Neg	∞	18.82	
R19N	Neg	∞	Neg	∞	19.96	Neg	∞	16.53	L19N	Neg	∞	Neg	∞	18.79	Neg	∞	16.89	
R20N	Neg	∞	Neg	∞	19.76	Neg	∞	16.53	L20N	Neg	∞	Neg	∞	18.08	Neg	∞	16.09	
R21N	Neg	∞	Neg	∞	19.90	Neg	∞	15.95	L21N	Neg	∞	Neg	∞	19.80	Neg	∞	15.93	
R22N	Neg	∞	Neg	∞	18.00	Neg	∞	16.02	L22N	Neg	∞	Neg	∞	18.79	Neg	∞	17.44	
R23N	Neg	∞	Neg	∞	20.11	Neg	∞	16.14	L23N	Neg	∞	Neg	∞	18.96	Neg	∞	16.07	

Clinical Evaluation Data performed by Vietnamese Reference Laboratory (AIV)

Ct RawData Result Interpretation by sample	Feces									Blood								
	Realtime-PCR			XQ-STATION (AIV)			XQ-STATION (HPAI)			Realtime-PCR			XQ-STATION (AIV)			XQ-STATION (HPAI)		
	Code	Resul	Ct	Resul	Ct sam	Ct IC	Resul	Ct sam	Ct IC	Code	Resul	Ct	Resul	Ct sam	Ct IC	Resul	Ct sam	Ct IC
	F1P	Pos	26.01	Pos	17.13	17.31	Pos	21.32	20.83	B1P	Pos	35.02	Pos	25.51	15.24	Neg	∞	18.03
F2P	Pos	29.58	Pos	18.57	15.94	Pos	26.07	17.86	B2P	Pos	30.80	Pos	19.88	15.31	Pos	34.31	17.97	
F3P	Pos	23.02	Pos	16.02	16.18	Pos	20.22	18.02	B3P	Neg	∞	Pos	21.82	16.14	Pos	24.39	16.74	
F4P	Pos	19.37	Pos	13.45	16.96	Pos	17.25	17.19	B4P	Neg	∞	Pos	19.53	15.42	Pos	22.81	19.41	
F5P	Pos	19.93	Pos	18.21	15.64	Pos	20.33	18.31	B5P	Pos	27.43	Pos	14.14	16.16	Pos	16.06	16.75	
F6P	Pos	23.35	Pos	16.63	15.24	Pos	21.13	17.82	B6P	Pos	32.90	Pos	21.77	16.00	Neg	∞	16.75	
F7P	Pos	25.96	Pos	18.88	15.18	Pos	19.75	18.08	B7P	Pos	34.32	Pos	23.00	19.75	Neg	∞	17.05	
F8P	Pos	27.66	Pos	23.50	18.86	Pos	27.40	17.57	B8P	Pos	34.74	Pos	20.12	12.69	Neg	∞	17.41	
F9P	Pos	23.76	Pos	23.40	20.03	Pos	21.41	18.76	B9P	Pos	34.71	Neg	∞	19.94	Neg	∞	15.88	
F10P	Pos	25.33	Pos	21.30	19.79	Pos	23.40	17.08	B10P	Pos	31.93	Pos	24.77	19.07	Pos	25.69	16.94	
F11P	Pos	22.73	Pos	19.68	19.33	Pos	21.73	15.57	B11P	Pos	30.99	Pos	23.56	19.13	Neg	∞	15.74	
F12P	Pos	22.53	Pos	17.84	19.00	Pos	20.61	16.69	B12P	Pos	32.15	Pos	23.69	19.36	Neg	∞	16.65	
F13P	Pos	19.88	Pos	18.10	19.00	Pos	18.81	16.95	B13P	Pos	32.12	Pos	24.10	19.10	Neg	∞	17.00	
F14P	Pos	25.69	Pos	22.00	18.80	Pos	23.14	17.25	B14P	Pos	31.04	Pos	25.24	20.07	Neg	∞	16.15	
F15P	Pos	27.57	Pos	22.93	19.93	Neg	∞	15.56	B15P	Pos	33.57	Pos	19.12	18.89	Pos	22.68	17.02	
F16P	Pos	29.26	Pos	26.38	19.73	Neg	∞	16.14	B16P	Neg	∞	Pos	24.06	19.85	Neg	∞	16.74	
F17P	Pos	28.08	Pos	23.79	18.97	Pos	24.03	16.65	B17P	Pos	33.61	Pos	22.69	18.74	Pos	25.64	17.12	
F18P	Pos	26.07	Pos	26.61	19.89	Pos	27.89	16.68	B18P	Pos	31.74	Pos	25.82	18.77	Neg	∞	17.08	
F19P	Pos	23.79	Pos	24.36	20.04	Pos	23.30	16.29	B19P	Neg	∞	Pos	29.05	17.93	Neg	∞	18.17	
F20P	Pos	25.72	Pos	24.05	19.82	Pos	28.07	17.20	B20P	Pos	35.19	Pos	25.11	19.00	Neg	∞	16.79	
F21P	Pos	24.10	Pos	26.75	19.14	Pos	24.09	16.54	B21P	Neg	∞	Neg	∞	16.00	Neg	∞	17.00	
F22P	Pos	25.59	Pos	19.83	18.52	Pos	26.32	15.62	B22P	Neg	∞	Pos	19.39	19.19	Pos	22.24	17.68	
F23P	Pos	23.82	Pos	19.83	18.52	Pos	23.72	17.60	B23P	Pos	35.12	Pos	24.72	18.87	Neg	∞	16.50	
F24P	Pos	30.79	Pos	30.24	19.05	Neg	∞	16.74	B24P	Pos	29.44	Pos	29.99	20.56	Neg	∞	16.47	
F25P	Pos	36.90	Neg	∞	20.12	Neg	∞	16.97	B25P	Pos	27.99	Pos	24.24	18.77	Neg	∞	19.79	
F26P	Pos	31.12	Pos	28.40	19.81	Neg	∞	17.40	B26P	Pos	27.25	Pos	25.79	18.93	Neg	∞	20.32	
F27P	Pos	34.34	Pos	29.30	20.15	Neg	∞	16.69	B27P	Pos	33.04	Pos	27.38	19.03	Pos	25.69	21.88	
F28P	Pos	30.23	Pos	31.74	20.15	Neg	∞	18.03	B28P	Pos	36.17	Pos	28.15	19.03	Neg	∞	18.81	
F29P	Pos	24.56	Pos	24.10	18.00	Pos	24.31	20.42	B29P	Pos	38.30	Neg	∞	19.22	Neg	∞	19.48	
F30P	Pos	31.09	Pos	30.00	18.15	Neg	∞	16.44	B30P	Pos	29.91	Pos	24.19	18.20	Neg	∞	19.10	
F31P	Pos	28.72	Pos	28.49	19.41	Pos	22.19	17.02	B31P	Pos	33.78	Neg	∞	21.04	Neg	∞	19.47	
F32P	Pos	35.38	Pos	27.58	18.11	Neg	∞	15.41	B32P	Pos	22.77	Pos	22.42	18.17	Pos	23.47	19.73	
F33P	Pos	25.45	Pos	29.53	18.06	Neg	∞	15.32	B33P	Pos	30.21	Pos	23.19	16.31	Pos	24.64	19.48	
F34P	Pos	25.62	Pos	27.79	17.21	Pos	25.60	16.15	B34P	Pos	31.87	Pos	27.78	18.04	Neg	∞	16.61	
F35P	Pos	26.25	Pos	29.50	17.16	Neg	∞	18.55	B35P	Pos	30.92	Pos	26.52	17.14	Neg	∞	20.21	
F36P	Pos	35.50	Pos	26.69	16.10	Pos	14.01	15.65	B36P	Pos	30.04	Pos	31.81	18.32	Neg	∞	19.72	
F37P	Pos	28.75	Pos	27.12	17.73	Neg	∞	16.00	B37P	Pos	29.99	Pos	25.07	18.06	Pos	26.48	17.43	
F38P	Pos	31.73	Pos	27.91	17.03	Neg	∞	16.63	B38P	Pos	28.22	Pos	28.00	18.14	Pos	27.25	16.75	
F39P	Pos	33.96	Pos	26.60	17.86	Neg	∞	16.12	B39P	Pos	34.98	Neg	∞	10.09	Neg	∞	17.53	
F40P	Pos	24.65	Pos	31.50	15.57	Neg	∞	16.83	B40P	Pos	30.24	Pos	25.29	17.07	Neg	∞	15.65	
F1N	Neg	∞	Neg	∞	18.07	Neg	∞	16.47	B1N	Neg	∞	Neg	∞	19.11	Neg	∞	17.20	
F2N	Neg	∞	Neg	∞	19.56	Neg	∞	16.54	B2N	Neg	∞	Neg	∞	19.92	Neg	∞	15.60	
F3N	Neg	∞	Neg	∞	20.11	Neg	∞	15.91	B3N	Neg	∞	Neg	∞	19.87	Neg	∞	16.95	
F4N	Neg	∞	Neg	∞	18.18	Neg	∞	17.57	B4N	Neg	∞	Neg	∞	18.71	Neg	∞	17.79	
F5N	Neg	∞	Neg	∞	18.21	Neg	∞	16.72	B5N	Neg	∞	Neg	∞	19.05	Neg	∞	17.12	
F6N	Neg	∞	Neg	∞	18.34	Neg	∞	16.14	B6N	Neg	∞	Neg	∞	19.07	Neg	∞	16.61	
F7N	Neg	∞	Neg	∞	18.83	Neg	∞	15.20	B7N	Neg	∞	Neg	∞	18.96	Neg	∞	16.74	
F8N	Neg	∞	Neg	∞	17.18	Neg	∞	16.22	B8N	Neg	∞	Neg	∞	18.1	Neg	∞	17.71	
F9N	Neg	∞	Neg	∞	18.00	Neg	∞	15.60	B9N	Neg	∞	Neg	∞	19.03	Neg	∞	16.12	
F10N	Neg	∞	Neg	∞	19.02	Neg	∞	15.15	B10N	Neg	∞	Neg	∞	17.2	Neg	∞	16.96	
F11N	Neg	∞	Neg	∞	19.00	Neg	∞	16.65	B11N	Neg	∞	Neg	∞	18.09	Neg	∞	15.94	
F12N	Neg	∞	Neg	∞	19.16	Neg	∞	16.57	B12N	Neg	∞	Neg	∞	18.87	Neg	∞	14.83	
F13N	Neg	∞	Neg	∞	19.85	Neg	∞	20.50	B13N	Neg	∞	Neg	∞	20.29	Neg	∞	19.38	
F14N	Neg	∞	Neg	∞	19.22	Neg	∞	19.24	B14N	Neg	∞	Neg	∞	20.08	Neg	∞	19.57	
F15N	Neg	∞	Neg	∞	19.75	Neg	∞	19.78	B15N	Neg	∞	Neg	∞	19.07	Neg	∞	21.36	
F16N	Neg	∞	Neg	∞	18.00	Neg	∞	19.44	B16N	Neg	∞	Neg	∞	17.91	Neg	∞	19.58	
F17N	Neg	∞	Neg	∞	20.24	Neg	∞	18.93	B17N	Neg	∞	Neg	∞	18.06	Neg	∞	19.35	
F18N	Neg	∞	Neg	∞	19.71	Neg	∞	19.69	B18N	Neg	∞	Neg	∞	18.90	Neg	∞	20.43	
F19N	Neg	∞	Neg	∞	18.77	Neg	∞	18.13	B19N	Neg	∞	Neg	∞	17.89	Neg	∞	18.03	
F20N	Neg	∞	Neg	∞	19.94	Neg	∞	17.63	B20N	Neg	∞	Neg	∞	18.91	Neg	∞	17.05	
F21N	Neg	∞	Neg	∞	18.93	Neg	∞	16.74	B21N	Neg	∞	Neg	∞	20.18	Neg	∞	16.23	
F22N	Neg	∞	Neg	∞	18.92	Neg	∞	17.22	B22N	Neg	∞	Neg	∞	17.59	Neg	∞	17.17	
F23N	Neg	∞	Neg	∞	19.56	Neg	∞	15.83	B23N	Neg	∞	Neg	∞	19.78	Neg	∞	16.07	

- 베트남 현지에서 실시한 임상시험평가에서는 H5N1 인플루엔자바이러스의 발병이 확인된 가금농장에서 확보한 40두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 4종류의 검체에 대해서 조류인플루엔자 바이러스가 음성으로 확인된 가금농장에서 확보한 23두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 4종류의 검체에 대해서 WOAH에서 제시한 표준시험법과 본 사업을 통해서 개발한 XQ Station 용 AIV Screening Kit와 H5, H7의 유전자형을 특이적으로 검출하는 HPAI Genotyping Kit의 검사결과를 샘플에 따라서 그리고 진단방법에 따라 정리하였다.
- 본 과제를 통해 개발한 2종류의 AIV 검사키트 중 AIV Screening Kit의 경우 샘플의 종류에 따라 다르지만 비교적 불순물이 없는 호흡기스왑의 경우 WOAH의 표준시험법인 qPCR법 대비 Ct가 평균 8정도 빨라 100배 이상의 높은 민감도를 보이는 것으로 확인되었으며 HPAI Genotyping Kit의 경우도 Ct가 평균 6도 빨라 수십배 정도의 높은 민감도를 보이는 것으로 확인되었다.
- 검사를 수행한 양성농장에서의 160건 (40두의 4종의 검체)와 음성농장에서의 92건(23두의 4종의 검체) 등 252건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ AIV Screening Kit와 XQ HPAI Genotyping Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가 기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.

WOAH SOP (AIV qPCR)					XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)				
Respiratory Swab		WOAH AIV qPCR			Respiratory Swab		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40
	Negative	0	23	23		Negative	0	23	23
	Total	40	23	63		Total	40	23	63
Lung homogenates		WOAH AIV qPCR			Lung homogenates		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40
	Negative	0	23	23		Negative	0	23	23
	Total	40	23	63		Total	40	23	63
Serum		WOAH AIV qPCR			Serum		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	34	6	40	Clinical sign based Dx	Positive	35	5	40
	Negative	0	23	23		Negative	0	23	23
	Total	40	23	63		Total	40	23	63
Feces		WOAH AIV qPCR			Feces		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Clinical sign based Dx	Positive	39	1	40
	Negative	0	23	23		Negative	0	23	23
	Total	40	23	63		Total	40	23	63
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160
	Negative	0	92	92		Negative	0	92	92
	Total	154	98	252		Total	154	98	252

- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)의 경우도 같은 수준인 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

WOAH SOP (AIV qPCR)					XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)				
Respiratory Swab		WOAH AIV qPCR			Respiratory Swab		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Positive	40	0	40	
	Negative	0	23	23	Negative	0	23	23	
	Total	40	23	63	Total	40	23	63	
Lung homogenates		WOAH AIV qPCR			Lung homogenates		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Positive	36	4	36	
	Negative	0	23	23	Negative	0	23	27	
	Total	40	23	63	Total	36	23	63	
Serum		WOAH AIV qPCR			Serum		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	34	6	40	Positive	13	27	40	
	Negative	0	23	23	Negative	0	23	23	
	Total	40	23	63	Total	40	50	63	
Feces		WOAH AIV qPCR			Feces		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	40	0	40	Positive	25	15	40	
	Negative	0	23	23	Negative	0	23	23	
	Total	40	23	63	Total	25	38	63	
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Positive	114	46	160	
	Negative	0	92	92	Negative	0	92	92	
	Total	154	98	252	Total	114	138	252	

- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)의 경우도 같은 수준인 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 71.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- 하지만 AIV의 검출과 관련하여 2번째 키트로 개발된 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 가금류의 야외시료에서 고병원성 인플루엔자를 검출하는 용도보다

는 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)에 대해 양성으로 확인된 검체를 이용하여 고병원성 인플루엔자의 H5와 H7을 검출하는 용도로 개발된 점을 고려할 때 산술적으로 계산된 전체검체에 대한 임상적인 민감도는 임상적 성능분석면에서 큰 의미를 부여할 수 없다.

- 평가결과에 의하면 감염이 의심되는 가금류의 호흡기스왑이나 폐장시료를 이용하는 경우 95%의 매우 높은 민감도로 H5 고병원성 인플루엔자를 검출하는데 많은 도움이 될 것으로 평가할 수 있다.

Respiratory Swab		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH AIV qPCR	Positive	40	0	40
	Negative	0	23	23
	Total	40	23	63

Lung homogenates		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	40	0	40
	Negative	0	23	23
	Total	40	23	63

Serum		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	30	4	34
	Negative	5	24	29
	Total	35	28	63

Feces		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	39	0	39
	Negative	1	23	24
	Total	40	23	63

Total		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total
WOAH ASFV qPCR	Positive	149	4	153
	Negative	6	93	99
	Total	155	97	252

- 결론적으로 HPAI 양성인 가금농장에서 확보한 160건의 양성검체 중 두가지 유전자검사법을 통해서 음성으로 확인된 1건을 제외한 159건을 실제 ASFV 양성검체로 음성돈군에서 확보한 92건의 검체와 양성돈군에서 확보하였지만 검사결과 음성으로 확인된 1건 등 93건을 음성검체로 간주하여 임상적인 민감도와 특이도를 재평가하면
- XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)의 경우 민감도 97.5%, 특이도 100%로 확인되고 기준검사법인 WOA의 AIV qPCR의 경우 96.2%의 민감도와 100%의 특이도로 확인할 수 있었다.

Agreement	XQ AIV Screening			XQ HPAI Genotyping		
	Agreement (%)	WOAH AIV qPCR (average±SD)	XQ AIV Screening (average±SD)	Agreement (%)	WOAH AIV qPCR (average±SD)	XQ HPAI Genotyping (average±SD)
Respiratory swab	40(100%)	18.66±1.95	10.75±2.17	40(100%)	18.66±1.95	12.87±1.90
Lung homogenates	40(100%)	20.71±2.84	16.63±3.95	36(90%)	20.35±2.60	18.35±2.84
Serum	30(75%)	31.36±2.84	24.22±3.35	10(25%)	30.16±3.18	25.19±4.27
Feces	39(97.5%)	26.84±4.04	23.99±4.83	25(62.5%)	25.05±3.31	22.64±3.30

- 검사결과 HPAI 양성인 가금농장에서 확보한 160건의 양성검체에 대해서 검사결과가 일치하는 건에 대한 각 검사의 Ct값 등 로우데이터를 분석한 결과 HPAI가 감염된 가금의 시료 중에서는 호흡기스왑>폐장>분변>혈청 순으로 양성률 및 결과일치도가 높은 것을 확인하였으며 이는 현장용 진단키트 2종에서도 같은 경향으로 검출되는 것을 확인할 수 있었다.
- 결과가 일치되는 다양한 검체의 시료에서 검출된 WOAH AIV qPCR 검사결과에 의하면 Ct값이 낮을수록 즉, 바이러스의 양이 많을수록 현장용 진단키트와의 결과일치율이 높은 것으로 확인할 수 있었으며 호흡기스왑>폐장>분변 등은 매우 현장용 진단키트 중 XQ AIV Screening Kit와 매우 높은 결과일치율을 보였다.
- 또한 호흡기스왑검체의 경우 두가지 현장용 진단키트에서 모두 100%의 일치율을 보여 HPAI의 감염이 강력히 의심되는 현장에서 가금류를 검사하는 경우 가장 신뢰도가 높은 검체로서 활용할 수 있음을 뒷받침하는 결과라고 하겠다.

Disagreement (WOAH qPCR positive only)	XQ AIV Screening			XQ HPAI Genotyping		
	Agreement (%)	WOAH AIV qPCR (average±SD)	XQ AIV Screening (average±SD)	Agreement (%)	WOAH AIV qPCR (average±SD)	XQ HPAI Genotyping (average±SD)
Respiratory swab	0	NA	NA	0	NA	NA
Lung homogenates	0	NA	NA	4(10%)	23.91±1.20	NA
Serum	4(10%)	35.44±1.71	NA	24(60%)	32.54±2.68	NA
Feces	1(2.5%)	36.90	NA	15(37.5%)	30.50±3.50	NA

- WOAH AIV qPCR 검사결과와 현장용 진단키트의 결과가 일치하지 않는 검체에서의 Ct값의 분포를 살펴보면 일부 폐장시료를 제외하면 XQ AIV Screening Kit의 경우 Ct 35전후에서 검사결과의 일치도가 떨어지는 것을 확인할 수 있었으며 XQ HPAI genotyping Kit의 경우 Ct 30전후에서 검사결과의 일치도가 떨어지는 것을 확인할 수 있어 현장용 키트를 사용하는 경우 검사결과의 민감도 및 신뢰도의 임계점을 확인할 수 있는 중요한 자료로서 평가할 수 있을 것이다.

별첨자료. 베트남에서 수행한 국제임상시험결과리포트 (AIV/HPAI)

Official Report

Evaluation of the Effectiveness of the Avian Influenza RNA detection kit (XQ-Station) compared with Real-time PCR

(Assoc. Prof. Dr. Do Van Doi, Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University HCMC, Vietnam)

Introduction

Avian influenza viruses are zoonotic agents recognized as a continuing threat to both veterinary and human public health. Highly pathogenic avian influenza viruses (HPAIV) of the H5 subtype have caused seasonal epidemics and enzootics, as well as unanticipated outbreaks with significant socioeconomic impacts in Southeast Asian poultry, resulting in the death or depopulation of large numbers of ducks and chickens (Neumann et al., 2010).

Influenza A viruses are belong to the family *Orthomyxoviridae*, which comprises enveloped viruses with segmented RNA genomes of negative polarity (Lamb & Krug, 1996). The ancestral HPAI H5 virus is believed to have originated from a virus circulating in domestic geese in Guangdong province, China, in 1996 and introduced in Hong Kong poultry markets in 1997 (Chen et al., 2004). In 2022, 67 countries in five continents reported HPAI H5 outbreaks in poultry and wild birds to WOAH, with more than 131 million domestic poultry lost due to death or culling in affected farms and villages (WHO, 2023).

In Vietnam, highly pathogenic influenza viruses were first reported in 2001 being one of the first countries to announce the epidemic and begin to cause huge economic losses in the poultry industry until now. By December 2003, other HPAI H5 virus strains continued to be detected in the northern provinces of Vietnam and by the end of 2004 the virus strains had caused large poultry outbreaks in 5764 provinces (Nguyen et al., 2005). Viet Nam had culled about 65 million poultry and quails during 2003-2016 period. According to the Department of Animal Health under the Ministry of Agriculture and Rural Development, in 2022, there were 49 bird flu outbreaks in 39 districts of 22 provinces and the total number of poultry destroyed was up to 103,028.

The ongoing challenges posed by HPAI H5 necessitate a proactive approach to address future trends. Surveillance and early detection of the disease are key areas that require focused attention and research to effectively manage the spread and impact of the virus. Highly accurate

laboratory diagnosis and interpretation provides relevant information on infection dynamics that will be very helpful in deploying effective control-eradication programs. The advent of molecular methods such as polymerase chain reaction has allowed improvements in the detection methods currently used in epidemic situations. Although PCR is one of the most sensitive and specific techniques and the presence of infectious virus is low, the assay requires multiple manipulations of the samples after the amplification step with modern machines and highly skilled technicians to avoid the risk of carryover contamination.

PCR-based molecular tests are one of the most sensitive ways to detect the influenza virus, and conventional and real-time RT-PCR methods have been developed to diagnose H5 HPAI virus infection. However, only centralized and well-equipped laboratories with trained personnel can perform these analyses. Since to all of these issues, point of care testing (POCT) is becoming a global trend since it addresses the problem of the ability, simplicity, and convenience it provides when it does not require a large amount of equipment or human skill. The purpose of this study was to compare the effectiveness and accuracy of a highly pathogenic avian influenza virus nucleic acid (RNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR technique) to real-time PCR.

Materials and Methods

Sampling

40 sick ducks from an outbreak were collected, each duck collected 4 different types of samples such as oro-naso-pharyngeal swabs, serum, lung tissue, and feces. These clinical samples were collected from sick ducks with various clinical signs, including high fever, anorexia, respiratory distress, sudden death with high mortality. In addition, 23 clinically healthy chickens from a chicken breeder farm were collected, each chicken also collected 4 different types of samples as above. Thus, the total samples collected for testing are 160 from sick ducks and 92 from healthy chickens, were described in table 1.

Table 1. Sample quantity used in the study

Sample sources	Oral-naso-pharyngeal swab	Serum	Lung tissue	Feces	Total
Suspected positive ducks	40	40	40	40	160
Healthy chickens	23	23	23	23	92

The data were compiled and statistically analyzed using Excel 365 software (Microsoft Corporation, USA), processed by IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corporation, USA), and R 4.2.2 software with integrated development environment RStudio 2022.07.2 Build 576 (Posit, USA). The statistical significance of the positivity rate between the two methods in each sample type was performed by SPSS. Pearson Chi-square or Fisher's exact test was selected based on the minimum expected count value. If the minimum expected count value was greater than 5, the Pearson Chi-square was considered; otherwise, the value of Fisher's exact test was considered. The difference value $P < 0.05$ was considered significant. The degree of similarity between testing techniques is the percentage of high agreement between the results of the two testing techniques. Cohen's Kappa value (κ) was used to assess the significance of the agreement between random outcomes (Landsis & Koch, 1977).

Results

In 160 suspected positive samples were tested by HPAI H5 XQ-Station POCT real-time PCR and AIV XQ-Station POCT real-time PCR. 114 out of 160 were positive for HPAI XQ-Station POCT real-time PCR, accounting for 71.25%, and 154 out of 160 were positive for AIV kit, accounting for 96.25%. With routine Real-time PCR method, there were 154 positive samples (96.25%). The comparative testing results were described in table 3.

Table 3. Summary of testing results with suspected positive samples

	Positive	Negative	Total
XQ-Station POCT real-time PCR: AIV	154	6	160
XQ-Station POCT real-time PCR: HPAI	114	46	160
Real time PCR	154	6	160
Total	422	58	480

A total of 92 samples from healthy chickens were examined with all techniques. Results revealed that 92/92 had negativity from XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and XQ-Station POCT real-time PCR-AIV and routine Real-time PCR.

Table 4. Summary of results of 3 test methods with suspected negative samples

	Positive	Negative	Total
XQ-Station POCT real-time PCR: AIV	0	92	92
XQ-Station POCT real-time PCR: HPAI	0	92	92
Real time PCR	0	92	92
Total	0	276	276

Table 5. The results in detection of HPAIV and AIV in positive suspected samples

Methods	Types	Number	n	%	Range	Mean
Oral-naso-pharyngeal swab	40	40	100	9.72-19.42	12.69	
	Serum	40	13	32.50	16.06-34.31	24.64

Table 6. Comparison of Ct values between the two methods for four types of samples. A, Mean Ct value in whole samples; B, Mean Ct value in oro-naso-pharyngeal swabs; C, Mean Ct value in lung tissue; D, Mean Ct value in feces; and E, Mean Ct value in serum.

Figure 2. Comparison of Ct values between the two methods for four types of samples. A, Mean Ct value in whole samples; B, Mean Ct value in oro-naso-pharyngeal swabs; C, Mean Ct value in lung tissue; D, Mean Ct value in feces; and E, Mean Ct value in serum.

Conclusion

XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV are capable of detecting Avian influenza virus on clinical samples (oro-naso-pharyngeal swabs, serum, lung tissue, and feces) collected from the field. XQ-Station PCR-AIV has a detection ability that is absolutely similar to the routine Real-time PCR. In serum and feces samples, the ability of XQ-Station PCR-HPAIV to detect HPAI Avian influenza virus is lower.

The mean Ct value of positivity in the investigated samples of XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV was significantly lower than those of the routine Real-time PCR. Oro-naso-pharyngeal swabs were the best candidates, with the highest detection rate and lowest Ct value in the results of all 3 testing methods.

References

Chen H., Deng G., Li Z., Tian G., Li Y., Jiao P., Zheng L., Liu Z., Wilman, R. G., & Yu, R. (2004). The evolution of H5N1 influenza viruses in Asia in southern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(28), 10452-10457. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402121010>

Gratwick, R. R., Galloway, A. A., & Sakthivel, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleic Acids, Molecular Biology*, 38(9), 1251-1269. <https://doi.org/10.1007/s12277-020-10033-5>

Lamb, R. A., & Krug, R. M. (1996). *Orthomyxoviruses: The viruses and their replication*. In D. M. Knipe, P. M. Howley, A. R. Fields, E. A. Fields (Eds.), *Fields Virology: Lipman-Rubin Press*, Neumann, G., Chen, H., Guo, G. F., Shi, Y., & Kawakita, Y. (2010). H5N1 influenza virus: Outbreaks and biological properties. *Cell Research*, 20(1), 51-61. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.124>

Nguyen, D. C., Uysal, T. M., Jadhav, S., Matos, T., Shaw, M., Manuak, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, X., Balish, A., Kim, A., Tampp, T. M., Swayne, D. E., Hayak, L. P., T., Nguyen, H. K., Nguyen, H. T., Hong, L. T., ... Katz, J. M. (2005). Isolation and Characterization of Avian Influenza Virus, Including Highly Pathogenic H5N1, from Poultry in Live Bird Markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *Journal of Virology*, 79(7), 4201-4212. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.7.4201-4212.2005>

Origin of avian influenza: evidence for control pose-vit in humans. (n.d.). Retrieved 4 November 2023, from <https://www.who.int/news/item/12-07-2023-origin-of-avian-influenza-outbreaks-on-animals-poses-risk-to-humans>.

Cartridge sampling: open the test cartridge lid, break the sealing film, and add 10 µl of magnetic beads and 10 µl of internal control (completely suspended before usage) and sample into the cartridge (100 µl) with the oro-naso-pharyngeal swab, 50 µl of serum mix from 50 µl serum and 450 µl of PBS 1X, 50 µl of lung sample mixed from 50 µl lung tissue suspension and 450 µl of PBS 1X, or 100 µl of feces sample mixed from 25 µl feces suspension and 475 µl of PBS 1X, mix by repeatedly pipetting 10 - 15 times, then close the lid. Software operation: on the AIGS Automated Integrated Gene Detection System version: V-1.0 (POSTBIO Co., Ltd, Korea), click on the "Library" interface of the instrument, choose the HPAIV protocol, a dialog appears, input the name of the sample, then OK. After a matching dialogue opens, select a channel and tightly insert the test cartridge into the desired channel. Pay attention of the cartridge's orientation with the barcode side up. Click the run button in the lower right corner, the program launches into the running interface. When the test is completed and the data is ready, click the "Analysis" button to start the data analysis. And the program analyzes the data automatically and determines the qualitative result of the assessed sample. 3.4.3.2. Judgement result and explanation: The test data analysis was automatically processed by software, including baseline, threshold judgement, and Ct value, and then the qualitative result was assessed based on the Ct value and the preset judgement standard as Table 2.

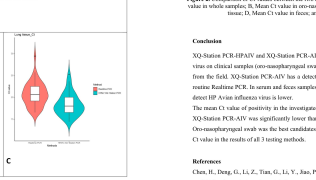
Table 2. Quality judgement of test results

Result	FAM (HPAIV)	ROX (Internal control)	Result Judgment	Quality Judgment	Solution
1	Positive	Positive	Sample: HPAIV nucleic acid positive	Acceptable	No
2	Positive	Negative	Sample: HPAIV nucleic acid positive	Acceptable	No
3	Negative	Positive	Sample: HPAIV nucleic acid negative	Acceptable	No
4	Negative	Negative	Test failure	Unacceptable	Retest

Statistical analysis

In four types of samples, the Ct value of XQ-Station POCT real-time PCR with oro-naso-pharyngeal swabs was lower than lung tissue, serum and feces in positive samples for both testing techniques. This was remarkable when looking at the limit of detection of a sick kit in different type of samples. This finding suggested that the test kits are able to detect the target RNA at a lower concentration (Figure 2).

XQ-Station PCR-HPAIV	Lung tissue	40	38	90.00	14.41-25.25	18.00
HPAIV	Feces	40	25	62.50 <td>14.01-24.07 <td>21.14</td> </td>	14.01-24.07 <td>21.14</td>	21.14
	Oral-naso-pharyngeal swab	40	100	100	7.18-19.65 <td>10.42</td>	10.42
XQ-Station PCR-AIV	Serum	40	35	87.50 <td>14.14-31.81 <td>14.24</td> </td>	14.14-31.81 <td>14.24</td>	14.24
PCR-AIV	Lung tissue	40	40	100	7.62-32.27 <td>16.13</td>	16.13
	Feces	40	39	97.50 <td>13.45-31.74 <td>24.10</td> </td>	13.45-31.74 <td>24.10</td>	24.10
	Oral-naso-pharyngeal swab	40	40	100 <td>15.43-24.95 <td>18.66</td> </td>	15.43-24.95 <td>18.66</td>	18.66
Real-time PCR	Serum	40	34	85 <td>22.77-38.10 <td>31.84</td> </td>	22.77-38.10 <td>31.84</td>	31.84
	Lung tissue	40	40	100 <td>16.33-24.41 <td>20.71</td> </td>	16.33-24.41 <td>20.71</td>	20.71
	Feces	40	40	100 <td>19.37-36.90 <td>27.10</td> </td>	19.37-36.90 <td>27.10</td>	27.10



Total	63	63	63	63	252
-------	----	----	----	----	-----

Comparison test between POCT XQ-Station kit and Real-time PCR

Sample Preparation

Each sample was tested with two POCT XQ-Station kits to determine AIV and HPAI compared to routine Real-time PCRs recommended by the WOAH/OIE. The samples were carried to the laboratory in a cold container and then separated into three parts: one for RNA extraction for testing using WOAH/OIE-recommended real-time PCR and two remaining specimens for conducting of the AIV and HPAI XQ-Station kits without RNA extraction. Detail was shown in figure 1.

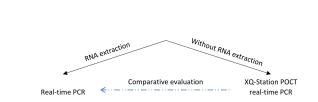


Figure 1. Study design

Oral and nasal swabs were mixed in a 1:1 ratio to obtain the oro-naso-pharyngeal swabs. Serum was collected by centrifuging whole blood at 3000rpm for 5 minutes, and collecting the supernatant. Cushing 1 gram of tissue with 9 grams of PBS 1X, centrifuging at 3000rpm for 5 minutes, and collecting the supernatant yielded the lung tissue suspensions. The feces were obtained by mixing feces with 25µl of PBS 1X, then vortexing and collecting the suspensions.

Real-time PCR

RNA extraction was performed according to the instructions for use included in the GeneJET Genomic RNA Purification Kit, 250 preps (K0722, Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's instructions (Thermo Fisher Scientific, 2016). RNA was stored at -20°C until being used. Real-time PCR was performed following National Technical Standards (8400-26:2014) protocol in Regional Animal Health Office No.6 which is developed from the procedure recommended by WOAH/OIE.

XQ-Station POCT real-time PCR

XQ-Station POCT real-time PCR-AIV, oro-naso-pharyngeal swabs showed highest positivity (100%), followed by those in lung tissue (90%), feces (62.5%) and serum (32.5%). Meanwhile, the XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV showed highest positivity both in lung tissue (100%) and oro-naso-pharyngeal swabs (100%), followed by those in feces and serum with 97.5% and 87.5%, respectively. The real-time PCR had the highest positivity (100%) in oral-naso-pharyngeal swabs, lung tissue and feces while those of serum was 85%. Testing results including detection rates of 4 sample types and corresponding Ct values of 3 methods are described in Table 5. The Ct value of positive samples between XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and XQ-Station POCT real-time PCR-AIV was statistically significant ($P < 0.001$) compared to real-time PCR.

XQ-Station POCT real-time PCR-AIV	0	92	92
PCR-HPAIV	0	92	92
Real time PCR	0	92	92
Total	0	276	276

The XQ-Station POCT real-time PCR-AIV had the significant higher positive rate of the samples compared to XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and ($P < 0.05$), whereas there was no statistical difference of the detection rate in lung tissue between the two methods ($P > 0.05$) but there was a statistical difference in detection rate in serum and feces samples ($P < 0.05$).

All samples from healthy chickens tested negative for both Real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR.

Table 5. The results in detection of HPAIV and AIV in positive suspected samples

Methods	Types	Number	n	%	Range	Mean
Oral-naso-pharyngeal swab	40	40	100	9.72-19.42	12.69	
	Serum	40	13	32.50	16.06-34.31	24.64

Table 6. Comparison of Ct values between the two methods for four types of samples. A, Mean Ct value in whole samples; B, Mean Ct value in oro-naso-pharyngeal swabs; C, Mean Ct value in lung tissue; D, Mean Ct value in feces; and E, Mean Ct value in serum.



Conclusion

XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV are capable of detecting Avian influenza virus on clinical samples (oro-naso-pharyngeal swabs, serum, lung tissue, and feces) collected from the field. XQ-Station PCR-AIV has a detection ability that is absolutely similar to the routine Real-time PCR. In serum and feces samples, the ability of XQ-Station PCR-HPAIV to detect HPAI Avian influenza virus is lower.

The mean Ct value of positivity in the investigated samples of XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV was significantly lower than those of the routine Real-time PCR. Oro-naso-pharyngeal swabs were the best candidates, with the highest detection rate and lowest Ct value in the results of all 3 testing methods.

References

Chen H., Deng G., Li Z., Tian G., Li Y., Jiao P., Zheng L., Liu Z., Wilman, R. G., & Yu, R. (2004). The evolution of H5N1 influenza viruses in Asia in southern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(28), 10452-10457. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402121010>

Gratwick, R. R., Galloway, A. A., & Sakthivel, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleic Acids, Molecular Biology*, 38(9), 1251-1269. <https://doi.org/10.1007/s12277-020-10033-5>

Lamb, R. A., & Krug, R. M. (1996). *Orthomyxoviruses: The viruses and their replication*. In D. M. Knipe, P. M. Howley, A. R. Fields, E. A. Fields (Eds.), *Fields Virology: Lipman-Rubin Press*, Neumann, G., Chen, H., Guo, G. F., Shi, Y., & Kawakita, Y. (2010). H5N1 influenza virus: Outbreaks and biological properties. *Cell Research*, 20(1), 51-61. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.124>

Nguyen, D. C., Uysal, T. M., Jadhav, S., Matos, T., Shaw, M., Manuak, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, X., Balish, A., Kim, A., Tampp, T. M., Swayne, D. E., Hayak, L. P., T., Nguyen, H. K., Nguyen, H. T., Hong, L. T., ... Katz, J. M. (2005). Isolation and Characterization of Avian Influenza Virus, Including Highly Pathogenic H5N1, from Poultry in Live Bird Markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *Journal of Virology*, 79(7), 4201-4212. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.7.4201-4212.2005>

Origin of avian influenza: evidence for control pose-vit in humans. (n.d.). Retrieved 4 November 2023, from <https://www.who.int/news/item/12-07-2023-origin-of-avian-influenza-outbreaks-on-animals-poses-risk-to-humans>.

○ 동물용 의료기기 인허가추진 (과제 종료후 1년내 인허가확보)

- 검사키트에 대한 임상평가실시 (동물용의료기기 임상평가기관)
- 진단키트 2종 이상 개발완료, 임상시험 2건이상 추진
- 진단키트 인허가를 위해 개발된 키트의 원리 및 개요 등의 설명과 분석적성능검사, 임상적 성능검사를 추가하여 농림축산검역관리본부에 인허가서류를 제출하여 허가를 득함
- 예상되는 일정은 해외임상시험완료 및 보고서수령 (2023년 12월) ⇒ 허가서류접수 (2024년 3월) ⇒ 추가서류접수 (2023년 5월) ⇒ 1,2차 허가리뷰 및 보완 (2024년 9월) ⇒ 허가완료 (2024년 12월내)

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

1) 정성적 연구개발성과

1) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 조사를 통한 진단타겟 선정

- 농림축산검역본부, 환경부 야생동물연구원 등의 국내 연구네트워크와 중앙백신의 베트남 현지 해외 네트워크 등과의 협의를 통해 과제의 RFP에서 제시하는 질환군에 대한 국내외발생조사 및 문헌검색
- 과제 RFP에서 제시하는 ASFV를 대상으로 진단타겟을 p72로 선정하였음
- 과제 RFP에서 제시하는 HPAI의 M 유전자를 Screening Kit의 타겟으로 HA 유전자를 고병원성 (H5 또는 H7)의 진단타겟으로 선정하였음

2) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 유전자분석법 확립 및 유전자 DataBase 구축

- ASFV와 HPAI의 전장유전자 및 주요 유전자에 대한 분석툴을 정비하였으며 유전자DB의 등록, 분석 등을 위한 웹사이트를 구축하기 위한 시안을 완성하여 분석을 위한 소프트웨어 개발을 완료하였음.(별첨 위탁용역보고서 참고)

3) 고감도 유전자진단법(Taqman based Real time PCR)기반 진단법 개발 및 분석적성능평가

- 대상타겟병원체 : ASFV
- 개발키트종류 : ASFV(qPCR/POC qPCR)
- 분석적 민감도 (최소검출한계) : 3 반복으로 10,000 copies/Rx부터 희석하여 검사한 결과 Ct 35를 기준으로 100 copies/Ex 이하의 검출한계를 보이는 것으로 확인
- 분석적 특이도 : 돼지에서 흔하게 발생할 수 있는 질환군인 PRRSV(American strain/European strain), Swine Influenza, Pasteurella multocida, PCV2, PCV3, Mycoplasma hyopneumoniae 등 10여 종의 병원성 미생물과는 반응성이 확인되지 않아 돼지유래의 병원성 미생물에 대한 특이도를 확인하였다.
- 대상타겟병원체 : HPAI
- 개발키트종류 : HPAI(AIV screening, qPCR/POC qPCR)
- 분석적 민감도 (최소검출한계) : 3 반복으로 10,000 copies/Rx부터 희석하여 검사한 결과 Ct 35를 기준으로 100 copies/Ex 이하의 검출한계를 보이는 것으로 확인
- 분석적 특이도 : 조류에서 흔하게 발생할 수 있는 질환군인 Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, avian pneumovirus, Mycoplasma gallisepticum, Staphylococcus, Chlamydomphila psittaci, Escherichia coli 등 10여 종의 병원성 미생물과는 반응성이 확인되지 않아 조류유래의 병원성 미생물에 대한 특이도를 확인하였다.

4) 현장적용을 통한 실효성 입증 (임상적 성능평가)

4-1) 아프리카돼지열병 (ASFV)

- ASFV의 발병이 확인된 농장으로부터 채취한 41두의 구강-비강 스왑, 전혈 그리고 비장파쇄액 등의 3종류의 검체에 대해서 그리고 ASFV가 발병하지 않은 음성돈군에서 채취한 12두의 구강-비강 스왑, 비장파쇄액 등 검사를 수행한 총 147건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ ASFV Detection Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.
- ASFV의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 p72 유전자를 표적으로한 qPCR의 경우 79.7%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 94.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

WOAH SOP (ASFV qPCR p72)					XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)				
Total		WOAH ASFV qPCR			Total		XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sion based Dx	Positive	98	25	123	Clinical sion based Dx	Positive	116	7	123
	Negative	0	24	24		Negative	0	24	24
	Total	98	49	147		Total	116	31	147

- 결론적으로 ASFV 양성돈군에서 확보한 123건의 양성검체 중 두가지 유전자검사법을 통해서 음성으로 확인된 7건을 제외한 116건을 실제 ASFV 양성검체로 음성돈군에서 확보한 24건의 검체와 양성돈군에서 확보하였지만 검사결과 음성으로 확인된 7건 등 31건을 음성검체로 간주하여 임상적인 민감도와 특이도를 재평가하면
- XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 민감도 100%, 특이도 100%로 확인되고 기준검사법인 WOAH의 ASFV qPCR의 경우 84.5%의 민감도와 100%의 특이도로 확인할 수 있었다.

4-2) 고병원성 조류 인플루엔자 (HPAI)

- 베트남 현지에서 H5N1 인플루엔자바이러스의 발병이 확인된 가금농장에서 확보한 40두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 4종류의 검체에 대해서 조류인플루엔자 바이러스가 음성으로 확인된 가금농장으로부터 확보한 23두의 호흡기스왑, 폐장, 혈청 그리고 분변 등 252건 시료에 대해서 WOAH의 기준시험법과 현장시험법인 (XQ AIV Screening Kit와 XQ HPAI Genotyping Kit)에 대한 검사결과를 비교하여 임상적인 성능평가기준인 임상적 민감도와 특이도를 평가하였다.
- HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단 키트인 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 71.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.

WOAH SOP (AIV qPCR)					XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)				
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160
	Negative	0	92	92		Negative	0	92	92
	Total	154	98	252		Total	154	98	252

- XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 가금류의 야외시료에서 고병원성 인플루엔자를 검출하는 용도보다는 XQ AIV Screening Kit (POSTBIO)에 대해 양성으로 확인된 검체를 이용하여 고병원성 인플루엔자의 H5와 H7을 검출하는 용도로 개발된 점을 고려할 때 산술적으로 계산된 전체검체에 대한 임상적인 민감도는 임상적 성능분석면에서 큰 의미를 부여할 수 없으나 감염이 의심되는 가금류의 호흡기스왑이나 폐장시료를 이용하는 경우 95%의 매우 높은 민감도로 H5 고병원성 인플루엔자를 검출하는데 많은 도움이 될 것으로 평가할 수 있다.

WOAH SOP (AIV qPCR)					XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)				
Total		WOAH AIV qPCR			Total		XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)		
		Positive	Negative	Total			Positive	Negative	Total
Clinical sign based Dx	Positive	154	6	160	Clinical sign based Dx	Positive	114	46	160
	Negative	0	92	92		Negative	0	92	92
	Total	154	98	252		Total	114	138	252

5) 동물용 의뢰기기 인허가추진(사업종료후 1년내 인허가확보)

- 진단키트 3종 (아프리카돼지열병 1종, 고병원성 인플루엔자 2종 등) 개발
- 분석적성능평가 및 해외임상평가 완료
- 종료 후 1년내에 동물용 의뢰기기에 대한 인허가완료예정 (2종이상)

2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성, 연구개발과제의 특성에 따라 수정 가능합니다)

1) 최근 문제시 되는 신변종 가축감염병 등에 대한 유전자분석법 확립 및 시료 확보

- Web site 구축 1건, ASFV, HPAI의 전장유전자 및 주요 유전자에 대한 분석을 위한 양성시료 확보
- 유전자검사 양성기준 ASFV 116건, HPAI 154건 (감염성시료 베트남 현지보관, 일부 핵산은 한국보관)
- 각병원체 음성시료 해외 및 국내 100건이상 확보

2) 최종시제품 (현장진단을 위한 핵산추출과정과 핵산검출이 통합된 진단 카탈리지) 제조 및 성능평가

- 시료의 주입만으로 핵산추출과 핵산검출이 가능한 시스템 구현
- 아프리카돼지열병 진단카탈리지
 - ✓ 제품명 : XQ ASFV POC qPCR Kit
 - ✓ 분석적 민감도 : 100copies/Rx (Ct 35이하)
 - ✓ 분석적 특이도 : 표준시험법과 비교하여 특이도 100%
 - ✓ 임상적 평가결과 : ASFV의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 p72 유전자를 표적으로한 qPCR의 경우 79.7%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ ASFV Dx Kit (POSTBIO)의 경우 94.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다.
- 고병원성 조류 인플루엔자 진단카탈리지
 - ✓ 제품명 : XQ AIC Screening POC qPCR Kit
 - ✓ 분석적 민감도 : 100copies/Rx (Ct 35이하)
 - ✓ 분석적 특이도 : 표준시험법과 비교하여 특이도 100%
 - ✓ 임상적 평가결과 : HPAI의 집단발병기준으로 검사법의 민감도를 살펴보면 WOAH의 기준시험법인 qPCR의 경우 96.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었으며 본 과제의 개발품인 현장용 유전자진단키트인 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 71.3%의 임상적 민감도를 100%의 임상적 특이도를 보이는 것으로 확인되었다. 추가적으로 XQ HPAI Genotyping Kit (POSTBIO)의 경우 감염이 의심되는 가금류의 호흡기스왑이나 폐장시료를 이용하는 경우 95%의 매우 높은 민감도로 H5 고병원성 인플루엔자를 검출하는데 많은 도움이 될 것으로 평가할 수 있다.

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2022~23)	종료이후 (2024~28)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	목표(단계별)	실적(누적)				
		실적(누적)				
	실적(누적)	실적(누적)				
		실적(누적)				
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	특허출원	목표(단계별)	2			30%
		실적(누적)	2			
	특허등록	목표(단계별)		2		
		실적(누적)		0		
	기술이전	목표(단계별)	2			20%
		실적(누적)	3			
	제품화	목표(단계별)	2			20%
		실적(누적)	3			
	고용창출	목표(단계별)	1			20%
		실적(누적)	1			
	투자유치	목표(단계별)	1,000,000			10%
		실적(누적)	3,000,000			
계						

< 연구개발성과 성능지표(예시) >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (2022~23)	달성수준 (달성도)	
1 민감도 (최소검출한계)	copies /rx	20%	미국/아이덱스	100	>100	100	100	임상적으로 신뢰할 만한 수준의 검출한계
2 분석적 특이도	%	20%	//	95	90	95	100	허가확보를 위한 수준
3 임상적 민감도	%	20%	//	95	90	90	>94.5	//
4 임상적 특이도	%	20%	//	95	95	100	100	//
5 임상 시료수	건	20%	//	200	100	200	216, 254	//

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	현장진단이 가능한 아프리카돼지열병 바이러스 검출 카트리지	대한민국	포스트 바이오	23.12.20	10-2023- 0187602						
2	현장진단이 가능한 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 검출 카트리지	대한민국	포스트 바이오	23.12.20	10-2023- 0187601						

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

□ 표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

* 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1								
2								
3								

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	통상실시권	XQ ASFV qPCR Kit	베이직 사이언스		0	
2	//	XQ AIV Screening POC qPCR Kit	//		0	
3	//	XQ HPAI Genotyping POC qPCR Kit	//		0	

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
1					

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		

* 1) 기술이전 또는 자기실시

* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과		돼지의 감염성 병원체에 대한 현장진단키트 상용화			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년			
	소요예산(천원)	300,000			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		0	500,000	1,000,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	10	20
국외			0.5	1.5	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		0	300,000	500,000	
	수출	0	200,000	500,000	

고용 창출 (추가해주세요)

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2022년	2023년	
1	신속현장 유전자진단키트 실용화	포스트바이오	1		1
합계					

고용 효과 (추가해주세요)

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	10
		생산인력	4
	개발 후	연구인력	11
		생산인력	4

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황														
			학위별				성별		지역별								
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타				

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료 예시

성과유형	첨부자료 예시
연구논문	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함), <u>품종인 경우 품종보호권 등록증 또는 생산판매 신고증명서</u>
제품개발(시제품)	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화 (상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상 (부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
기탁	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·종자 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
● 신종가축감염병 2종 이상에 대한 고감도진단법개발	● 아프리카돼지열병의 고감도진단법(Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행	100
	● 고병원성 조류인플루엔자 고감도진단법 2종(AIV Screening/HPAI Genotyping) (Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행	100
● 신종가축감염병 2종 이상에 대한 현장진단카트리지가발	● 고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지(XQ ASFV POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행	100
	● 고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지(XQ AIV Screening/HPAI Genotyping POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행	100
● 2종 이상의 현장진단카트리지에 대한 현장적용을 통한 실효성검증	● ASFV 발병지역에서의 임상검사수행(양성 116건) 94.3%의 임상적 민감도, 100%의 임상적 특이도	100
	● HPAI 발병지역에서의 임상검사수행(양성 160건) 96.3%의 임상적 민감도, 100%의 임상적 특이도	100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 본 연구는 산업동물에서 치명적인 질환을 유발하는 아프리카돼지열병 및 고위험 인플루엔자에 대한 국내 유행주에 대한 유전자 DB를 구축하여 병원체의 변이 발생에 대해 능동적으로 대처하고 대상질환의 병원체를 1시간 정도의 시간에 고감도로 검출하는 2종의 현장진단시스템의 구축과 현장적용으로 유행의 조기탐지 및 국내유입을 신속히 차단하기 위한 톨을 제공하는 것을 목표로 하는 과제로
- 진단용 시제품 3종의 개발완료되고 관련한 해외임상평가가 모두 성공적으로 수행되어 개발종료 후 즉시 동물약품인허가를 추진하고 허가 후 바로 현장에 적용되는 현장적용형 연구로 특히 진단 후 감염동물의 이동금지, 매몰 등의 대규모 행적적 재정적인 절차에 대한 신속성을 위해 현장에서 활용가능한 진단법의 저시가 가능할 것으로 기대하며
- 특히 본 과제의 성공시 현장에서 다양한 고위험군의 산업동물의 감염병에 대한 신속하고 정확한 진단툴을 제공함으로써 진단결과에 합당한 항바이러스제 및 항생제 등의 처방을 용이 및 이동금지, 소각, 매몰 등의 법정 감염병의 추후 행정조치를 취하기 위한 과학적 근거에 기반한 톨로 활용될 것으로 기대함

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

■ 실용화·제품화 방안 및 사업화·기술이전

- 제품의 실용화는 진단키트의 개발을 주도하는 포스트바이오에 의해서 진행되며 제조사를 통해 제품화된 진단시스템 및 진단키트 등은 농림축산검역본부 및 환경부 야생동물연구원 등에 의해서 질병을 조사하거나 현장을 파악하는 경우 다양한 수준의 실험자 또는 행정인력이 사용하는 경우에도 진단결과의 표준화수준을 높일 수 있는 진단툴로 임상현장에 폭넓게 보급될 수 있을 것으로 기대함
- 따라서 본 과제를 통해 도출된 개발품은 과제의 주관기관인 포스트바이오로부터 동물요의 의료기기 전문판매회사에 기술이전되어 사업화가 진행되어 매우 빠른 속도로 사업화가 진행될 수 있을 것으로 예상함.

■ 예상활용분야

- 본 사업의 주요목적인 고위험 신변종 가축감염병의 고감도 현장진단시스템의 보급은 기본적으로 활용할 수 있는 분야이며 현장진단적용을 통해 실효성을 확인한 경우 다른 축종 또는 반려동물, 인의 등의 다른 질환군으로 확대되어 국가위기를 초래하거나 인의 및 수의임상에서 주요하게 발생하는 감염병에 대한 조기검출-확산방지 등에 널리 활용할 수 있을 것으로 기대됨
 - 나아가서 동물의약품으로 실효성이 검증되면 인체분야의 다양한 질병의 진단에도 활용이 확대될 것으로 예상됨.
 - 직접적으로는 본 연구과제의 궁극적인 목적인 대규모 발병이 문제시 되고 있는 아프리카돼지열병, 구제역, 고위험인플루엔자 등 현장의 신속한 진단이 즉각적인 행정조치로 이어져 전염병의 확산을 최소화 할 수 있는 질환군에 가장 먼저 활용될 것으로 판단되며
 - 본 사업을 통해 개발된 현장진단체계는 타축종을 확대되어 공중보건학적인 위기와 축산업의 감염병으로 인한 확산방지를 통해 국가 가축전염병관리에 대한 효과적인 진단툴을 제공하여 축산 및 국가경제의 중요한 과학기술분야로 자리매김할 수 있을 것임.
-

< 연구개발성과 활용계획표(예시) >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내 매년 목표치	
국외논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE	1	
	비SCIE	1	
	계	2	
특허출원	국내		
	국외		
	계		
특허등록	국내	2	
	국외		
	계	2	
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시	3	
	기술이전	3	
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기	2	
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1. 공통 요구자료	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
	3) 연구부정행위 예방 확인서
2. 성과증빙자료	1) 위탁연구보고서 (코스모진텍)
	2) 해외임상리포트 (ASFV)
	3) 해외임상리포트 (HPAI)
	4) 특허출원서
	5) 기술이전계약서 (3건)
	6) 채용 증빙 (남권진 건강보험자격득실확인서)

[뒷면지]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업, ‘국제연구 네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단 키트 실용화연구’개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		RS-2022-IP122018	
사업구분					
연구분야				과제구분	단위
사업명	가축질병대응기술고도화지원사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구			과제유형	(개발)
연구개발기관	포스트바이오(주)			연구책임자	천두성
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2022.04.01. -2022.12.31	416,000	116,500	532,500
	2차년도	2023.01.01. -2023.12.31	552,000	184,000	736,000
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
계			968,000	300,500	1,268,500
참여기업	포스트바이오(주), 중앙백신연구소, 코스모진텍				
상대국	베트남	상대국연구개발기관	베트남 농남대학교 수의과대학		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2024.02.28

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
포스트바이오(주)	대표이사	천두성

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

[별첨 1]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	RS-2022-IP122018		
사업구분					
연구분야				과제구분	단위
사업명	가축질병대응기술고도화지원사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구			과제유형	(개발)
연구개발기관	포스트바이오(주)			연구책임자	천두성
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2022.04.01. -2022.12.31	416,000	116,500	532,500
	2차년도	2023.01.01. -2023.12.31	552,000	184,000	736,000
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계			968,000	300,500
참여기업	포스트바이오(주), 중앙백신연구소, 코스모진텍				
상대국	베트남	상대국연구개발기관	베트남 농남대학교 수의과대학		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2024.02.28

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
포스트바이오(주)	대표이사	천두성

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

[별첨 1]

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

- 현장에서 일반적으로 래피드키트가 가장 많이 활용되고 있으나 신속성과 편리성에도 불구하고 리얼타임피씨알법 10배에서 100배 정도 낮아 위음성이 흔하게 발생하여 현장진단법으로 사용하는 것 한계가 있어, 본 연구를 통해 1시간 내외에 실험실 수준의 민감도와 특이도를 가진 현장진단법을 제공하는 창의적인 연구로 베트남에서의 현지 임상과정을 통해 그 실효성을 검증하였다는 점에서 매우 현실적이고 시의적절한 연구로 연구의 우수성을 강조할 수 있음

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

- 고위험병원체 2종에 대한 현장용 진단키트가 완성되고 해외임상평가가 모두 성공적으로 수행되어 즉시 동물의약품인허가를 추진이 가능한 현장적용형 연구로 특히 현장진단이후 감염환축의 매몰, 소각 등의 대규모 행정적인 절차에 대한 신속성을 확보하기 위한 현장활용가능한 진단법의 제시가 가능하고 그 외 다양한 고위험군의 산업동물의 감염병에 적용을 확대하여 법정 감염병의 추후 행정조치를 취하기 위한 과학적 근거에 기반한 톨로 활용될 것으로 기대함

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

- 본 개발품의 주요 컨셉인 복잡한 분자진단을 현장에서 손쉽게 수행할 수 있는 진단툴의 적용으로 ASFV, HPAI 등 현장의 신속한 진단이 즉각적인 행정조치로 이어져 전염병의 확산을 최소화 할 수 있는 질환군에 먼저 활용되고 고감도 분자진단법의 실효성이 검증되는 경우 다른 축종 또는 반려동물, 인의 등의 다른 질환군으로 확대되어 국가위기를 초래하거나 인의 및 수의임상에서 주요하게 발생하는 감염병에 대한 조기검출-확산방지 등에 널리 활용할 수 있을 것으로 기대됨

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

- 본 연구개발은 진단을 위한 하드웨어관련 원천기술(중국/한국) 도입과 고감도 분자진단기술의 개발(한국연구진) 및 해외공동 국제임상 (베트남/한국) 등의 다국적인 국제연구를 통해 종합적으로 수행되는 과제로 국제공동연구를 위한 현지방문 및 의사소통, 공동개발 등 연구개발의 수행을 위한 적극적인 노력이 반영된 결과임

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히 불량)

- 본 과제를 통해 고위험 가축감염병 2종에 대한 2종 이상의 현장진단키트를 개발하여 개발품의 독창성 및 우수성을 검증한 분석적 성능과 임상성 성능의 자료를 이용하여 2종의 질환에 대한 현장용 분자진단 카트리지에 대한 특허를 출원하였음. 출원된 기술은 해외임상을 통해 성능의 우수성을 확인하고 결과들을 이용하여 해외논문에 투고를 준비 중임

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
신변종 가축감염병에 대한 고감도 진단법개발 (아프리카돼지열병)	15	15	아프리카돼지열병의 고감도진단법 (Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행
신변종 가축감염병에 대한 고감도 진단법개발 (고병원성 조류인플루엔자)	15	15	고병원성 조류인플루엔자 고감도진단법 2종(AIV Screening/HPAI Genotyping) (Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장진단 카트리지개발 (아프리카돼지열병)	15	15	고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지 (XQ ASFV POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장진단 카트리지개발 (고병원성 조류인플루엔자)	15	15	고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지 (XQ AIV Screening/HPAI Genotyping POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장적용을 통한 실효성입증 (아프리카돼지열병)	20	20	ASFV 발병지역에서의 임상검사수행(양성116건) 94.3%의 임상적 민감도 100%의 임상적 특이도
현장적용을 통한 실효성입증 (고병원성 조류인플루엔자)	20	20	HPAI 발병지역에서의 임상검사수행(양성160건) 96.3%의 임상적 민감도 100%의 임상적 특이도
합계	100점	100점	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 신속성과 정확성이 확보된 3종의 현장키트를 연구계획대비 성공적으로 개발하였으며 분석적 성능 및 국제공동임사를 통해 높은 수준의 임상적인 민감도, 특이도를 확보하여 동물용 진단키트의 인허가를 위한 기반을 확보하여 향후 인허가과정을 통해 국내에 적용범위를 확대할 수 있는 시의적절하고 중요한 정책적 연구로 사료됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

--

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 향후 ASFV, HPAI외에 구제역, 렘피스킨 등의 현안이 되는 고위험 가축감염병으로의 적용확대 및 인의 부야 및 타축종분야로 확대하여 진단인프라의 확보를 통해 진단대상군을 넓히는 방향으로 활용방안이 확대되기를 희망

IV. 보안성 검토

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구			
주관연구개발기관	포스트바이오(주)		주관연구책임자	천두성
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	기타	총연구개발비
	968,000천원	300,500천원		1,268,500천원
연구개발기간	2022.4.1.-2023.12.31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
신변종 가축감염병에 대한 고감도 진단법개발 (아프리카돼지열병)	15	15	아프리카돼지열병의 고감도진단법 (Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행
신변종 가축감염병에 대한 고감도 진단법개발 (고병원성 조류인플루엔자)	15	15	고병원성 조류인플루엔자 고감도진단법 2종(AIV Screening/HPAI Genotyping) (Taqman based qPCR)의 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장진단 카트리지가발 (아프리카돼지열병)	15	15	고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지 (XQ ASFV POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장진단 카트리지가발 (고병원성 조류인플루엔자)	15	15	고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지 (XQ AIV Screening/HPAI Genotyping POC qPCR) 개발 및 분석적 성능평가 수행
현장적용을 통한 실효성입증 (아프리카돼지열병)	20	20	ASFV 발병지역에서의 임상검사수행 (양성116건) 94.3%의 임상적 민감도 100%의 임상적 특이도
현장적용을 통한 실효성입증 (고병원성 조류인플루엔자)	20	20	HPAI 발병지역에서의 임상검사수행 (양성160건) 96.3%의 임상적 민감도 100%의 임상적 특이도
합계	100점	100점	

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 신변종 가축감염병에 대한 고감도 진단법개발 (ASFV/HPAI)	2종의 대상질환 (ASFV/HPAI)의 고감도 분자진단법을 개발하고 계획시 목표인 최소검출한계와 특이도 등의 분석적 성능을 달성하여 이를 기반으로 현장진단카트리지를 개발
② 현장진단 카트리지개발(ASFV/HPAI)	3종의 고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지개발 및 분석적 성능평가 수행하여 최소검출한계와 특이도 등 분석적 성능을 달성하여 이를 기반으로 현장적용을 통한 실효성 검증을 수행 <ul style="list-style-type: none"> • XQ ASFV POC qPCR Kit • XQ AIV Screening POC qPCR Kit • XQ HPAI Genotyping POC qPCR Kit
③ 현장적용을 통한 실효성입증(ASFV/HPAI)	3종의 고감도 진단법기반의 현장진단 카트리지 개발품을 이용하여 고위험 가축감염병 발생지역에서 수행한 국제공동임상을 통해 동물진단키트의 인허가를 위한 임상적 성능결과를 확보함. <ul style="list-style-type: none"> • XQ ASFV POC qPCR Kit : 94.3%의 임상적 민감도, 100%의 임상적 특이도 • XQ AIV Screening POC qPCR Kit : 96.3%의 임상적 민감도, 100%의 임상적 특이도

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (타연구 활용액)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문 S C I	논 문 비 S C I			논 문 평 관 I F	학 술 발 표	
단위	건	건	건	평 인 제 업	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건		
가중치	30				20		20		20	10									
최종 목표	2				2		2		1	1,000									
당해 년도	목표	2			2		2		1	1,000									
	실적	2			3		3		1	3,000									
달성률 (%)	100				150		150		100	300									

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

[별첨 2]

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	현장용 아프리카돼지열병 유전자검출기술 (XQ ASFV POC qPCR)
②	현장용 조류인플루엔자 유전자검출기술 (XQ AIV Screening POC qPCR)
③	현장용 고병원성 조류인플루엔자 유전자형 분석기술 (XQ HPAI Genotyping POC qPCR)

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√				√	√			
②의 기술		√				√	√			
③의 기술		√				√	√			

* 각 해당란에 √ 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	환경부 야생동물질병관리원의 야생멧돼지 아프리카돼지열병 현장진단에 활용 농림부 아프리카돼지열병 의심 집단발병의 돈군에서의 현장진단에 활용
②의 기술	환경부 야생동물질병관리원의 야생철새 조류인플루엔자 현장진단 및 고병원성 인플루엔자 분석 등 현장진단에 활용
③의 기술	농림부 고병원성 조류인플루엔자 의심 집단발병의 현장진단 및 고병원성 인플루엔자 분석 등 현장진단에 활용

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	S M A R T	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출		투자유치	논문 SCI	논문 비SCI			논문 평판 I-F	학술 발표	
											건				건	건			건
단위	건	건	건	평인건수	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치		30			20		20		20	10									
최종목표	2	2			2		2	3000	1000		1000	1	1						
연구기간내 달성실적	2	0			3		3	0	0		3000	0	0						
연구종료후 성과창출 계획		2						3000	1000			1	1						

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

[별첨 2]

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	현장용 아프리카돼지열병 유전자검출기술 (XQ ASFV POC qPCR)		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	경상실시료 3%
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	이전완료	실용화예상시기 ³⁾	종료후 1년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

핵심기술명 ¹⁾	현장용 조류인플루엔자 유전자검출기술 (XQ AIV Screening POC qPCR)		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	경상실시료 3%
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	이전완료	실용화예상시기 ³⁾	종료후 1년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

핵심기술명 ¹⁾	현장용 고병원성 조류인플루엔자 유전자형 분석기술 (XQ HPAI Genotyping POC qPCR)		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	경상실시료 3%
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	이전완료	실용화예상시기 ³⁾	종료후 1년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

연구진실성 관련 연구부정행위 예방을 위한 확인서

※ 주관·공동·위탁과제별로 연구책임자가 자체 점검 후 작성·제출

구분	번호	내용	예	아니오
위조	1	연구 수행 전과정에서 존재하지 않는 데이터 또는 결과 등을 거짓으로 만들거나 기록한 사실이 없는가?	✓	
	2	연구수행 과정에서 데이터 또는 결과 등을 임의적으로 사실과 다르게 변형, 삭제, 왜곡하여 기록한 사실이 없는가?	✓	
표절	3	이미 발표된 타인의 독창적인 아이디어나 연구성과물을 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	4	일반적 지식이 아닌 타인의 독창적인 개념, 용어, 문장, 표현, 그림, 표, 사진, 영상, 데이터 등을 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	5	타인의 연구성과물을 그대로 쓰지 않고 풀어쓰기(paraphrasing) 또는 요약(summarizing)을 하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	6	외국어 논문이나 저서를 번역하여 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	7	2차 문헌을 활용하면서 재인용 표기를 하지 않고 직접 원문을 본 것처럼 1차 문헌에 대해서만 출처를 표기한 적이 없는가?	✓	
	8	출처 표기를 제대로 했으나, 인용된 양 또는 질이 해당 학문 분야에서 인정하는 범위 이내 라고 확신할 수 있는가?	✓	
	9	타인의 저작물을 여러 번 인용한 경우 모든 인용 부분들에 대해 정확하게 출처를 표기하였는가?	✓	
	10	타인의 저작물을 직접 인용 할 경우, 적절한 인용 표기를 했는가?	✓	
부당한 저자 표기	11	연구에 지적 기여를 한 연구자에게 저자의 자격을 부여하였는가?	✓	
	12	연구에 지적 기여를 하지 않은 연구자에게는 저자의 자격을 제외하였는가?	✓	
	13	저자들의 표기 순서와 연구 기여도가 일치하는가?	✓	
부당한 중복 게재	14	자신의 이전 저작물을 활용하면서 적절한 출처 표기를 하였는가?	✓	
	15	자신의 이전 저작물을 여러 번 활용하면서 모든 인용 부분들에 대해 정확하게 출처 표기를 하였는가?	✓	
	16	자신의 이전 저작물을 활용하면서 출처 표기를 제대로 했으나 인용된 양 또는 질이 해당 학문 분야에서 인정하는 범위 이내 라고 확신할 수 있는가?	✓	

점검결과를 위와 같이 연구윤리 위반 사항이 없음을 확인하며, 위반사실이 확인될 경우 「국가연구개발혁신법」 제32조1항에 따라 참여제한, 연구비 환수 등 처분을 받게 됨을 인지하고 아래와 같이 서명합니다.

2024. 2. 29.

기관명 : 포스트바이오 (주)

점검자 : 천두성 (서명)

농림식품기술기획평가원장 귀하

연구진실성 관련 연구부정행위 예방을 위한 확인서

※ 주관·공동·위탁과제별로 연구책임자가 자체 점검 후 작성·제출

구분	번호	내용	예	아니오
위조	1	연구 수행 전과정에서 존재하지 않는 데이터 또는 결과 등을 거짓으로 만들거나 기록한 사실이 없는가?	✓	
변조	2	연구수행 과정에서 데이터 또는 결과 등을 임의적으로 사실과 다르게 변형, 삭제, 왜곡하여 기록한 사실이 없는가?	✓	
표절	3	이미 발표된 타인의 독창적인 아이디어나 연구성과물을 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	4	일반적 지식이 아닌 타인의 독창적인 개념, 용어, 문장, 표현, 그림, 표, 사진, 영상, 데이터 등을 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	5	타인의 연구성과물을 그대로 쓰지 않고 풀어쓰기(paraphrasing) 또는 요약(summarizing)을 하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	6	외국어 논문이나 저서를 번역하여 활용하면서 출처를 정확하게 표기하였는가?	✓	
	7	2차 문헌을 활용하면서 재인용 표기를 하지 않고 직접 원문을 본 것처럼 1차 문헌에 대해서만 출처를 표기한 적이 없는가?	✓	
	8	출처 표기를 제대로 했으나, 인용된 양 또는 질이 해당 학문 분야에서 인정하는 범위 이내 라고 확인할 수 있는가?	✓	
	9	타인의 저작물을 여러 번 인용한 경우 모든 인용 부분들에 대해 정확하게 출처를 표기하였는가?	✓	
	10	타인의 저작물을 직접 인용 할 경우, 적절한 인용 표기를 했는가?	✓	
부당한 저자 표기	11	연구에 지적 기여를 한 연구자에게 저자의 자격을 부여하였는가?	✓	
	12	연구에 지적 기여를 하지 않은 연구자에게는 저자의 자격을 제외하였는가?	✓	
	13	저자들의 표기 순서와 연구 기여도가 일치하는가?	✓	
부당한 중복 게재	14	자신의 이전 저작물을 활용하면서 적절한 출처 표기를 하였는가?	✓	
	15	자신의 이전 저작물을 여러 번 활용하면서 모든 인용 부분들에 대해 정확하게 출처 표기를 하였는가?	✓	
	16	자신의 이전 저작물을 활용하면서 출처 표기를 제대로 했으나 인용된 양 또는 질이 해당 학문 분야에서 인정하는 범위 이내 라고 확인할 수 있는가?	✓	

점검결과를 위와 같이 연구윤리 위반 사항이 없음을 확인하며, 위반사실이 확인될 경우 「국가연구개발혁신법」 제32조1항에 따라 참여제한, 연구비 환수 등 처분을 받게 됨을 인지하고 아래와 같이 서명합니다.

2024. 2. 29.

기관명 : 포스트바이오 (주)

점검자 : 천두성



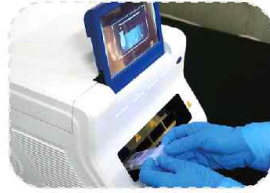
농림식품기술기획평가원장 귀하

별첨. 진단키트 제품 개발 자료

[진단검사 프로세스]



Sampling



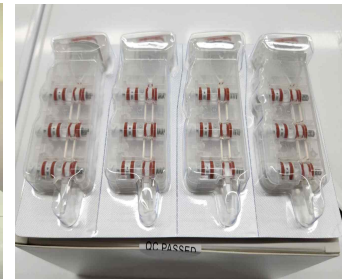
Load cartridge to the machine



Report



[XQ-Station 1Ch.]



[XQ-Station 장비 검사결과화면 및 내용물]



[ASFV Nucleic Acid Detection Kit]



[HPAI Nucleic Acid Detection Kit]

[최종보고서]

유전자 분석 및 소프트웨어 [Sequence Align] 개발

수행기관: (주) 코스모진텍

2023. 12. 31

(주) 코스모진텍

목 차

I . 사업개요	1
1. 배경 및 목적	1
2. 주요사업내용	1
3. 과업 내용	2
4. 추진 일정 및 연내 계획	3
II . ASFV 유전자 NGS, Data 분석	31
III . HPAI 유전자 NGS, Data 분석	82

1. 사업개요

가. 사업명 : 유전자분석 및 소프트웨어개발(Sequencing Align)

나. 사업기간: 계약일로부터 2023년 12월 31일까지

다. 소요예산: 100,000천원 (부가세 포함)

라. 계약방법: 수의계약

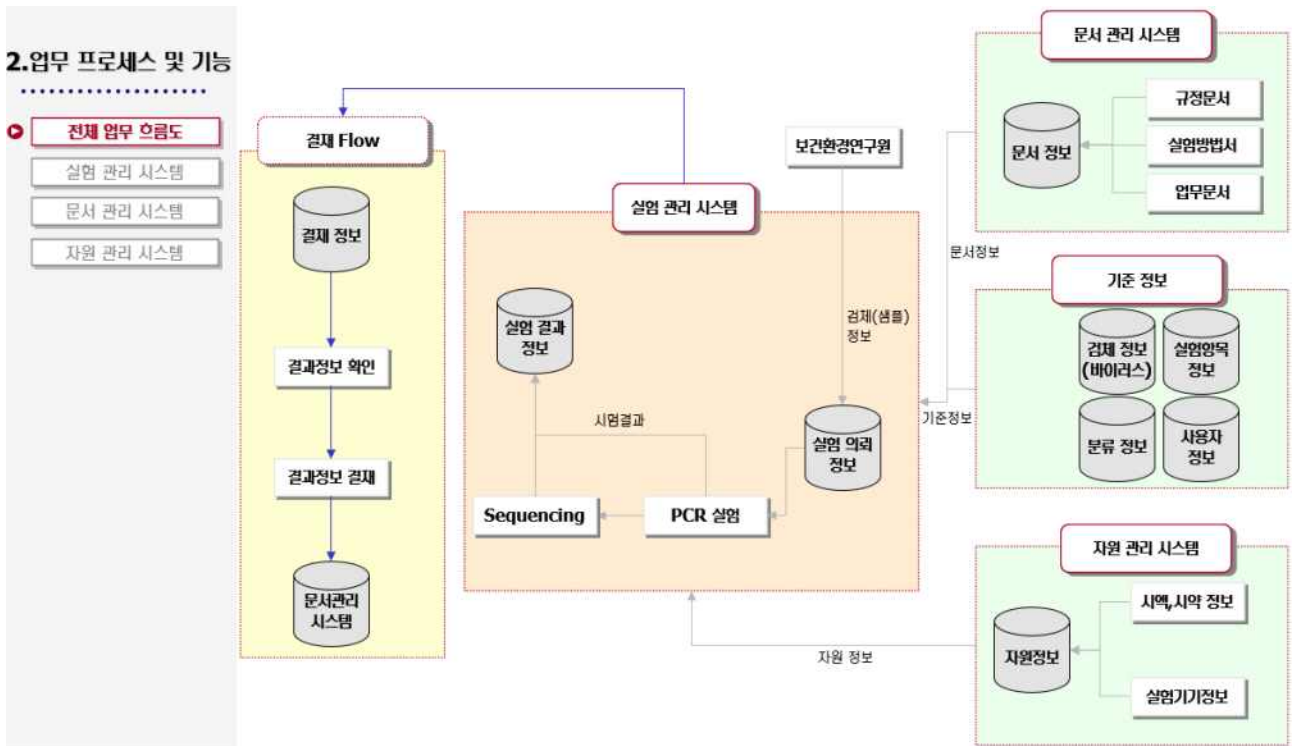
1. 배경 및 목적

- 현재 유전자분석(NGS, Sanger) 데이터의 정보 처리량이 요구량이 커져 Sanger Sequencing Data의 유전자 자동화 분석이 절대적으로 필요한 상황이 되었음.
- Sanger Sequencing Data를 효율적으로 Asfv, Ai 를 효율적으로 유전형의 타입을 Align 하여 자동 분석하고 데이터베이스화 하여 서버에 저장하고 통계자료를 얻을 수 있도록 함에 있음.
- 유전자분석을 하는 데 있어 Human Error를 줄이고 노동시간을 절감하여 생산성을 향상시키기 위함.

2. 주요사업내용

- 유전체 변이분석, Align, type 분석.
- 유전체 유전형 분석 (Asfv, Ai)
- 유전자 데이터 베이스화 하여 통계 분석

○ 프로그램 모식도



<그림 1> 유전자분석 및 프로그램에 관한 전반적 모식도

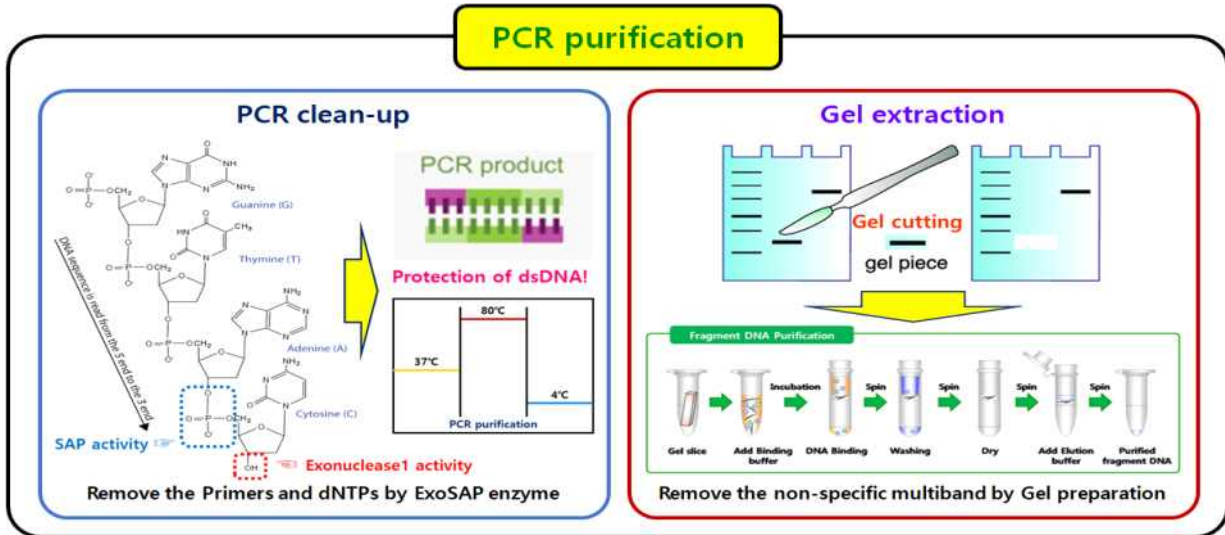
3. 과업 내용

구 분	담당 업무 및 기능
소프트웨어	가. Raw Data 관리 및 분석 나. Sequence Assemble 다. Complement Contig 라. 유전자 Sequence SNPs 확인
유전자분석 (NGS)	가. Asfv 분석(NGS) 나. Ai 분석(NGS)

4. 추진일정

가. Raw Data 분석 및 분석 : 2022년 9월 30일 까지 완료

- Raw Data 관리

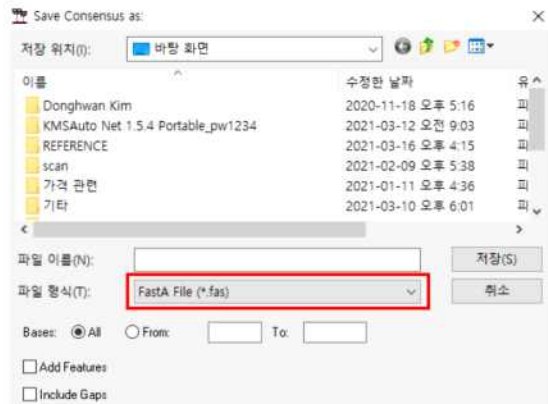


<그림 2> 최종 Q.C 판정 완료된 검체 초기 자료 관리 예시

나. Sequence Assemble 분석 : 2022년 10월 30일 까지 완료

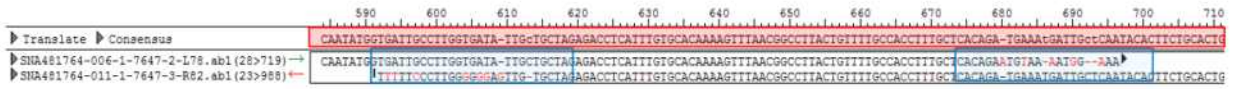
File – Save as – 파일 이름(샘플 이름)

(파일 형식 탭에서 *.fas 선택!)

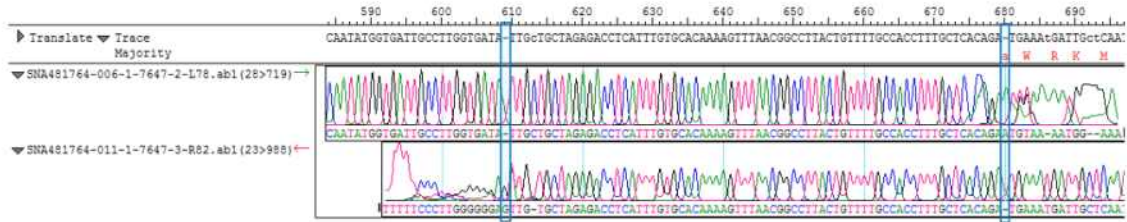


<그림 3> Sequence Assemble 분석 예시

Forward, Reverse 염기서열 정렬하고, 두 서열이 겹치는 부분 중, 어떤 값이 옳은지 판정하여 최종 Consensus 구한다



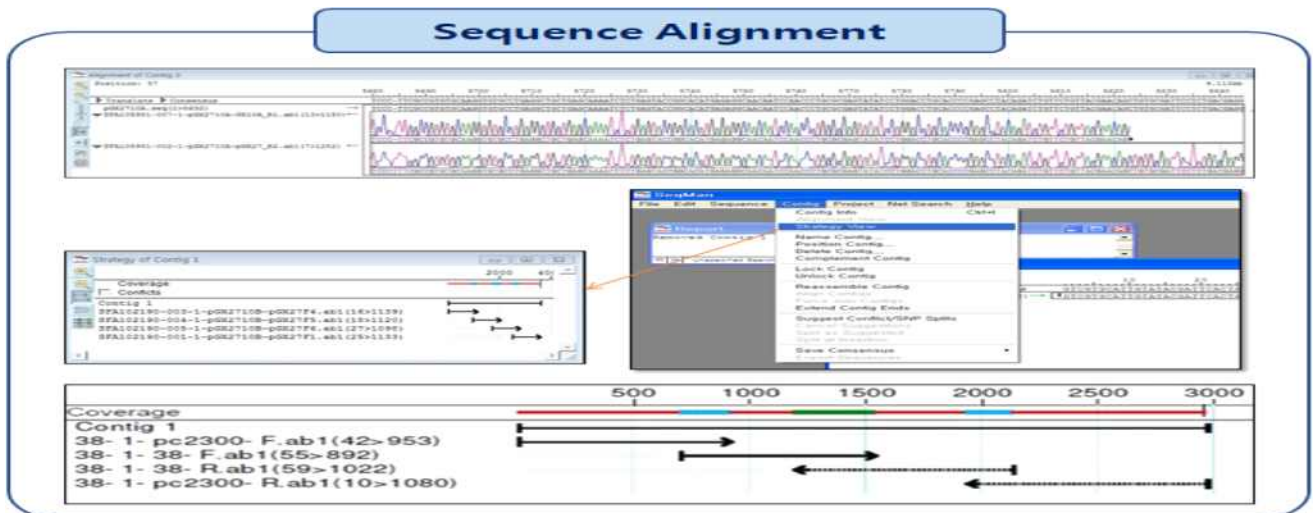
두 서열을 "정렬"하고 GAP(-) 에 대한 판정을 한 후, 최종 consensus 구성한다.
 consensus 값이 완성되면 .seq 형식이나 fasta 형식 파일로 다운 받아, 고객에게 전달한다



Forward 와 Reverse 정렬(Alignment) 중 GAP(-) 의 발생은 sequence 에서 삽입(insertion) 혹은 결손(deletion) 이 발생했다는 의미이다.
 seqman 은 GAP(-)에 대한 판정을 함으로써, consensus 의 정확도를 높인다

<그림 3-1> Sequence Assemble 분석 예시

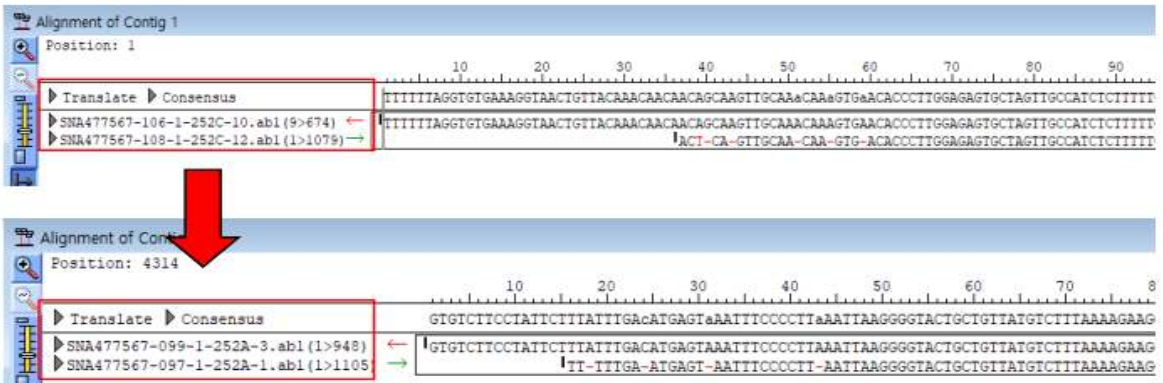
다. Complement Contig 분석 및 개발 : 2022년 11월 까지



<그림 4> Alignment 예시

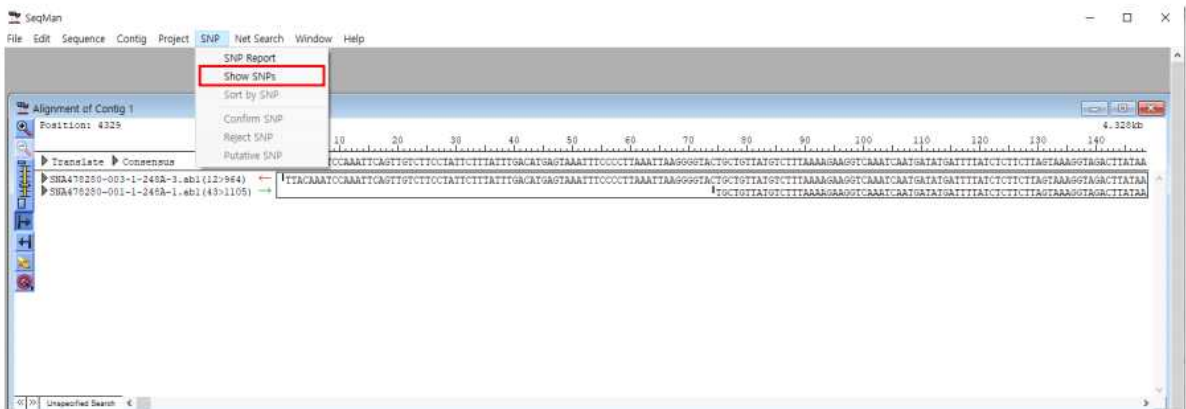
라. 유전자 Sequence SNPs 확인 : 2022년 12월 까지

3. (*주의) 만약 앞 부분이 'A or 1' 세트가 아닐 경우, 방향 변경
 Contig – Complement Contig 실행



<그림 5> Sequence SNPs 분석 예시

5. 서열이 모두 확인되었으면(약 4.5kb),
 SNP – Show SNPs 실행하여 서열 체크



<그림 5-1> Sequence SNPs 분석 예시

9. 저장된 파일을 열면 첫 줄이 >Contig_1 로 지정됨 → >251, >252, --- 로 수정 후 저장! (파일이 다른 형식으로 되어 있으면, 연결프로그램에서 메모장 선택!)

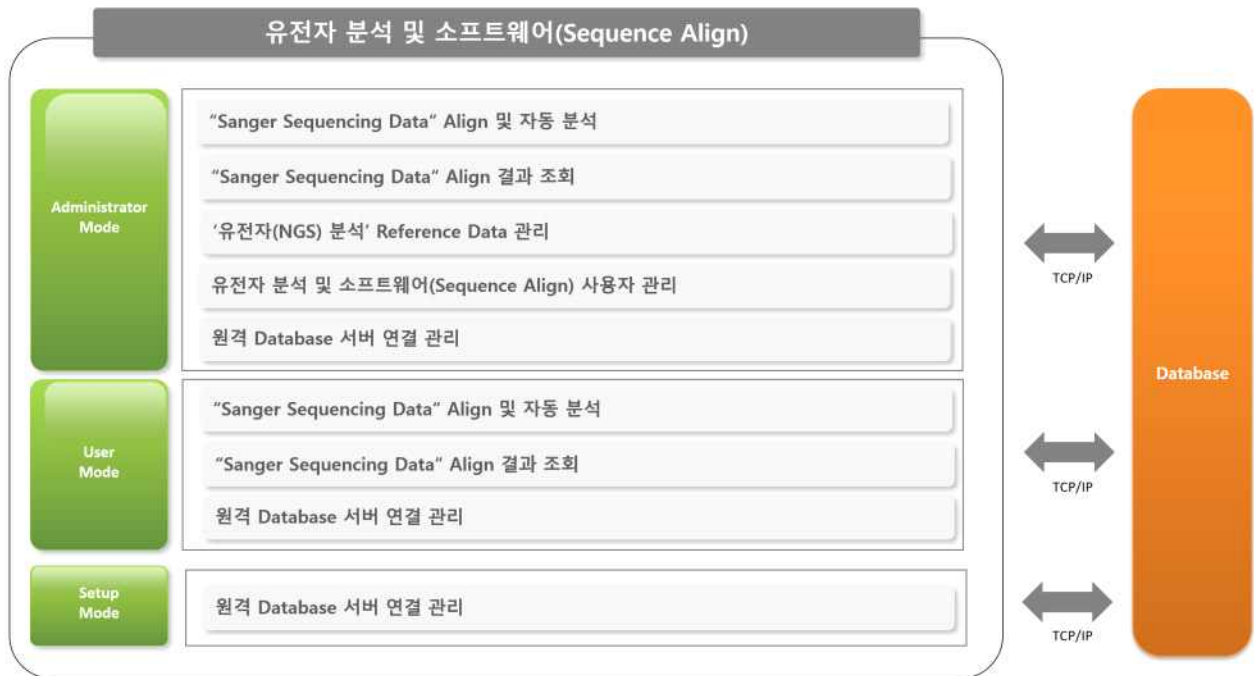


<그림 5-2> Sequence SNPs 분석 예시

4-1. 연내 계획

가. 유전자 분석 및 소프트웨어(Sequence Align) GUI(Graphical User Interface) 개발

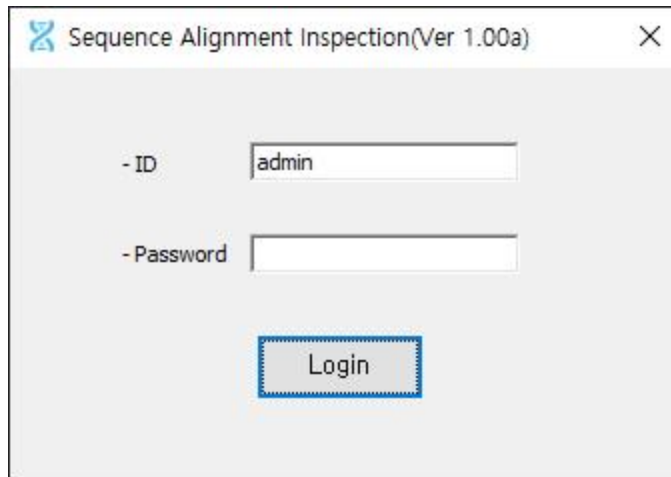
1) ‘유전자(NGS) 분석 소프트웨어’ 요구사항 분석 및 기능정의



- ‘유전자(NGS) 분석 소프트웨어’ 시스템 구성도 -

2) ‘유전자(NGS) 분석 소프트웨어’ GUI(Graphical User Interface) 설계 및 구현

(1) Login GUI(Graphical User Interface) 설계 및 구현



- Login GUI -

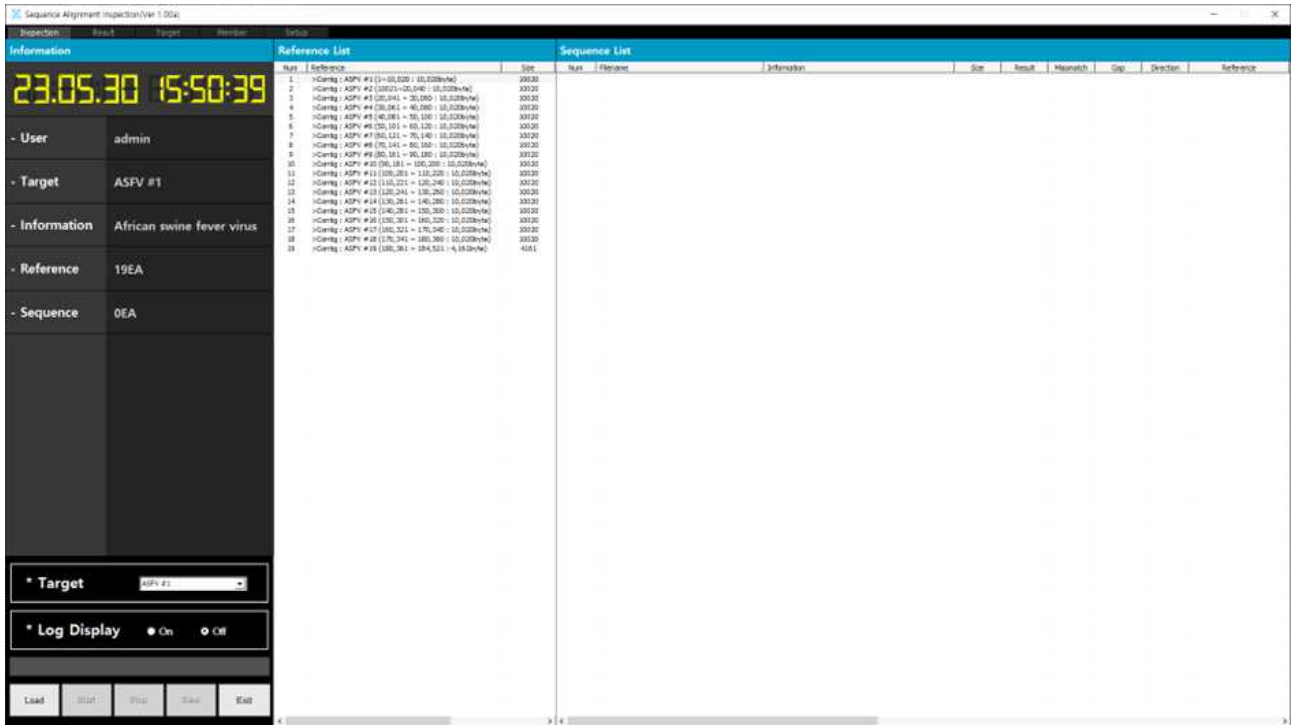
(2) Triple Mode GUI(Graphical User Interface) 설계 및 구현

- ‘유전자(NGS) 분석 소프트웨어’는 세 개의 모드로 구분하여 설계 및 개발을 진행하고 있음.

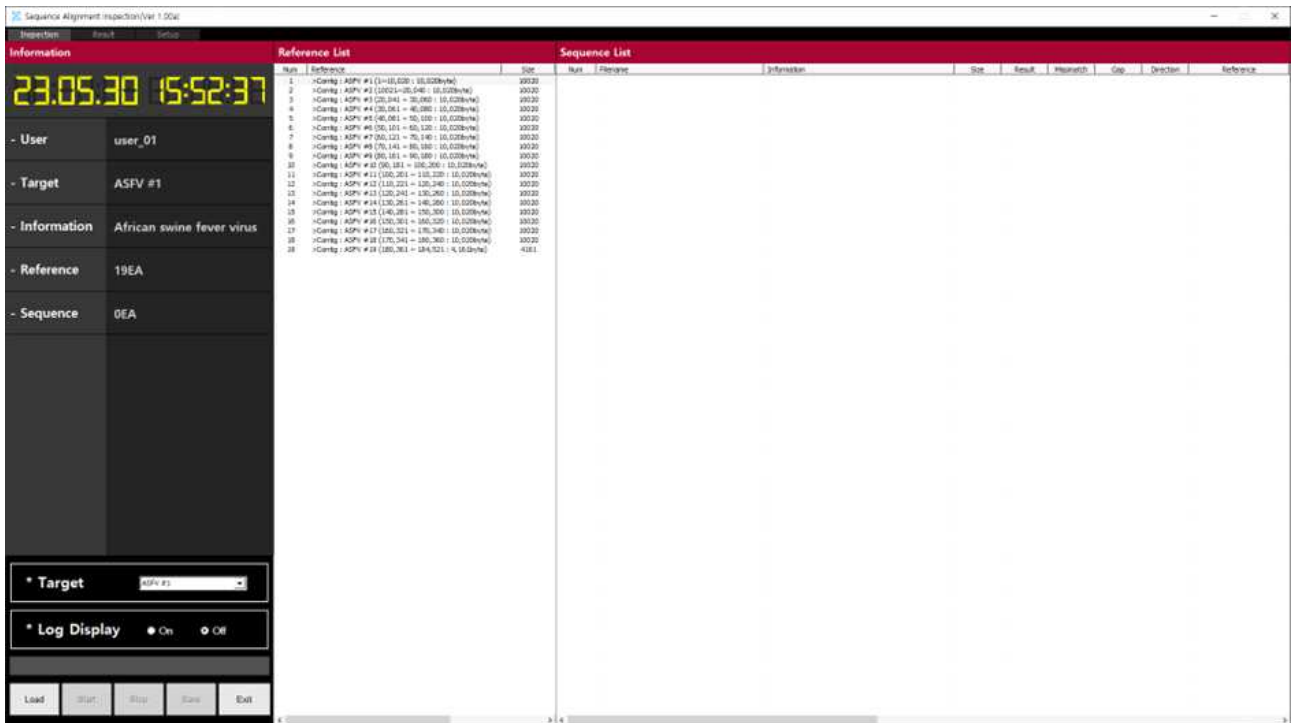
구분	설명
Administrator Mode	관리자 모드로 ‘유전자 분석’ 관련 옵션 및 사용자별 옵션 처리가 가능
User Mode	User 별로 ‘유전자 분석’ 대상 권한 및 서비스 제공
Database Setup Mode	원격 Database 서버에 접속할 수 있는 DB 설정 기능



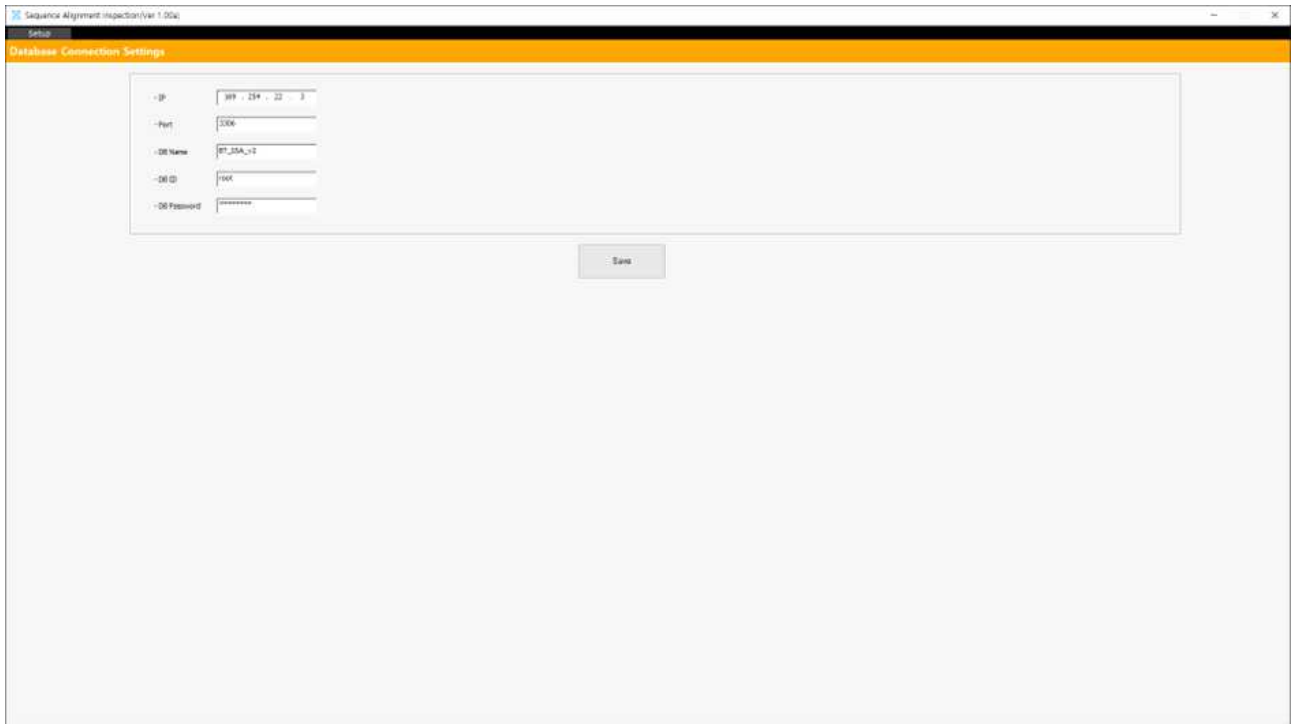
- ‘유전자(NGS) 분석 소프트웨어’ Triple Mode Entrance -



- "Administrator mode" -



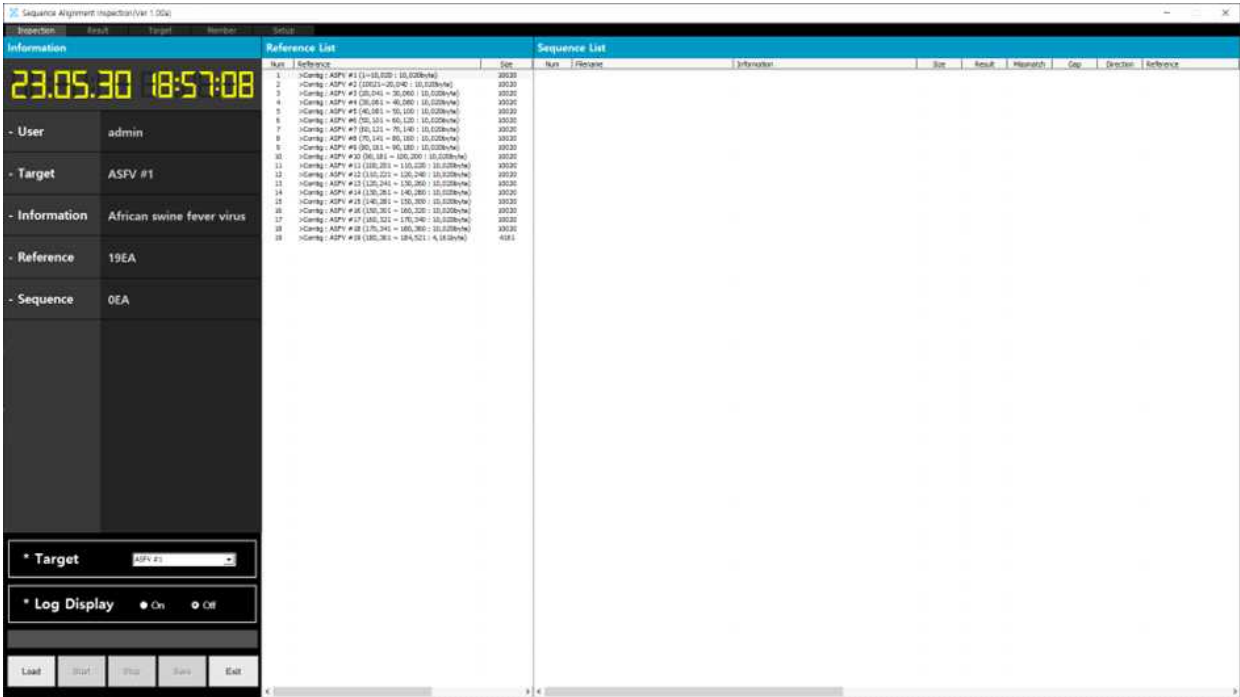
- "User mode" -



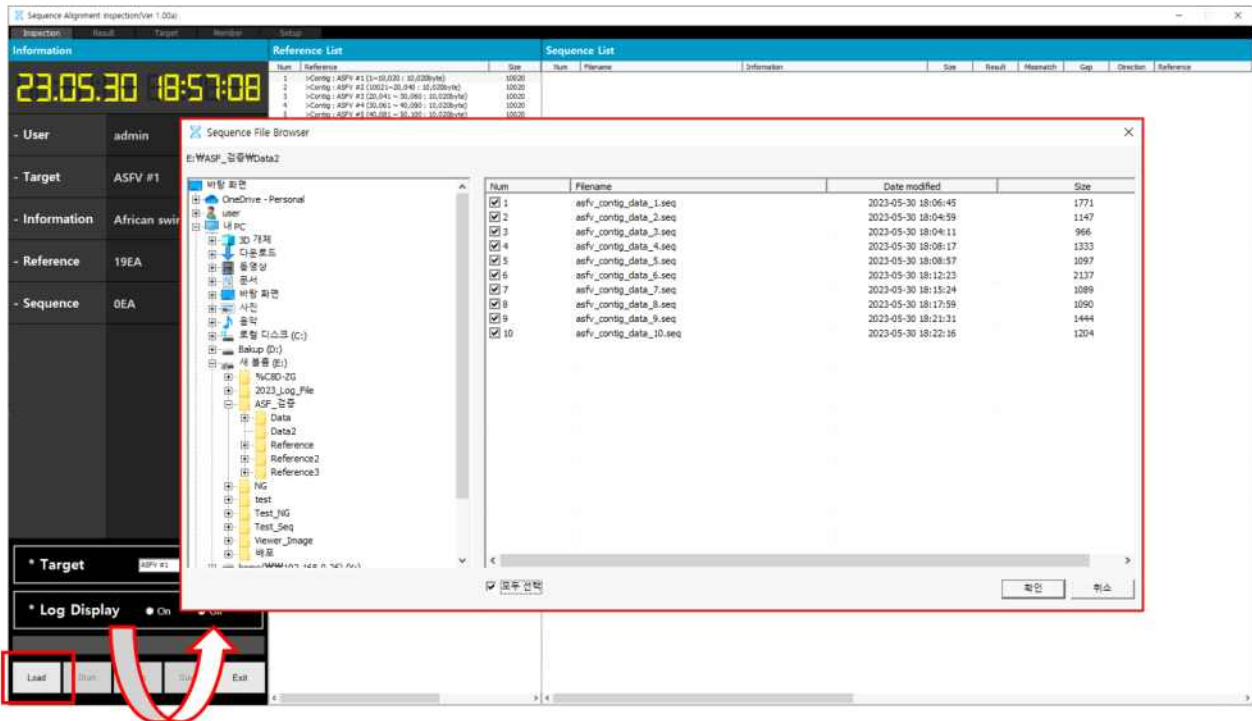
- "Database Setup Mode mode" -

(3) Administrator Mode

① “Sanger Sequencing Data” Align 및 자동 분석



- “Sanger Sequencing Data” 유전체 유형(ASFV) 선택 -



- “Sanger Sequencing Data” Load -

② “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 조회

- 유전체 유전형 선택

- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 일별, 주별, 월별, 분기별 및 기간 조회

Item	Target	Date & Time	Name	Information	Size	Result	Heterozygosity	Cmp	Direction	Reference	Date & Time
1	ADPV #1	2022-03-30 18:03:42	seq_sanger_data_1_snp	<Contig ADPV Test #1 Data	1884	90.29%	0	9	Forward	<Contig ADPV #1 (1-10,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:11
2	ADPV #1	2022-03-30 18:03:42	seq_sanger_data_2_snp	<Contig ADPV Test #2 Data	4378	90.81%	0	18	Forward	<Contig ADPV #1 (10001-20,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:18
3	ADPV #1	2022-03-30 18:18:09	seq_sanger_data_3_snp	<Contig ADPV Test #3 Data	903	90.78%	0	9	Forward	<Contig ADPV #3 (20,041 - 30,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:23
4	ADPV #1	2022-03-30 18:22:38	seq_sanger_data_4_snp	<Contig ADPV Test #4 Data	2288	90.99%	0	22	Forward	<Contig ADPV #4 (30,001 - 40,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:30
5	ADPV #1	2022-03-30 18:23:01	seq_sanger_data_5_snp	<Contig ADPV Test #5 Data	2532	97.67%	0	12	Forward	<Contig ADPV #5 (40,001 - 50,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:34
6	ADPV #1		seq_sanger_data_6_snp	<Contig ADPV Test #6 Data	2028	90.67%	0	18	Forward	<Contig ADPV #6 (50,001 - 60,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:38
7	ADPV #1		seq_sanger_data_7_snp	<Contig ADPV Test #7 Data	4223	90.04%	0	18	Forward	<Contig ADPV #7 (60,001 - 70,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:38
8	ADPV #1		seq_sanger_data_8_snp	<Contig ADPV Test #8 Data	3223	93.36%	0	12	Forward	<Contig ADPV #8 (70,001 - 80,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:38
9	ADPV #1		seq_sanger_data_9_snp	<Contig ADPV Test #9 Data	1389	90.96%	0	6	Forward	<Contig ADPV #9 (80,001 - 90,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:38
10	ADPV #1		seq_sanger_data_10_snp	<Contig ADPV Test #10 Data	1134	97.62%	0	21	Forward	<Contig ADPV #10 (90,001 - 100,000) (0.000000)	2022-03-30 18:28:38

- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 Database 조회-

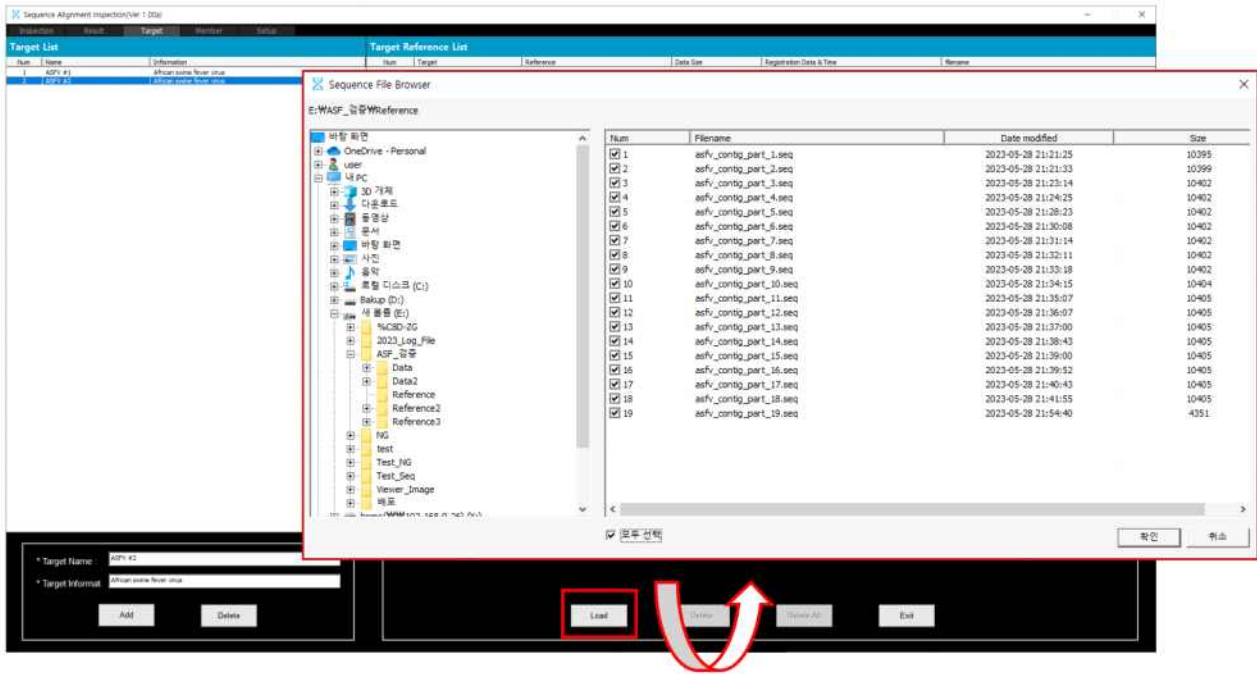
③ ‘유전자(NGS) 분석’ Reference Data 관리

a. 유전체 유전형 등록 및 관리

b. ‘유전자(NGS) 분석’ Reference 등록

Item	Name	Information	Reference	Date Size	Register Date & Time	Remarks
1	ADPV #1	African swine fever virus	<Contig ADPV #1 (10,001-20,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:18	seq_sanger_data_1_snp
2	ADPV #2	African swine fever virus	<Contig ADPV #2 (20,001-30,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:30	seq_sanger_data_2_snp
3	ADPV #1		<Contig ADPV #3 (30,001-40,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:34	seq_sanger_data_3_snp
4	ADPV #1		<Contig ADPV #4 (40,001-50,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_4_snp
5	ADPV #1		<Contig ADPV #5 (50,001-60,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_5_snp
6	ADPV #1		<Contig ADPV #6 (60,001-70,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_6_snp
7	ADPV #1		<Contig ADPV #7 (70,001-80,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_7_snp
8	ADPV #1		<Contig ADPV #8 (80,001-90,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_8_snp
9	ADPV #1		<Contig ADPV #9 (90,001-100,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_9_snp
10	ADPV #1		<Contig ADPV #10 (100,001-110,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_10_snp
11	ADPV #1		<Contig ADPV #11 (110,001-120,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_11_snp
12	ADPV #1		<Contig ADPV #12 (120,001-130,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_12_snp
13	ADPV #1		<Contig ADPV #13 (130,001-140,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_13_snp
14	ADPV #1		<Contig ADPV #14 (140,001-150,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_14_snp
15	ADPV #1		<Contig ADPV #15 (150,001-160,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_15_snp
16	ADPV #1		<Contig ADPV #16 (160,001-170,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_16_snp
17	ADPV #1		<Contig ADPV #17 (170,001-180,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_17_snp
18	ADPV #1		<Contig ADPV #18 (180,001-190,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_18_snp
19	ADPV #1		<Contig ADPV #19 (190,001-200,000) (0.000000)	10,000	2022-03-30 18:28:38	seq_sanger_data_19_snp

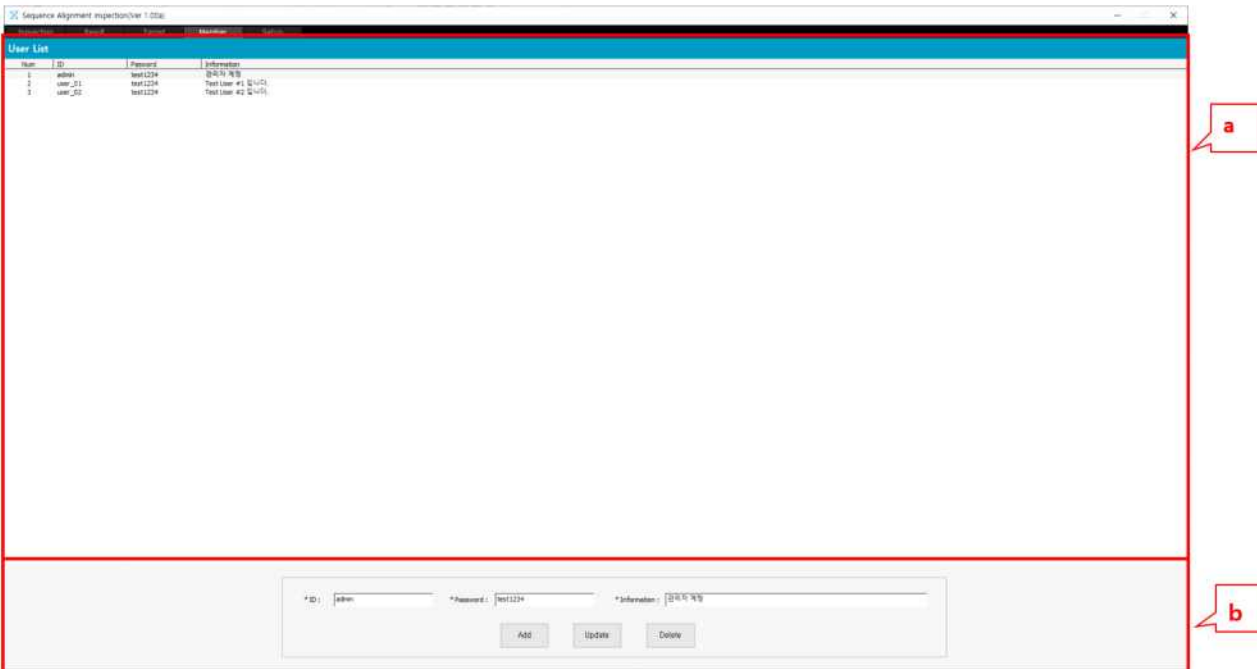
- ‘유전자(NGS) 분석’ Reference 관리 및 Database 조회 -



- '유전자(NGS) 분석' Reference 등록 -

④ 유전자 분석 및 소프트웨어(Sequence Align) 사용자 관리

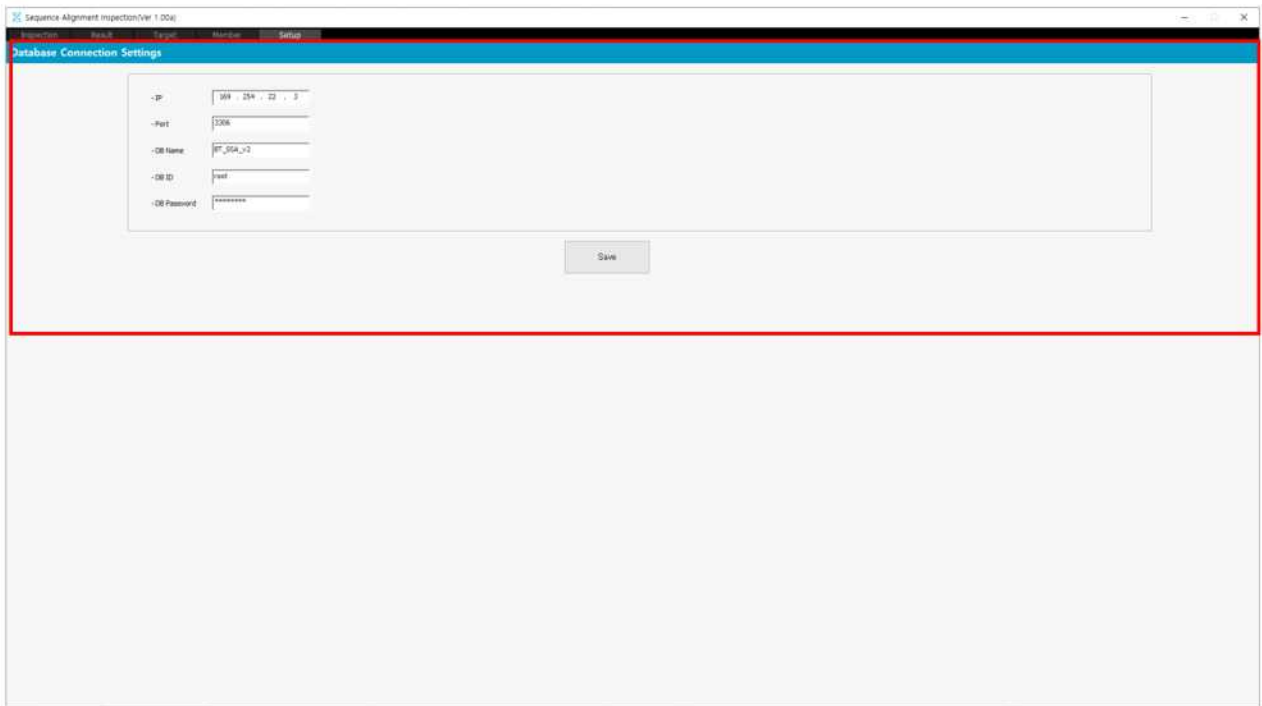
- a. 유전자 분석 및 소프트웨어(Sequence Align) 사용자 리스트 뷰
- b. 유전자 분석 및 소프트웨어(Sequence Align) 사용자 등록, 업데이트, 삭제



- 유전자 분석 및 소프트웨어(Sequence Align) 사용자 관리 -

⑤ 원격 Database 서버 연결 관리

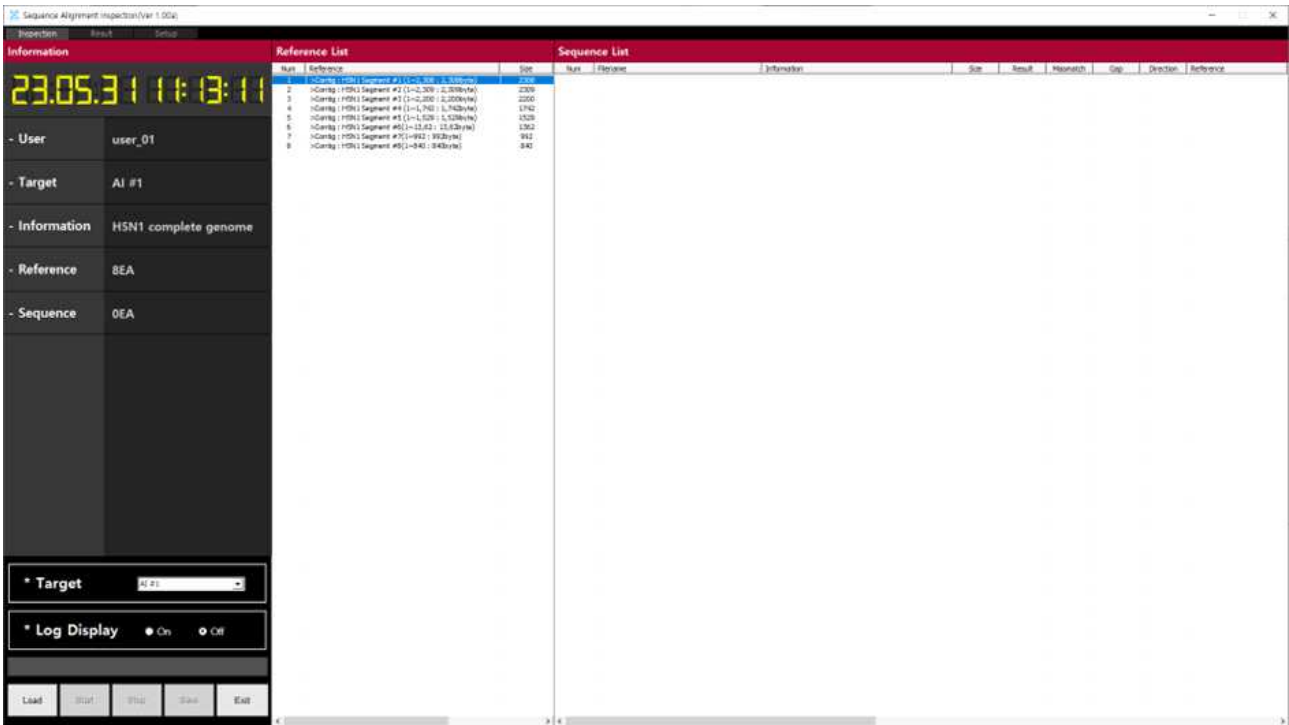
- 원격 Database 서버 IP 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Port 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Name 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database ID 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Password 설정 및 관리



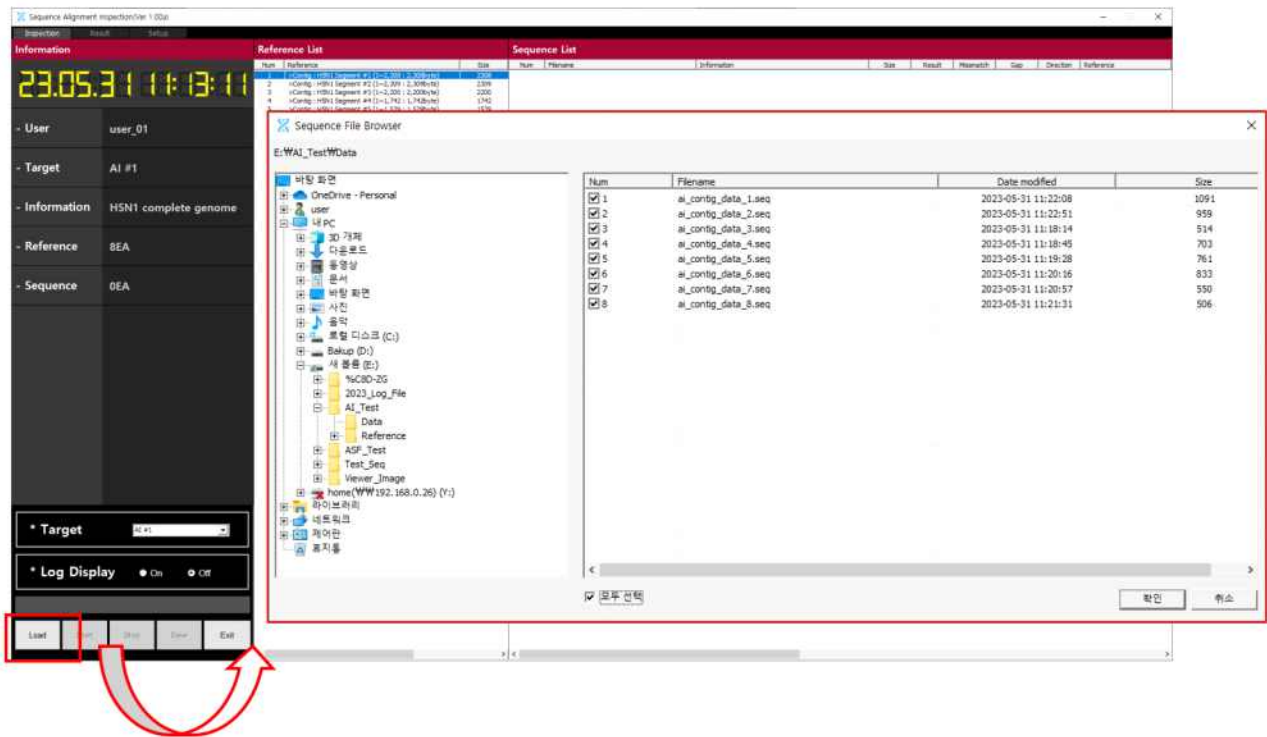
- 원격 Database 서버 연결 관리 -

(4) User Mode

① “Sanger Sequencing Data“ Align 및 자동 분석



- “Sanger Sequencing Data“ 유전체 유형(AI) 선택 -



- “Sanger Sequencing Data“ Load -

Sequence Alignment Inspector (Ver 1.00a)

23.05.31 12:10:59

User: user_01
Target: AI #1
Information: HSN1 complete genome
Reference: SEA
Sequence: SEA

Reference List			Sequence List								
Num	Reference	Size	Num	Filename	Information	Size	Result	Mismatch	Gap	Description	Reference
1	>Contig: HSN1 Segment #1(1-2,308) (2,308byte)	2308	1	a_contig_data_1.seq	>Contig: AI Test Data #1	753	93.30%	7	40	Forward	>Contig: HSN1 Segment #1(1-2,308) (2,308byte)
2	>Contig: HSN1 Segment #2(1-2,309) (2,309byte)	2309	2	a_contig_data_2.seq	>Contig: AI Test Data #2	727	97.77%	6	7	Forward	>Contig: HSN1 Segment #2(1-2,309) (2,309byte)
3	>Contig: HSN1 Segment #3(1-2,310) (2,310byte)	2310	3	a_contig_data_3.seq	>Contig: AI Test Data #3	467	97.88%	4	6	Forward	>Contig: HSN1 Segment #3(1-2,310) (2,310byte)
4	>Contig: HSN1 Segment #4(1-1,742) (1,742byte)	1742	4	a_contig_data_4.seq	>Contig: AI Test Data #4	653	97.29%	5	13	Forward	>Contig: HSN1 Segment #4(1-1,742) (1,742byte)
5	>Contig: HSN1 Segment #5(1-1,520) (1,520byte)	1520	5	a_contig_data_5.seq	>Contig: AI Test Data #5	709	96.40%	2	6	Forward	>Contig: HSN1 Segment #5(1-1,520) (1,520byte)
6	>Contig: HSN1 Segment #6(1-1,142) (1,142byte)	1142	6	a_contig_data_6.seq	>Contig: AI Test Data #6	779	97.04%	1	18	Forward	>Contig: HSN1 Segment #6(1-1,142) (1,142byte)
7	>Contig: HSN1 Segment #7(1-902) (902byte)	902	7	a_contig_data_7.seq	>Contig: AI Test Data #7	811	95.42%	2	20	Forward	>Contig: HSN1 Segment #7(1-902) (902byte)
8	>Contig: HSN1 Segment #8(1-840) (840byte)	840	8	a_contig_data_8.seq	>Contig: AI Test Data #8	463	95.22%	3	18	Forward	>Contig: HSN1 Segment #8(1-840) (840byte)

Log

```

// Sequencing Alignment Report
// 1. Target : AI #1
// 2. Reference : >Contig : HSN1 Segment #8(1-840) (840Byte)
//   - Data : scaaaacataatggattccaacactgtgtcaagttttcagtagactgcttcttttggcattccgcaaacgatttcgacagcaaacctgggtgatgccccattctctgacoggttcggcagatcagagtc
// 3. Sequence Data : ai_contig_data_8.seq(463Byte)
//   - Information : >Contig : AI Test Data #8
//   - Data : tcgggaaacagatagtgagcggattttgatgagaaactgtggcacttaaaatgcoagacttcacctaactgaatgacttcgagagatgtcaagagactgttctatgctatgcccacagaaa
// 4. Result
//   - Filename : ai_contig_data_8.seq
//   - Sequence Size : 463Byte
//   - Percent Match : 95.240%
//   - Mismatch : SEA
//   - Mismatch Location : 189,192,194
//   - Gap : 19EA
//   - Gap Location : 234,235,448,649,650,651,652,653,655,657,659,660,661,662,663,664,665,667,669
//   - Sequence Sync Location : 189

```

- "Sanger Sequencing Data" Align 및 자동 분석 #1-

Sequence Alignment Inspector (Ver 1.00a)

23.05.31 12:09:57

User: user_01
Target: AI #1
Information: HSN1 complete genome
Reference: SEA
Sequence: SEA

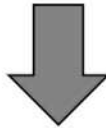
Reference List			Sequence List								
Num	Reference	Size	Num	Filename	Information	Size	Result	Mismatch	Gap	Description	Reference
1	>Contig: HSN1 Segment #1(1-2,308) (2,308byte)	2308	1	a_contig_data_1.seq	>Contig: AI Test Data #1	753	93.30%	7	40	Forward	>Contig: HSN1 Segment #1(1-2,308) (2,308byte)
2	>Contig: HSN1 Segment #2(1-2,309) (2,309byte)	2309	2	a_contig_data_2.seq	>Contig: AI Test Data #2	727	97.77%	6	7	Forward	>Contig: HSN1 Segment #2(1-2,309) (2,309byte)
3	>Contig: HSN1 Segment #3(1-2,310) (2,310byte)	2310	3	a_contig_data_3.seq	>Contig: AI Test Data #3	467	97.88%	4	6	Forward	>Contig: HSN1 Segment #3(1-2,310) (2,310byte)
4	>Contig: HSN1 Segment #4(1-1,742) (1,742byte)	1742	4	a_contig_data_4.seq	>Contig: AI Test Data #4	653	97.29%	5	13	Forward	>Contig: HSN1 Segment #4(1-1,742) (1,742byte)
5	>Contig: HSN1 Segment #5(1-1,520) (1,520byte)	1520	5	a_contig_data_5.seq	>Contig: AI Test Data #5	709	96.40%	2	6	Forward	>Contig: HSN1 Segment #5(1-1,520) (1,520byte)
6	>Contig: HSN1 Segment #6(1-1,142) (1,142byte)	1142	6	a_contig_data_6.seq	>Contig: AI Test Data #6	779	97.04%	1	18	Forward	>Contig: HSN1 Segment #6(1-1,142) (1,142byte)
7	>Contig: HSN1 Segment #7(1-902) (902byte)	902	7	a_contig_data_7.seq	>Contig: AI Test Data #7	811	95.42%	2	20	Forward	>Contig: HSN1 Segment #7(1-902) (902byte)
8	>Contig: HSN1 Segment #8(1-840) (840byte)	840	8	a_contig_data_8.seq	>Contig: AI Test Data #8	463	95.22%	3	18	Forward	>Contig: HSN1 Segment #8(1-840) (840byte)

- "Sanger Sequencing Data" Align 및 자동 분석 #2-

② “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 조회

- 유전체 유전형 선택
- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 일별, 주별, 월별, 분기별 및 기간 조회

The screenshot shows the 'Sequence Alignment Inspector' application. The main window is divided into two panes. The left pane is titled 'Inspection List' and is currently empty. The right pane is titled 'Inspection Case List' and also contains no data. Below the panes is a search control panel with a 'Target' dropdown menu, date and time selection fields, radio buttons for 'Today', 'Week', '30 Days', and '90 Days', and 'Search', 'Delete', and 'Exit' buttons.

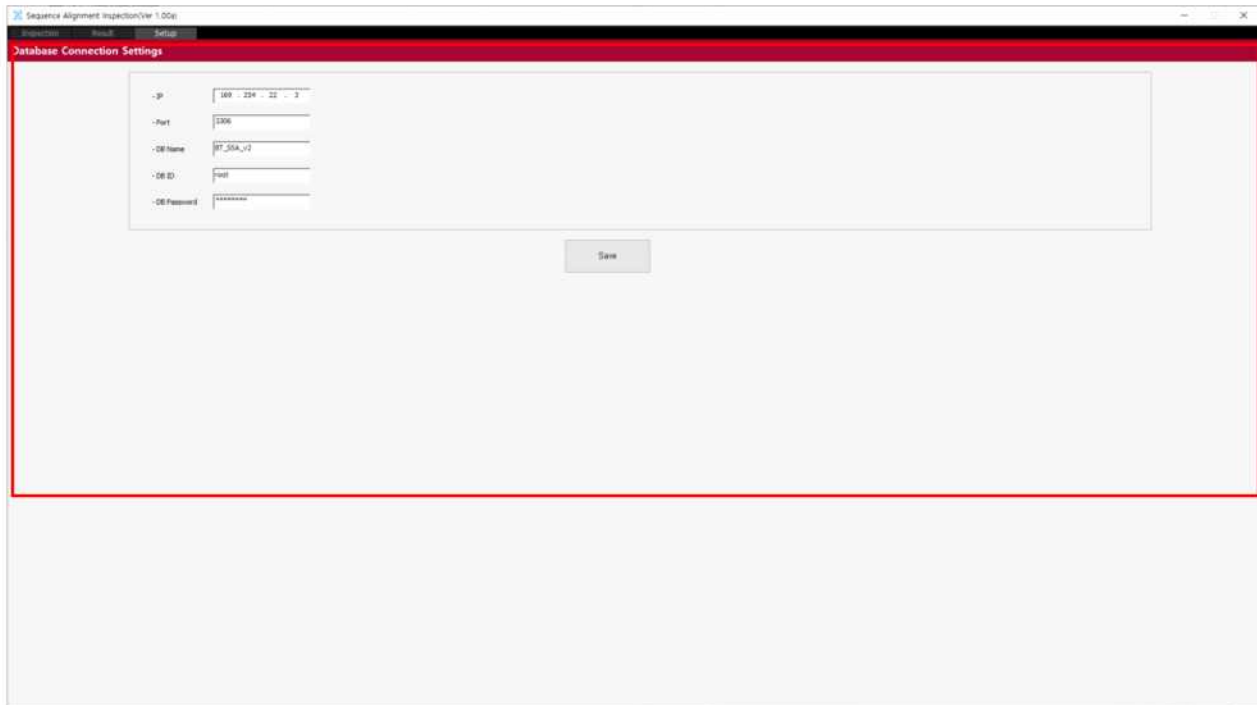


The screenshot shows the same software interface after a search. The 'Inspection Case List' table is now populated with data. The search control panel at the bottom remains the same.

Num	Filename	Information	Size	Covgt	Homoth	Gap	Direction	Reference	Date & Time	Sequence File
1	*_sanger_data_1_sam	>Contig: All Test Data #1	793	93.36%	3	40	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:03	E:\WAZ_Test*
2	*_sanger_data_2_sam	>Contig: All Test Data #2	717	93.77%	8	7	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:09	E:\WAZ_Test*
3	*_sanger_data_3_sam	>Contig: All Test Data #3	463	92.86%	4	4	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:09	E:\WAZ_Test*
4	*_sanger_data_4_sam	>Contig: All Test Data #4	633	92.2%	3	13	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:09	E:\WAZ_Test*
5	*_sanger_data_5_sam	>Contig: All Test Data #5	359	88.49%	2	9	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:09	E:\WAZ_Test*
6	*_sanger_data_6_sam	>Contig: All Test Data #6	776	92.04%	5	18	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:11	E:\WAZ_Test*
7	*_sanger_data_7_sam	>Contig: All Test Data #7	301	93.42%	3	20	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:11	E:\WAZ_Test*
8	*_sanger_data_8_sam	>Contig: All Test Data #8	463	93.25%	3	15	Forward	>Contig: contig1 Segment...	2022-05-31 12:09:12	E:\WAZ_Test*

③ 원격 Database 서버 연결 관리

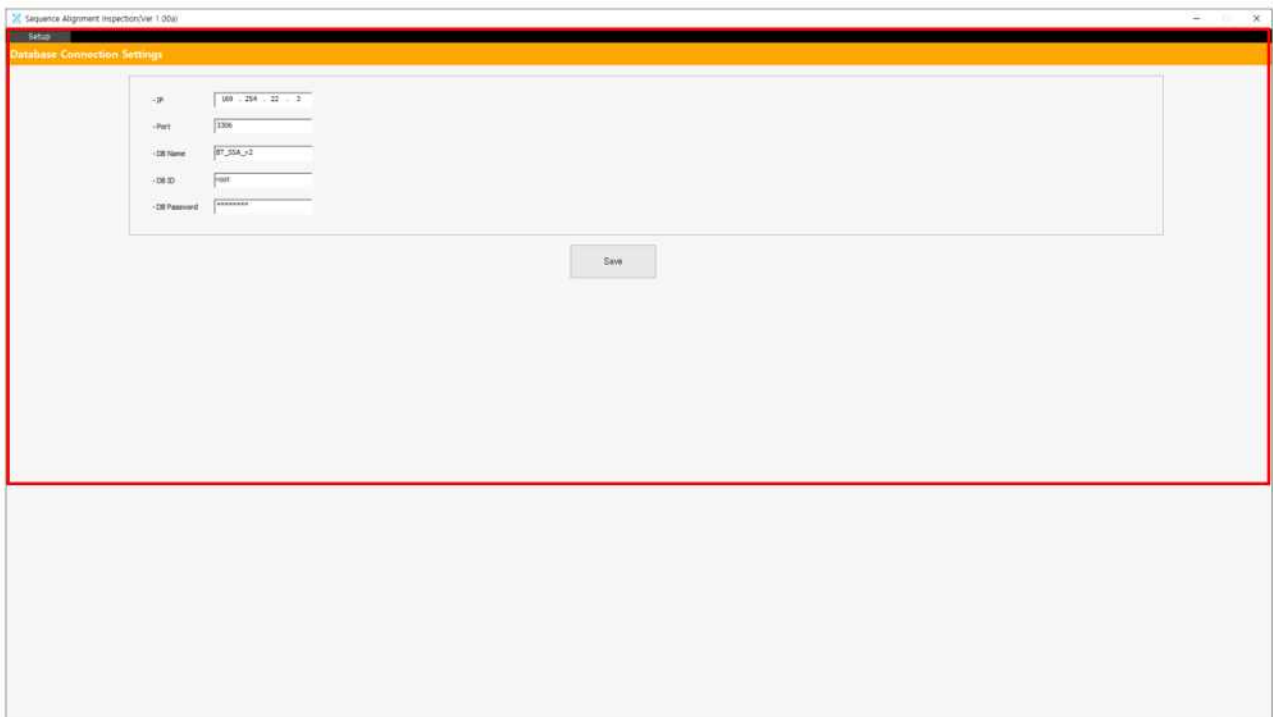
- 원격 Database 서버 IP 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Port 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Name 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database ID 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Password 설정 및 관리



(5) User Mode

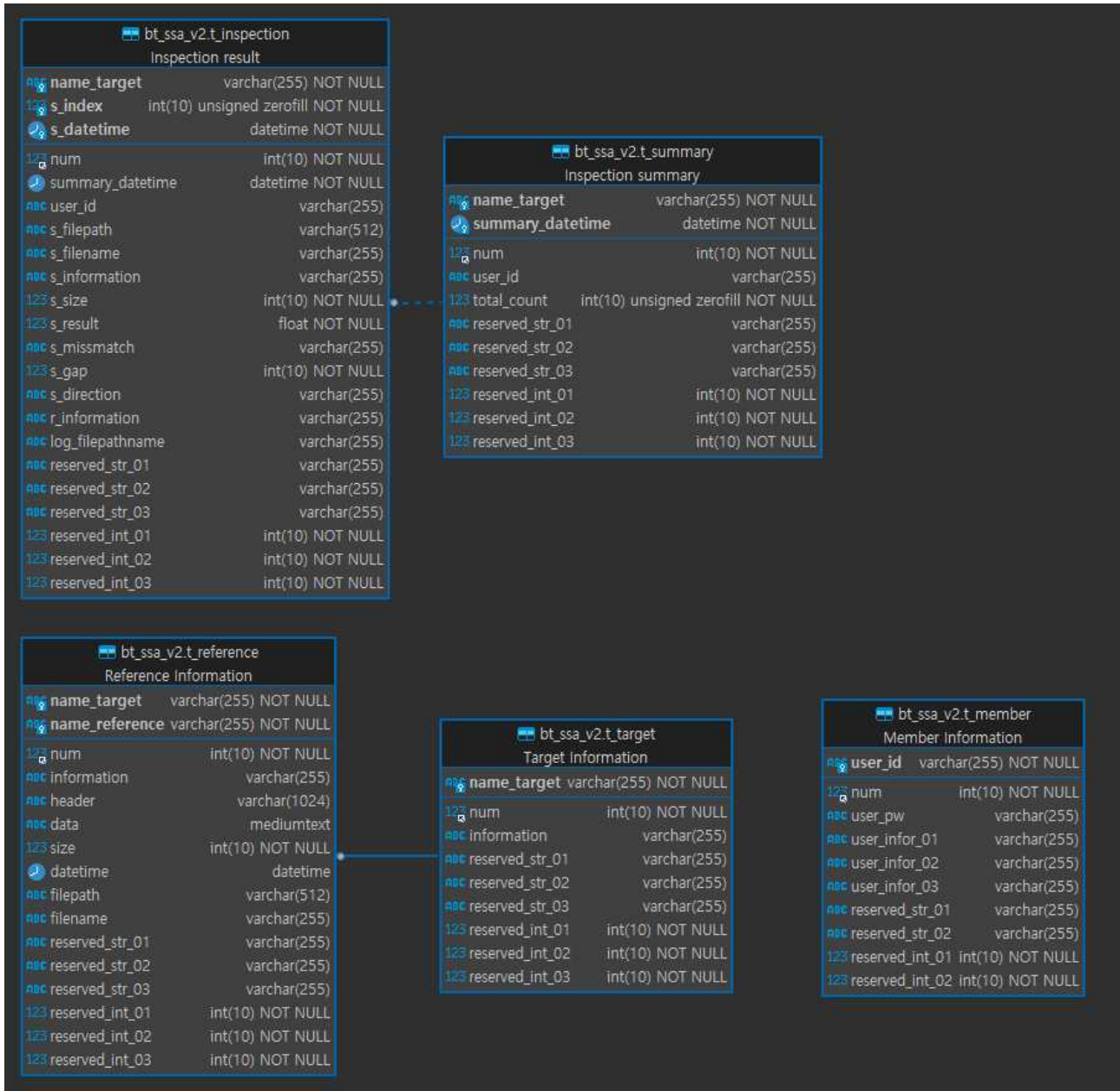
① 원격 Database 서버 연결 관리

- 원격 Database 서버 IP 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Port 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Name 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database ID 설정 및 관리
- 원격 Database 서버 Database Password 설정 및 관리



- “Database Setup Mode mode” -

나. 유전자 분석 Database 설계 및 구축



- 유전자 분석 Database ERD(Entity Relationship Diagram) -

1) member table

```
/*=====*/
/* Table 't_member' */
/*=====*/
CREATE TABLE IF NOT EXISTS `t_member` (
  `num` int(10) NOT NULL AUTO_INCREMENT, /* 1.Number : 자동증가 */
  `user_id` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 2.User ID*/
  `user_pw` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 3.User Password*/
  `user_infor_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 4.User Information #1 */
  `user_infor_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 5.User Information #2 */
  `user_infor_03` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 6.User Information #3 */
  `reserved_str_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 7.string type reserved filed #1*/
  `reserved_str_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 8.string type reserved filed #2*/
  `reserved_int_01` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 9.string type reserved filed #1*/
  `reserved_int_02` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 10.string type reserved filed #2*/
  PRIMARY KEY (user_id),
  KEY `num` (`num`)
) ENGINE=InnoDB AUTO_INCREMENT=1 DEFAULT CHARSET=utf8mb4 COMMENT='Member Information';
```

2) target table

```
/*=====*/
/* Table 't_target' */
/*=====*/
CREATE TABLE IF NOT EXISTS `t_target` (
  `num` int(10) NOT NULL AUTO_INCREMENT, /* 1.Number : 자동증가 */
  `name_target` varchar(255) NOT NULL, /* 2.Target Name*/
  `information` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 3.Inforation */
  `reserved_str_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 4.string type reserved filed #1*/
  `reserved_str_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 5.string type reserved filed #2*/
  `reserved_str_03` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 6.string type reserved filed #3*/
  `reserved_int_01` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 7.int type reserved filed #1*/
  `reserved_int_02` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 8.int type reserved filed #2*/
  `reserved_int_03` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 9.int type reserved filed #3*/
  PRIMARY KEY (name_target),
  KEY `num` (`num`)
) ENGINE=InnoDB AUTO_INCREMENT=1 DEFAULT CHARSET=utf8mb4 COMMENT='Target Information';
```

3) reference table

```
/*=====*/
/* Table 't_reference' */
/*=====*/
CREATE TABLE IF NOT EXISTS `t_reference` (
  `num` int(10) NOT NULL AUTO_INCREMENT, /* 1.Number : 자동증가 */
  `name_target` varchar(255) NOT NULL, /* 2.Target Name */
  `name_reference` varchar(255) NOT NULL, /* 3.Reference Name */
  `information` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 4.Inforation */
  `header` varchar(1024) DEFAULT NULL, /* 5.seq file header : Max 1024 byte(1Kbyte)*/
  `data` TEXT(40960) DEFAULT NULL, /* 6.seq file sequence Data : Max 40960 byte(40Kbyte)*/
  `size` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 7.seq file sequence Data Size */
  `datetime` datetime DEFAULT NULL, /* 8.Target Reference 등록시간*/
  `filepath` varchar(512) DEFAULT NULL, /* 9.Target Reference 등록시간*/
  `filename` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 10.Target Reference 등록시간*/
  `reserved_str_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 11.string type reserved filed #1*/
  `reserved_str_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 12.string type reserved filed #2*/
  `reserved_str_03` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 13.string type reserved filed #3*/
  `reserved_int_01` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 14.int type reserved filed #1*/
  `reserved_int_02` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 15.int type reserved filed #2*/
  `reserved_int_03` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 16.int type reserved filed #3*/
  PRIMARY KEY (name_target, name_reference),
  KEY `num` (`num`),
  FOREIGN KEY (`name_target`) REFERENCES `t_target` (`name_target`) ON DELETE CASCADE ON UPDATE CASCADE
) ENGINE=InnoDB AUTO_INCREMENT=1 DEFAULT CHARSET=utf8mb4 COMMENT='Reference Information';
```

4) inspection table

```

/*=====*/
/* Table 't_inspection' */
/*=====*/
CREATE TABLE IF NOT EXISTS `t_inspection` (
  `num` int(10) NOT NULL AUTO_INCREMENT, /* 1.Number : 자동증가 */
  `name_target` varchar(255) NOT NULL, /* 2.Target Name */
  `summary_datetime` datetime NOT NULL, /* 3.t_summary기준 검사시간) */
  `user_id` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 4.User ID */
  `s_index` int(10) unsigned zerofill NOT NULL, /* 5.sequence Index*/
  `s_datetime` datetime NOT NULL, /* 6.sequence 검사시간 */
  `s_filepath` varchar(512) DEFAULT NULL, /* 7.sequence 파일경로*/
  `s_filename` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 8.sequence 파일명*/
  `s_information` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 9.sequence 파일헤더 정보*/
  `s_size` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 10.sequence Size */
  `s_result` float NOT NULL DEFAULT 0, /* 11.결과 (%) */
  `s_mismatch` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 12.Mismatch */
  `s_gap` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 13.Gap */
  `s_direction` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 14.Direction */
  `r_information` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 15.Reference 파일헤더 정보*/
  `log_filepathname` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 16.sequence 파일명*/
  `reserved_str_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 17.string type reserved filed #1*/
  `reserved_str_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 18.string type reserved filed #2*/
  `reserved_str_03` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 19.string type reserved filed #3*/
  `reserved_int_01` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 20.int type reserved filed #1*/
  `reserved_int_02` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 21.int type reserved filed #2*/
  `reserved_int_03` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 22.int type reserved filed #3*/
  PRIMARY KEY (`name_target`, `s_datetime`, `s_index`),
  KEY `num` (`num`),
  FOREIGN KEY (`name_target`, `summary_datetime`) REFERENCES `t_summary` (`name_target`, `summary_datetime`)
  ON DELETE CASCADE ON UPDATE CASCADE
) ENGINE=InnoDB AUTO_INCREMENT=1 DEFAULT CHARSET=utf8mb4 COMMENT='Inspection result';

```

5) summary table

```

/*=====*/
/* Table 't_summary' */
/*=====*/
/* Update : 23.05.25
/* 검사 결과 요약 */
/*=====*/
CREATE TABLE IF NOT EXISTS `t_summary` (
  `num` int(10) NOT NULL AUTO_INCREMENT, /* 1.Number : 자동증가 */
  `name_target` varchar(255) NOT NULL, /* 2.Target Name */
  `summary_datetime` datetime NOT NULL, /* 3.t_summary기준 검사시간) */
  `user_id` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 4.User ID */
  `total_count` int(10) unsigned zerofill NOT NULL DEFAULT 0, /* 5.검사수량 */
  `reserved_str_01` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 6.string type reserved filed #1*/
  `reserved_str_02` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 7.string type reserved filed #2*/
  `reserved_str_03` varchar(255) DEFAULT NULL, /* 8.string type reserved filed #3*/
  `reserved_int_01` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 9.string type reserved filed #1*/
  `reserved_int_02` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 10.string type reserved filed #2*/
  `reserved_int_03` int(10) NOT NULL DEFAULT 0, /* 11.string type reserved filed #3*/
  PRIMARY KEY (name_target, summary_datetime),
  KEY `num` (`num`)
) ENGINE=InnoDB AUTO_INCREMENT=1 DEFAULT CHARSET=utf8mb4 COMMENT='Inspection summary';

```


1) FrontAlign Engine

FrontAlign 알고리즘은 주로 염기서열의 전반부를 처리하며, 시퀀스의 시작 부분에서 Asfv 및 Ai 유전자 NGS Data Alignment 및 자동 분석함.

```
1      10      20      30      40      |
.....|.....|.....|.....|.....|
gcgggaaaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgatga
tcgcgaaaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgat--
* Front Sync Index = 4/6
- Low Score : Gap + Mismatch = 5
- Front check Len = 6
- Max = 39
- index = 44
- Gap = 2
- Gap.top = 0
- Gap.bottom = 2
- Mismatch = 3
- Match = 42

1      10      20      30      40      |
.....|.....|.....|.....|.....|
-cgggaaaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgatga
tcgcgaaaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgat--
* Front Sync Index = 5/6
- Low Score : Gap + Mismatch = 5
- Front check Len = 6
- Max = 39
- index = 44
- Gap = 3
- Gap.top = 1
- Gap.bottom = 2
- Mismatch = 2
- Match = 42
```

- FrontAlign Engine 동작 결과 -

2) CoreAlign Engine

CoreAlign 알고리즘은 주로 염기서열의 중반부를 처리하며, 시퀀스의 중심부에서 복잡한 패턴 및 긴 서열 정렬을 처리하며, Asfv 및 Ai 유전자 NGS Data Alignment 및 자동 분석함.

```
//=====
// Find Body Sync Sequence
//=====
- Seek loop count = 1
- Sync Step = 50
- Sync Max = 306
- Sync Start Pos = 184
- Front Gap Total Count = 140
- Front Gap First Count = 134
- Loop Count(Front Gap Total - Gap First Count) = 6
- Front Mismatch Count = 0
- Front Match Count = 45

1      10      20      30      40      50      60      70      80      90
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
tttctttggcatgtccgcaaacgatttcagaccaagaactgggtgatgccccattccttgaccggcttcgccgagatcagaagtcctaag
-----

1      10      20      30      40      50      |
.....|.....|.....|.....|.....|
tcgtgcgggaaaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgatga
tc--gc-gg-aaacagatagtgaggcggattcttgatgaggaaacctgat--
```

- CoreAlign Engine 동작 결과 -

3) EndAlign Engine

EndAlign 알고리즘은 주로 염기서열의 후반부를 처리하며, 시퀀스의 끝 부분에서 Asfv 및 Ai 유전자 NGS Data Alignment 및 자동 분석함.

```

- Gap.top = 0
- Gap.bottom = 27
- Mismatch = 0
- Match = 16

1      10      20      30      40      |
.....|.....|.....|.....|.....|
ccctccaaatcagaaacggaactggcgagagcaattgagtc
--c-cc---tc-----c--aaa-t--c---g-aa---a--c

* End Sync Loop Index = 23/27
- Low Score : Gap + Mismatch = 26
- Gap = 26
- Gap.top = 0
- Gap.bottom = 26
- Mismatch = 0
- Match = 16

1      10      20      30      40      |
.....|.....|.....|.....|.....|
ccctccaaatcagaaacggaactggcgagagcaattgagtc
ccctccaaat-----c-g--a-----a-a-c-----

* End Sync Loop Index = 24/27
- Low Score : Gap + Mismatch = 25
- Gap = 25
- Gap.top = 0
- Gap.bottom = 25
- Mismatch = 0
- Match = 16

```

- EndAlign Engine 동작 결과 -

```

1      10      20      30      |
.....|.....|.....|.....|
ccctccaaatcagaaacggaactggcgagagcaattg
ccctccaaat-----c-g--a-----a-a-c-----

* End Sync Loop Index = 27/27
- Low Score : Gap + Mismatch = 22
- Gap = 22
- Gap.top = 0
- Gap.bottom = 22
- Mismatch = 0
- Match = 16

=====
// * Result : End Sync
=====
- Low Score = 22
- Low Score Count = 1
- Find End Sync = 26
>> low score count = 1

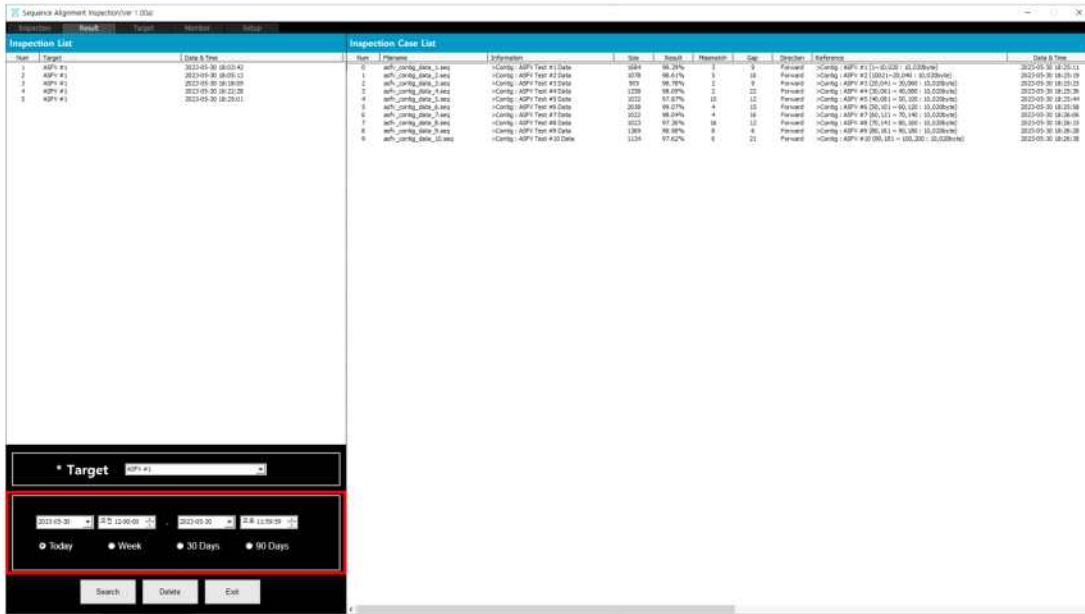
seq1_reassemble_part1 = acaaaaaacataatggattccaacactgtgtcaagttttcaggtagactgctttctttggcatgtccgcaaacgattgcagaccaagaa
seq1_reassemble_part2 = gcggaacacagatagtgagcggattcttgatgaggaacctgatgaggcacttaaatgccgacttcacgctacctaacgaaatgac
seq1_reassemble_part3 = ccctccaaatcagaaacggaactggcgagagcaattgagtcagaagtttgaagaataagggtggctgattgaagaagtacgacataga
seq2_reassemble_part1 =
seq2_reassemble_part2 = tcggaacacagatagtgagcggattcttgatgaggaacctgat--ggcacttaaatgccgacttcacgctacctaacgaaatgac
seq2_reassemble_part3 = ccctccaaat-----c-g--a-----a-a-c

```

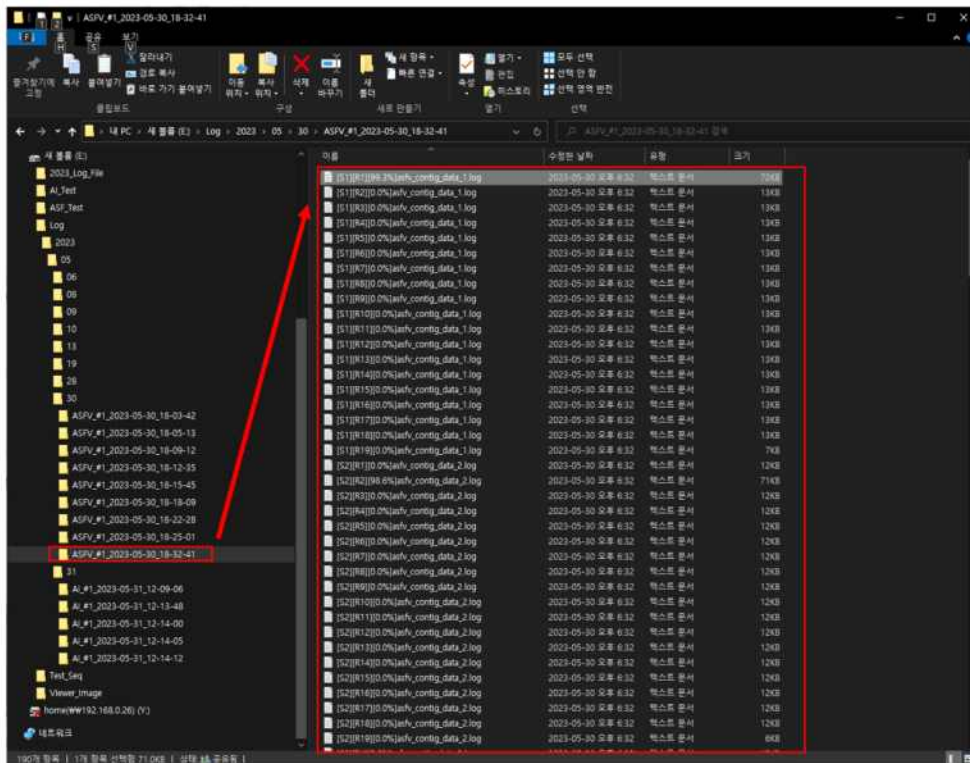
- EndAlign Engine 동작 결과 및 FrontAlign,CoreAlign, EndAlign Sequence Alignment 결과 -

② “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 조회

- 유전체 유전형 선택
- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 일별, 주별, 월별, 분기별 및 기간 조회



- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 Database 조회 -



- “Sanger Sequencing Data“ Align 결과 Log 파일 조회 -

II . ASFV 유전자 NGS, Data 분석

1) ASFV Reference Sanger Sequencing Data 출처

구분	세부설명	비고
NCBI GenBank	https://www.ncbi.nlm.nih.gov	
ASFV Sanger Sequencing Data	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/ASFV_Sanger_Sequencing_Data	African swine fever virus isolate
Size	188,585	Korea/PC1432/2021
JOURNAL Submitted	(22-JUN-2023) response, National Institute of Wildlife Disease and Prevention, 1 Songam-gil, Gwangsan-gu 62407, Gwangju 62407, Republic of Korea	genomic sequence GenBank: OR180305.1

2) African swine fever virus isolate Korea/PC1432/2021 genomic sequence ORIGIN / GenBank: OR180305.1

1	gaccaatcca	tgctgcact	taaaaatc	aaaaaaagt	taagtttgg	gccggcgtta
61	aaatttaaac	cttttctggt	tgatctttag	ccatgtatag	ctgcatggt	tggtgcctta
121	tctacatgct	attggcattc	ctgatattcg	cactaaagt	ctatgttaca	accgtcttat
181	gcgtgatttt	tatccacctt	attggccgaa	gggcccgtt	gtatttctg	ttaggtggtt
241	tgcccgattt	ctactgggtg	caagcagcta	tcaataaaat	ttaatggctc	tcacttaaga
301	tccttgctgt	aagcggcgt	ttacatactt	tgatcaagaa	aaaaaattat	tttggaccc
361	cccccccatg	ttttatacaa	aaatcatata	ataaagtggc	gacaaatcaac	atattaatca
421	accacagcat	tttatgatgt	gtaaatcaac	atataccata	ttaatcaacc	acagcatttt
481	atgatgctc	aatcaacata	ttattacgga	gagcgtcaat	caatataata	ttgagaacag
541	cgacttgata	cogtgtatgg	tggtggcggc	ggcatgtgt	ttgtaacagc	attttcatc
601	attcgaagct	tacaaaagat	atgtataaga	tagcatatta	atgttattaa	cagtaatac
661	aataaggcgt	agctatagat	cttcactttg	gtagaccaat	aatccatggt	tgccgttaaa
721	aataccaaaa	aaacattaag	ttttggaggg	taagattggt	ttttcaccat	tggtaaagat
781	tattattcta	aatgtttacc	ccatagatgt	gaaacaatga	ttcttcatat	attaacatat
841	tttttgactt	atacttttct	tcaatctagta	aggcgttaat	tttttccgga	tctgtcgttt
901	ttatgataa	aagagaagag	tctggactgt	aatttttaa	taataagata	tttattaata
961	tcaaattatt	cgtttggctc	gctatttcca	tgctctcttc	gaaagcatca	gctcctaact
1021	ctatacaaa	gaataagtta	ccttcacaaa	aattcattac	cgaggtaatc	attgcccgat
1081	taatgtcagc	ccccaacata	aaacaataat	ataatgtgt	ataattacaa	tcatatatac
1141	aggccaactg	catcatttca	tcaatgtcta	tatttgcctt	ctctttgta	taaaattcat
1201	gaaggtcaaa	gacgttgtta	taagcaaccc	cacatatata	ccgccaatct	ttaaaatgac
1261	tatatcgttg	ataaaaat	atggatggctt	cagtaagctt	atatagtatc	gccatactat
1321	accaatactt	agttagcatt	tcgttgaatg	aaatattatc	caatgtaaag	ttaattgata
1381	atgtatctag	ttcaccacaaa	attcttaatt	tcagttgagc	atattttagg	aaaaggggat
1441	tatcagataa	taattactgg	catagaataa	tattactgct	agttttaaca	tactgtacat
1501	tataaaaat	ttctaaaatt	ttattttcac	tcaaagcttt	cctcgcacct	aacttttggc
1561	ataggtcctg	gtgcaactcca	tattgacagt	aaccaaccca	aagctgatgt	ctgcacccca
1621	ttcggtaaac	agctctatta	aaccatgatt	gttttccctg	acagccttca	ttaatgcaac
1681	atttaatggt	aaacatggtt	taaaacttgc	tgtttttatt	aatatttgtt	catctatata
1741	agtatgataa	atcgtaattg	gggcttcatg	ccaccacaaa	ccacaacgct	ctaaaatata
1801	ataatcatct	tttaacacag	gctgtgtagc	tagtactttt	ttagtaagtg	cttgtaaagt
1861	agatggcatc	ttctatctgc	aaaataatta	tttccgaaaa	aaaaatcaaa	ttaaaatact
1921	aaattctatt	ttttttttaa	taaagcctgt	aaattatata	ataaatctog	cccaccgtat
1981	tatttccgga	cacaactttt	tatacctcat	tatatttta	gatctatagt	tttttaacaa
2041	ggcattaatt	ttttctggat	ctgtcgtttt	taaagataaa	agagagacgt	ttgaactata
2101	ataatcttta	aatgataata	tttctactaa	tatatcatga	ttcttttgtt	ttgctaattc
2161	taagctctct	tcgaaagcat	tagctcctaa	atctatacaa	aagaacaagt	tattcatata
2221	aaagtttttt	accgaggtaa	ccattgcccg	attgatgtca	gcccccaata	caaaacaata
2281	gtaaatgggt	aaaaaattgc	tatctctcat	acaggccaga	tatatcattt	catcaatatt
2341	catatacaac	ttttttatat	gatacatttc	atgaagatca	gacacgttat	taaaagaaag
2401	cccacatatt	agccgccaat	ctttaaaatg	actatatcgt	tgataaaaa	attggatggc
2461	ttcagtaagc	ttacatagta	tcgctatact	ataccaatat	ctagttagca	tttcgttgaa
2521	tgttatttca	ttcaatataa	agttgatcga	tatcttctct	agaaaacaac	aaattattac
2581	ttttaattcc	tctataattc	ggaaaagggg	attatttagat	aacaatttat	ggcataaaat
2641	aatattacta	ctagttttta	tacgatgtat	tttataaaat	atttgtacaa	tatccatttc
2701	attcaaaatt	tttgcgccta	actcccggca	gaaattccaa	gtatgctcog	tattgacagt
2761	gactaagcta	gagttgatgt	ctgcacccca	ttcagtaaac	aactctatta	gatcatagtt

2821 gttttcctgc acagttttca ttaatgcgag atttaactct aaaccatctt taaaaatgc
2881 tgatittatc atcaattgat taacctcatt agtagaaagc ataattggag ctccatgcca
2941 ccacaaacca caatatttca aaataaagta gtgttcttta gatatgtgct gtgtggccag
3001 tattttttta gcaagagocct gcagagaaat tggagtagac atattttttt ttgcaaaatg
3061 gtttaagttt ttcaagaata cagattggat aaattaggtt gttgacttag ttacaggagg
3121 tattaataat tatgtagaca taaaaatgag atcctccaaa aaaaataaca acaaaaaaaa
3181 atatgtttaa tattaataatg acaatttcta cattgcttat tgctcttati atactactta
3241 ttattatitg agtagtgttt ttatactata agaacaaca accaccgaaa aaggcttcta
3301 aagtagataa agatttgggt agtggagagc atttggctcg tggatcatgt agctcatgta
3361 gctgcttaga tgccgtaaaa atggacaaac gaaatattaa gatagattct aagatttctt
3421 catgccaait cactcccaat ttttaccgtt ttacggatac tgctgctgat gacgagcaag
3481 aatttggaaa aacacggcat cctataaaaa taactccatc tccaagttaa tcccatagcc
3541 cccaagaggt gtgtgaaaaa tatgttcat ggggaaccga tgactgtaca ggttgggaat
3601 atgttggta tgaagaaggag ggaacatgtt atgtatataa taatccacat caccgggttc
3661 ttaaatatgg taaggatcac atcatagcct tacctagaaa tcataaacat gcaataataa
3721 atacattagg ctcatcgtat ctttttaaaa tccataaata ttcgtttgat atatgctgaa
3781 atttttataa aaaaaataa ctatttcta taaatcatct agaaatagtc ctggttttga
3841 tcggtttata tcttataata ttgtgcatcg atgcacaact gctttttttg gtccttctgg
3901 aacatcatta tttttcttt cattaatata ccatcagat gtaaaacttg aataatittt
3961 atggcaaca tctaccattg aattatattt agtaacatct aatacatcgt ttgttttctc
4021 aggcctagct ctataactct gataattttt gttatcagct tctaaagctc catcattatt
4081 tttcaagaa gtatccataa ttatgtttgg taaaaact ttaagtttta atgtgatatt
4141 taaaatggtt gtatataaa ttaccgctt acaggaatc ttatcagct gtcataaact
4201 atacttttga tgattcagta ttttggaaat cagtacattt attatcatta atatttttag
4261 gctgtttttc caatgtttta ttgttgaat gagcctgctc ctctttgac gaggaagttg
4321 ctgttggagt catctgttta ggaagagtat catccatcct tatatgaag aaaaatata
4381 aatattgata tacaatcaaa aatattttg atcacgtctt tttatctat cगतatgtt
4441 gataacgtct tgaataacct acatcatttt ttacataaa aaaaatagata taatttttat
4501 tatatctcaa ttatttttaa gataattatc aatcacagca atatcataag ctaacatatt
4561 tttcgaataa tagtttttta gtaaagtatt aatcttttca ggattggttt cttttgataa
4621 taagatagga ttctgtttat aaatttttaa agataatata ttcaaatgoc tagaataacc
4681 gtatatact gctaattgct tactgtgttc aataacatta gcccctaact ccatcaaaa
4741 gaacatattt tcaatacaaa agttttttac cgagattaac attgctcgtat tagcgttggc
4801 tcccaatgca aacacagtagt aaatggtaaa aaaaattata tcgcccacac aggccagctc
4861 catcatttta ttaactca tatgaatttt cgttgtgta catatttcat gaaggtcaaa
4921 cacattgttg aaagaaggag cacaatttaa tgcctatca tcaaatgoc ttgattcttg
4981 acaaaaatat tgaatagctt ctttaagatt atattttacc gctatgcat accaatattt
5041 ggttagcatc tcaataaatg agatctcatt taacatagaa ttgttggta aatcctcaa
5101 ctccaataa atgatcatcc ttaaatccac catgtttaca ttttgaataa aagggttatt
5161 agaaaataat tcatgacaca aaatgacatt actactgttt attttacct ttgtttcaa
5221 gaaaaatcgt aaaaattcac ttgtctcaag ctctcttta gctccaatt ttccgcatg
5281 gtttcgagta tgctcgttat taataaaaag taaccataa ttaattttg cacccttctc
5341 agtaaacac atgatagat catcatgttt ttcttaact gccaatacca atgcagattt
5401 aagccttata cctcttttaa agcataatgt ccttatcatt atttgattat catcatctat
5461 atacattgag ataggagctt catgccacca taaaccataa cgctcaaaa tataataatc
5521 atctttagat acgtgttggg tgcccaatgc ccttttagca agtgcctgta aagtcgatgg
5581 ctgcatgttt atctgttaa aaaaaaatca aattatcggg taacataag gatcaaccg
5641 tagttaatat ttgcagtagt attttttaac aatgaattat aataaaaaa taattcatta
5701 ctatctatta taaaaccat ctttaacttt aaagaagaac tagatcatct ttttttggtt
5761 gtgtcagaac ttcttcaatt tattaccac attttatcta aaaaaataa aaactacatc
5821 atatcttgtt tcttcatcaa attatcatac catttatagg gtgtaggttg ggaacattc
5881 atcatgtggt aatcagggta tttatataat ttttgatagt aacatctatt tggcagatgt
5941 atgtccaac aatcatgtct aataaaatca tttcaccta tgggggaatc atcttaaaaa
6001 ccttatttct acagattcca ttttgacagt cctagcaaaa gtcacaatat tttccatgag
6061 tacaccaatg ttcaagctct ctttcgggag gaatgctgcc aattttatgt ttttagctt
6121 ctaactctct gtacaacatc agttgggaaa gcagaaagaa gataccagg agaaccatta
6181 aatataat agtctgcaaa ctacgtttgc gaatgtaatt tgcaactaaa acacaacca
6241 caaggtaaaa tccataagtt aataactttt gccattttcg tatgacagcc tctgtccatt
6301 catggttgtg ttgtgggcat tctgttcggg aaacttcatg aggtttata gaagttacat
6361 agtaggtaca gaattcattg tgacgaaaaa cactgcagtt agctatgtag tcaatttcaa
6421 gaatgggaga atgttttca aagaccttat tcttacagat gccatcttga cagtccaac
6481 agaacctaca atgatttga taggtgcacc agtattcaag ctcttttca ggaggggttc
6541 ttgttagatc caggagctct agctcatatg tataaagaag agttggaatg gatagtaag
6601 taaatatttg cagaccaagc atggctactt gtgaacaagt ggctgctcgt caacaaatag
6661 ctgtttatca gcaaatagct gtttatcagc aacaactaat tatcagcaaa tgctgctgt
6721 gggttaagcca ataaatagc catacccttg aaaggagaat tcagttttgat aaaaaataa
6781 acgagttttc taataaccgg gtcaagcatt taataaatga atagcatcac acgtctgcat
6841 cgtgcatctt gcctggaaaa tgggccatc tctaataat ttacactgac ggtgaatcat
6901 acaggttcc atgggatagc tatgctcctg tacaggagcc atatctttta gaactttatt
6961 cttacaaga ccatcttgac aagcccagca aaaccgacaa tttttacat attgacacca

7021 gtatctaagc tcctcttcca ggggatgtc ggtcgaaaac ccctgtagac tagctaggcc
7081 agctagcagc aagccgaggt aactaaagaa cctcatgtga gtgttataat acgaaaaaac
7141 atgttaaaa ttggaaaaaa aagccctttt tatagatctg gaaaaaaatt ttcacaaatc
7201 taattaaaa ccttacagat catccttttc ataaattttc attaacaatt ggtgggggcg
7261 gttgtgaggt actggatcag aacaatccat aacatggtaa tgtccatttc cttcaccata
7321 tgtacactgg ttataccagc gagaaacctc acaagatgtc aaataactgt tctcaacaat
7381 caatggcatg ctcttattca ccttgttctt gcaaatcca tgtgcacatt cccagcaaaa
7441 cttgcagttt tccatgtaag tacaccagta tccaagtctt tcttgtggag gattatccgt
7501 tgaacgaaga tgcctcctg cctgagtagg tagtcctaag acctgattgg ccagcaggcc
7561 aagaatttcc aagaagatca ccaacattgc tacggctggc tgaacagctg gcagatagct
7621 agctaattag caaaccaagt gactcgccct ctctactctt aatagagaa ttaagattc
7681 ggtccggctt ttttcccatg ttttacaggg aaaaggtatt ttagcctat gaatgtacat
7741 ggttccgcac attaaaaaaa aataaaagaa attatttaat atggctgtt attttctttc
7801 aactagcaac aagccaggta actaaagaac ttcatgttag ttttatatta cggaaaaagg
7861 taaattttgg acaaaaaaaa tcatatctaa ttaaaaatcc tcacagatct ttcitttcat
7921 aaattttcat taacaattgg tagggcggtt tgtgaggtac tggatcagaa caatccataa
7981 catggtaatg cccatttctt tcaccatag tacactgggt ataccagcga gaaacctcac
8041 atgtgtcaa gtactgttt tcaataatca atggcatgct attatcacc ttgttcttgc
8101 aaatcccatg tgcacattcc cagcaaaaat tgcaccttcc catgtaagtg caccagatc
8161 caagtcttc tttgtggagg tttaccgttg aacgaagatg ccctcctgcc tgagtaggta
8221 gtcctacagc atactgtggc agcaggccaa gaattcccaa gaagactacc aacattgcta
8281 cggctggctg aacagctggc agatagctag ctaattagca aaccaagtga ctcacctct
8341 ctactcttaa tatgagaatt taagatccgg tccgacattt tccgataatt ttacaagaaa
8401 aagatatttt tagctacaaa tacacttcat atatccctaa aaaaaacaaa aattttttta
8461 attttaacta ttttttctt tccactctct cttaaagatt ttgtaaggat tccagggtt
8521 ttgttcagaa caggccattt catggggaat cccctgtcct agatcataca tacatttatt
8581 tagccagcgg gaaactatac atgattgcac atactcattt tcaagaatg ttgtattctc
8641 caatttgccc tcacaaaggc cattttgaca atccagcaa aacttgcagt tttctgtata
8701 agtgcaccag tattcaagtt ctcttctgtg aggatattcc gttggatgaa gttgtccagc
8761 ttgttgatta ggtagcccta agacctggtt gcaattcatg gtatggtaga tacccttatc
8821 taaatcatac taacttttat ccagccaacg ggaaccaga catgatttca cactactcatt
8881 ctgttaaat actgacccat ctattttgtt tatacaagtg ccgtcttggc agtcccagca
8941 aaatggcaa ctttccatgt aggcacacca gtattcgagt tcttccctg gaggtcctc
9001 tgttgacga agttgtccaa cgagctgact tgaacctgg ctggccagaa ggccaagaat
9061 tcccaagaag atcacaaca ttgctacggc tggctgaaca gctgactgaa tagctagcca
9121 attagcaatc cactgtactt ttcataagat cattaagat tccgtcggca tttttcaat
9181 agtttgctag aaaaaattt ttaattttat agattcacac tacttcatc tcatgcttag
9241 gaaaaaaca aactaaatct tacaatgat ctggatctaa tgagaagcta gaattcatct
9301 ttttcaaat ctttctggg atgttcattc ttttccact cttccttgc aattttataa
9361 ggattccagg gctttgggtc agaacagttc atgctatggt aaatgtgctc ctcacatca
9421 tatctacata ggtcaccoca gcgggaaacc tcacaatatt ttacatagtc atttcaata
9481 atacttgttg agttgtttcc ccaaaccttg ctggtacaaa tcccatctc acaatcccag
9541 cagaaccgac agctttccac ataagtgcac cagtatcaa gttcatctc tgggggttca
9601 aatgttagag gaagatgtcc acctaccgca gtagaagtg aggatgaaac caggttgcta
9661 ctggccagca ggccaataat tcccaggata atcaccagca ttgtgctcaa ccagcaacgg
9721 ctagcaacga ctagcaactg actagcaata gctagaatg gctagcaatc agtagtagct
9781 aacgctctac tctttataag aaaaattaaa attcgatcag attttttag aatgagaat
9841 gagtaaacg ctatattct ttttctagct agaaaaata agctagtta agataggatt
9901 tcccttacta acggtttat ttttagcaaa ggtataggtt aaatacact gtacttagct
9961 gcaaaaaaat aagctatgg cgtataagcc gccataagtt tatttaata aatgttaaa
10021 cctctgtata agactggaat cttaggcagg ttgtatgtg agaacagat gaatacaag
10081 agtgcctgtt acacgaataa gttctctcaa accggggatg gtcatactca catctatgaa
10141 atcctgtgct agagattca tttgatgcat gatggccgca cccacactta tgagacactg
10201 aagaactaaa gggtttaatt ttgatctgaa tggtagtata taggatgatg gcaatccata
10261 tcaagattag agcaatcaaa atcacctctt caagaagcat gatgtagcct taaatcttag
10321 actgctttaa accttaggcc ctcaatctt ttaatgaagg agtttaaat ttgatccctt
10381 tttcaagacc catttagaag aaaaaataa agtttatatc aatctaattc ataagtcac
10441 tctttcataa atcttcatgt attctctatg tggataagta tgggatgttg gatttgcgca
10501 gtccatttga tcatctgat ggtttttggg tctttcataa taactacata taccattcca
10561 gcgggaaacc gtgcaattta taatccagtc attttgatga ataactggcc aatctgtttg
10621 aatcctgttt cggcagatc cgtggacgca tcccagcaa aagtcacatt ggtttcgta
10681 agtgcaccaa taaactagct catgttcagg aggataacgg gttggtagta aatcttctaa
10741 tttacgtata ggagcggctt gaaggacaac caccaccagt agtactagaa tcagtacctt
10801 tatagtggcc accttacct agacctctaa gttgaagaca aagaactaaa atttagagcc
10861 gtttaattac tactaataat tatattttt atgtctaca ataggattct attaaaaaa
10921 aatgattttt accaagaat attttataa aaaaataata tttttgtaa taaactttat
10981 ttcaatgac tgttaaaata aggaaactat ccttagttag tccaggaaga tggtaggtt
11041 atttcgcaat cggataaaat gtttatttt tctgaggctc cgtaaaatcc aggaaaaaaa
11101 attacggaag agtttaaaaa agctaaattt ttaccacctt ccagaagatt gttgtcaaat
11161 atatcgtttg ctagaaaatg ttctggagg aacttacttt attacagaaa atagcagaa

11221 tgatttaatt atggctgtaa aggattcggg ggataaaaa attaaaagca ttaaatata
11281 tcttcatgga agttatatta agattcatca gcaactatfat ataatatft atagtatct
11341 fatgagataf acccaaatft ataaafatcc cttaattftg tftaacaaat attataacaf
11401 ctaagtaaat atctctggaa tggattttct fatagaatgg ftacaggata tftcagcgac
11461 aggttaata acaaatftgt taatatftft ftgttaaata aatgaacagg ccaccattta
11521 atattaccgg ttgcaaaata agaaaaaaa acaaaactfat agftacaaat catcttgatt
11581 aatcacatgt cgttttaact caatgaacca ftctaaatct ftgggtftg aacaatfat
11641 gttatgttga tagtftatcc taaagtgagc ftcatacata caccggftcat gccaccggga
11701 aactgtacaa ttaacaatfat aatcatftftg cgtataataa gggftggftcac taaacactft
11761 atftttacac atftcatctft tacaggftcca gcagaagtca cagtftttg cataggftga
11821 ccagaacttg agatccctft caggaggcct acgcatftg atcggattfat ctftggaag
11881 aggtaggftc attatfatgt tegtcatcaa aatftctaaa agaacaftaga agccaagaaa
11941 gataagcagft ctftgtagcgg ctftgcatftg catftcgtgag fatftgtftg gaacaftagct
12001 fatgagagca atggtagcta ftatacaaaag acaagfatgt ftgatattct cagtftcaat
12061 gaccftatcc ftctftatft gcaftaaftc atcaaaacca ftataatfat tgggattftg
12121 acagctcatg atftgaaagc ggcgtatcct agagftctgta aagftagctac atctftcatt
12181 atagcggaga accftacata ftftgtatgta atcatftftft ftgatgagag ggtftftftc
12241 aaaaaccfta ftftftacaaa ccccgftcftg acaatftccag cagaagftcac acgattftg
12301 ataggftcac caaftactcaa gctctctctft ftggaggftcft cgggtcatftg gtaactcftc
12361 gfttctctga aaagattggc ftftgaatgac cggctgcatg accggcagft ccaaaaaggaa
12421 caacaatcac ftcatggcft caactftataa gftgcaactft atgggtftgca atactgcaac
12481 gtataggftg cacftfatag atcgcgactc aaaaagftatg aaaaactftac cctcaataca
12541 gaftttaagft fttaatcctg ataatgtatc ftgtftatgaa aaaaatftft ftftactcat
12601 gtatgaatft ftatagcaat cataatfatgt aggtgagaa taataatftca fataccggft
12661 tgcggctca ataaaaatft ftftaccaca aaaaataaaf gctggattft taagatfat
12721 atctattaat fttaaacctc fttaaacctc fttaaacctc fttaaacctc fttaaacctc
12781 tacggftgatt tgggtftaat aaaaftacata caacggftcaa aatagcgggc aatactacat
12841 tgactaatat aatcatftftg fttaataaga ggcataftcat cccacactft atftftacaa
12901 ataccgtftc fatcatftcca gcagaaftca cagtftftftc catacgtftca ccagfatftca
12961 agctctctta taggaggcftg ataatgctft ggtaaatftft gftftcatata aaagatggaa
13021 agggftcatt fttaaacctc ftgagatagc caaatcaaaa fatcataaaag agcaagftagft
13081 ftcatagftg fatfttagatg taatftftfta fatgtatgcaa atacaatgta accftacaaat
13141 acaactacaa atacaaggfta aaaaacaaca ftgtctftata ftgattggcca ataatcacc
13201 cccccctc atftfttccat gaatattftca ftftcctgfat agggftcftagg atftgaaacac
13261 tccatgftat gatgattagg catftftaact gatattftcat aaaaacactc ccaggaatftg
13321 cगतtaacta fatcagftftac aatcgaatftc atcgaatftag actcatftftg fatctatft
13381 ftacaaatgc catftftgaca atcccagcag aagftcacaat ftctftacata cgtacacca
13441 fatggaagct cctcctftagg aggatgctgg gftctftgga atftctgftaa ftcatgftga
13501 agaatgagga cftgagftagcc caacaaaagft cctgaaactc fatatgftgft tccaaatggc
13561 accftgctat fttaaaaaaga ftftaaatftft gctaccgcaa aaaaaatftc agfatgftatft
13621 ftfttcaatc atftataatft tgaagftctta faagataaag ccgagaacac fatatftftgft
13681 atagatgatg fatccggftat ftcaactctc fttaaatgftac atfttaggaaa tggftcaatta
13741 ftcaagatftg gctgagatfa caacaaaacc aaaaactftca aaagcataag fatatftcatg
13801 gftgftactca gftcftgagat ftftgcaatc gcaaatgcaa cftcaaccagc aatftacaaag
13861 cftaaatacaa gfttaaaaaa ataatactct ataatgatft gccaatftct atcctcctat
13921 ftfttccatga acatftftcatg ftcataaaagft cftaggfatagc aacaacattft catgctatga
13981 ftgattaggfta ftfttaagftga fatftftcataa aaacaccacg gggftgftggt fatgftgatg
14041 gftaagaataa ggatggftgta ataacftagft aaaaagftccta gaaaaactft catatftgctgft
14101 ftcataccaca gatgftatft aaaaaaata faaatftftac agfatgftgat atacacatac
14161 cacaaaaatg ftctftatft aactaaaata ftgtggcgaga gagcaatftca fataatgaaft
14221 ataggtgatt fttaggtcaa taagftacat acaacgfatca ataaaaagcgg fttaactaca
14281 ftftactgatg fatatcatftft gaacaataag aggcataftca ftccaaaactc fatftfttaca
14341 aataccatftc ftacaatccc agcagaatftc acagftgftft ccatagftac accaatatftc
14401 aagftctctc ataggaggcft fataggftcct ftgftaaaatft ftgfttctgfat aaaaagftgga
14461 aaggggftcga ftftaaaactg gctgftgctaa ccaaaccaaa atactcaaaa gaacgaaaag
14521 ftftcatggft gftactcagac gcagatftctft acaaaagcftca catacaaaagc agcctgfta
14581 ftgcaatacca atgatgaaat agagacagfta ftgctftftata gataatftgft gatggftcana
14641 cccccctc catgftftgca tgaatftftc atfttctgfta tagggftcftag gatgftaaaca
14701 ftccatgctca aagftgattg gcaftftftaga ftgaaatftca fataaacagg atftgagftctft
14761 ggaatcacgg aaaaactftac agftftacaat agaatgatftg gatftcaatga aacgagatftc
14821 cgtftatctta ftftftgcaaa ftgcatctftg acagftcctcaa cagaatcftg atftgftgftac
14881 atacgtacac caatfatgaaa gctcactctft gggaggatgftc ftggftctftg gftaagftcftg
14941 taatftcatgt gcgagaatga ggaactgagfta gcccaacaaa agftccagaa gaactftcat
15001 gftgctgftca aatgacactc gcaactftaca aaaaaatftft aatftftftgaa fataaacaaa
15061 aaaaaccactc fttaaaatftc fttaatfatft ftctggtatct gccccgacft catacaatgft
15121 attaaaatfta tagaccaatc atctftftftg ataataggfta atcatctftta fatatagatt
15181 fttagatgftft gctftgftgta ftcaactftaac ftgctagcga gaaaatggat aaaaactftc
15241 ftgattftfta taggtftgaaa ftcatftftatg cacatcftgta ggatftcaata ftftatftftg
15301 aagaaccgaa ftgtggcftta aatftftftft cfttagaaaa agftagaatca fatatftgct
15361 atgftftftg fttaatgatt ftctgftatct ftftgftatag gggftggcac ccaaacftat

15421 acaaaaaat acattactca aataactacc tctatatacat aatctttttt cccacagtat
15481 tttcctattt atttccctat ttatggaatt aaaggatatac aatctctcta aggcacggtc
15541 aaggctctgog cctaaggcaa aacaataata tatacctaata ttattcccag ggcgtgcaca
15601 ggcaagaaac atcatgacgt ttagccctaa acgtatattt tctgaaaaat acgcatgatg
15661 aacttcatca atattaccta agtataatggc cgtttgtaaa cgccaagat ctaaatgagg
15721 aaatttttta ctaagataat gaatagggtt tgtgagatta aaatctatgg cgaacttata
15781 ccaaaatitt aatacaagtg taittctcgt catttcttct tcttttcat ctaaatataa
15841 gataaaacga ttgtaaacaa agtctatcaa taggtgaaaa tcattgctat taaagctgtc
15901 gagaatcaaa atattgtcat aataaaatct gatccagctt aaaaaccttt tctgtttgac
15961 gagataaaca aacatattat acaaccctac atctaaaaat tctggattgg ctctagtgtg
16021 gatcacacag tctttagctc gcttcgtttt ggcacacatg atgccaaaaat taatcagc
16081 accccataaa acaaaataact tgattagatc agtctggttt tcttccacag cttttactaa
16141 ggctctgtca agctcatagc tgtcgacatc agagcatgac atagagccac cggttaccat
16201 ttacatgtgc ttacaaaaac ctatgggtcc gttttcccac catagtccaa gctgtttag
16261 aataaaaaata tcatcctcat gataattga aaaaagcctg gtttctatca agactttttt
16321 tgtaagaacc tgtaaagagt tcatcgtatt attatgaata acaggagtaa acgtaataca
16381 ttataaaagt gattttttcg aaaaaaactt tagatggttg aaaaatgataa tgtacatgtt
16441 catacaaaaa atagatgcag tgatgtctaa aatcaaaatt taattttcta tgaaaaaagt
16501 acagacttac ttatttgggt taaattgttt attttaaaact ttaattaaacc gtttgagtta
16561 gcgatgtttg atttatcttc catactcatc cggggggggg gggctcttat agctctgaca
16621 ttatgttggg ttttttttat taatgaatac tcatagatg ctaaacattt taatagtgt
16681 tctgaggctt aattgtactc tataaaatita taaaaacttt ttgatcaaaa ttaatttct
16741 tataaaaaga gtacagacgt cgcttgttta agcttcatca tgtttcattc attacttct
16801 acaattaccg gggggggagt cccctcatag ctttagtatt gctatggttt actaatatt
16861 atgtagaatt tatagaagca tatgtacctg aaagtatacc tactctataa aatataataa
16921 tttcagataa ttttttttat gaatagaacg gaaatgatat aaaaaaattt taatattgca
16981 aaaaaaatc ataattgttg tatgtattat aaacataata gcatgtgtaa tttataaact
17041 gactcctcta tataattatt agatgaggta ccaacctact tatgatatgc cgatgataga
17101 tattgtatca tataaaacaa aattatttta aatgtattca tggatatact ataacatttt
17161 taccgcaaat tgtctctcag cgaagaaaat gaatgaaacg tttctgtata tcataggtt
17221 gaaattattt taccgacttc actaggttct aatattttct tatgaagat tgaaatggggg
17281 cttaaaagtc ctttcttaaa aagaagtttc atcataacat tcttttcttg tctaagaaga
17341 gtttcttcta tttttttgt ataaggattg gcacccaac ttatacaaaa atgtacatta
17401 ctccaaatac cataatttga aaagaaagt tttccctat ttacttcatg ataatgaaa
17461 cctatcaacg tctctaaggc cgtattgata ttggcctca aggcaaaaaca atagatata
17521 cccaatttat tttagggta catacaagca agcgacatca tgtcatttgg atctaaacgt
17581 atattttct gaaaatagc atgatggatt tcatcaacat tacctaagta tacagccgtt
17641 ttaaacgcc aataatctag gtgaggaaat ttcttactaa gaaaacgaat aggttttata
17701 agattaaact ctatgggat cttaaaccaa aattttaata catatgtatt ttttatcatt
17761 ttttctttt catctaaatt taagataaaa cgattgtaa taaagtctat caacacgtaa
17821 aatcatggc tatcaaaaact gtcgagaatc gaaatattgt cataataaat atctatagct
17881 aataagacct ttgttgttt aattagatca acaaacataa tatacaacc tacatctaaa
17941 aattttggat cagctcctag ttgaatacac agaacttctg tctttccgt cttggacat
18001 atgatgccat aattaatgtt ggcaccccat aaaaacaaata acttgattag atcagctctg
18061 ttttcttca cagccctcac caaggctctg tcaagctcat agctgtcaac atcagaacat
18121 gacatagagc cactggttac cattttacat tgtttacaaa aacctatggg tccgtttcc
18181 caccataatc caagctgctg taaaataaaa atatcatct catgataatt tgaaaaagcc
18241 ttgttttcta tcaagacttt ttttgaaga acctgtaag aattcatcgt attatcatga
18301 atgaaagcag taaatgtaat caattataaa attgacttat tgaagagaaa tgttaaatga
18361 gtgaaatcgg tgtttatgat gatgtacatg atcatacgaa gaaacacgtt cactgggtc
18421 catgatcaaa atttaatgtt ttacgtaaaa agtacagatg ttaactgttt agtttaaca
18481 taaatttaac ctttagttta aacctagtt aatgatgttt aatatttctt ctatactcat
18541 tcaggaagt gtaatgattc taatactgtt gttatggatt attaatgaaa actttacaga
18601 tgctggaggg aataatttca atcactactgt ttaatgtag ctataataagc tttcatcaaa
18661 atttatttt tttttataaa aatacacgaa ttaactaaa gtctaaactt tagtttgact
18721 atttgagtta atgatgctta acttatcttc catgcttctc aagggggggg cctaagatt
18781 ttgatactat tgttgggat tgttgaatat aataaact ttatagatgc tgaatgttt
18841 gaaaataata gtacatcaat gttgtaagt tgaatcaaaat ttaatttctc ataaaaagg
18901 tacacatcaa cattgctcat ttaagtttca tgatgtttga ttcattactt cctacaatta
18961 ctgggggggg ggggggggtc ttaaatagct tttagcattgt tatggtttgc tgactattat
19021 gtagaattca tagaagcagc tttagatagt aatatacctg cagtgtagat tatgaaatac
19081 atactaaact aatttcagta ttttttttt gttcatataa gtttaagttac aaaaatgatt
19141 aaacattgca aaaaaagaaa atcacaatgc tattatacat agtgatcata gtgcttcta
19201 tcatttctaa actagttcca aatgaatatt gggcaatata tctatttttt atcattatga
19261 tttttatgtt atatatgat gaaaagttag atatacatca aaaaatctcag tcttggaaat
19321 ataccatgct aggttatct ggacataacg tacaggtaac atgtaagtgt tactaaatac
19381 tatgaagtat ctatttttt ttgttgaata aaaaagaact tgatagtatt ttttaaaaa
19441 taaaataaatt aattgtact caacttctt attttatct ttaaaaataa ctgtaagta
19501 ttatttatct atttttttaa aaaatagatg taactcggtt catcatttag gtgtgtatt
19561 ctttttagca tctatcaaga attcattgtt tagtgatag aaaaacatga atgatcatta

19621 tcttctattt aacaaccacc taataaatg aacgtctttt tcatcttaac tgattacca
19681 aagtatittt gcgaaaaggc atacatatga tcaatatcag acctacaatg aatatttcca
19741 taatfatccct ttattgtaat aatctatit tfgcattccg atatctcatc atctgtgcta
19801 ttatatgttt ccatcaactgt ttcatcatca aacataaatc ctgttaaata ggcaaaaagac
19861 tttaatcccg gatagatit taccatit tctgagagccg tgtatagctt gtaataaatg
19921 gccaaaaata tgcaataaag cgtagaaaaga gagtaatit tggcataaaa gatit tgaag
19981 gtttgatgaa tggctaaatc gcatafaata taagatacga ttttaaagcg cacctgttca
20041 cgcagatttg ttgaaaaatt cgtgaaaaga tttaacaaat aaaaggttat taatagtgc
20101 tcatcatitcc ccttatacga catcgtcaga cgctctaata ttttactact aggcacatct
20161 gccacatgtt gaacattitaa agcctgttct tcttctgtgt tacggcaaaa gagccgtgcg
20221 taitcagggt aagctcccca ggataacaac gtccttgcta cggctaaat tttttgacg
20281 atgactit ttcagaataa gtctit ttttgattgat cactatgcga atttgtatag
20341 ttgacgccgt tgcattgagt acattgatat aatgtit tac aatccagcg tagccctaaa
20401 tggatataaaa gaactgtatt ttgcacataa gcattgctgat taacgatgt tttgagacaa
20461 cacgtctgta aggacacat atgtctcca atitgtitaga taaaagctt tactaaaaa
20521 atagattit t agttitaaaca atcggagattt tattatttg atgcatcatc aaaaagattt
20581 ataagtataa gaggtitgat aagaaaaaaa atgatgttat actatit tag ttaaaatitaa
20641 atitfatcata taaaagttac agatitaaatc agttgtitaa actatit tagt taatitaaact
20701 aatagtitaa accatit tagt cagactactt ggtagcaat gtttagctt tcttccattc
20761 ttatccgggg ggggtcctaa tctgtctaat actatitgtg atagtitgat ataatgaaga
20821 ctttatagat ctttatagat tgaattctag fatgcctgta taaaataat aacctit tttg
20881 atcaaaatit aatit tttitaa taaaagctaa cagagttagt ttttatitaa cgtggcttat
20941 ttaaaagtta cacaatgtta aaatctctac ttactitaa tctttgtggg gttit taa
21001 ctttatccat atitaggctt actactitacc atgtagaact tatagaggca atagatgatt
21061 tctacgactg aaatatagaa tagtccattt tctatitgtaa aaataatgat ttatitctt
21121 tctaaaaaat gatactit atggttitgaa acaaaatit aacaactitga ttttttttc
21181 tataaataaa ctataaatga aaatagtaaa actcatagag tctitaaagt gaacatcttc
21241 ataagtittac tcaaacgttg gactatitaa aaatattccg tgtgatttat tgcit taa
21301 cagtatgatt actit tatacag aagccgctat taaaacgctt atcacacacc gaaaacaaat
21361 tttaaaacac cccgatagcc gtgaaatit actagctit gggttgtact gggataaaa
21421 tcatattit tttaaatgtc gtgaatgtgg gaatitgagt ctitaccggaa aacacagtac
21481 aaaaatgatt aacatitaa tctactit tcttgcata aaaaaaaga ataagcgtat
21541 tgttgatacc ttgataggaa tgggcgcgga tgaacatat atacatctt taaagaataa
21601 gataaaaactg tcatacaacc agctgtctat gctitaaagc aactcgcaga tttcatitgaa
21661 ggagctitcat gctatitgct atctit tata tgggtgggtt cccaaaaaaa ttaacaag
21721 gatggcactg tgttaaaaca tggcgggact atgtggitgaa cttit atgtg catit ttagc
21781 tccgtaaatg ataatatgta tttaaaacaa acagatatata ccaaaatata tttatitgac
21841 ataatatctg gaaaatit ttttttctc atacctitaa atataaaat atitgggtitc
21901 ttcactaaac ttttagaggta aaaatit tttc tttgtitg accatcatgt atgggtit tag
21961 gctgtcccag ggattit tttgaatit tcttaaatag gaacacaacg ccatgatcat
22021 atatctitca tttctggtaag cttit t gata catcttcaaa gatgccgtac ctccaggtg
22081 gtaacagcaa acaaacgtcc gtactit tcc atgggtcgcga gccatttcca tttcgtagct
22141 cagcatctt tctgtatit ttttatctgc tttataaaa aagttit tca tccattccac
22201 gttctcataa aaacaggcac ttaaaaagag cactaggggt agttagtct tattatagaa
22261 tgtaggaatg tatgtit tag tttit tttt caacgctgt tccatactat gttitaccgc
22321 cataaaaaata caaaacaaat accaactit tctataaaag gttitgctg acacataaa
22381 acgagcaaaa tatatitcaa actctatit tttit tataa aaaaactcga gacagtctt
22441 tatgtitacga cttit tctaa atacctcaa aacagtaat aatcactgt cgtgtggaa
22501 atgtctgtaa gctaactgt taatgtctt aggggtcaat tctit tttitg ggagcagtg
22561 tttgagattc ggcaaaggtc gtctaaagta gtgagcgaac tttcattctg ctcccaaca
22621 caaaagccga taagccagca tgtagtatc acgtit tacc gcgtaaaata gcaaatagtt
22681 tatattgata catgtaccat gttgtctgcc gtttgacat atgttgcgc attctgaaca
22741 ctatagaaat agatcatagt tcttacaaca taaccccaaa cgggttagta ctctitgtc
22801 acgtit taa aactcgcacat gattctitaa tgttaatgt ttgagcgcga tgtitaaata
22861 actctgcat tttitaaat gaggtit tag tcatgtitaa gtataaaat tagcggctgt
22921 ttacataatg ctataaataac ttaacgttcc factaaacca aaaaaaatc aatitgacta
22981 agtcatagag aatitgacga tgttgtagg taatit tttitaa acatgtitaa tttit tttitaa
23041 gggctggitaa tattaggtaa taaaagagga cgtgocgtta aagtatit tttg ctitaaatcc
23101 tttagatctt tacaaaaata tagattgtc gtctgatgat gccactgtgt tgcagtgatg
23161 gctitgatcaa tatcacctcc caagacaaa cagtagtata tctgtaaaaa gttitaaatct
23221 ttcatacaag ccaactgcac catit t atc atgtccatata gaacgatct tttgtctgat
23281 atitcatgaa ggtcaaatc atgtitgaa taaatggcgc acatgagtct ccacacta
23341 aggtgccat atgtitgata gaaaaaggag atagctctt taagctitaa ttttactgct
23401 atggcatagc agtatitaa gaatacgtc atgggtacat tatctaaatg aaaaaatg
23461 aaaaactitaa actctcagat aatctctcc cccatttct gtacatttag agcttccaac
23521 ataggattt tatcaaatat ttcatgacat aaaataatgt tattgtctgt tttatgacg
23581 ataaacggg tgaaaatit ctitattit aaactatct tagctctaa ctitgacac
23641 agctcctgag tttgtctcgt cctagcacag gtcagccat aataatgt tgcctccac
23701 tccgtgaaca gcctatitac gtcatagta tttctit tta tggccatgat taatgccaca
23761 tcaagatgaa gaagtcccc ctitaaaggg gttgagctta aaataacgta attacagtag

23821 tgacataagc taatgggctt gttttgccac cataagccac aatattttaa aatataatga
23881 tactcctcag gcacgctctg tttggccaca gccittttgg ccagggtttg caaggagagc
23941 atgataactt ctgaaaaaaa aaactcaaat taagttccta cttttttaa atattagtat
24001 ggacagatct accatcatat gaaggaattc tttcatcggt aaacactgaa gagataatac
24061 tttcatcgta tagagaatat catgtcaatc cataatitga atgttatata tcattaaac
24121 catcattaat atagtgttta tgtgctatgg acagggtttt tgaatgataa tcttttaaca
24181 tacgttttat aacttcggga tcagtttctt ttaaagataa agaatcattc atgttataac
24241 aatttaatga taacatgctg gcaatgaacg agttgtcttt ttgatgctgct agagtccttc
24301 cctcctcaaa ggcatggcg cctaagtcta tacaanaagaa tatgtttccg atattataga
24361 actgaataga atgaaacatg gcctgatgta tatcagcccc taagacgagc caacagtaat
24421 aaatcgttaa atagtatat ttcttgcgac agggcccactt tagcatttca ttcattgcta
24481 tgcgaatcct ctccitttcg tacacttctg gaagttcaaa cacattatg taaaaaggg
24541 cgcacataag ccgccacgca tgtagatgag catactctg ataaaaatag caaatcgctt
24601 ccttaaggtt acattctatt gccatcgct accaatattt agtaaacatc tgccttaata
24661 tatcggttcc taccattaat cctccagtt gttcataaat cattcccttt acttcaaac
24721 gatttatggt atctaaaatg ttgatgatac aaataacctc atggcagaaa atgatgttac
24781 tgctagttag atcacgttcc aatgtgtaaa aaaatcgtaa aatttctgg tcatttaact
24841 gttctttggc acctagctgc ctgcacaggt ctcggtgtg ctcggtgtg acagaaagca
24901 aaccgtagtt gatgtttgca ccccactcgg tgaacaattc tattagatcg tgatgtttt
24961 cctccacagc tttcaccaag gccgcgttaa gatitgtgcc gtcttaaaa tacggcgtcc
25021 atattttctt ttgatgatac atgataggcc cattatgcca ccatagacgc cagcacttca
25081 aaaaatgagg atggcatttg gccggatact ggctggccag caccttttg gtgagagtct
25141 gcagagagag gaccatattt ctttttttg aaaaaatcaa attaaaaaa tcatgcttgt
25201 ttagcataca tgaatatatg ttataattac gttataatta cgttataatt acgttataac
25261 tatattataa caatggata acaatggat aacaatgta taacaatgtt ataacgatg
25321 atcattgatg actcattca actaggccaa catacttttt aatttatagt tttttaatag
25381 atgatatatt ttgctaggat ctgcttcttt taacgttaat agcggaggat ctgcactata
25441 aatgtctaat gataaatgat gagatatcaa atagtaattc cgttgctctg ctaggcctt
25501 tgcccttca aaggcgtcgg ctcccagatc tatacaaaag aacaagttat ccatattata
25561 aaatcgtacg caggcaagca tagctgaatt aatattagct cctaagagaa aacaataata
25621 tatggttaaa aaattgttat cttttgtgca ggccatccgc atcatttcat ccacgtccat
25681 ggggatcttt tccitttcat acaaatatg taggtcaaac agcttattaa aacaaagagc
25741 acagattaac caccagctat ttgatactt aaaaatgttg taacataag aaatggcctc
25801 cctaagatta tctgcaatg ccaactataa acagtatatc gttacaatat caccatccga
25861 catattactt aatatgtcgg tgtctctac taacctttc aacttccaat atattgatg
25921 ccttatttcc ctataatga cataggctgg aaagggatta tcattaaaaa gtttaagaca
25981 taagataata ttactgctag tagtgccagg gtgtattaat ttaagaaca tgtgcataat
26041 cttcttttta tccacgggt acttggctcc taatcccag caaaatctc gaacaggcgg
26101 cgtattggcg caaattaacc catagttgat gtctgcgcc cattctgtaa agagttttat
26161 taactgatag ttgttttct ttgtagccaa cattagtgcc gtattaaggt ccaagccgtc
26221 tgcaagcctt agcaagctt tcagcatatg ttgcaatca agggaaatg gggccttata
26281 ccaccatagt ccgcagcgtt ctaagataac atggtactca atagatactt gctgtctggc
26341 tagtaccctt ttggcgaagg atgttaagga aggaaacatc ctgttcttt tttttttaa
26401 aatcaatfat ctttgttcat aatcaagaaa aatcccata ttatagagt gataattttt
26461 taacatgcaa tttattttt cagggctcgt aacgatcgac aacagagaaa taaccggatt
26521 gtaatgcttt aatgataagg catggctat cagataattt tcttttgtt ctgccaaagc
26581 tttgccctcc tcaaaggcat cggcaccag gtctatacaa aagaacaggt ttccaagatt
26641 atagttttgt atgaaacaa gcatggcttg attgatgtg gctccatga taaacagta
26701 gtaaatggcc gaatagctat aatctggat gcaggctatg tgcattatc catcaatc
26761 catcgccgacc ctttctattt cgtacagctc gtgaaggtcg aacacgtgt tgtaaaaag
26821 ggcgcacatg agccgcacc tatgtagacg cgggtatttc tggtaaaagt agcggatagc
26881 atctttgagg tcatagtcca ccgctatcgc gtaccagtat ttggttaaaa cagtgtctaa
26941 gctatcatca tggccagca tgaaggttat ctccatgagc cctcttaact cccacatgat
27001 ttccccctc agatccagat tatctataat ccttaaatg gggttattgg aaaacacctc
27061 gtggcaaaa ataatattgc tactggtttt atcgcgcgtt gtatcaaga aaatttttaa
27121 aatatactct ctttctaata attctttggc tcccagctct ttgcacagat cacgggtatt
27181 ttccgtgaga gcacaaatca ttccatagtt aatatctgca cccattcag taaacagctt
27241 tatcaagtca tgattattct ccttcacggc tttcatcagt cctatgttta actcgatacc
27301 ttgactaaaa caggttgacc ttataaataa tttattgct cgaatagaa gcaaatggg
27361 gccattatgc caccacagc cacaacactt caggacatga tattgatcta ccggtataca
27421 ctgcccggcc agtactttct tctgtaggga ttgcaggaa ggcaacatgc ctttccatcc
27481 tttgacggaa atcaaatat ctactaataa ctatcagttt ttatattaag tatttagata
27541 ttatcccggg ctggatagct agtatcgta ttcacatgta ctccaactc tagccggagc
27601 ctgcagggtc atttatttt aatattgatt cttttttgta tttaatcatt tagagaaggt
27661 catcatagga gccagatgtt ctctctccag aacttatgc gaaaaacatt acctaacctt
27721 aaacttccctg aattttttga cgaatatata ttacaactgc tgggattata ctgggaaaac
27781 catggaacta ttcaacgagc aggaacaac tgtgtgctta tacagcaaca taccctcatt
27841 cccgtaaatg aagccctgag aacagcagca tctgaagaaa attatgagat cgtgagcctt
27901 ttattagcgt gggaggggaa cctttactat gctattatag gggctctaga gggcaaccgc
27961 cagcacttaa ttcgtaataa tgatgacca atcaaggacc atcatgaaat tctgccattc

28021 attgacgatc cagtcataatt tcacaaatgc catatcatgc ggcaatgctt tttgatgtg
28081 attttatatc aagctgtaaa ataatagtaag tttcgcggtc ttccttactt taaacataga
28141 ttagaggatg atttgccctt cactcattta cttatgtaa aggcattgaa agatcataat
28201 tatgaagtta ttaaatggat ataatgaaaac ctacataatc acaatgatgat agataccctt
28261 gaatgtgcta ttgcccataa ggatctacat ctatattggt tggggatag atttatatat
28321 aacagaatcg taccogataa gtatcatcat ttagataatc gcatgcttcc aagcctacaa
28381 ctctacataa aggtggcagc caaaggatac ttagatttta tcctagaaac cttaaagtat
28441 gatcataata aagataaata aataatattt ctaacacaag ctgcaacctt taacctataga
28501 aaaaatttaa tctatttcat tctcaatca acccaccgac agatagaaca atgtttacta
28561 gtggcgataa aagcaaaatc ttcaggaaa accctgaact tactactgtc tcacctaaac
28621 ctttccatca acctcatcaa aaaaataagc cattatgttg ccacttaciaa ttaacaaat
28681 ataataggca tttctgagtat gcggcgaaa aagaagatat atttagatat catattgaca
28741 aaatttgtaa aaaaagctat ttttaataag tttgtcgttc gatgatgga tacattttct
28801 ataaaccogg aagaatcct taaaatagcc gcgcaataa ataggatgat gttagtga
28861 aaaaatctg aacatgtttg gaaaaatcat gcggttagac ttaaatacct taaacatgag
28921 gtacacacga tgaagcataa agatgggaaa aatagactca tgaactttat ctatgatcgc
28981 tgttattacc atatgcaagg ggaagaaatc tttagcctcg caagatttta tgcaatccat
29041 catgcaccaa agttgtttga cgtttttat gattgttga tcctagatag gatagcattc
29101 aaaagccttc ttttagattg ttcacatctc ataggtaaaa acgctcatga tgcctaccaat
29161 atcaacatcg tgaacaagta tatcggcaac ctgtttgta tgggagtct tagcaaaaaa
29221 gaaatcttac aggcattcc atccatttat tctaaacaat acatgcoctt gtttatttt
29281 tttgcggccg aacattattt ctaccctag aaaaacgctt tagtcatctt aaatcatagg
29341 taaggaagat catcatattt tttgaaacgt aatttttaa cgcattgatc atgattcag
29401 ggtccgtgct ttttaggcaac ggggtggtgg ccggactata aatctttagg gataaaatgt
29461 tctttataag ctcaatccct tcccctaaag ctgtagtacc ctcttcgaaa acatcagccc
29521 ccagatctat acaaaagAAC atgttttcta fattatagta ctgtatgag ctaagatgg
29581 cttgatgtat gttggcgccc aggcacatagc agtagtacct ggttgaagg tttgtgtctt
29641 tgatgcaggc gatccgcatc atctctcta tgcctatag gatctgtcc tttcatatag
29701 cctcatgaag gtcaaacaca ttattaaaac aaagagcaca ttttaaccgc cacgtattca
29761 ggtgtgata tttttgttaa aaatactgta tggcctctt caggttatag cgtatggcta
29821 tagcgtacca gatattgagt agtaatgtac tgaagcaaaa ctcatatttt agcagatcgg
29881 ttttactat taactccctt aactcccaga aaatttctat cctcattttt atattattta
29941 cttttgttaa tatcggatg tttgaaaca cctcatggca taaaataatg ttactactag
30001 ttttatgaaa ctttagatct ataaaaattt gtaaaatttc ttcctcatc aaggtttcct
30061 tggccactag ctctcgacag aggtcccagg tgtgctcgt gttgacagat accagcccgt
30121 agttgatgct gcgccccac tctgcaaaa gttttataag gttgagtgt ttttccctta
30181 cagccttacc taacgccgta tttaggttta agccctctt aatacctgct gatttatga
30241 gccttaggtt atgatcaaac gtgatcggag catcatgcca ccataggca taacacttta
30301 aaagataatg tttggtcgtg gccacgcatc tccagccaa cacctttttg gtcagagatt
30361 gcaggaagg caacatgctt ctctatctt taaaaaaaa tcaaatatag tagccgaata
30421 aattttctt tgcagggctt tttaaaagag ctctttaaga gctcttaag agcttttaa
30481 gagattaaaa aattattctt gctggcattc tggcaagat gcggcattcc tatcatctat
30541 agtatattat gagaatattc ccaaatgatg gataagttt ttgattata atctttat
30601 aaactgctta tttctcggg gtcccttaag tttagtggca aggaagcatc tgagctgtaa
30661 atatccaaa ccaaaactag gctcagaaa ttataacctt ttgttccgc tatggcacga
30721 ccctcttcaa aggcattacc acccaaatct atacagaaaa atatatacc gatgtataa
30781 tattgtactg aagtaagcat agcttgggtg atgttgcctc ccagcgggta acagtaatat
30841 attgttaatg gattgttatt ctggtagaa gccagacata tcatgtcatg gacgtctatt
30901 tggatgtttt ccttgggta catctcatga agctcatata tttgttata atacaggaga
30961 cattttaatc gccattcatt aagatccgta tatttctcat ctagaaaaa aatggcgtcc
31021 ttacaatcgt attgtactgc tttggcgtac caatacttca ctagttaaacc atttaactg
31081 tccgtttctt ttatttctat gagccccat agtcttttat aaattagcc ccttaattgt
31141 ataacaatg tttttctaa aataggatta ttcataaaaa ttcatggca caaaataata
31201 ctgcccgtg ttttattgtg cattatcctg gtaaaaaatc ggaaaatcct gttgtcctc
31261 agagtttctt tggcgcctag ctgtctacac aactctcga tgtgcttctg attgatagaa
31321 agcaaacctc agttgatatt tgcgccccac tctgtaaaga gctttatcag actatagttg
31381 ttttcttaa cagctattat taatgccaca cgaaggctta tatcttctcc taaaaatcct
31441 gattttatgt gattcggcc acgatccata caaagcttga gaggagcatc atgccaccat
31501 agccaccaat atttcaaat gcaggttca tctattgaca aacactggct ggctatcgtc
31561 tttttgacga ggtctgcag agagagcggc aacgacatgt tttttttca ccaaaaaaaa
31621 atcaaatggt ctgctctta aaggtttaatt catgttctta aaatgttcat ttcatgatg
31681 tgattataaa tatggtttta taacgctaga aggcctgttt ataagacagt cataagcagt
31741 ctataagaca gtctataagc agtctataag acagtctatg acttagtcta taactataat
31801 tttggatgg gctgtaagat actctcggc tctgttcaga tttttgaa tatatgtctt
31861 tagcatatca tatatttctt ggggtcggg tacatctaat accaaggtca catcacggct
31921 gaaaagctgc tttactaaga aaatgttct caagttatac atataagctt tgtgcgcaat
31981 gaggttgccc ctatcaaaa cggcagcccc caaatcaata cagaaaaaca tgtttaaagt
32041 attattgita tagatagaaa gatctatgcc ataatcgaga ctagccccc acctatgaca
32101 gtaataaatg gccgcgtaatt tttttcccg caagcaagca aatttcatca tcagattagg
32161 gctgatgcaa atctctttt cagcacaaa ctctgtatg tcaaaatgt tattaaaaa

32221 aaggctacaa gctaccgcc aatagagggt atttttatgc cttttataga aatagtgaat
32281 agcctttgta aaattatgic gtaatgccag ggcaaaccaa aactttgtta atagggtgtg
32341 cgccgtatcc cccgtcaacg gaatgtttga acagggtgac gtaactgtgt ctaagtggt
32401 tctagttacg gtttccaaga gtggattatg acaaaacatg tcataacca gcagaactcc
32461 tgcacaggat tttagcctgg ccacttcttt taaaattcc agaagacggg gttcggatac
32521 aggcgttaag cctcccagtt ccgcacacag ccgctttaga tacacggcag gaacacgtat
32581 aagccatata tcaggatttg cgccccaatc cacaaataaa cgtataagti caagattatc
32641 gctcttcacg gcctttacta gcgcccgttc gagacaaaga tcctcctcag aaaacactg
32701 taaatgttta tacgaaaaaa ctgtcttaca atgtttacat aggtgaatag gacctaatac
32761 ccaccacaaa ccaaaacgct gcaacgtata atcatagtca ctgaaagat aatgcatgc
32821 cacaactttt ttggccaacg tttgtaaaga caacatacta agttfaaac atcttaaatc
32881 taagctagct aactttcaag aaaaccctct atccctaaga atatactta taactagact
32941 tatagcagta aaaatcaact ttggttattc tttttaatat aaaacgtcta attactgca
33001 aaggactata aagccatttt tcctcagcta gaatttttat ttttaataga agtaggggga
33061 tatgttttcc ctccaagacc ttggccgaaa gcatcttttt atctctccg atgtttttgg
33121 cgagcatgta ctacaacgat taggactgta ttggagatgt caccgctccc tccaacgcat
33181 aggagacgac cacatactca tacgacggga tctcatcctt tccaccaacg aggccttaag
33241 aatggcggga gaggaaggaa acaatgaagt agtaaagctc ttgttactgt ggaagggaaa
33301 tcttcattac gccgtcatag gagccttgca ggggtgatcaa tatgacctga tccataagta
33361 tgaaaaccaa atcggcgact ttcattttat cttaccattg atccaagacg cgaatacgtt
33421 tgaaaaatcg caccgttttg aacgtttttg aacgtttttg ttgtctgctaa aacatgctac
33481 aaaatacaac atgctcccta tttcccaaaa ataccaagaa gagctgtcta tgagagcgta
33541 tcttcacgaa accctatttg aactagcatg cctatggcag aggtatgatg tccctaaatg
33601 gatagagcaa accatacatg tttacgacct aaagattatg ttttaatatg ccatctccaa
33661 gagggatctg actatgtact ccttaggata tattttcctt ttgtatagag ggaacaccga
33721 agctacgttg ttgataaaga atctcaagaa gacagcgccc aaagggtccc tccactttgt
33781 gctagaaacg ttaaaatagc gcggcaacat agataccgtc ctgacccaag ccgtaaagta
33841 caatcataga aaacttttag attattttct cggccaacta cctcgtaaac atattgaaa
33901 acttttggtg ctggccgtgc aggaaaaggc ttctaaaaaa acattgaact tactgttgtc
33961 acatttaaac tactccgtga aacgcatcaa aaaactaccg cgctatgtga tagagtacga
34021 gtccacactg ttgataaaga ttttataaa aaaagagtg aacctgatag atgccatgtt
34081 ggaaaagatg gtaagatatt tttctcggac gaaagtgagg acgatcatgg atgagctttc
34141 gattagtcgg gaaagagca ttaagatggc tatacagaaa atgagaacgg atatcgtaat
34201 ccatacttct tatgtttggg aggatgatct agaacgtctt actcgtctta aaaataggt
34261 ataccacata aagtacgaac atgggaaaaa aatgttaatt aaagtcatgc accgcatata
34321 caaaaactta ttataccggc aaagggaaaa agtcatgttt tatttagcca agctctatgt
34381 tgctcaaac gcggccacc aatcagaga catttgttag gactgttaca aactggatgt
34441 ggcacgggtt aaaccgctgt ttaagcaact aatattagac tgtttagaaa ttattactaa
34501 aaaatcttgc tatagtatcc tggaaatctt agaaaaacat attatttccc tgtttactat
34561 gaaagttagt actgaagaag aaaaaaacct atgtttagaa atattatata aagtaattca
34621 ttataaaaca atacaatgtt aaattcaat agatattcat cattaatat gattatattt
34681 tcgaatatta tcttctatgg tgcaagataa tcatctagcg cgtgaacat gtcctcttct
34741 cttcaggaac ttgtcgaaa aaagctgcct gactgcatac ttccagagtt tttgacgac
34801 tatgtatgac aactgttagg actgcactgg caagatcatg gttcccttca gcgtatcgag
34861 aagaaccaga tactgttca acaggaacc atccataatca atgaagcact caaagttagca
34921 gcacgggaag ggaactatga aatcgtagag ctgttgtgt catgggagcg agatcccgc
34981 tacgcccgtc taggagccct agaagcaaaa tactatgacc tggtttaca atactatgac
35041 caagttaaag actgcatga tatcttgccg ctgattcaaa atccggaac attcgaaga
35101 tgtcatgagt taaacagcac ctgttcaactg aaatgcttat tcaagcatgc tgtgataaat
35161 gacatgctgc cgattcttca aaaatataca gactatctgg atagggtgga gatttgcagc
35221 cagatgctgt tcgaaactgg atgtagtaaa aaaaaatag agatggttgt gggatagag
35281 ggagtcttag gcgtcggcaa agttacatct cttttacca ttgagattag caacagagac
35341 ctacagctgt atctctggg ctactcaatt atccttgaga atttgtactc ctgtggacag
35401 gacccaagt ttttactaaa tcaattcctg cgagacgttt caataaaagg gcttctacc
35461 tttgtaatac aaaccataga atattgtgga agcaaggaga tagccataac tctggctaaa
35521 aaatatacag ataaacatat ttgaaatac ttcgaaacct gggaaagcta ggttcagtat
35581 ggtgtactca ctattgtagt gaatcgtatc ctgtaaattt tgtaaaaaag cttaaacttt
35641 tgaccacatc atattgtttt agaaatctca aaccagtgaa caacagctct atcatacatt
35701 aaaattccag taaaatttat atttttttg gtaaacaaat gttttctctt caagacatct
35761 gtcggaacaa tctttttcaa ctctctgacg cttttgatga atataatata caagcgctag
35821 gactatactg ggaaaaaacac ggaatctctc aacgaataag aaaggacgt gtgtttgtac
35881 agcgaacatc cgtctttct accaatgagg ccttgagaa cgcagcctca gagggaaacg
35941 aaagggttaat aaaactctg ttatcatggg agggaaattt tcattatgtg atcataggag
36001 ctctagaggg tgaccaatat gacctaattc ataatgatga tagtcaaat aaagactacc
36061 acatgatttt atcatgata caaaatgcaa ataccttga aaagtgtcat cagtatcca
36121 atagtaatat ttgggtctct atacagaatg ctataaaata taatatgctc cctattctcc
36181 aaaacacag aaatattctg acacatgagg gagagaatca ggaattgttt gagatggcat
36241 gtgaggaaac gaaatgatg atagttttat ggaataggaca aaccctaatg ttaaatgagc
36301 cggagttttat ttttgatac gccttcgaac ggaatagatt tctttatata acaatgggtt
36361 atagccttct ttttgataac aagatgagta gtatagacat tcatgatgaa gaagatctta

36421 cttcattacc aacagaacac ctcgaaaaag cagccactaa gggatgttcc tctttatgc
36481 tagaaacttt aaaacatggt ggaatgtaa atatggcagt ctatctaaa gctgttgagt
36541 ataatacatag aaaaatttta gaccatttta ttccggcgga aaaatgttta tcacgtgaag
36601 agatgaaaa cctattatta accgccataa ccaattgtgc atccataaaa acgttaaac
36661 tactcttgc ttacctaacc tattccgtaa aaaatatcat tggaaaaata gtacaacatg
36721 tcataaaaaga tgggtattat accatcatal factttttaa aaaaaagaaa ataaccctag
36781 tggaaacctgt ttaacaggt tttatagatt attactatag ctattgtttt ataaaacatt
36841 ttatccaaga gtttgcatt cgtccggaaa aactgattaa aatggccgag cgaagggtta
36901 aactaaatat gattatcgaa ttccctaacg aaaaatattg tcataaagat gatcttggaa
36961 ctatatttaa atatctcaaa accctagtat gtacatgaa acataaaaaa ggaagagaa
37021 cattaattgt tcttattcat aaaatatatc aagatatca tctggagact aaagaaaaat
37081 ttaaattatt aagattttat gtcattgat atgcaactat ccaatttcta tctatgtgca
37141 aagactgttt taatttagcc ggttttaaac cattgtttt agaatgtttg gatattgcta
37201 ttaaaaaaaa ttaccctgat atgatacaat atatagaat tctatcgaaa tctgagttaa
37261 atttattttt ttgatcagag taagaaaatg ttctccctcc aggagatctg tcgaaagAAC
37321 atctactttc taactgactg gctcgtgag catgtgattc agcactagg tctgtactgg
37381 gaaaaacatg gtctcttca gcgaatcggg gacaactatg tacttataca acaggacctc
37441 atcatcccca tcaatgaagc cctaagaatg gcaggggagg aggggaatga tgaggtggtta
37501 caactcctat tactatggga gggaaacatt cattatgcca tcataggagc tttggagagt
37561 gaccattata gcctaatacg taagctctat gaccaaatcg aagactgtca cgacatcctt
37621 ccttgatttc aagaccAAA actcttgaa aaatgccatg aattagataa atctgtaac
37681 atttatgtc tcgtattaca cgcctgtaaa aacgatatgc ttgcatctt tcaagagtat
37741 aaaaatgatc taagtggaga ggatatcaa gtgggtttg aaacagcatg ccgttcacaa
37801 aaaaacgata ttgtgtcatg gatgggacaa aatattgcaa tatacaacc cgaagtatt
37861 tttgatattg cctttgataa gatgaatgt tcttattat ctatagggtta tacgtctctt
37921 ttaaatcatc tcaataaata acgtaaaaa aatattaca tctgtaaaag aatagaac
37981 gaatggcgtg ccggcatggg ccttcttcat tttatgctgg aaactttaa gtagggcggg
38041 gatgtaacga taatagtctt gctgaggcc gtaaaatag accacagaaa gattttagat
38101 tttttctcc gtcgaaaaaa ctgtaccaca gaagatctg aagaactatt attgttggcg
38161 atacgtcgag atgttctaa aaagacctta aacttgttat tatcttactt aaactattcc
38221 ataaacaata tccgtaaaaa aatattaca tctgtaaaag aatagaac gaccgttatt
38281 ataaaaattt tacggaaaag aaagataaat ctgatagagc ccaatttggc agactttata
38341 ggatatacata gctatacctat tatgtagat tttatgctg agtttccat ccatccggaa
38401 aaaaatgatc aaatggctgc acgagaatcg agggaggact tgatcataaa atttccaaa
38461 aaagtgttga aagagcctaa agatagactt cactatctca aaagcttagt gtatactatg
38521 cgacataaag aaggcaaaaa actgttaatt tatacaatcc ataaactata caaagctgt
38581 catctagaga gtaagaaaat gtttaatttg gcacgatatt atgcacggca taatgcagtg
38641 atccagtcca aatcgatttg ccacgatctc tccaagctca atattaat caaaaacttg
38701 ttgttagaat gtttaggtat tgctattaaa aaaaacttact ttcaacttat caaaacaata
38761 gaaacggata tgcttatga gtaacatttt tagatgaggg aagattctac caaactaact
38821 aagacctttc gctagaatgt atcttatgt taatatagat gagatattg atgtgaaaa
38881 aatagattag gtaggtttg aaaaacagat taaacttaa attatgtgta ttatgtaaaa
38941 ttttagaaat aaaaatttat tttttttat tgagggtacg gaaaatgttc tccctacagg
39001 acctctgtcg gaagaacatt ttcttcttc caaatgatt tagcaagcat accctacaat
39061 ggctgggatt atattgaaa gagcatggat ccgtccatcg agcagaaaa gacagcataa
39121 tgatacagaa tgaattggtt cttctatca atgatgcttt acagcttcca ggagaggagg
39181 gggacacaga ttagtagacg ctcttgttat tatggaggg aaatctgcat tatgcatca
39241 taggagcctt gaagactgaa aaatataacc taatattgta gtatcatagc caaattcagg
39301 actggcattt tctctacc atgattcaag atccagaaac attcgaaaaa tgtcatgatt
39361 taagccttgg atgtgacttt atttgccttc tccaactatg tgtaaaatc aacatgcttt
39421 ctattcttgt caaatataag gaggatctac faaatgcaag gattaggcat cgtatccaat
39481 ccctgtttgt ttggcatgc gaaaatcggg gaattgaaat tattgattgg ataggccaaa
39541 atctgccaat tctgaaact gatgccattt itagcatgct gttgtctaca agagatttag
39601 aactgttttc cttagggtac aagattattt ttgattacat gcaagacagc ggaatcattc
39661 aattaaccaa tggagtctgc atggtgtgc taaatctgca cattagcatg gcaatagata
39721 atggtctttt accctttggt ctggaactt faaacatgg tgggaatata catagagcct
39781 tatcttatgc agtaaacac aatagaagaa aaattctgga ttatcttatt cgccagaaaa
39841 atatagcccc taatacaatt gaaagacttt tataatctggc cgtgaaaaat caatcttcca
39901 ggaaaacttt gaacttgtt ctatcttaca taaattaca ggtgaaaaat gttaaaaagc
39961 tggtagagca ttagtaaat gagaaatcca ctctgtgtt aaaaatttta ttgaaaaaaa
40021 aggaaaaatc atgtgagct gttttaacaa gacttgaata acattctaca tatttccagg
40081 tgagagaatt tatccaggag ttttccatca gccagaaaa attcattaa atagctgtgc
40141 gggaaaaagaa aaatgtgtta atcaggcta tttctgaaga ttttgggaa aatcccacag
40201 aaagaattac ttatctcaaa cagatagctc acaccataaa atatgaaagt ggaaggcgat
40261 ttttggtaga catcattcac agcatttacc aaagtactc actaaaacac gaagatattc
40321 ttaaacctggc aacattttat gtcaaacaca atgcaatcac ccaattttaa gaccttgc
40381 aatatctttg gctgaacaga ggaacagaaa gtaagaaact gtttttagag tgtttagaaa
40441 ttgctgatga gaaggagttt cctgatatta aaagtattgt gagtgaatat attaactact
40501 tgtttactgc aggagctatt accaaggaag aaatcatgca agcctatgat gcttttagat
40561 agccatglat taacattctg aaagtagaat aaaataact atatactaaa aaccaaatta

40621 gccattttta actatcttct tcttaaaaac tctggataaa aatttatttt tttttaattt
40681 gggtagggaa aatgttctcc cttcaggacc tctgtcggaa gaacaccttc ttccttccaa
40741 gtgattttag caagcatacc ctgcatttgc tggggttata ctggaagggg catggatcta
40801 tccaaaggat aaagaatgat ggtgtgctta tagagcatga tcttactcct tccatcaatg
40861 aagccttaat tcttgcagga gaagagggaa acaatgaagt agtaaagctc ttgttactat
40921 gggaaaggaaa tcttcattat gccatcatag gagctttgag gactgagaac tataacctag
40981 tatgtgagta ccatagtcaa attcaggact ggcatgttct cctccctttg attcaagatc
41041 cagaaacatt cgaaaaatgt catgatttaa gccitgaatg tgatctttca tgccttctcc
41101 aacatgctgt aaaaataaac atgctttcga ttcttgttaa atataaagag gatctactaa
41161 atgtactatt taggcaacaa attcaaggac tatttatttt agcatgtgaa aatcggaagc
41221 ttgagattct tacgtggatg ggtcaaaaac tgcgaattcc tgatcctgag cctattttta
41281 gcattgctgt tgtcacaaaa gatttagaaa tgttttctt agggtaacaag attgtttttg
41341 aatacatgga aaaccaagga cttcatttaa cccaggtagt tctgtatggt atgctaatac
41401 atcactttgg catgtaata aataaaggac ttttaccctt tggctggaa attttaaatt
41461 atggtgggaa tgtaaataga gccttatctt atgctgtcac acaaaataaa agaagatttt
41521 tagaccatgt tgttcgcaa aagaatatac cccataaaac cattergaaaga atgtgcatc
41581 tggctgtaaa aaagcatgct cccaggaaaa ctctgaactt gttactatct tacataaatt
41641 acaaggtgaa aaatgttaaa aagtgttag aacatgtagt gaaatacaac tctactcttg
41701 tgataagact ctgttagaa aaaaagaaaa acctgctgga tgcacttttg acaagatag
41761 tcaagattc tacatacttt caggtgaaag aatttatgca agacttctcc atcagcccag
41821 aaaaattcat taaaatagct gtgcgggaaa agagaaatgt gttgatcaag ggtatttctg
41881 aagatatttg ggaanaatccc gcggaagaa tcaggaatct taagcagata gtgtgtacca
41941 taaaatata aagtgaaga caattcctga taaatcat tcaacacatt taccagagtt
42001 attctttgaa acctgaagaa attcttaaat tggcaacatt ttatgtcaaa cacaatgcaa
42061 ccaccattt taaagatctc tgcaaatatc ttggctgaa cagaagaaca gaaagtaaga
42121 aactgttttt agagtgtctg gaaattgctg ataagaagga gtttctgat attaaaagta
42181 ttgtgagta atacattaac tatttgttta ctgcaggagc tattaccaag gaagaaatca
42241 tgcaagccta tgcittggag tatgccatgt attaaattc tgaatcagta agcaatagat
42301 agattttaga atatgctgta ttaagttagt ttctgaataa gtaattata gatagatttt
42361 agtttatgta aaaatgttaa catttgttca taagttttag ataccatttt agagttactt
42421 ttttagatat tactatttta gccattatta tcttaataaa tcaactatttt agataggtcc
42481 ccgtatataa aaccaaatca accattatct atgtttttaa taactatttt taaaaacct
42541 ccataaaaaa ttattttttt ttcataaaag tagagaaaat gtctcccta caggatctct
42601 gtcggaagaa ctttttctt ccacttgagc ccttaggcaa gcatgtggt caacggctgg
42661 gattatactt ggaaggccat ggttcagta aacgagtggt tgattgcttt atatgtgatg
42721 accagatttg ggaagatgca atccataagg ctatacaaat tgcagcctcg gaaggaatg
42781 agaacattgt caagcttttc ttactatgga aggggagctt acaatagcc atcataggag
42841 ccttagaggg caggcaatat gatctgattc aaaaatata caaccaaat ggggactgcc
42901 atcagattct accactgatt caagatccag aattttacga aagatgcat gaattaaatg
42961 ttacatgtac ctttcaatgc ttatttcaac atgctataag agataacatg ctgccatttt
43021 tccaaaaata tggagaagat ctgaatggaa acaggagaat ggttcaact ctgtatgaga
43081 tggcatgccg attacaaaaa tatgatata tcaaatggat aggatctaac ctgcatgttt
43141 ataacttggg agccattttt agcattgctt ttgttagaaa ggatttaact ttgtattctt
43201 taggctacat gcttctctg ggtagaatga gtactgaaga tagaaacttt atctcaatca
43261 taacacgcca tcttgaatac gcatcaaaaa agggactttt tgactttgta ctagaatctt
43321 tgaatatttg aggtcaagtg gatcacagtg tgtttcaggc tgtaaaatca aacctagga
43381 aaattttggc ccattttatt catgaaattc cccgtgaaac ggttgaagc ctgatactcc
43441 atgctgtgga gtcacgggcc tccagaaaaa cattcaacct gcttttatct tccataaact
43501 actgtgtgaa cctttttgct aaaaaactac tgcacgctgt ggtggaacac aagtacatgc
43561 ttatcataaa gcttttgctc gagcgccca aaaagaagat aaacctggta gatgctgctc
43621 tattcaaac tgttaaatac tctacttata cagaaatagt aaaaatagtg ggtgagtttt
43681 ctgtggacc aaaaagggtg gtcaaatgg cagcacgact catgagagtg gacctgatta
43741 aaaagattc taatgatgca tgggaagata aactagagag aatcaagcac cttaaacaga
43801 tggtaaatca catgaaccac agaaatggaa aaaaatctatt gatgtacaat attcacaata
43861 ttactggata tacctatctg aacaccaaag aagcatttaa cttaacaaga ttttatgctg
43921 tccacaatgc aacatgtttg tttaaagaaa tgtgtaaaag ctgttttgta catgataaaa
43981 tacagctcag agaattgctt gaagattgtt tacatatgca taataggcat gatataatcc
44041 agatgacaga aaccgcagat gaatgtatca aatatataga tcttatfaca tttaaagtaa
44101 ccatgtatat atcaagtaaa tccagattaa atcaggctaa ttgtaaatag ttgtagatac
44161 catataatga atgttttatt aggatagtag ttcagttaa atagtagttt agttaagata
44221 gtagttttag taagatagta gttatgttaa gatagtagtt ctgttaagat aatagtttag
44281 ttaaaactag ttcatgttaa gttaatagtt ttgttaagac aatagttcat ttaagtcaat
44341 agttcagtta agtcaatagt tttgttaagt caatagttta gtttaagtcaa tagtttagtt
44401 aagtcaatag tttagtttaag tcaatagttta tattaagaca ttagtctctg taatacatta
44461 gttttgttaa gataataaaa atttattttt ttttcatcag ggtagagaaa atgttctccc
44521 tacaggagct ctgcgggaag aacatttaca ttcttctta ccccttggct aagcatgtac
44581 ttcaacaact agggctgtac tggaaaggac atggatctct tcaacgaatc ggagatgacc
44641 atgtactctt acagcaggac ctgatctttt ccatcaacga ggcttaaga atggcaggag
44701 aggaaggaaa caatgaagta gtaagctctt tgttactatg ggagggaac ctctattatg
44761 ccatcatagg agcttagag ggcgaccgat atgaccttat ccataaatat tatgatcaaa

44821 ttggggactg ccacaagatt cttcctttaa tccaagacc gcaaatcttt gaaaaatgcc
44881 atgaattgag taactcctgt aatattcgat gccctttaga acatgcagta aaacacgaca
44941 tgctttctat tcttcaaaaa cacaaggagc aaataagatt acacatggca ttaacccaaa
45001 tactatttga attgccgtgt catgaacgta aaaaatgacat cattagatgg atcggttatt
45061 ccctgcacat acaccatcta gagactatit ttgatgttgc attcgccccat aaaaatitatt
45121 ccttatacgt tttaggggat gaacttctca tgcacaaagt aaatacagag gctgcataata
45181 tagaattacc caatttgcta tcataccacc ttcgaaactgc ggccggcagga ggtcttctta
45241 actttatgtt agaaacaata aagcatgggt gatatctgga taaaacgggt ttatccggcg
45301 ctatcaggta caagcatagg aaaatgtgg ctctttttat tcatcagggt ccccgtaaaa
45361 ccgttaaaaa actgttactc tatgctgtgc aggcctgggc ccccaaaaaa acactgaacc
45421 tactttttat ttccctaaac tactccgtgc acaccatcac caaacaactc gtacacaatg
45481 tgcgtatcta cagttccacg cttatcgtaa agcttttact catgcggcga aaaaacaagt
45541 taaacctagt agatgccgtt tttagccagac ttgtaaaata ttccacctat acagacattg
45601 tacaattcat ggggtgagtt tctgtgagcc cagaaaggtt gatcaaaaat gctgcacggg
45661 aatccaggac ctttctgatt gaaatgatct ccaaagctgc ttggggaaat caccacagaa
45721 cgttgattca tcatctcaaa caactaacca ataccatgaa gcctcaatct ggaaaagacc
45781 acatcatata taccatccac tatatttata taaactctaa tatgctggta gcggaggagg
45841 aaaaaaata ttttaaatga gcaaaatit atgcgaatca taatgcggta aacaggttta
45901 acaaaatitg tgaagactat tatataatag atgcacgatt taaaacactt attttagaat
45961 gttttgaaat tgccgtccag aaaaactatc ctagaatgca aaatattgtg gatgactata
46021 ttccgattcct tttttacagg ggaatataaa ccgaggaaga aatctgtgaa gcctattctt
46081 taaaagatgc tgaggtttat gtagatttaa aatggttaca acaaggagaa atggtttaaa
46141 ccaaatccgg tttaaactaa atccaatitaa aactacattt ggtttatcat tagtcatgta
46201 aaccatcgaa aaaaaagcta tttgtttatc cccataaact catctttttt ttgtctcaaa
46261 gtttgacact aaaatcagtt gttttatagt gtttataatt aagtgttttg catgcattgc
46321 agaaatitct atctttttta attggttcaa taccacatgt catacaatat gttgtttgat
46381 tatcaagatt aactttatga aaggaaagta agtgagccgc aaatttaaaa gtaaaatata
46441 tttcatttaa aatgatctta tgaatgtatt ttcgataagg aggaatgaaa gcatttgcca
46501 aaataaatcg cataaaagcc ttggaaaaac ccatatcttc taatcttttg ttgggtataaa
46561 ccctattttg gtgttttaca aaaacttcat tgttataata gtctgtatag ctatcaatca
46621 tttttttaag tctataatg cccaaggttg cacgcataaa gccacagttt ctgctcaaaa
46681 aagcatgcac ctgtaaaagg tgcttttcat ataaccaatt acaaaatitc attccgcaac
46741 agtagcatgt tatttcagtg ggggatgtat agaataatcc ggcatctgaa aatitctcat
46801 aatittttat gtcattggatt gcgaagcttt gatttctgct atctatggag ctatagccta
46861 catattttag ttttacttca aataatcgca aagagatgta ttgatctatc gtattttatt
46921 taggaaacat tctataatit taaatctita tatataatat aaaaaaaat acaaacattt
46981 gtaatgatca tctcattatg aaggctgagt ttaggctttt atttttctaa ttatacgaag
47041 aaggtagggt ctcataaagc ctcaagatg actatgtatg ttccaatc attttctcaa
47101 tgagttcata aaccagaca ttttgcta at ggcttgcaaa agtgccaaca agttgtccac
47161 aaagtactgg tagatgcca ctagctatag ctagctatag tgagccaacc tctctgtatg
47221 tattttatat atttcatttt ttaatagatt taatattttt ataaaaaaat atttagtttt
47281 ttatacaaga atgtcgacaa aaaaaaagcc cacaattacc aagcaagagc tttactcctt
47341 agtagcggca gatacccagt taataaaagc attgattgaa agaactctta caagtcagca
47401 aaaaataata caaaatgctt taagcaca caagaagttt attataccac ccggaatcaa
47461 gttcaccgtc gttacgggtg aagctaaac tgcctgccag ggccataatc ccgccacagg
47521 agagcctatt caaattaaag ctaaacctga acataaagcc gtaaaagatc gagcatgaa
47581 acctgtccat gatattgtaa actaaactat aaagtcata tcttctttat cgttatatac
47641 ttcaatata ttttgccaat cgaatcgaa taaattcaga tctggacat ttaaatactt
47701 atcatctgac attttaatat aatttaaa caagaatggt tcaaaaactt tttagcgtttt
47761 gtttaaaat atcatatgaa taatitctt attaagattt gccggaataa taaaaaacct
47821 atttttaggt acatcatcca tgataatagt aaaattagta aaaaatgttt cttgtttttc
47881 tttgttttca aataaacgtt gtaaggttaa aggtttctcg ttcaatggtt tctttgaaga
47941 taaaagaat gtataatctg gtttaaaggt atttttggtt tcaatcgtga ttccatctgc
48001 ttgagcatat actaaaccag accaaatata acggctccact attacaatat aattagctt
48061 aagtagcact gcaatitctg cgataaatc actacgatgt ttgttaaata atttatgtaa
48121 ttgttccgat gacatttcta tggttttatt faaacactgc aataaagat cacgggtggt
48181 cgtgtctgga ttaggaaaa gtatacatat agcattataa tccatgcatt ccaatgtttc
48241 ttttaatttc attgccgtg tgctttttcc cacaccattg attcctcga ttggcaatgag
48301 tattccacgc atgattataa aaaggaaaaa aagaattcag ttttaacat ttcttcaaaa
48361 tcttttttta tacaacattg tacaacactg cattagcgggt atatgatgtt atagcttcat
48421 taaatatttg cttttatata atctttacca acctatattt ggtagatcac tgcagatggt
48481 cataaatagg ccataactaa gataaaaatt atttcagacg ctactacgggt agtattatta
48541 aatcatgtg ttggcaatgta tgacgtctta atagataaaa ctttaagga aaacaaatit
48601 gaataaaaaa aataatgtt atgatggcgt tgttacacaa agaaaagctt atagagtgca
48661 tctatcatga gctagaaaat ggcgggacaa tattgttctt acaaaaaaat atgtttgtg
48721 cagaatitc atacattggc aataactata aatattttac ctttaatgac aatcatgatc
48781 tgataagcaa agaagatctt aaaggagcaa catccaaaaa cattgctaaa atgatttata
48841 attgatttat aaaaaatcct caaaataata agatttgag ttggtgagcc cgtactcaaa
48901 tttattttga aatgatttta tatcatacaa attacaatca taaatgtata aaagatittt
48961 ggaatgtttc aactcagtc ggtcctcata tctttatga tctgacatt ttggttacta

49021 aatgcacatc cttttacca tttaccaaca ttatgtcgcc caatafatc caataaatta
49081 gatatacttt ctattaaaat agttaaaaac cttataggtac tttattacca
49141 taaattatga tttttataa ttagtactt tattataatt aatctcttta ttaatgaatt
49201 atcataagat aactaattat tttttccat atatcagata ataaactga tatgggctaa
49261 aagtatgttt caaactatit acaatagaat ttctgttaag aaaacataca taatttgaat
49321 aaaatttttt taaatcacac cgaacaatc aacatgggtt taatagagtt ttaaacaggt
49381 ttcttctatt tataatggaaa gagactgttt tccattagta aagtcattgga catgatatgt
49441 ctgactatt ataccattat tctgtctcct ctggcgatga tgttagcggc aagactaaaa
49501 aactatgacc tcatgaaacg actgcacgaa tgggaaatct ctattgacta cgtctactt
49561 gtatgatag atgtgcccgtc tattgactat tgcctaaagc ttggcgttag atccccgact
49621 agagcacaaa aaagagaact gctgagggac aacacgttta atcccgatga taagtatctt
49681 atgaactgtt cggccttccc aacaaagaga gaaaaaaca ttcttgtga tgttcaatgc
49741 gaaagactgc aaaaaacat tataaaagaa ctggatatta actgctctgt actgctttaa
49801 atggtactgc acacagaaag agaataatgca tacgccctac actgtgctgc aaaacataac
49861 caattgcccc tcctcatgta ttgttggcaa caatccacag acgcggaatc tttttgttg
49921 aaaactgct gtctgataa gaacatcaat tgttttaact atgtattct atatggcggc
49981 gcccataaatt tggatgctgc aatgggtgaa gcggaacagc acgatgccc gatgctgata
50041 aactactgtg tcatgcttgg tggagatcc ttaaagcga caaaagaac ggcgcatatg
50101 tttggacaca ttgaatgccc acaactgtt ttaaacctgc agtcttacgt cgtggacaca
50161 tcaatagac acgacactga ttaaagcggc aatcttacgt catgaacgac tgcctttga
50221 gtatctatag ttacattata ttttttatg aaaaaaataa aaaggttga tacaaccctt
50281 tgtatacaag aaatttggat cattaaacaa taatttaatt ggacacagga aacgatctag
50341 atcgatcaaa aagctatttt tttgacacac agaacaatta gataatgag agatfacttt
50401 ccatacttgt taagcttttt tacacacagg aactttggat tctgttcagg aagttttca
50461 tagacattat gtttacagcc agtaataata atttgggct ttttcttaa ccaccgggtg
50521 aaaaactcca gcttgaataa agggaaatgc atgtagagag gttttgtag tcatggttaa
50581 gagatttgac taactccatg ttctctgtaa agactgcccc gtccaagca gtaaacctc
50641 tatgatagtc tttttgagtc ggtctgctc caaattttat gagagaaagc atatttaaag
50701 aacggccccc tattgcccgc ttcatcacag gactcatccc attaaaatc ggtaaacaaa
50761 ttctggtccc atttttccg aaatagcccc acacccttc caggattaaa tgatttttt
50821 tctcagctaa ataattgtaa gcagagtctc catctttatc cctcctatga ggtttaaata
50881 tttctccagg ataagattct tgtcaaaaa gaaattttaa aaagtctata cgtccgtaga
50941 tgcataatca catgaatacc gaggatccat tttatcgca tctatgaca atccacggat
51001 ctgtttttaa aaattcctca aatagttaa gatcccat tctaataatg ttttaatacc
51061 atttaacaaa caagttttct atctccctt ctggaaacat gtgtccatt ttgaatgctg
51121 cccctactcc actatagat ttactcctt taatttttaa tgccttttt ttcggactt
51181 ctttggataa gctgtttatt accatcttta aatgccttat agcggggagg agccaggccc
51241 ttttccata tgtgcccgtaa ttcttgggtt ttatgcttgc ctttggcata accaggccag
51301 ttttttcca tatatccagg gtttgttttt acgtattctt taaaggtccg ataggcttct
51361 tgaatacagg taggctcacc ggtataattt ccatgttcat ctctctttaa aaagccatta
51421 accctgtcct ttctccactt aagattgtgc tttccaaaaa tgcgatcaag atcttgcgc
51481 tgcctggggtg gaatcataaa tcccttttta ggtcgaagct tttattttt tccatagctt
51541 cggccatcgc gtgccaagc agtggtagg acgctgata gtcttccat gggcgtcgca
51601 tctaactccta tccatccacc ctgatgaata tcaatggcaa caagctctcc tttattttg
51661 gcaagccaag tttccaagaa tgcctatgct tcttcccagg gataaggccc gccaacacca
51721 cgggttgtcc aatcttgcga ggactccagg tccgacacct ggttaaggctc taaagaagc
51781 ggttctctgt ttttgtactg caaataagat ttaatgacc atttatacca tgtgtcgac
51841 cgcagcgtgg cgcctccaaa gtgaaagccg tcgttgattt taggatattc gcaacattt
51901 tcaaccgtac gtttgagtgc tgcaaaagcg cccttccaag gaagtcttc gctgcccgtg
51961 agacggtcta ttttcccctg cgtgccatag cgtatggcat gtcgtgcaa ttgcaacaa
52021 tctgacaccg atccgtgggc cccgatccag tttatcggat aggcacacct cgaagggttt
52081 aaaagatgct cgtaaaagcg tggatcttca gatgccaagg cgtctgcaa ggggataatg
52141 ctgaaaacc tgtctagaca tacgttttct gtgttactt ctaaagtag aaaaatggtt
52201 gctgaggct tttgaacctg ctgttccagc ggtctgata tgccttgaat aatgtctcta
52261 ggactatgct cggcgcgtgc aaaaaatacc ggtttagtt ctggaacctc tacgccctct
52321 tgaagagtc gacagttaa taaaataacg ggttctttg aggaacaaaa tctgtaaat
52381 gttttgagga taacctgtcg cggcaggtt gactgagcta tcagggcata gaccccttg
52441 tctaccaacg cgcgtatag ctcttggcc tgttataat cacgggtaaa taccagcatt
52501 ttaggagccg gtatattggt ttttaaatag gctaaggcca ttataattg cttactatg
52561 atctgtttcg tggctcctc tttggactc ggttgggtgg ccaatttagg cgcggctacc
52621 atctgcaatt caaaaatcatt tacatagccg ccctctatgc ctctcgcag atagtagcga
52681 aaggcaacgc cgcacaaaag ttcacgattt tcatggaaa gcggggtgtc gtacctgggc
52741 gttgcccgtt aaaaaagtc gtgcccttt taaagtga gcaacacgtg ggtaaagggc
52801 cgtgtctccc attcgcccga aatccgggtg cattcatcgc taataataag atcgaaatca
52861 tccaccagta gcgtggagga ttggtagggt gcaatcaaa gaagagaagg ggcctcccgt
52921 atccgttttg caataaagac aggatgggt gtcatttcta tttgtcgtg atttagcaca
52981 atgcccgtct ggtcagacc cacaagcaaa acgttcttca aagaattcc atactgatag
53041 agttttcca gactctgcc tagtagggac agcccggca ccaggtaaa aacttttct
53101 tgaagataat tggagaggat aagataggcg acgaggttt tgcgccatcg gcaggccatc
53161 tgcagaatgg cctcccact tgcggcagc tctgatagc ccataatggc cgcctcttcc

53221 tgataaagtc gatcctcgat tgcagtcggt gtctcatctg tagaaaaaaa taatacgtca
53281 tctgcgaaat gtctcatctc cacaggagtt atcaccaggt gtctcagitt ctctctgctt
53341 atcagcggat cagagggcaa agatggotca accactatcg tggaaatcatt catctcatag
53401 gcgggagaat cacacaaagt atagcttatg tccagacagt ttgcaacatc ctacagccaat
53461 tgttttattt ttctgggtaa aagacatacg agttctttgt ttttgacgcg aaaaaactgt
53521 gcacaatata acacccctgc ttcaattttt tgcgcactct tctttgtaga tgtttccaat
53581 gtgaaacaat acttccatc atccgtaaaa caggttgtat aagatccatc atgaagccta
53641 gcgccaagt ttctgtgtg cccaacttta tghtaaggatt gggcctccag ccagggatga
53701 accgccacgt aaaatcctgc gcacatgcta tatcaaatg cagtttctta ataactgtac
53761 acaggatctg aaaaacatgt gattacaaaa tttagataag aaatattta tatataaaat
53821 cacagaatac atgtcactgt gttagagagaa agccaaaaac tctcttgac cgcgtggga
53881 aatcatccag ggtagtaggt tgtgttcat aaagttgtat gccgtagtga tcaccgtgga
53941 ctccagatgg ttattggcat ctctgcaata ctctgcatc ttggcagaaa agacgataaa
54001 tccacaaatt ctaccccagt tgataagatc cttaaacagc tcagtcacaa ccccagtaa
54061 ctgggtttta atttctgaa cactcgttaag agaaaaggta atgtaacct gttgttcaa
54121 acactcatca taataggtta aaattttttt fatttgttgt tgatagggc taagctcatg
54181 ctctgaaata tcattaatgt aatattta atatcccact agtatttcat taatgatatt
54241 atgatattt aactcttct cctccatagc ggcaccctat attttttat ttaggittca
54301 atgttatcac aattgcgata caattgtgat acaattgtga cacaactgtg ttgtatacaa
54361 caaatgttag gccacgtata gcaacctata tghtaagaaa ttttttatc ccaacattag
54421 ttggaaacga gcagccgcaa agaagtcatt faaaataagc catttaaaga tttagaattt
54481 atatgtatac aactgtacaa tggagcaggt tcttaccaaa ctgcaccagg aggaaaaaaa
54541 ggctctccaa aattttcatc gttgtgcttg ggaagaaact aaaaatatta taaacgattt
54601 tcttgaaatc cctgaggaac gatgcacctaa faaatcaac tcatacacia aaaaaatgga
54661 gcttttattt acccctgaat tccacaccgc ctggcatgaa gttctgagt gcagagagtt
54721 catattaaac tttttgagac tcatttcggg acatcgagtg gatttaaaag gccctacatt
54781 tgtttttaca aaagagatca agaactctggg cattcctagt accatcaatg ttgactttca
54841 ggccaacatt gaaaatatgg atgatctaca gaagggaaat ctcatcgga agatgaatat
54901 caaagaaggc taatataaac aactaacatc aaaaaacatt aaaggctatg ttgtggacga
54961 tgcttttgc tcaatagttt cgaggctatc caataactca tghtaacgtaa aaaagtgtg
55021 ccattttttt gaaaaattta aaagacgttc gtcttcaata ataaaaagt cattcgaagg
55081 aaaaatgata tactcaatc catagctctg taatattttt tttaggtctc tcagggttcca
55141 gggatttacc aggcctctac gcgaagtgg catcataaaa atatctaata tttttgctc
55201 cataagccag cgcggattct cattggccca caaatcaaca ataattctct tatcaaccgt
55261 gagcattctt acttgatcg aagaaatgat tagatgccca gcagtcacc ccatgagtag
55321 ataacgcagc gttgtagaaa tgtcacatat ggaaggcatt cctccacaac atgaacccea
55381 attaggatgc gtgtgaaaca caaacatagc aggcctgttg gccaccctgc tataaatatc
55441 agcaggcatc atagcctgc tgccaaaaa aatgttctct cctgccctat aggggcttgg
55501 aatgatttcc actatctcgg gtacaccgtt tatcatatta atgcggccgc accattcacg
55561 gtcatcgtcc aaaaattttt tghtggcacc ccgaacattg tcccagttaa gcaacagagt
55621 attcacaatc tcttaccgt cgcgccagta ttcttataaa ctcttttag acttgcagag
55681 ctgttcccag gattcgaact cagtccaatg tttttttct ttgggggag acttcccttt
55741 tgaaacattt ttgctgctc caccatctac actatgattt tccaaaataa tctcttcat
55801 cgtttgagtt atatgggcat tghtaagcac cttagtggtta acctgtttac ctatgtgatt
55861 tagcagaaaa ccaagtttgt ccatttgtgt ctcaaccatt tattcttaac aaaacaaaaa
55921 aaaaataaaa atcatctcg tttaaaaaga gtttgaaggc aaacgcatac tcttaacac
55981 agttctgata ctgctaggt cttaactcga aaaagttgtt ttttctact tcattaagaa
56041 agaatttagt catctgagga aaaggtttc ccacctata aatgctttg cactgcatca
56101 tgaagcacia attatctgta aagtagcgtata tatattgaaa tagcatttct ttgaaaaaac
56161 cgggaactct tctcttgcc ttgtcaaaag catagttat aaactcatcc accaactcca
56221 cagcctcctt caaaaatttg tgaatgatct tttctcggg aatgtatac acgtaatttg
56281 agataagaaa acacgcaaaa ctacagtgca tcccttcatc acgtgagata aactcattat
56341 agcttacaag cccggcagata atattctgtt ccttaagaaa ctggatcgcc acaagttgt
56401 ttgaaataa aatgccttct acggcggcga agcccaccag ccgctcacct agagtgttcc
56461 tgtcggggtc catccactgc cgcaccact ggcctattt tttatgata ggggttttt
56521 caatgccgct aaagatgcgc tgttgttct tctcatcgg gatcagcgtt tttaacctga
56581 ttgagtaggc ttctgtatga acgcactctt gggcagcctg cattgtataa aagtataaca
56641 ctctctttac tttaatctg cgataaaaat tggtaaaag gttttcgata acaattctgt
56701 cggcaacaac aaagaaggct aaaatttgt tataaaaatc gcgctgtggc ttggcatgg
56761 ctccaatc atcaatgtcc ttacacatgt ccacctcctg cgcctccac gtcacacttt
56821 ctaatttttt ataccagtcc caacatcgg ggtgctgaat agggaaaaata gtgaaacgtt
56881 gggaaatttc aattagtaat tcttccatatt tgaataaaa tattaacatc ttcaaattta
56941 ttggctgcca tggagagctt ttttatgag acgttggcat ctgatgtgta tggaaaggcg
57001 ttaaattgtt atttagatag actatcgcag cgcaggtta aatataacct tcaagagctt
57061 atttctact gcagcctct aaccatttta cattatgact attcaacct tgcggcgtg
57121 cttcgggtg accagctgca ccagtcacgc gcctcctct tctcaaggc ggtgagctg
57181 caggccgcac aatctgtct acgcctgtcc ccccagttg tggacgtctg ttacaagtac
57241 aaagccattt ttgacagcta cattgactat agcagagatt acaagctgt cctcctggg
57301 atagaaacca tgaaaaatc ttatttgtta aaaaataaag atggggtcat catggaacgc
57361 ccgaggatg ctatattcgg ggttgcctac atgatctat ggatgggaag agtggtaat

57421 atgaaaatga ttctgctaac ctatgacctg ctttcccagc acgtcatcac acacgcgtcg
57481 cccaccatgt tcaatgcagg caccaaaaag ccacaactct ccagctgttt cctgctaaat
57541 gtaaatgata atttagaaaa ttatgatgat atggtaaaaa cggccggcat ctttcaggc
57601 ggcggcgggt gaatagggct gtgcttgtca ggaatacggg caaagaatag ttttatttct
57661 ggtagtgttc ttaaaagtaa cggcatacag aattatattg tgctgcaaaa tgcttcacaa
57721 tgctacgcga accagggagg cctacgtccc ggagcctacg ccgtctactt agagctgtgg
57781 caccaagaca tctttacatt tttaaaaaat cctcgcctaa aaggacaaat ggctgaacaa
57841 cggcttaaat cccctaatct caagtacggc ctatgggtcc ccgacctatt catggaata
57901 cttgaagacc aaatacacia cagaggcgac ggcaaatggt acctcttttc gccggatcag
57961 gcccacaatc tacataaggt ctttgatttg gaacggctgc agcacgaaaa cgcacaccgc
58021 gaatttaaaa agctttacta tcagtatgtt gctgaaaaaa ggtacaccgg cgtcacaacg
58081 gccaaagaga ttatcaaaga gtggttcaaa acagttgttc aagttaggaa tccttatatc
58141 gggtttaaa atgccataaa tcgtaaaaat aatctttcac atgtaggcac tatcacgaac
58201 tccaatcttt gtattgaagt cacaatcccc tgctgggagg gtgataaggc tgaacaagg
58261 gtttgaatc tggccgcagt aaatctagcc gcctttatac gtgaaaatgg ctacgactac
58321 cgtgggctca tagaagcatc agcccgacct atgggttcgc tgggtgatt tagtttctc ctgggaagaa
58381 ggctactacc ccacagaagc cacgcggaga agcaatatgc gtcaccgacc tatggcatc
58441 ggggtctttg gcctagccga cgtgtttgag tctttaaaaa tgaatttgg ttcaccggag
58501 gccattgcca tggatgagcc catccatgag gccctatact acggggccat gcgacgatcc
58561 atagaacttg caaaaagaaa aggaagtcat cccagctttc cggggtctgc ggctcaaaag
58621 ggtctactgc agcccgacct atgggttcgc tgggtgatt tagtttctc ctgggaagaa
58681 cgcgtggcac agacgacgca ggggtgtgtg acgcccgaaa ggtggtcga gctacgctg
58741 ggggtatgac agggacttcg aaatggatat gtcacagctc ttatgccac cgcacacctc
58801 tcaaatctta caggaaaaaa cgaatgtttt gagcccttta catccaatct atatacactg
58861 agaactgtaa gcggggagt ttatgtttta aataagtatt taatagacga tttaaaagaa
58921 ataatctttt agacagaagc cattcaacag cagctactaa atgcgggagg tagcattcag
58981 cacattttgg atataccggc cgagatccgc gatcggata aaacctccag ggaatgaat
59041 caaaaaattt taacaaaaca cgcggccgca cgaaccctt ttgtatcca aagtatgtcc
59101 ttgaactatt acttttatga acctgaacta agccaggtag ttacagtgct cgtcctaggc
59161 tggaaaaaag gtttaactac cggttcctat tactgtcatt tttagccttg agcgggtacc
59221 caaaaaaaga ttataaagaa cctcagaaaa gcgtgtaaat cggactgcga ggcgtgtctt
59281 ctgtagggtg ctgcgggtaa aagagcagcg gggaccataa ggtaaacccc aacaagagga
59341 taatgaataa aaaaagtaaa caggcatcca ttatgtccat attaaatttt ttttcttct
59401 atataatgga atattttgtt gcggtagaca atgaaacctc ctggggggtt tttacttcta
59461 tagagcaatg tgaagaaacg atgaaacaat accccggcct ccattatgct gtttttaagt
59521 atatgtgtcc ggcggatgca gaaaatcacg atgtgtata ttaataacc ctgttaacct
59581 tgcatacccc catgtttgta gaccactgtc caaatcgtac caacaagca cgcacagtat
59641 tgaaaaaaat aaacttagtg ttcgaggaag agtctatgta aaattggaag gtttcagtaa
59701 atactgtgtt ccccatgttt cacaacagat tatctgcgcc gaaactttcc atcgaccagg
59761 ctaatgaagc cgtagaaaaa tttttgatac aagcaggagc actcatgtct ctgtaaatgt
59821 ctcttccttt atgggtgacg tctcttctt fgccgaggaa gtcctgtta tgggcaagag
59881 gtttgaacaa acgcaaggac tctgcttaat ctgctgtctc acaaagggaa tcaaaactacc
59941 tgctttcgta tttttaatgt agtaattacc ctgtgtgta tgaattttaa gaccatagcg
60001 tagtcccagt actttatfta tgaattttaa aattgtttga gggccggtt tatgggctt
60061 ttttaagctta aactcaaacg tgatcgcgct taaatcatac tgacaaaatt catcaacgag
60121 tttcgtcatt aattgttcat tggtaaatat attagggtcc tgaacgcatt taaagccgca
60181 cttagttaat agcataatag cgtacataag agattgaaaa ctataatfta atgttagatc
60241 atgatgctct gcgtgttga tggccatttg atgaaagttt aattcctgag tttgtaacat
60301 agtgagcgac tegtatactg tctttccgag ccttatttgg acacggccag tatagtctg
60361 ttttgcataa aaactattgt atgttcaac aaatttggga gtaattttat gaccgtgcca
60421 tgataaaaat tcgagtagtt tataactttc atacgcaaat aggtcttgct ggtctactg
60481 gatgccttcc ttttaagttt gtttaatttg taaagcttta ttggcatcaa tggtttcagc
60541 cgaggcaatg ttacatagtt cctgggtgtt aatttccatt ttaatgctg tataattgtt
60601 gactgtctcc agcttttcac ccgtcagtat aaacacctta gcgccggtgt cggcgatctg
60661 gttataaaat cgggtataaa agtgattttt tgatagatgt tgatccgca ttgtttcgag
60721 ccatagatgg tagtatggag ttttataata fatcggccta cctgtttctt tactatacgt
60781 gaaggaagc tgggtatgct ttatggtctg aaaaagggtg tcacgttttt gtaacgtaaa
60841 catttcaatg tcttcgatgg tttctggata gtaattttgt ttcccctgta agcagatftt
60901 ataacactta ctttttaatt cacgcacgag gcccaacatt tggcaacatg tttctacgtc
60961 acacgacata ttgttaaaaa agccgtataa aacatcaaat ctcttatctt cgtatgaaac
61021 acccgtgaa atcgtggcgg gatagataag gatatacaag agcccccaat aatcagatac
61081 attatataaa tgggattccc gttcatgagc agtgctttta gaactataaa acccaatttt
61141 ttttccgga aacttttttt ggataaatga ttgcaacagc cgggcctcca ttaatgaatt
61201 tgtagggata acaatttttt tgccttctag caaatctttt aaaagggtat ttaaccaagt
61261 ttctcgtgaa gaggtaaaat aatcgtgtc atgctgggac cttttatatt gatccagtg
61321 aaagaagata tggacatccc cgcgaaaaacg ctgtagaata ttatacgttc gatttctag
61381 gtttgcgtcc aagcatataa cataatttgc cgtttcagac atccacatga aaatggcaaa
61441 agagggagca aagtatttgt gcaggccgct attgaaatga ttaaaaatcg attctacctc
61501 atccaaaata agtaggtcta caggctcggc tgtggagggt agccggaaaa gtgattctac
61561 ctgaatgatg actctttcgt agctgtccaa atctccagtt acttcgctgt acaatgtgaa

61621 attcggtagc cgggattgta tatTTTTtga gaagatctgt cgaaacgtca caaacctgat
61681 ggTTtGtGt ttTgaatag aattattgcc gtagtatttt Tgcaaatagt TgcgcagtTg
61741 gacggTTTTa cctattttca ttTgagcctt Tacaacaagc gtagggactc gttcatattc
61801 Tcgcatacta cttTcatcat agatgtgttt ttgagatTca ggcagtTcct caaagagaat
61861 ggactcatga acctctatgc tctttgtcat cactTgttcc acatatgttt ccacaaaatt
61921 attTgtgccg gaaaaggctgc ccatgagaag gctatgttta ttgtcatggc gacagtTttg
61981 atacactttg ttTcccgTga ctctTaaaat tagggTattg TcctTatcat gcatacgctt
62041 acatattTcg cagTaaCTg gactTgtacg ttTaaacaat actaaatttt tatgaacacg
62101 gaggaagcaa TgattttTac atagTgtTcc TgcaaatTTT aatacctcTt caagTtcaCT
62161 ttgtTggata gTatcgCagg aactcggtgt TgtTtctTTT acattTgtga agatacaagg
62221 TaaacacgTc cTttcaaagg gggTtGctat aagggtatca ctctTTTtCG ttgtTgtact
62281 ggTctcaaac acctctgcaa gTcctcatt aaacattTta acacgcatgc tacctTTTTt
62341 atgagacct atgatgcgaa aattttgaat actTTTgtTg acctgggggt caacaaaagg
62401 ataaacgtgt ttgggaagat ttTctaacac ttTggatGta aagactTtgg cctcattatt
62461 gttTaaTact gagTatgat aaagTatgat atgaaaggag tttTaaGtt ctgcTtttt
62521 attTaatccg atagaatctg ttagcaaaaT ttgtTcacgc gTtagattga TgtTataagg
62581 Taaagaatat gTctcgTaaa atacatccat gatgacGtta atTatcatgt caaggatgtc
62641 atagacattg TctTgcacat tatcatgtc atcaacattg Tcatcagagt atgactTatt
62701 Taccggaag Tcgatgtcaa attTtaagcg ctgaggcaaa aacccaaaata ccactTcgTg
62761 gaaacactTc Tgctcaaagg gctgagccgc ctcccactcc caaaagTcat cagcactTga
62821 aaaaactcTa cTttcaaagg tatattcatc Tcgaccacgc aagTgattct tTaaGttTc
62881 gagagaatat ttatcctcTa cggctTctcc ttgggagTta cagcgaagaa actTgaatgt
62941 ttctTgcatt ttgataTTa aaattaaatc aattatgatg cggccgctaa TgcggcggTt
63001 gacgCGcgcg cgcgctgac gcagccatca TacaTaaagc ggcattggcgc tttTataacg
63061 actagTcggc cgtTatatga cgaactataT aaaaatgaat tctTTaatt agagTtaagT
63121 attgtTgatt Tgataatcca TcattgTtga gccacgcgca cagTttTtC aagatctgct
63181 ttcagcagTg gatcaacaaa Tggacactgt aaaaaatgac ataaaagaca ttatgaaaga
63241 aaaaacgtct ttatTgTat catTcgaaaa cTttatagaa cgtTacgata ccatggaaaa
63301 aaatattcaa gacctcaga ataaTtagca agaaatggcg gccaacctTa Tgaccgtcat
63361 gacggataca aaaaTcagc ttggagccat tatcgcccaa ctTgagattc taatgataaa
63421 Tggcaactcca cTtcggcaaa aaaagacaac aattaaGgag gctatgccct TaccTtcatc
63481 aaacacgaat aatgaacaaa cgagtctcTc cgctcaggc aaaacaagTg aaacacctaa
63541 aaaaaatccc acgaatgcga TgtctTcac cgtagcgaT Tgggcatcct cgaatacttt
63601 Tcgagaaaag tttTaaCac cagaaattca agccatattg gatgagcagT ttgcaaacaa
63661 gaccgggatc gaaagattgc atgcccaggg Tctttacatg TggagaaccC aattctctga
63721 cgaacagaag aaaaTgTca aaagatgat gaagaagTaa tattttTgtg aaaaatattt
63781 ttatcaaaaT tttttacca aataataaaa aatatttttt acttttttt ctTcataata
63841 TacaTagaat gcctacaaaa gctggcacaT aaagTaccgc aaataaaaaT acaacgaagg
63901 gctcctccaa atctggttct Tccagaggcc acaccggcaa aaccatgct tctTcTcca
63961 Tgcattccgg gatgctctat aaagatattg Taaatattgc tagatctaga ggcattccga
64021 ttTaccagaa Tggatcgctg ctTactaaaa gtgaattgga gaaaaaaaTt aaacggtcaa
64081 aatgaatata atcaggaaac ttTaagcctgg aacaattagc ctTgtgctgg gaccctatgtt
64141 TgcccgcTaa actacgtTtC ttattcattg cattTacatg ctTgaacgtt Tggaaaaaaa
64201 agTagtcttc ataaaatcTa ccaaaaacac ccgagacaaa actatTaaaa cacactccgg
64261 TatacagTat cgaccCaac aatgTaaaat catagaaagc acacagTtat ctgacgtggg
64321 ttctctcacc gatattccatg cagTtgtcgt agatgaagcg cattttttTg acgattTaat
64381 cacatgcccg actTggcgag aggaagaaaa aattattatt ctTgcgggac Tcaatgcttc
64441 ctTcagcag aaaaTgTtC cgccatcgt Tcgtattttt cctTactgca gctgggtTaa
64501 gtatattggc cgcacctgTa TgaaatgTaa ccaacataat gcatgctTta atgtgcgTaa
64561 gaacgcagac aagacgctTa TcctTgcggg aggaagTgaa ctgTacgTaa catgtTgTaa
64621 caactgctcTa aaaaatcaca ttattaaGca gTtGcaacct atTaaatatt aaaaatcTta
64681 Tacaataatg gatcattatc TtaaaaaaTt acaagatatt Tatacgaagc Tcgagggtca
64741 Tccctttctt ttTtagcccgT cgaaaaccaa Tgaaaaagag ttTattactc Tgctaaacca
64801 ggcctTggcc Tcaacgcagc ttTaccgcag catacaacag ctgTttTtaa cgatgTataa
64861 gctagatccc atTgggtTta TtaactataT TaaaacgagT aaacaagagT attTatgcct
64921 gTtaattTaat cctaactcG ttactaagTt ttTaaaaata acgagcTtTa aaattTact
64981 taattTcagg ctgaaaactT ttTatataag Tcctaataag Tataataatt ttTaccgcg
65041 Tccctctgaa gaaaagacta accatctTct aaaaagaagaa aaactTggg caaagatTgt
65101 Tgagaagga ggagaagaaT cctaagTcgc ttacattttt ttTtGctatt ttTatagaat
65161 gtacacgcat gTgatgtTg Tcggaatagc Tgaagcctca cggccctct acgtgcaaaa
65221 agataggat cgctacttag acgtgctaac aaccattgaa aactTatttt accaacaca
65281 atgcatcata acaggggaaa ggcgccacct actctTTTta aaaaaaaTa ttTatctTta
65341 cgaattttac Tccaacaatg Tggcgagca cagcaaggct ttggcgaccT TgctTataa
65401 actTgatccg gaatacctca ctcgtTcac agTactcatt accaaaattc ccaaccattg
65461 gtatgtgatt aacgtagatc agcgagaatt Tgtgoccta Tatgcatcc cggcagTtaa
65521 acaacactTa cogatTccca TttTaccctt ctatTgcacc agcgcactca cccagcaaga
65581 attgtttTgt ttaggacctg aactgcagTt aatacaaaaT Tattccaagc TctgTaaacc
65641 caactTtTgc gaggaatggc ctacgtTgct cgactacgaa aaaagcatgc ggaTgtTatt
65701 ttTagaacag ttTccgcaaa gatTggaat gacggcgggg aagaaggagg agaaggaaaa
65761 gcatgaaagT atcataaaaT aaataaTact agaaatgTc TctaccgTc agcgaatcgt

65821 tgttgggggt tacatacaaa aaaacctgta caaccatgta ctcaagaata gaaatcgttt
65881 acagcttatt acgagcttaa atatttatga agaaaaagat atcatccagc aatittgtga
65941 ttcaaatgga ctgaagatca aaatacgtat caacaatccg ctcttgccia caaatccgga
66001 attacggcgt ttgactatit attttaatca taataatgat gatgatcagt catatcta
66061 agtagatatg tacaacacgg gaagctatga gctagtgcct acaaatcaga taaacacgct
66121 tgatggcagc tttttaatag gaacaccctt cgtgcaagcg cgatttttgt tggtagagat
66181 ctgggtgctt atgcttatig cgcagcaaac taaaaaggac accaaaaaaa taatacaatt
66241 tttataaat caatatgaaa tgcctatgaa tagtccitgg cccagtatgg aggccctttt
66301 tccctcaagc agtaaaagat atttaggcaa ctatgtagac cctaaccgcg tcataaagtg
66361 ggcacaactc aaatataaaa gaataccgcc tttttatcct ggaaagccgg atgaagaatc
66421 atgttaagcc gatataaaaa tcatgttaag ctgggtgaaa aatcatgta agctggttga
66481 aaaactcttg gtgaaagcac ggatgtaata ttaacattgg ccgctcgcat ttcgtgttga
66541 aatcacgatg aagagcgagc gctatctacc atgcccgat cggcctggac atcacagttc
66601 atgcacttgt agatgggatg actcgcgtta tagatggcag gctcggcaca gtttctacag
66661 atgtaggaga tgcagccatc cgagtctgct tgcgattttt ctatgatggt ttgcatggcg
66721 ccctgcgccc taagcaccca atgctccatt tctcccagac gaagacctcc gtgcatcgt
66781 ttgcccgtca acggctggcc tftgagggca tccgtggccc catagcttgc aacggcgtat
66841 cggatcatca gcacaaaatt ttgcaggcgc tgggatagg tccgtcctat gaagatggcc
66901 gcatcaaagt actcggcgtt ctggccgttg aacatttttt ggcatccatt gaagcgtaga
66961 ccttcttggc ccagcttttc tgaagaagc tgcacatata taggcaggaa tgcggtgccc
67021 tctgttacca cccctctgag ggcatttgc agaccaaccg tggtttctat catttgaccg
67081 ttggtcattc gggagggatg tgagtggggg tttaacaatga ggtcgggctg caatccgtcc
67141 tctgtgaagg gcatgtctga agtgggcagg gccagcgccc caatgccctt gttcccgtg
67201 cgagaactca ttttctgccc tatattgaga ttcttttcat agcgcaggcg catgaggcca
67261 aagatctcgt cattaggccc atggggacgc atcacagcat ccacgacggc cggctcatcg
67321 aagccgtaca agatagagaa gtcatgatat ttgttgagtt cgtctttttc gccccgtatt
67381 ttggccactt ttcctataat gatgtcggcc tttttgacca ccgttctac gggcacgaat
67441 ccatctacaa gcttttctga attagcacca ggcttaagat ttttgggat taaagggctg
67501 ggcttcccaa acgactctat atcgctttct aattctactt tttcttctcg gtagaaggtg
67561 ccggcaaaagc cgcccctgic aataaaggac tgcgacacga tcacagagtc ctccctgatt
67621 tgaccgcccgt agatcatata agccacaatg gtatlaagcc cgttgggtat gacatagtta
67681 tgtgctatgg tctttacaag cggcatttca ttgtaaaact ggaagaagcg gttcatgtcg
67741 acacgatatg gccagctaaa gcaataccag ccccccgttt gccggccttg gtttgttca
67801 taggtaaacac ggcgaggttg ggtacagttt cgttaggggg aactagggc ggaagggccc
67861 aaaaatagct ggggcacgtc cacgtgtgtg aaacgacgcg ttacatcatg tttatgtttg
67921 cgtagctcga tgatggagaa gcaacaaga cagttttccg cctcctcggg ggtaatgaac
67981 tcacagatgc cctgtgctac gagatcttca agtgaagcg ttccggctaa aatgtctttt
68041 gccatttgag gcgtaaatcg cgtattttga atgaaagga tttatgtttt ttcccagctt
68101 ttatcgccct tttttctggc ctctcggccc ttgtagcagg ctgtatgta ttttcaata
68161 ttattatcta caatgagtag ggggggggtc agcctaccga cgtccaacca aaattctact
68221 tctgttacca tgcctatcca gtatgggtg gtatggggat gcacaacctt gccctcagg
68281 cgaagcattc tataccgctg agcaagctca aaggcatttg tgcagcagcc gatccattct
68341 ccgttgataa atacgcgccc taggcccttt cgtacaatgt ccttgttggg aacatcggct
68401 aactgttgaa tggccggatc tgatagaagg cgttgtttta acgaaagtac ttctccggcg
68461 gtgcagacat tggcagtgat ggctaactgt ttagacatgc ctactttttc accagtatcg
68521 gctgactggg ctacgcagat gtatccagga taggatcgt gcacgcagcg catcatgtca
68581 gccctttctg tttgtttgga tgcgttgggt gtgttatgag ttttaccgt acgcaatgct
68641 gaaatgggat ttaataaatt ttttctttcc aaactttgag tagactctct gtttacaatg
68701 gggcgtgtc gcaccatgat ggttttattt cctgaaatga tagactgttc catactgcca
68761 ttaagatcgg aggcggattt ttttgataaa gggcagaaa atgcctcgat aatgtttcgc
68821 tgagtaagct cctcaaaaggc tgtttgttta agaagttcct tgaaccatt gatgatgggt
68881 gctatcacgg aagtattaaa aatagcctta aaggccttgg ctagtgagac ccttgagccg
68941 tgcaccgctt tgggtcggtg gctatcacgg tccgtgggtg gaacacatt cataatgaca
69001 agaagtattt tatgaataag caggcctaaa aagcgcagct ttcgtacacg tgtatctgcg
69061 gtttggccca tgtgtggcag caataatttt tctaaaatag taagtgtct ttcatttaag
69121 tattgtaccg cattttcatc gcttttgtaa gcagatgggt ttgagacaaa tttgaaacc
69181 ttctcgata aaaactggat aatttttct cggttcagct cgtgtggac cggttgaaat
69241 atggggtcta aaacatgaat ggatttttcc agaatttcta tcatgaagg attcacaagg
69301 gagtggatt ctatgataaa taccacttgc tcaatgatgc tgcatacggc tgcattcca
69361 aacatcgcaa agatgagata ccaaggtatg cgaagttttg agaacttggg gctattgat
69421 tcaatggtaa tggccgggtt ggtcatgtag cgtataataa tttagagctt attttcgaag
69481 gcacctccc gtggggagat aaactcggc cgaatgattt cattattccc ttgttgcag
69541 gtatggtaat ggatgtgaag cgtgttaag cggatgtttt ctgaagagtc tacgacccat
69601 tcccgcctc gggctataaa gtacggcccg ggttcattag ggtcttctcc tatttctttt
69661 tttgcggttt ttgatagggt atgagtgtgg cagcggttgc tgcggcagc gatgggaaat
69721 gtatgatact gaaaaggagg aatacttgc cgttttacct cctgcccagc attgctgtag
69781 tgcgcccgtt aaataacctc ggcggctaga ttaaccgggc ccgaatagga aaggccacac
69841 agcgtgctt tattgggtag taaattatc ttgtttccct gtgaatagtt tcatgttgc
69901 gggcgttcaa tgttcacatc tgaaggtta aattggatct gaactgatcc ccgaagctta
69961 tctatttcag tatgtcggc ttggtcttta taagtaatat ccacgttaaa catttgtttt

70021 acaatttgcg gaattccatt gtccataaga tctgcaagc ttttgatgtt ataccctatc
70081 aatcctgtag agtttactgc agcggagata aagctcagca tatcagcctc tgaagctcc
70141 tcattatcca cggtttcaat ggggcccgtag gttatttgcg gccgcaaggg ttccatgatt
70201 atgaagtact acattaatat tcagttattc tttaaaataa atctttatit ataatctta
70261 tttataatat aagaatgcct tatgcaagag acatcacaaa gtttattacg gcaacggaac
70321 cagaggtggg tcttcccctg ttggcgtctg agcgtccaa atccatcata ggggttattc
70381 ttcttgaat aagtttghta tttattttca ttggcattat tatattatca gtgagtgtg
70441 gtcataccac agcagcctct atatttatcg tattgagtct tatcctaggt gccggtgggt
70501 tttttcttat ttataaagat aattcttaac ccacataaaa ttgaaaaaa tatagagtaa
70561 gaaaatgtcc aattactatt attactatgg cggggggaga tatgattggt taaaaacagt
70621 agaaccctact aattttttaa aaatcgggtt gccttaccag gcacacccat tacatcttca
70681 acatcaggca actactcccc catctatctt agaaaaatit aaacgagcag acattcttct
70741 taatgaggtg aaggccgaaa tggaccctact catgttacia ccagaaccg aaaaaaac
70801 attccagata ttgagttaga ttgatattgt caaaggctcg cgaaaaaaag tagaattcac
70861 gtacaatgct caaatgtta cgaatgcttg gcttaaaatg tatgagctgc taaatcacat
70921 gaatttttaat aatacatctc aggcattttg caatgtgag ctccaggag ggtttataag
70981 tgcaattaac cattttaatt atacaatgat gcatcaccct acttttaact gggtagcttc
71041 ctccctttac cccagttcgg aaacagatgc cctggaagat cactatggct tttatcagtg
71101 caatccggat aactgggtga tgcaatctcc tttactgaaa aaaaaatag attataataa
71161 cggggacgta accatcgcta gcaatgtaaa aaacctagcg cttagagcca cacaaaggct
71221 gacgcccatc catctatata cggctgatgg gggfattaat gtaggacatg actacaataa
71281 acaggaagaa ttaaatctta agcttcaact ttggtcaagcc cttaacgggt ttgtgagtct
71341 tagcaaaaggc ggaacatga tactcaaaaca ctatacctta aatcatgcat ttactctttc
71401 tttaatatgt gtattttctc acttttttga ggaactatac attaccaaac ctacctctc
71461 tcggcccaca aactctgaaa cctatatgtt gggtaaaaac agattacgct ttttaccce
71521 caaggaagaa caagtcttc taaaacggct agaattttit aatgatacgc cctctgtaga
71581 cctaagctct taccaaaatt tacttgaaag cgtttacttt gccgtagaaa caatacatct
71641 aaaacaacaa atagaatttc taacttcgg aatgaaatgt tatcgacatt tttatacaa
71701 gattaaacta cttaacgatt atttagctcc gaaaaaaaag atttttcagg ataggtggcg
71761 tgtgcttatt aagctttatg ttttgaaaa aaagcataaa cttaagcttt gtgctccta
71821 gggatctgtt gctttaattt acagatgcaa tcttaacaga tgaactaa aaagtgtgtt
71881 catacaagga ttgtatttat gaatatttat taacataata ggttgtagt taacactgta
71941 taacctatat aactacacta tgaagcacgg cgtataataa ttatattga acacgatgtt
72001 gactcattta ttgcaaaaca aatatttgtt tgcaagacgt ttgcatgcat ttactaatat
72061 gttgttgact agtttatttg caaactagat gtttgattgc aaactagatg ttgacagta
72121 tttattttaa cttaataata ctctctgttt fatttgttat atacacagca tacataagtg
72181 tatattgttt acacttatgt ttataactcg acgtaataac attttacag ctttttttt
72241 gcaaatctta ataatttgt atgataaat aaacaatgct ttatatatgt ggtttatfat
72301 tttaggcgcc gcaagatgta ctccattctc attgcatgct tgggtttatt actctgtcta
72361 gttatataat tgggtcatcg tgccgatcat gcacgaaaat atttagaagg aatgtggcat
72421 gtagatccgg tttttctaaa acagtcgggg ctacaactct tttatctcta catacaacct
72481 gaccatacat gtttttttag catgttgaat aaaaatgggt aaaagctgat ggaaccaaaa
72541 ataccttgta cgataacaaa taaaatata atgtttttta acctatttt tgaatttcat
72601 gttgtgatgg aagacataca tagctacttc cctaagcagt ttaactttct gttagatagt
72661 acagaaggta aacttatttt agaaaaaat caggttattt atgctgtatt gtataaggat
72721 aatttcgcca cgcactagg aaaaacgggt gaaaaatata taacacaaaa ttaatcatgt
72781 tttctaacaa aaagtacatc ggtcttatca ataagaagga gggtttgaaa aaaaaatag
72841 atgattatag tatattaata attggaatat taattggaac taacatctta agccttatta
72901 taaatataat agggagagatt aataaaccat tatgttacca aatgatgat aagatatttt
72961 atggccctaa agattgggtt ggatataata atgtttgtta ttattttggc aatgaagaaa
73021 aaaattataa taatgcaagt aattattgta agcaattaaa tagtacgctt actaataata
73081 atactatttt agtaaatctt actaaaacat taaatcttac taaaacata aatcacgaat
73141 ctaattatgt ggttaattat tctttaatta aaaaatgagc agtactatta cgtgatagtg
73201 gatattacaa aaaacaaaaa catgtaagtt tattatata ttgtagtaaa taatattttt
73261 aattacttaa aatttttata tataagtttt tgatactata ttataaaaaca tatgttcata
73321 aatgataat acttattttt ttaatttttt ctaacatagt ttaagatatt gattattggg
73381 ttagtittaa taaaacaata attttagata gtaatat tac taatgataat aatgatataa
73441 atggagtatc atggaatttt ttttaaat ctitttaaac actagctaca tgtggaagag
73501 caggtactt ttgtgaatgt tctaattata gtacatcaat atataatata acaaatatt
73561 gtactttaac tatttttctc cataatgatg tatttgatac aacatatcaa gtagtatgga
73621 atcaaatat taatttataa ataaaattat taacacctgc tactccccca aatatacat
73681 ataattgtac taattttta ataacatgta aaaaaataa tgaacaaac actaatatat
73741 atttaaatat aatgatact tttgttaaat atactaatga aagtatactt gaatataact
73801 ggaataatag taacattaac aattttacag ctacatgta attaataat acaattagta
73861 catctaatga aacaacactt ataaattgta ctattttaac atgtcatct actattttt
73921 atactttttt taaattatfat tatattccat taagcatcat aattgggata acaataagta
73981 ttcttcttat atccatcata acttttttat ctttacgaaa aagaaaaaaa catgttgaag
74041 aatagaaag tcaccacct gaatctaatg aagaagaaca atgtcagcat gatgacacca
74101 ctccatata tgaacctct cccagagaac cactacttcc taagccttac agtcttatc
74161 agtataatac acctatttac tacatggctc cctcaacaca accactcaac ccaattccct

74221 tacctaacc gtgtcctcca cccaaacct gtccgccacc caaacatgt cctccacct
74281 aacctgtcc ttccagctgaa tctatttct caccocaaacc actacctagt atcccgcctac
74341 tacccaatat cccgcattta tctaccocaa atatttcgct tattccagta gatagaatta
74401 tttaatatgt actatataatt aattatitaa cctttcaagc tggcttctcat ttaaatitaa
74461 aatccactaa taaaatgtat tttctagtag cagatcatcg agaaccatcat gtgattcctt
74521 ttcttaaaac cgatttccat cacatgcac aaaaatcctat acaaaaaaat caagctctcc
74581 tagaaatcaa acagcttttt acitggagatt atctcatctg caaaagccct tctaccattc
74641 tggcctgtat tgaacgaaaa acctacaaag actttgccc ttctttgaaa gatggacgtt
74701 ataaaaatcg ccaaaaaatg ctgtcgcctgc gagaacaaac caactgtcaa ctttattttt
74761 ttgtagaagg cccggcattt cctaaccctc aaaaaaaat taatcacgtt gcctatgcaa
74821 gcattattac tgcattgacg catcttatgg ttagagatca ttttttgtc attcaaacga
74881 aaaaatgagg ccacagtcc caaaagcttg tgcagctttt ttatgccttt tctaaggaaa
74941 tgggtgtcgt cgttcccacc tccctcacc ccacggatga agagctatgc atcaagctat
75001 ggtcttctct ttctgggtatt tcaggcgtga taggtaaaat ctggcacaac acttgttccg
75061 tagctcattt ggttcatgga aagctttcat cgcagaatat tgatcagtta aaaactccct
75121 ccaaccgacc attcccocaaa aaagtaaaac gtatgcttat aagcattagc aaaggaata
75181 aggagttaga aataaaatg ctctcggggg ttcccataat cgggaaaaaa ttagctgccg
75241 aaatitaaaa agatcatcgg ctctttttt ttctaaatca gcccgtagaa tgcctggcaa
75301 atatacaaat cgttcaaaaa acccgtacga ttaagttggg aatgaagcga gccgaagcga
75361 ttcatatttt ttaaaactgg tgtggctctg cccatgtaac cgatgatagc caaaatata
75421 cagaggcgtc ggggtccaca atgcaggctg cgacgcagtc cggccgcaata cagcccgtg
75481 caacgcagcc atgcacgaa gtatcagatg atgcatcctc agatgcttca tccccgtag
75541 ggtatcaaac attatctaaa gaaatgttat tgaacacagc ctgatgttaa taattcacta
75601 catctaaaga aatgttaacc tgcatactaa aaagtcattg aacacaacta ctggggcgt
75661 aagttgtcca acacatctaa agaaatgtca acatcctcga tgctaaaagg gtcctcagc
75721 cggtaataaa tgtcttcccc aaaaagtcgg ggagaactgt agggcgagat gtcctcctg
75781 gagctatctt ccccagagca cacaaagtcc tctccaaaaa tcataaagtt aaatgcaccg
75841 ggcttactta acagcttttc gctttgaata atagtttga gtctgtcag cgcaaacctt
75901 ctcaacaatat tcacaaccca ggaggctct ttaatttcat acagcgttaa gaaactata
75961 cataaaaatt ctatagatga aagcaaggcg ctggcaggat ctgttaccg taggtgttta
76021 aatgtagtgt gctattcatt cacacgttta ggcagcacc ttcccaaatc ctcttttcc
76081 tctgacgaca ggtgctttac aagcctttca acatgtatag gaggcttgtt aaatgtacta
76141 acgtgccgca aacagttata attatataag aaaatacgtc cggcagagtc gaccgccatg
76201 agccttggat catccattga ggtagggtgt ggcggggcac cctggccttc cctgatgtct
76261 gcgtaggagc gccctccat ggcccctatg gctctatca cagcaggact gatatccaaa
76321 atcttggccc tcttgattat ttttccgtaa tgcgaaagtc atggctcctg tggaggcttg
76381 ggttgtgttt cgggtggagg cgtggctata tctttcttta ttgaaataga accgatcgac
76441 atcttttctt tatcgtactg gtctttataa ttattataat agtcatgaac taattcgggt
76501 tgagaaagat gatcgtatat aatataggta aaaagtcggc acttgacaca tttttatcc
76561 tggaaagtcgt gtaacctcc ctggggcag cgtgactcgt agaaggcata aaaggtgtta
76621 aattctaagc agctccttag gcctgtttgg acctttttta tgtttaaagtg cccacaccta
76681 tgttgtagca cgtggcctac agaacagcgt agatggcaca gtgcataatg gttgtcaatt
76741 tttttatga cgtctttcgg tgttacttca atctcggcg gtttctgcga actgtctacg
76801 gccttgtaaa cgtaaatggt ccacttatga ggaagccccc ttcatcgtta tagggtttaa
76861 atgggaagcc ttttatactc aaacagccga gtccgttgtt cggctcttcc tgtgttagga
76921 tcaaatatgt tataaaatcc ttgctgagca agcagggcct ttgctcggcc ataagcattt
76981 tctgacgttt tgaattctgc aagttcggag ttaaaatag gtgcattttg taaacttta
77041 agaaataatt cataggctct aaggtaaatg agagttgagg tttttcctc atcccgtcct
77101 ccccaccaca cccgaggct ttcttcttga aatatagatg caitcagacg cgtcaactgc
77161 gtaaaatcag gccgatattt agaggtataa attttatcat aaaatcttt ttgcgataat
77221 agctcggccc gggtagctcc tatcacggtt ttaaacctat attcagcctc ctggggagtc
77281 cgtggtttgt gcatagggat gctgccgtca atacgggcca ctgtggcagc ataatacaca
77341 atggggtcca gcagaatctc tgtcaaaagt acctggtgt cgtcctgcac gctaagccct
77401 ttagcccat tttgggtgat aattttttg aaagcctccc gaaaattat agcaatccac
77461 tgatccgtaa tctcagatag ctgatttat ataccgctat attgctgcat cattttctcc
77521 aaaagaaagg tcacgtatgc attcaagag ctatccgctc tcattccatg aatggtaatc
77581 gtaagaaatt ctttattttt ttgagagcta taaatgagat tcaaaatata ggcatagatg
77641 tagatcacag catacagctg cgttaaagga tctaatcct ctctctttt aatatttctg
77701 atgctataca cgagcggcag gcagacattt acggctatata tggcaaacctg tttcacgtct
77761 acaagctttc caaagtggat aaacgtgacg gccctcatgg ttctctgcca aataaaaaca
77821 cggagcttac tattaagatc gccgatgatg cccacatctg ccgtacgatc ctctgaaata
77881 aaatgggcca gctctcggcc acaaatittg caaaagtagg agtaaaatag cccctggttg
77941 tttctttct cctgttttat tctgaaaat tctattagct tggttcgcag ggtgtcgtag
78001 gacgcttctg ccgcttgaag ctgtataagc atgtccacat ggggacaaag cagctaaac
78061 ccgaggcttt tgcatagatt ccaattggtg gtattgtttt ttctctgca ggtacacga
78121 atactttcta atacttttaa taactccgcg fattgaagac ccgaacgcaa ctgttttacc
78181 agcttgagat gagcacatgc attttttct tggagttccc actgtttttt aatgtttagg
78241 taitctgttg taataagttc tgccctctgt ttcccacagg ctttaatgac ttctgaaagg
78301 atgctgttag ggtcatccac tttaccctcc attgtaagaa tttcacgtat agcatccgac
78361 tgcaccctac ctatttttct ttccataatt ttaaaatct gtctcggctg ggtaatgacc

78421 tctgtgagct tcatgtccac ctgctgcaga atcatttgcct ccttttcacg ctgttcagca
78481 tgttgtaaaa acttttgttc tacagggttc caaagcacct ccaaatagcc tgctctatat
78541 aggtcataaa gcaagggcat gtatcccgat gtaaaaacgg gggacaccga gfacatcgta
78601 gacaactctt ttaaaaaaaa tatcacgcgc ttaatgttct cctccggttc aatctcctcg
78661 gtttcaacga tattagatat atgactgccc tgatcctcac ggtctagctt tccggtgtacc
78721 atctcctctg ctagccgatt aatgagccag ctatgcccgcc cgtcccgcaa aaacttataa
78781 agttcgatat actggtgctg aaactggatg atgttttctt tgggtgttac gacaaccctt
78841 tctccgtttt tttccagggt ttcttgatcc acgcatttca taaatactcg aataaaattg
78901 gtcaaattgg ctccctgagcc gacgtagccc aaggtttcag gcgagaagga gcctatctca
78961 gccatacgca taaaactctg cggggaaaaa gtttttagcc gcaacttaag tccatagatt
79021 tcaatggggg ctctcgggg aacggccagg tgcgtcccat taattaaaaa aatttctttg
79081 cgtgtgctag ggccaacacg taattccttt tttttttcac tcacgatggg gaccacatcg
79141 gggcttaccg gcagttgacg tatgtaggcc tctatgggca tggatagatc gggcagcttt
79201 gactgctcgg ccgcaacatg gttcacaaaa tcttttagag tgaagaagaa gtcattataa
79261 cgtatgtttt ttatatcatt agacccttta agggtagagt agatttcac cactagtgcc
79321 tcgatttctt cattattgag cgataagata tctgtgccac ggtggactat ttgcgcgatc
79381 gtaattactt cctccattag atagaaactg aatattatat ttaaaataaa tacaanaatgt
79441 caaatgaaag ttttcccgaa acggttgaaa acttacttcc aatgttacag accaaacagc
79501 aaaaacgaat tcagtcagag gtgattgaat ggctgcacag cttttgtgaa accttctact
79561 taaaaataca ctgccataaa cagtttattc cttagcggga aaaaaacga gctaaaatac
79621 ccgctcaaga aacacagggg aacacgcagc cctcccacca tgtgaccgg gttgttctct
79681 ccagagcaca gccagtcaaa gcacaggaat ctctgctaac aacctgtgc aacggactgg
79741 tgctagatgc aaacacatgg acatgcctag ccatctctcc gcctgcgcc tttcaacagg
79801 cgaccgcgca ggtccaacac ttttaccgta acaatttcta cgaagtgggt cccatccagg
79861 atggcaccct tctcacaatc taccactggg atgaccctga atatggcccc tctgtgtgcc
79921 tagcaagtat aattcagagt gatgtgagta actactgttg gataggcgac aaaaccttcg
79981 ccgagcttgt atacgaattg ctgcagcagc actctacctg cgacgtcacc ctggaaaaaa
80041 ataaaacgcg ggaacgcgtt cttttctttg ataacttaaa tcccgatctac tgctatacga
80101 ttggaatccg gcaccataat ttacagcccg tcatctatga cctcaaaaat atttggcgga
80161 ttcaatctac aaacttaaaa acgcttaaaa cgggtataatc agaatactac ggcataatag
80221 gcattccagg aattccagagt caagttcctg agcttcccca gtagatttta ccttatctaa
80281 tacgatctta taaaactgct atgaatcaag ccaaaaaatgc tataaaaaat ggcaaaaaag
80341 acaagggata ctttaattat ggctatctac tcatctcgcg agcgcctgcc atfactaaaa
80401 gtacttctaa tgttttgtta aaatcgccct tgctggtatt tttaaaaaaa agtgtgtacc
80461 agaaaaaaca caatatctct aacagccagc gactagaatt tattatactg caaaactact
80521 tgaagcagca ttttgagatg catttcatg ctctatttcc gcagtagata tcttatata
80581 cgaatataca aaacatgttg aatatgatta tccatagtat tgcaactaaa gataaagatc
80641 atcccttgcg agggccgctg gtaaaaaaag tgttgaaga tattgaaac gccgaaaaaca
80701 ttatgtatca tacaaccatt caaaactatg cccatcaaaag caagtacgcc atgctttact
80761 tgtcaattat ttccattttt taatctaata cggccaaagc cgggggtttt ttaataaact
80821 aacatttaaa aaaactgttt tatataaaat tataataact ttattatafa tggaaatccc
80881 atctacaaac tatactcccg aacagcaaca cgaaaaatta aaacattatg ttttaatccc
80941 taaacacctt tggcttata ttaaatacgg aacgcattgc cggtagctaca ccacacaaaa
81001 tgttttccga gtcgggtgct ttgtgcttca aaatccctac gaagccggtta taaaaaatga
81061 ggtaaaaaca gcaataagac tgcaaaaatg ttttaacaca aaagcgaag ggcattgtaac
81121 gtggccgctg ccataatgata atattagcaa gctatatgcc aaaccagatg caatattgct
81181 taccatacaa gaaaatgttg aaaaagctct tcatgcttta aaccaaaaag tactgacgct
81241 cgcatcaaaa atacgttata taaatatttt gtagaggata aaaagctatt tttagtataa
81301 aataattcat atacgtttat gcagaggaag aacgggtgct ttcaaatca gattgcatcc
81361 acgtagaccg tagcgttttt ttgtctctg gtttatactg taaaccgtaa taaacatcat
81421 cattgtatc cgttggatct ttttccact cgggataaaa aatcgggttt cttttttttt
81481 ggtcgttttt tgcagtaagc tgaataataa gggaaatag ctatcgaaa agtgttctt
81541 gatccatata aatagcagca tatattaaaa aaaaataaaa aaagcgcgtt caacgagtca
81601 gtaccactgc ttgccaacga tttacgttgg ttggtgcat atggtgat atgaatgagt
81661 gcctgcacaa gtgctgcac aagtgcctgc acaagtgcgt gcacaagtgc ttgcacaagt
81721 gcttacacaa gtgctgcac aagtgcctgt acacattact gcacgcgcaa agcacctgca
81781 atgcctactt cctcaacaga gtacgataac taaatgcttt taagcaccgc ttgcgtcgat
81841 gtgtccttcg gggcaatcgg gttcaattgg atccaatatt attagtata attacctaat
81901 acttattcaa ttttatcttt ttaccttgt aagatttaaa cagcgtttta gctgttttaa
81961 agcaacgttt aaaaacagct aaaatgctgt ttaaaaacac gtttttaaca agttaaaca
82021 aataagctta taaatatacc atgacaaaat tagcccaatg gatgttgag cagtatgtca
82081 aagatttaaa ctaaaaaat cgaggggtccc cctcgttcg caaatggctc acattgcaac
82141 cctcactgct ggcctattcg ggtgtgatg gtgctaacgc cttgacatc ctaaaatag
82201 gctatcctat gcagcagtc ggttatagc ttgtctacgt tgaatccac tttaaaaata
82261 ttaggctctc ctttgcaac atttactgga accgtgatg caggagcct gagtacgtct
82321 gctgtgtgc cacctatcaa tgcacagatg gcgaatacgg gtagcatttt gttgtgtacc
82381 aacccttcat agaggcttat aatgccatag aggcggccct ggatcccctg gaaaccatta
82441 tcttgaacct cattgcccga cgagatctag acttcgttgt tcacatattt cttataata
82501 agggccatga agactatttg gcctccacgc aacttatctt caaaatcttt attgcgacgc
82561 ttttaatgga catttaaga attaagaca acacgttga cgttactta aattccgact

82621 atattatgt gatggagcgg cttggccctc acataaagga tgccatagaa cacttttttg
82681 aagccataa ggacttacta gggactttaa ttgcctttcg caatgggggg aactttgcag
82741 gaagtccttag accctcctgt gggcaaaaga ttgttccctt aacgatcga gaggctctac
82801 aatagaatga tattaattta gccgtatggc gggagggtgt tattatgcag gaatgttccg
82861 acttagtcat caatgggata ggcctctgtt tccccatitt taacacgtgg acgtatttgc
82921 aaggtatata ccagatittt ttgaaaaca cgtctttgca ggagaattt aaaaaagatt
82981 ttatgcccc agagctttcc aaagaaatta tcaaggggcca aaaaacgttg aatgacaagg
83041 agtttaaaaa gtaagccta catcaaatcc agtacatgga atcctttcta cttatgtcgg
83101 atgttgccat tatgattacc acagagatag ttggctatata ccttcaatcc ctgcccggta
83161 ttatttcgag atccagctat ttatccccc tctgtaaaaa cttttgatg gacgaagact
83221 cttttatgct cctactatit gacctatgct atggcgccca cgtgttgcac aaaaaagaaa
83281 atgtgatcca cgggattttg cacctgaata acatgacctt ctaccatttc aacccaacca
83341 gttttacaga tcgcaacaaa ccaggaaaat acaccttaaa ggtaagaat cctgtgattg
83401 cctttataac cgggcccaca gtcgaaaccg aaacgtacgt gttcaagcac atagatgggt
83461 tcggtgcat cattgacttt agcagagcca ttatggggcc aaacctgca atcaagcttg
83521 agcggcagta cggcctcgtc ttgtaaaaa ccttttaccg caatcaaatg gagcatatit
83581 taaaggtatt acggtactat tttcctgaaa tgcataccaa tcgcaaaaac gaaatacagg
83641 ggggtatit atcaaacit aattttcttt tcaatagcat tactgccatt gatitttacg
83701 ccatgtctag aaacctactg agtatgcttt ctttggacta ttacacacc tctgaggtga
83761 aacgaaactg agaaatitcg caaacatit tggatacatg tcaatititg gaggaaaagg
83821 ccgtggaatt ttgtttaaa aatcttata ctgtcttata tggcaagcgg gtcgaaaaaa
83881 cggccgggga tgtgctttta cccatcgtat ttaaaaaat ttataccca aatattccta
83941 aaaatatait acggtctitt accgtaatag atgtatacaa ttataataa ataaagcgtt
84001 attctgggaa agctatacaa acgtttccac cctgggctca aaccaagaa atcttgaccg
84061 acgcccaggg tcgtacatit gaagatitit ttcttagagg agaattagtt tttaaaagg
84121 cttacgcaga aaacaacct ttggcaaaaa tttacagcg tattcgtgag cagcttgcata
84181 atgaaaatit gtaaggcttg cagttcttgt atggtcagaa cctatgtcga tggaaacatt
84241 atttttcgtc gcagctcggc cgaagcgtt caaggggata gtcagaactt gctcgtctct
84301 agcaaggtgt accacacggg ggaatggaa gataagtaaa agatitttat taaaaatgca
84361 ccctttgacc ccacgaatit ccaataaaa aaggattgcc caaatitgca tttagactat
84421 ttgacacaaa tctgtatitg aagccaaaa atcattatit tgggtgtgccc cgttggctat
84481 atgagcaaca gaggataaac catatcatcc caccgaatta tgacattcct taaaaccgt
84541 ccgctaaat agttttcaca ctttgggtg cagactatit tataaaaagt aatgttgggt
84601 catgaagata aatgtgcca aagaaactit tataacaaa tgattaatgt aggtgctagt
84661 cgtgtgact taaacagggt atctatagc caagtatit ctatagcaa gtatitttta
84721 tagccagtat tagtcaagta tttagatitc agggtatit ttatagccagt atitttctat
84781 atgtacaaac tattccagta aacatatitg tgttctttat tgagcagcat catggcatta
84841 acaagtttat taaactgctc taatgggcat taaatgcaaa ctgggtgctt agcaaaagt
84901 cctatacctt ttaacaaita gggccgggag gcatctccag cttttttcta taatcagcca
84961 tacagtacc ctagcctca tacacgggaa taaggtcctt ccattccttg ttggatcgg
85021 cgggccagct ctcaaatgag gtgtgaatgt aaggtctctg ttctttttcc ttaatgaagc
85081 gtttaatctc catttgatgt tgtttactit ttgttttgcg gcggagcgtg ttccgcacca
85141 atacgtaaaa aataccaaga atcacacata aaagaatit taaaaaaat atcatcatcg
85201 cggggtttaa aaaacgatcc catgcaacag gaatcgttct taaaaccttg tctggcaggg
85261 ctgtaaacat gaagctcct cctataatcg ggggtggact gtacctaac agttcaagg
85321 cctgtcgttc tagataacta ttggcgaact gccaccctt tgccccctt tttttataa
85381 tcaagcagcg ctgcattitc caccatitca aatcttcagg agaaagctca atgccaata
85441 tcaactitaa cgttatgca tcttttcaa fatccttata aatttggctg agcttttgag
85501 ctttaagcgg gtctagtgt tacttccatt taaactitgt gtcctgtagt ttggctacat
85561 gaaatacga acatttcggc ggggcctttg tgacgcctt acactgcca agtttatcat
85621 taggacagcg ccatagatga gactgcgcca cagcatcgcg aactacatcg cagacggagt
85681 acattttcct cctatgttaa acaataait tttttcatag ctgaaatitg tgggctatc
85741 ttttcccttg cccgataat aatataagg gagtgtgaa acatctggga gagaattgct
85801 taaaaatgg gtttttggga ggggtaactg cgactgttgt acgtcgttgg ccagggagat
85861 tctatatgcc gggctaaagg tgcaacgttc ctgtgacaaa cttagtacgc cgtttgttaa
85921 tacaatgga ctggtattag caaacctcgt aaactcttcc ggacttgttt gttttgtat
85981 gatgtttagc agggagtctg ccttttcgag aatccaaagc gtgcattitg agtaaaataa
86041 aatagcgac ttatcggcag gcgttgcaaa agcgcctgat agaaaataaa gcagtaagta
86101 ctggggagac accacaataa ggttatcttg aatgatagat atcgtagct ctttaacat
86161 agtgctaaaa aatgtatgt cgttctctt gaatatagg ggactatagt ccatgtaggg
86221 ctacatata cagtcaggt gaggcccat ttcttttatg acttcttccg gttttagct
86281 cgtaacacc agcgcgggat aggcctttgg catatccacg gtaagtgtta tgtttttatc
86341 attcttatgg taggagtaag atggttggg aaatctgtt ttccactcgg ggactttgca
86401 ggtaattctc agctcattta gactctggtta caggaggggc tatgcccgaag agccgtgat
86461 gggcactitg ttaaggggaa ttgaaaactg ttactttcgt tatgtcact tcacaggaac
86521 aacgggaatg gggtaatit ttctatgag gttataaccg tgcaaatctc ttttaacct
86581 gctaaaaaca tcttcccttg gtgggttatc aaaaggaag caaaatgcta ggtgtagccc
86641 ggcccgtcgg taatcgggt gaatgattit aaggttitaa tacgttaatg tgggtatggt
86701 gttaaagata ttgggggca tatatgaaag atcagcaacc cacacaaagt cctgtcgcac
86761 ccgatggtc tgacatgga tggcgcgac cgtgccacc tgcttgaagc ccttttata

86821 caaaatgtca gcaagttcgt aggcgtcctc aacgtggttg ggggaaaaca tatcaaatgc
86881 gggcttttct ccctcgggat aaattgagct gcctttaaga tgcagggcat aatcaatggc
86941 aatccccccc tacaaaaata gctttttctt tatgataaat tgcgggacca cctccaagc
87001 cgcctcaatc tccacggcat ttgcctcacg tttttgagca atgagccggg acttagaaac
87061 attaaaaatca gtcttttagta aagacgtcat aaatagtggt taatatatat taaaggtttg
87121 aataaaaatc taatagtagaa aaatggatgc cctatataag gaaatagaaa agttatcgca
87181 gccatccttg cagaagaagaa acaatgatgt atgcgatctc tgtttatgc aaatgaaaaa
87241 aatttctaac tatcagcttt tatgcaaga gtgcggtcag ctgaaggact ggtttgaacc
87301 tgaatataat gaaaaattca cggatatatt tgcgtctaaag atcgtgggtg ccaatagttc
87361 ctatcaccag cgcgatttgg acaaggccaa ctcaagtgc tatagctcct tgcaatttca
87421 tcacatttga ttaaacctca aatccctaaa tgttaagtat atggatgctg ggcaaaaagc
87481 ctttcttatt cagggtgtta aagaaactgc tcacagtat aaccaagtac aacaacatcg
87541 ggtcatacgc agcattacaa agcttcagat cttagccagt atctacgta gcaattgttt
87601 aaaaataaac attgcttga cggtagcaga gcggcgagg tttactcaac ttaataccaa
87661 agggatctca aggggcatgg atcttctcgc ctccctattt gtagacaata aaattacttt
87721 aaacgttgat ttaaacctca tagacagctt tattaatagt acctacagt ccttacaat
87781 taacaaatc caccaagaac tgcaggagga aaatgtttat aattttaaag aaatgtttaa
87841 gagctttata ttatcgcgg atgagaagaa catcggcgtc gatcttaaca ggagaaccgt
87901 tgtgattgct acgatgtata atgttttacg ccgtgcctac taccocatag aaatgtatc
87961 ggtggtgat caatgtaaaa tacgaaaaaa tacaattaca cgtgctctta aaatgtatga
88021 ggattactac tcccacttta agctctttta tgcagcagtat cattttaaag cggcaaaaaa
88081 attaatttaa actaaacgtt taaactaaat gttttaaact aacgttaaaa ctaaacattt
88141 cgactaaagt ttaaacctca gtctaacagc gggatgccc tttccctggg gttccatatt
88201 tcaacaattt tttagacctc ggggtgttac ttgatgcagc gcatgacgag cagtggaaat
88261 ttctatttaa agagttcttg cttagctata tcaataggac tgctatattt ttttttaagc
88321 attgtatgat caattatgc caattgttgc gctctaacgg cgaccaacct tgtggcctca
88381 aaggtggtta aaacgttggg ggtaatgccc tcttattcgg gtataatgac caatgtttgc
88441 gacgaggcct gcacaaaagc ctgcagatg gacggagact ccacgatctc gtccttctcc
88501 tccgactcct cctcactgtc gacgaggttc tctcttccg tttccacata ttctccacg
88561 aggtcatcca tgataagatc ctgctgtgca ttatcagcca tattacactg ttatcaaatg
88621 tactgtttaa tacgcaaatg gatttactac gttttaaattg tatgtcttca tgtcagcgt
88681 ctagtggaaa gtaattttct cacaattttt ggcaccgtta cacttctgcc cacaaaaacc
88741 cgcgattttt ttattttata ttacttttgg aagtacgagt ttaaccagtc gcttcaaac
88801 cttatgctc tatctcgcca aaaaacgctc acacgggtgt tggatattac ctttaaaaaa
88861 ataacattaa tttttaccac agagggcgta ttgcgtatgg atctacgaa taagccaggc
88921 gtgccactcg atatagacc ccagttcatt gaccttgata gtattttaa ggaactggat
88981 cattaggacc tctcccgccc attttaaattt tttagtttca caataataaa atgcgcgagg
89041 aatcatggga agaccacgat accattcagc tcaccgctca gcgcaaatc ctgcccaggg
89101 tgaagctct agagaccctt ttgactcgag agctttcagt ctttctcaca gagccaggca
89161 gcaaaaaaac aaatattatt aatagaatca caggaaaaac ctacgcactt cccagcacag
89221 agctactaag actctacgag catctcgagc aatgtcgcaa gcaaggcggc ctcatgtatt
89281 ttttggaaag acaggggacc tactcgggtc tcatgttggg ctatgacctt aaactcaata
89341 caaatgctgt tccccgctg gaacccccg cgtatcacg gctttgcat cgaatattg
89401 tgcataataa aaacagcagt gtgctgctg agggcagcca taaaatccac ttctttttta
89461 cattaaaacc tgaagtgtt cagggcaaat atgggttcca tggctcatt cctggtctca
89521 agctggcggc tctaccaaa aaaagcatta taggatccct acagcacgat gccaccgtac
89581 aaaaaattct acacgagcag ggcgttacia atcctgagtc ctgctggac cccactccg
89641 cctccgttcc ctgcctcctc tacggctcct ccaactaaa ccacaagccc taccaactga
89701 aaaccggctt tgagttagtc ttgatagct ctgatccga ctacattccc attcatcaaa
89761 taaaaaattt agaattctat aatttagttt ctgagttgag ccttacgaat gaacaggaa
89821 gccttgttaag acctgtctat tgcgcggcag acattgccc tgagaaggag gaagagatcc
89881 cgaccgagga tcaactgctc tccatattaa tgcctacatga tccgaagcc cggtatctac
89941 ataaaattt aaatctgctt cctccggagt attatgtaga gtacccccca tggagcaacg
90001 tcttattcgc ttggccaat acatccgcta actatcgccc cctcggcga tggttttcgc
90061 aaaaatgccc tgaaaaatgg aatcggggg gaaaagagaa actagaaaaa ctttggaaatg
90121 atgcctcgca ccacactgaa aagaaaatca ccaagcggtc cattatgtac tgggcccaca
90181 aacatgcccc ccagcaatc aaagaaattg tagaacaagg ctacttttcc attctcgtg
90241 aatattgtga tagctataac ggcattgctg agcactacat gatcgccaaa gtcattatg
90301 ctatgatggg caacaagttt gtatggagc tggattcaaa cgggaagtac gtttggttcg
90361 aatttgtgct accgggccc ccaatgaatc agggagaaat atggaagtgg cgcagggagg
90421 taaaccggga tgaactgac atctatattt ccgaaaactt ttcaaggggt atggaccgaa
90481 tcacggagca catcaaatc cacctcagtc aacccatga aagcaatatt ttaaatattt
90541 ataaaaaact attaaaagcc ttgaaagcct ctaaaagtaa aatctttaat gacagcttta
90601 aaaagggagt tatcaggcaa gctgagtttt tatttcgcca aagaagcttt attcaaacctc
90661 tggataccaa tccccacctc ctgggggttg gcaacggggt tctctccatt gagaccatcc
90721 cgcctaagct cattaatcat tttcacgagc atccattca tcagtacaca cacatattgt
90781 atgtgccctt taatccgaa aacccctgga caaaactatt atggaatgca ctccaagaca
90841 tcatcccaga acttgatgct aggcgttggg tcatgttcta cctaagcagc gccatatttc
90901 cggcctgaa ggaggctctg atgcttttgt ggcttggagg cggctgcaat ggaaaaactt
90961 ttctaattgct actttggcc atggtattgg ccatcacta tgcctccaag ctcaacatca

91021 gccttcttac aagctgcaga gaaaccgagg aaaaacccaa cagtgccttt atgcggctta
 91081 agggggcggg atatgggtac ttgagggaaa ccaacaaaag cgaggttcta aatcgtcgc
 91141 ggctgaagga aatgtaaat ccgggagatg tcaccgctcg agagcttaat caaaaacagg
 91201 aaagctttca gatgacggcc accatggctg ccgctgcca ctataacttc atcattgaca
 91261 cgacggacca cggcacatgg agaagactgc ggcattatcg gtcaaagggt aaattctgcc
 91321 ataaccocga ccccagtaac ccctacgaga aaaaggaaga tctctgcttt attcaccagt
 91381 acatcatgga tccagactgc caaaacgcat tcttcagcat actcgtctat ttttgggaga
 91441 agctacagaa ggaatacaac gggcagatta aaaaagtgtt ttgtcccacc attgagagcg
 91501 aaacggaggc gtacagaaag tcacaagata cgctacatag gtttatcaca gaaagagtcg
 91561 tggagtgcgc ctccgagaa actgtgtaca acctatccga ggtcgtgacg gccctacggg
 91621 aatggtaaaa caccacatt aacgtaaacg gccatattgc cctcgagcta tcccaggagt
 91681 tagaaaactc tgtgctagaa aaataccttc agtggctcct caacaaaacg cgaattctaa
 91741 aggggtgccg tattttgcat aaatttgaaa cgtgcagcc cggcgaatcc tacattgggg
 91801 tgtccacggc cggcacactc ctaaacacac ccatatcgga gccaaaaaat aaatggtggg
 91861 aatggtcccc taatccctct gccctcctg agaaagaagc gtctgcacca actccttagg
 91921 gaatatcctt agaagcatgt ctttcggcag agccattacc ggtagcaaaa aagcaacatt
 91981 gagtatatta tatgccttag cctgctcata agcgtccttt ttttcatgg tattttatgt
 92041 ttttaaatat ttttaattat ttttaataa cgaatgaacg ttctgtctcc gaaggctgtt
 92101 tactaaaaat cgggtgtaat ccgcatcttt faaatatggt ttcccattcg gggatgggat
 92161 ggaatccat gtctctacga atagtatgt gcccaagtcg gtctgcagg ctgtgaagcc
 92221 agaaggcctc gactaggctt cactttcaac ttttaagcag acatgataag aaaaccatca ggtttcaaca
 92281 gatggtaaag ctgttataaa tctttatcgc taagatgatg cgcgcacata ggtaacctta
 92341 tgagctccac agagttttca tctggacat cgtccatcgc ggtataaac gtttcacagt
 92401 aatgagagc cttaaacgag tatcgatgac aaacatttat ttccaagttag gtttgacta
 92461 cgtttttagg tataatcgga atcatgttga ttaaggttgt ttcggaaac ttaatcatct
 92521 gactaggctt cactttcaac tctttaaagg atttcccga gaagtgaaaa tgggtcttta
 92581 cgtatttatg taaaaatacc tgaatgggca gagggggctc ctctctctcg ttctcgaccg
 92641 ctcccaaaat atttggaatt tcttgacgtg gcaaaaagaa gtttatgtcc acgtttacga
 92701 atccatcgag gacggacaca aagcttggct ctaatctcca ttccatatac tgtttagaaa
 92761 cgggagatag cataatccta ggcgtcaca tgcacgaagg gtttttaac accgcatcgt
 92821 ggtaaagaaa gtgtattcca tttctccag tataaagaag cctatgctcg tctgagcaga
 92881 aacaatlaag gcggtatgcc tcatacatac actgtttcaa agtacaaaca cgttttaaaa
 92941 aggtttctgc attgccggag gccaaagcgt tttgccattg gtggaagggg ttcaatccta
 93001 caatggccag ctctgttataa atactctcgc ggcgcgctaa aatctgcacc atagaagaat
 93061 actttagcat tttttttcgc caccattcgc gaagatggtt agctacatta ttaaccttat
 93121 tattgataaa gtatcacgat gcatgttga agccttcaaa aataaagagc cctccaanaa
 93181 gatcatctgc caatagaaga tggatgttgg tgaagcatt gtcaatatt ttagaagacg
 93241 gcggaatgcc tgccaaaacc gcttcagcaa gcatagctcc gttccgttgt ttactgtcca
 93301 atagattcgt aagttttttg tccgcaacag acacgacggc taggatggtt gcaatgtcag
 93361 aaatggcggc ttgccagaaa taaccgaaa agcacatgag cgttcttct atagataaaa
 93421 acgaaaagcg agaggcaatg tctccgagct cgtgagttg aagacctttt tctcctctgg
 93481 ttaaaaggcc tgccacaatg gcccgctcaa tggctgatgc cagcgcaccc gttggggggag
 93541 gatccagcat atcaatctcc tctgccttaa acacgccttc ctatattttt ttaatcgttt
 93601 ctacgacaat gctaagaaaa atggccccag ggccttccgt aatgatttca ggaactgtct
 93661 gcactggtat ttgctcaaa agctgttttg tgaagagcgg gtaaaagtgc ccaggaataa
 93721 ctctccctac acgccccttt ctttgctcga facggctttg agcccggggg cgcgtaataa
 93781 gccctccgcg ccattcggga tagtaggttt caatgcttct gttccaccgg ggaactatga
 93841 cgtacttcag cgtttcaatg gtaaggcccg tttccgcaac aaccgtggaa acaatgacc
 93901 ttcttaagg tttttccact ttgagggtta agggattttt caccacaga ttcttaattt
 93961 ccgctttcag gccaaagtag gcctcatttt cctgagcaat cgcctcacta tcatcggca
 94021 aatcaacat taacggcagc ttttctttgg caaggtccat atttgcatia ttcagaaca
 94081 tcgaaagga gcgtatttca gccataccgg gcatgaaaa taaaatctct gcttccgtgg
 94141 gacgatcatg aatgtttct ttaatgaatg tgagagccgt ttccgaggcg gctttaatgt
 94201 agttgttggg gttatacagc ggccagttgg tttccacacc gtaactgctg ccttccaaca
 94261 aaataatgtt ttttttccg ataccaaaat aggttgagta tttatgggta tcaatgggtg
 94321 cggaggttaa aattacaag ggaatacgca gcgcccctat gcttctctt tgcaaatgc
 94381 gctgaagcat acttttaata tacatgagca taaggtcgtg gcctagggct cgtcatggg
 94441 cctcatctat aatcataaag gcatagcggg aagctatctc atcatccgtc attgtatgta
 94501 gctgcgcca cagaaccccc gcggttgc ataaatggcc ccgatgggt tttccgtca
 94561 gaggcttctg ttgtagccc actgtttggc ctaatatcat gtcgggtag tgggttagg
 94621 cgcgatgctc ttggcgagg gtcaccgagg ttaggactct tggctgggta caaataaccg
 94681 agcgtcccaa gtattttgg aagaatgctg tgttttcat tctcagaatt ctgaacacgt
 94741 gtacgggtaa ggccgtggat tttccggaac cagtgcgtga cttataatg agcaccggg
 94801 ctgcgagggg ggttggaaat gccctccaa actccgggag acgtgtttt atccaagtga
 94861 tgatgtaatg aataggaaca tcattcttgt gctcagcggg cacgttatag agatgaccag
 94921 gctccaataa agtcgggtttt ccatattct attgttttaa ggattgattg ttcataaata
 94981 ttttatact ctgaccaaga aattatttt ttatlaagc ggtattttac gttgtatgg
 95041 aacgcaagg tccagtactg aaagtctcc gagtgttta atgtcaaggg attttttga
 95101 agatacgaag aggcgtggg ctggcacctg gtgcatggca gagactcgt aaagtctagt
 95161 atccattgga tggctcata ttttctttc cagctaggag cgtctgaaaa aaagatagca

95221 tatagatgca aggatcgcca gtatfttaggt ccccaatgca acatttataa ccttttgaaa
 95281 aatctcattc catatagagg taatatfttt ttttccatgg agaattfttt tgcactcttg
 95341 aagggatgca gccacatcgt caaatgtttt ttgttttcca tgtatftttg cgtaatcca
 95401 gccagtatct gtgtcatggt ccttaatgtc atccgctaac tgaaggcat gtccaaaaca
 95461 atgggcagcc ctttcaatca tcccaatgtc ttcaacggat ccagttccta aaaccagcc
 95521 cataataaac gogatcttaa aaaagggaat ggtfttttct ggagtgcta ctaactgacc
 95581 ggaaccgcg cgttttagag agtggcttac aaaggtacac agcagcgctc ccagttggtt
 95641 gggatccgga aacctggac agtgttctt aatccagtcg atttgccggc aaatattttg
 95701 aaatccttgc atggttagcg ccagagcgct catctgccgc ttggctacgc caaagcgggc
 95761 ccacactgta tctttatttc gccgcttcac atcgtttgca aaggagggca tatcatcgat
 95821 aatcaaagaa gctacgtgaa agtactccgc tgcftaggcg gcctctgcc gataaatagg
 95881 cgcccaaaag gaatgttga actgacaggc ccgaacaatt tccatcagga taatgggacg
 95941 gatatacttc ccacctctta gagcgtaaaga gcaaggctct gttagttgfc ccttaaagtc
 96001 cccatcttca atagcattat ttaagatggt ctcaaacctc tcaactaaagg ttttataatt
 96061 tttaggattc agtggatgta tcccatgaaa aagcgcgaca ctacgcggtg ctgtgattct
 96121 aaaataactta ggtttgcgcg tataggatat faaaataata ataaagacta caatgatgga
 96181 gatatagatg agatgcaaca tgcctgagttg tctccccgca gggaaatggtc ctttccgcg
 96241 ctgttaaacg gtaccgagga ggcgttgaat tctttaggaa aggtgctgfc tagtttgaa
 96301 tctccaattc ctcccgata tttaggatata taattatgt gtctagaaat tgtttgctt
 96361 gaggtatgca aatatcagc ctgaccgcta tttcttttag aataattcgg tataggctt
 96421 gagtatgtgg caactcttt aaaccggggc accaaggtaa caatattttc catataatgg
 96481 gtttgatacg cttttgttaa aaatgggctt accggcttta tgcctgttag ttgtgattg
 96541 agtaccggta tgcctcttag gatttgtggc tttatagaat gattagcaaa cacagaatgt
 96601 agtatattag atactgttag catatgtcta tttgcggaaa atctcggta tctctgccg
 96661 tgttgcaaat cttttggcgg aaggggacca agcatcgga cgtccgtgta ggtactggtg
 96721 gattttatga cttctcgtc tatgttcggt ttgacatgtg gatftccta aggaatacct
 96781 ctactgcaa tccctttttc taccgacgca ggtagattgt gcgctaaaca caaaatattg
 96841 tacacgtctt tgtcgggaat atatccgcta tagtctggc ccggcatctg atcgcaagg
 96901 tgcctctcat gcttaatggt accctttgtt ctgagtttag gaagatcctc gtacgaaaaa
 96961 aattttgtgt gctcgtgaa cctcgtagaa ggaaccgaac tattttttgg gtttttaag
 97021 gaaggcaatg aggaaggctg ggtcagacaa ttttctgtg tgccctttaa gctagccacc
 97081 tgcggaaatg ttttttttc cgtacgaaca acattgcgc taattaggtt tccgtatgg
 97141 gttgaaaag caggacgatg attttaaaa tgattaaaaa gtttattttt tggatggag
 97201 ctgtacggct ccagatcttg cgcacgccc faaccaatgt tttgtgctg aggggtcagc
 97261 ataaaagaaa agttacgtag atcactgagt tgcaatcctt tttcagcctt ttcaggacta
 97321 ttagtgtatt gactgtatc aggcgcagct ccatftttgt tgcccagta cccggaaatt
 97381 agtatattat cagaataacc gttatgacgc ggcaaatcgc tttcccaaag aggtggatct
 97441 gacctataat cggctaaccag ctttgaagca taatcatgat acattgtata faaaagtaa
 97501 ttattatatt gagaaggcat aattacttct tgtaggggta caagaggctt tgaatcaggc
 97561 aaactgacgg gttttgaatc ggccggcttt ggaccggcag gtatctttt aggtgatct
 97621 tcttctagct cattagacac ggaatggggga gaaataggag gaataatttc atctccgcc
 97681 ttatatttgt catggataga agaacaat acatccatgt ttgatftatt ataatgtcg
 97741 ttaactggt gatftaaac ataatatgc aaaaataata gggctacaat gcatatata
 97801 acgtaaatag ccgtctctgt tttctgttt ttatccaccg cgggattaca aatgcaaaa
 97861 aatacaacta ataccaccgc tgaatgatt aaggccacaa tgaaggatt tgaaggat
 97921 gttttgaacg gactgtacgt ataatfttt tctcctaatt tttgtatcc cgcaataaaa
 97981 tctacattca tttatataat ttataaatta tgaaaaatt agagtacat ctccgccgga
 98041 ccaatcattg ctaaaattg aagattctt aaaaaggccc gactggttga atgtctctg
 98101 ctacagtttc caaaaattt ccaagaatgg attttgaaca ataggctcat ctgtatftt
 98161 tcttcaagg atftttctt tgatatcaag aacagcttct ttaaactcag gtgtatctt
 98221 ataaactca gttttactct gatcaatcgc aaaaatatta tcttctcag atatatcgt
 98281 ttaatcgca agaatagttt ctctctcagg tttatcctga tcaatcgca gaatatttc
 98341 tctttaggt ttatcctgac caaactcaac aatatcttc tcgctaaatc cgttttagt
 98401 gtgaagctct tggttttgaa gagaattatc aaaaatctat ttagttgttg tcttagaccg
 98461 tggcacggga tagttatcta atggtttact tactatagtc ctogaatgtg gcacgggata
 98521 atgttttgg gacttctgg ttagctcttg gctgttaat agttctgtt tctcaataa
 98581 ttcatctct actactctt tttgatccgc tgggtctct tttgggtatt ctctataga
 98641 aaaaatgta gagggtaat tttcaataaa ctttgtgagt ggatagctgc tctttagat
 98701 agaagagcgt tgaatttct gataaaggag ttgaacaagt cccgggtatt cactctgtc
 98761 tttttcata tttttacgta cgtggagag atctgctaag agcgactgt tttcagatg
 98821 taatcttca atttgatgaa gaaggctcgc atgtatgaa ctaagcttg catactttc
 98881 ttctaattct gtctccgct ccacataggc ctgttttgc agaaattat tgtatagttc
 98941 caitctttt ttgagcagaa aggtaaagact ataatcttg atttcttctg taactttatg
 99001 gtatftttt ttccggttt tgataataaa gggcagcatt tttctgttg tgataaagg
 99061 gccagattg ctaatgtagt cgcacagtag caattccaag atagattctt tctttcaag
 99121 gcttatagat tggctgatt ctttaggtat gaaagaatca acaactcgtt ttacgaagtt
 99181 tgaaaagttt aatgttttgc tgttaattg ggtaatgta caaaaatatt tgaaaaact
 99241 atctagcatt tttcataaaa gtttttatt ttgttaacc ctaaaaat agccctttac
 99301 ttgatactga tattccgtaa caatggaatg tttttgtat agtgcatftt tgtataaaa
 99361 gttataaaaa atgttgataa aatccgacc aagggtttca aaaacttta taactggga

99421 ttcttcctga tccattatat catatgtaat attatitaa taaaaaatta ctgacgaata
 99481 acatgcaaaa aaaatatgtt taaacttatt ttaagctagc acttatttaa aagtgttita
 99541 aacacgtttt aaattgtatg ttaatacact taaaaatfaa gccgaatit gctccaataa
 99601 ggattacttt tatcaatgac cacctcttta ctataaacgg ctttacaataa ttttaataat
 99661 gctttagagc caaagctgaa ggcagtgga agcggcactg tactatggta aaaatgttgc
 99721 cgatgttcat cctcgcggat gtacacaagt ttctatatac ctttaaacac aatattggcta
 99781 atttcttcca catactcctt atcctgtttg gaatagcgtt tgccttgaag ggaaaaaattc
 99841 gacatacaaa tagaggcatt tgtaaaaatg gaaacaaatg cgtttttacg aagattggcg
 99901 ggtaaatcgg tatcatcttg gcagcaataa atcatcgaaa taaaacagtg acgattttgg
 99961 taaaaaaact ttttaaaaat ttcttttcta aataatgggt gcagttcggc cgcgcagctc
 100021 tctaataatta aaagtaaacg aggattaaaga ttgatatagt ttaacgtaaa ctttcatcc
 100081 tctgtaaggc ataagttttt atacatatga atgttctgta taataatttt ttttaaaagt
 100141 tgctgataaa gcgatgtaat ctttcttct ttttttggg ccgtttgttc agcctttaag
 100201 cactccactt ttgcaatatt ttgttttcc ttttgctgta tatcgatcgg aagtttatga
 100261 tacaatgttt ttagcatatc gatgttgttt actcgactgt agatggagga catcatagtt
 100321 tgccgctgcc agatggcctc caaaaagcgt tcagcgcctt tgtgtcatt tttttttgc
 100381 ttatcggcga gccacaagcg gtatgttatt agagttggat gtacaaaacc ctcatatgaa
 100441 cgatttgagg gtccgaggg ggcaaccact aaaatttgtt caatatgggg ttgcaggatt
 100501 ttcaataatg gtttaacgta cacggttttg cctgtttttg aggggccata tagcacagtt
 100561 gttttatcta taaaatgatg tgccttgaac tgtagttcag gaattagctt cctgaaatg
 100621 gtcgttaggg ccactctctat attattacaa ttctgctttt gtataataaa tttcttttc
 100681 gagtttatta ttattgttga cccacatatac taccgctatc gtatcatcag gcacattgag
 100741 catttcaagc gcattatcta actgtttttt tgtttttatc agctcgtttt ctcatcggg
 100801 ggttaaatat tctttactaa gcagttgctt aattttttct tcgcagctgt ctataaaatc
 100861 atactctcga gcttttttga tatttccaga tgccttttct aggtttttta gctccttaaa
 100921 ggaagcagct ccactatcc ccctatccgt cgctatccgt gtgaaagggt gaattataga tggagagccc
 100981 cggagcatcc gggccagttt ctgtatatt ttttgccttt ttgtggtaaa tagtatttcg
 101041 taaaatctct ttctctatct ttaggcttct ctcatgacgg tccaaaatcc gttttattat
 101101 ttcaattatt tgattaaaat aattgtagcg ctctctgttg gccttaaacg ttcccaggag
 101161 tgtccagttg cctaattgaa tggatgaaac ctctgagaaa atctggcttt tatatttata
 101221 ataaaatcca tcaacctttt gttggttct gctatccacc acatcataaa taatgaaggc
 101281 aaactctagg tgggtttttt ctgggttagat gctttccgta gcggcccgca actcttcgta
 101341 attatctca atgtaataat tccactataa aaaagtatcc tgagggtgaa tatgctcga
 101401 aagatatact gtaatttttg tgttaaagag aatgggttta aacgcctcgg gattttcaag
 101461 catatgttta atgcttttgg gaagtctat attttgaat atgtggcctg ctgccctata
 101521 gccctgtggg gtttgggtga ttgcatcaat atcggcctga agctcattag gcacatttaa
 101581 tgttttttgc atgatgtgta aagggatgag ctccagatct gctaaatcgg tgtattctgt
 101641 gcttgtacaa gtgcttgcac aggtatctac attggtatct gcacacatgc ttgcacaggt
 101701 gtctacattg gatctgcac acatgcttgc acaagtgtct acattggtat ctgcacaagt
 101761 ataccgactt tgagcatgaa gattaggatc aaacacaaaa tgttctcgtta aaaagctatc
 101821 gatcgttgtt ttactctctt tgcttttctg cgtctgggtt ttgcagctat ctgctataga
 101881 taaaatgtta ttactaccg attcagaggg aacatcatta gtttctgttt tcaaagctatc
 101941 aactaacggt attagctcac tgagaagagt ittggtcgtg tgggtaggtt ttgaatagga
 102001 aggcacatcc tctcgcagag ctttgaagac atatccaata aagctagtca ttataagagc
 102061 tcgaatatac tgctcccga aatttgaata agagcaaaag gccaccctgc tatcattttt
 102121 gaactgtttg taagggttgc tcctttggta aagctgttta agcgtttctt cggatatttc
 102181 agtagagggg tccctcaata cgtttttgag aagctcatca atattaaatt ctgccatatac
 102241 tttagagttta ttatatacat attaaagctt taatataagg ggggtataaa caatggacga
 102301 aatcatcaat aataccaag ctgttgaaaa acttttaag gaaatcagc aaggattggc
 102361 cgcgtatgat caatacaaga ccttaattag tgaatgatg cactataata atcatatcaa
 102421 gcaggagtat tttactttt taatgattat ttacacctat ctatttaggg cgcatacggg
 102481 agaaacgctg cgaacaacaag taataatga aattaaacgt ctatttttgg ttgaaaatat
 102541 caataccaaa atatctaaaa cgctggtaag tgttaatttt ttactacaga aaaaactttc
 102601 aacggacggg gtgaaaacga aaaacatgtg gtgcaccaat aatccatgc tgcaggtaaa
 102661 aacagcccac aaccttttta agcaactatg cgacacacag tccaaaactc aatgggtaca
 102721 aactttaaaa tataaggaat gcaagtattg tcataccgac atgggtttta acaccagca
 102781 gtttgggctg caatgtccta actgagggtt tattcaagaa ttgatgggaa ccatttttga
 102841 tgaaacacat ttttacaacc atgatgggca gaaagcaag tcaggatctt ttaaccctaa
 102901 ccgtcactat cggtttttga tagaacatac tcttggtaga aatccagaac aagagtggg
 102961 gaccaaaaaa gatccctcgg gaaccaaggt gttgcaacaa ctaaaaaaa tattaagcg
 103021 cgataatata tgcattcgcg ttttgacggt cgaaaaatatt cgaaaaatgt taaaagagat
 103081 aaaccgcaca gacttaata atgtgtttc tcttatattg cgtaaactta cgggagtagg
 103141 gccgcctcaa atatcagagt cgattttact acgagggcaa tacatattta cagaggcaat
 103201 taagatacgg gaaaaagtg gtaaaaaagg cgttattat aggaattatt atccgattta
 103261 tatatataaa atttttgacg ccattttgcc tccaaatgat accacgaatc gagcattttt
 103321 acaatatatt tttttgcaag gaaatgatac gctagctaat aatgatagtg agtgggaatc
 103381 tatctgtatg gagctcctg aaataaaaat gaagcccaca gatcgaacct attgtgttca
 103441 ttttttttaa agatgaagat tttttagatg atttttttta gtttttttaa agacgaaaaa
 103501 atttttttaa agatgaatat tcttaaaccc cgcaaattac ttttttttag gtactgtaac
 103561 gcagcacagc tgaaccgttc tgaagaagaa gaaagttat agcagatgcc gataccacia

103621 gatcagccgt agtगतगac cccacgtaat ccggtgccca actaatataa aattctcttg
103681 ctctggatac gtaaatatga ccactgggtt ggtattcctc ccggtggcttc aaagcaaagg
103741 taatcatcat cgcacccgga tcatcggggg ttttaatcgc attgccctcg tagtggagg
103801 gtatgtaaga gctgcagaac tttgatggaa atttatcgat aagattgata ccatgagcag
103861 ttacggaaat gtttttaata ataggtaatg tgatcggata cgtaacgggg ctaatatcag
103921 atatagatga acatcgctct ggaagagctg fatctctatc ctgaaagctt atctctcgct
103981 ggtgagtggt ctgcataatg gcgttaacaa catgtccgaa ctgtgcca tctcgggtt
104041 gatgaggatt ttgatcggag atgttccagg taggttttaa tcctataaac atafattcaa
104101 tgggccattt aagagcagac attagttttt catcgtgggt gtatttgttg gtgtgggtca
104161 cctgcgtttt atggcacagt atcagcgaaa agcgaacggt tttacaaaa aggttgtgta
104221 tttcaggggt tacaaacagg ttattgatgt aaagttcatt atctgtgagc gagatttcat
104281 taatgactcc tgggataaac catggtttaa agcgtatatt gcgtctactg gggcgtccag
104341 ctataaaacg tgactggcgt acaaaaagtc caggaaattc attcacaaa tccttttgcg
104401 atgcaagcct tatggtgata aagcgcctgc cgaagggaaat ggatactgag ggaatagcaa
104461 ggttcacgtt ctcatataac caaaagcgca acttaatcca gagcgcaaga ggggctgat
104521 agtatttagg ggtttgagg ccatctacgc tgaatgaac attacgtctt atgtccagat
104581 acgttgcgtc cgtgatagga gtaatatctt gtttacctgc tgtttggata ttgtgagagt
104641 tctcgggaaa atgctgtgaa agaaatttcg ggttggatg gctacacgtt cgtgcgtat
104701 cattttcctc ggtaagaata ggtttgcttt ggtcggcctt gtgcaaatca tgaatgtgc
104761 ataggagagg gccactggtt cctccaccg atacctcctg gccaaccaag tgccttatac
104821 cagtcatttt atcccctggg atgcaaaatt tgcgcacaag cgttgtgaca tccgaactat
104881 attcgtctag ggaatttcca ttacatcga atcttacgtt ttcataaagt cgttctccgg
104941 ggtattcgca gtagttaacc aagtttcggt acgcattctt tgtgccgggt acaatgggtc
105001 ttccaaaagg atctacaagc gtgtaaacgg cgccctctaa ggggtgtttg ttgtccagt
105061 catatccgtt gcgaggaaac gtttgaagc gcccatgggc cccatcttgg gacgtgccct
105121 gaatcggagc atcctgccag gatgaatgac atgcaccaaa tatatgatgg cccaccat
105181 catgaaaaaa gtctccgtac tggggaatac caaaggttag ctgtttccc aaggtggggg
105241 taccogtatg cgggcgtact ttattgtatt caaaccttac tggacaataa ggcttaaaat
105301 gcgcattaaa atgcacaaa tgtgtttctt cgatttgact caaagtgggt tccggatcgg
105361 gtttcccaat actttgttc acatttttaa tgttagagat cctgctatc agcaagtctt
105421 gggccaatat aatcttgcg gccttcccat cgttagcaat aagacaaaaa gctcctcctg
105481 atgcatataa taatgttata aaaataattt attgtttta ttaaatatgg cggtttatgc
105541 gaagatctt gatataaca aagagttaa ccaaaaatta ataacgatc agcttaaaat
105601 tattgacacg ctcttgcctg cagaaaaaaa aaactttttg gtgataaac tacctgcccc
105661 ttttgacttt tctccggcg accctttggc cagtcagcgc gacatatact atgcatcat
105721 aaaaagcctc tctataacat gaggagcgg ggtttactgt caaaatagt atgaaagggg atcgtgccct
105781 ccttttctc acctgaaaa aaatacaatc cattgagata aacaaaaaag aagaatatct
105841 gcgcatgcac ttcatacaag acgaagagaa agcattttat tgtaaattt tagagtctag
105901 atgagctttt acgcaatggt gtacagtggt gtatataatg ctgttaagca tttgtgtag
105961 agtaataagt aaaagataaa taaaaatgac tattaataa aagcccaaac cattaaaaa
106021 attttatct gttagattta atttaataa tggctcatgg aatgtgtgtt gcgcccctgc
106081 atgaggtgtg gccgcatgg atgtgtcgc ataagatgta gctacatgg atgtggcatt
106141 tgcttgcatg taaggatcat gatgtgttg gtcttcatcc cagcaataat cgcctatctt
106201 atctagctga atgtatacc ccatatata tcacttatta tttttttta atgtttcatg
106261 aatttcatta taggcggtga aaggtcctc aggcccttc tgtaaaagat tatagagatc
106321 ttcggacgct ttatgtttcg tgcgaattaa ggcgggatat aacaaaagag agggcccag
106381 ttccaaacaa attttactta gcgggctcat attttgcacc aagtttcca ctacttggga
106441 gtttcataa cgcatttta agagctttat cataaaagt ttatgcaggc cgggttagtc
106501 tggcctatag ttaaggaagg ggaattctct ggtaccgtca aacacgatct caagtctct
106561 agcaagccc atcaaaattt ctacagcaat ggatgagat ctaattccta cattacgaag
106621 cgtaaagcatt tctataacat catctatttc ctgcatagag gaatctattg taggaatttt
106681 aatatcatct gtgctgattt gttcatccc aagatagga agcagcatal taatttttc
106741 tagctttact agcttagct tacgctcata atcatgatct ttttataaa aagagtggg
106801 atcaccgttg gaccgtgat gatttaataag cgggtctact tgcctgtac taggttaat
106861 actttttca ctatactgc tttcagcata gtggtttta cgtatcttt tagaaatagc
106921 tgtttttga gatgcctcag actctgcata ttttttcta tgcgtagaaa gagaataacc
106981 gcggtcatta cgtgaactac tgttgcatgc aaggcctcgg cgcgtcttac cgtgcgcac
107041 actgccattg cgtatactgc catcgcgcac actgcccgtg cgtatactgc cattgcgtat
107101 actgcccgtg cgtatgctgc cgtcgcgtat gctgccgcta catacactat cactacata
107161 gctgtcagta catacgtat cgcggcgtat gccgcccgtt acctatcgc cggccctacc
107221 cgaggggttt ttagatataa tactgtgtgg ggagtcaagc gaaaatcag ggtcattaaa
107281 gttaatgcc aatgactttg ccaatccatt aagctctca tcaaatgat cggtaggaaa
107341 actttgttgc ttgccatga cctgttttc aagttcctcc aaattggctt gctcatttat
107401 atggagatta ttcataagcg tctgaattcc agcaagattt gctccttcta aaaatgtggt
107461 gtcctccatc ggatatacta tactatttaa aagctttta ataaaaatgt gtttggaga
107521 aatgctctct tcaagcgtgt gtagctcaga fataaatgcc tctcagaaa gctttccacc
107581 atactccttt ctcatcgtat agggggcgc cggtttaat taggaaatcc actgggagg
107641 aaaaaccgg tacaacatat tttagcagctc gcgggcctcc caccttttgg gctccgtata
107701 gtgcacatca acataagagg cggcgcgatga aaagctgcaa aagttgccga gaacgcccc
107761 ctcaatctct cctcgtctat tttcacgcat ataggtgggc acgaattttg ggacagctt

107821 gaaatagaga tgacatgtcc agcatttaaa gctagaatgg gtaacccatt tggaaacagt
107881 ggtgaatagc gagggtagct ttttttcgac ctccggcttca tctgtatcog tatttaacgt
107941 atcggtagca gtttttttgg attgcaagca tcttcaatg gtaatcccgg ataagtataa
108001 aatatttaga caattagttt ccataatfff gatagttatt tttatacaac atggatttaa
108061 ttaaagataa atggaggacg aaacggaact gtgttttcgg tcaacaagg tgacgaggct
108121 tgaatgtttt gtctgcacat acgggggaaa aattaccagc ctgtcatgtt cgcatafgga
108181 gtttaataaa atgttgcaaa ttgctgagcc ggtgaaggca ttgaactgca actttggcca
108241 ccagtgccca cgggctacg aatctttaa aaagactccg aaaaaacta aaaacatgtt
108301 gcgccgtccg cgcaaaacag aaggcgatgg gacttgcttc aatagtgcca ttgaagcctc
108361 cattttgttt aaggacaaga tgtataaatt aaaatgtttt cctagtaccg gggaaattca
108421 ggtcccgggc gtcatttttc cggattttga agacggaaaa aacattatac agcagtgggt
108481 agacttcttg caacatcaac ccattgaaaa aaaaatccag attatgaaat ttaaaacgat
108541 tatgattaat ttaagtttc aaataaacc agtgtctccc cgcgtcatca ttcatttaa
108601 aaaatttgca gctttgttgg aacacatccc factccatata cccatcagtg aataaagcc
108661 tccattagaa gactcaaaag tatccgcaaa atttatggc agtccgggaa aaaagtagc
108721 cattaatggt tttctaaag gtaagataaa fattttagcc tgcaacacaa aggaatccg
108781 ggagaccatt tatacgtttt tgaagatct tatcagcgta cattggcaag aaattttgtg
108841 cgtgttaccg gtaccgatt aaagaatgtt ttcatataa aggtaatcga ctatgctaaa
108901 aagaataaca agaaaaafac ctggaagaac tataccaag taggtaggtt tctgcatgt
108961 cacggcatgg ttaaaatgc taataatgta gtccacaaaa gcattgctca ataccgactaa
109021 aatagttaaa aaaaaggataa gtgctctttt tataccata tactttaaaa cttaattttt
109081 aactaataa tttctcggc cgcgaatata aactgtaggt catctataac gccagacct
109141 gttaaaagta gactactatg ttttaaggga tttaaaat cccgcccaag aatgtgaata
109201 taattttcaa agtggtttac aggaatgctg aagcgttttt tttgcaatg cggttggtt
109261 aggtcgaat actggcagga ggtatataa ttaataagc cgcggtcgat ggtttcaata
109321 tcttcataga atccaatgca cggcgtcaaa agtttttaa gatgtgaca taactatca
109381 tacgttagg actggagggg ggaagaagg gtgtagtcaa agttaaanaa gttttttga
109441 agaaccttta aagcatgttc cgcgtccgtg gtttccaaa tatgtttat ggtatgaatg
109501 tcatttaaat ctacaagatc tgacagcttt gtgtagaact cggtagcaga ggttatttc
109561 tggaaatcgg tttttgaaa aagattttca atgtgtttgc gggttgagtt gctttgcagt
109621 ccatccaaga catcaaaaaa ttcaatcagc aaaaacttat acaaatggtt aataaaaaa
109681 gctttgttgg ccttattctg ctgaggataa ggttctcta ggggatataa aatggcttgg
109741 tctatatacc taggatcaat agtcaatgtt cggatgggaa gcttttccag cgtagcggga
109801 agagtttggg ttggagcgtg gtaaaagat agcccgtttt tccccctga aagaaagccc
109861 acaaatctt tttttatatt ttgcagcacc gctgagggta cgaattcgtat ctgtttatac
109921 tgtttgtgaa aaaaaggtaat aaatttccag gtttctcaa agcttgcaat ctgggtgggc
109981 cgcagatcaa agtgcagggg aatgtcgtca tgaatgtagg atgatagct tataggaaaa
110041 taaatagggc gatcgggtgc tgaatcgata agtaaacat acaaaaagt atgcctgttg
110101 ataagttttt taccacccgt gtaccgggga atgttttca cgtcatggat atccccaccg
110161 ttatccttgc acataaactc gctcatagac tggatgaact ccatcacagg gtcactctcg
110221 gtaaaaaat actgggcctc actgttttcc agaaatcttt ttgctgggt gatggcatt
110281 ggttagatcc ctctgtccgt gtcaaaagata atggctatct tcttcatgg gctaaagatt
110341 tttgtattg tgctggggga cacctcaaac ccgatgtcgc cctgtttatc tttaaaaaag
110401 acacagtgaa ggtcgtagca tatggcaaca aggtccagaa agatgtcctg ccatgtggtg
110461 tcccatggaa gcagttggtt tttttgttca acaagggtt gtaagataag gtttgcagg
110521 tccgcccgcg tggaaaacat gttgcccggc ccatcccca aaatatagta ctgcccgtg
110581 ttggcccctc ttgcaatttc aatggcaagg gccctggggg caagatccaa aatcagagca
110641 aggaataaaa aaagcccggc attgctaatt ccaagcatgg ttgtctccac cccacaatg
110701 caaaaaatgt cgggctcttt tatcgtattt aaaaacagtt catctgctat ctgggtgggt
110761 agaaggcaaa tccggttcc cggtaatttt ttccatagg acaaggatg acgcatgtt
110821 tgtgtatata gtcctccag gtctgttctt acaaacgtgt gcttggtag gcaggtattg
110881 ttaatataga accgcttctg gccagcagg gccctctctc ttggcagca cggcagacag
110941 taatttaggg ggtggcgccc ttctagtagg cttagatgag ggtagtcagg atgcggcgag
111001 ctatagtagg caggtagccc ctccgtgaaa ttccaactt ttaactagct ctggccttg
111061 gctggcggca tggacttcc ctccgctctc gactaaatga cgggtggccg tgggtgctgg
111121 cataggacgg agtaaacctg tgccctcgtg tctacttgc gcaggtcata caggctgggg
111181 tctgttctt gaagcgcagc tagctgagag gctcccttcc ctgtgtgtt atcgtgcagt
111241 tgagagagtt tattaaccaa aatttgtca gcccgggta tcaagttatc taaaaacaca
111301 aataggtaaa ccaaaagata gttaaactc tctggggtaa tttaaacat tttatattg
111361 atactgttaa ccctatgta gatgcaatg ttgcccggc cgtagattgt tcccaccgg
111421 gccgcaacat ttgtgtcaaa gaggtacgca taccgttttt ggagcaacgc aacattgatg
111481 tccattttgc gccccggacc ggaggaata atgatcatcc gttcgatttc gtgggatca
111541 tacgaataaa tccccctttt aaataaaaaa ttgtagacc cggtttgctg gaggcccgc
111601 acggaataaa tccctgcttg ctctgattcc gcgcaacgac tttgagctc ggtaaatccc
111661 ttgctagaaa gcgtatagg ccaaaagggt gacaccgagc tggagctgat agaatttgg
111721 atgtcctcgt tggaggggag gggcagactc cctccacgag gaaacgccc aggcccata
111781 tcattaattg tatgaataa aggattatg aaattatita ggggtggcac cacggagtta
111841 aagtctggc gctcgttttc tgaccaattg ctctcgataa agtagtccc attatittg
111901 atgtaagaa taaaggcctt ttattgata aagcgtatta aaataatagt ggtacacgg
111961 aatgttttat tgctgaattt ttcaggctcc gtggaagtta tgggtgttt gaaaccaccg

112021 gtggacactg ttttactata aaagaacacc accagctgag gaatacggg agtagctgga
112081 aataggctga aaacattgcg cacattaat tgaatat tta cgaggggtga aat t t t a a t c
112141 attgccgagg tgacggccaa cgtgccgctg gttagctat tccccctgta cttggcaatg
112201 acttgtttgtg ctctggcata cgtaaagttt attagttttt gctctaggag aagcctcttt
112261 ttaagactgg tcaaggatgg agaagagca ggatactgtt tttccatttg taagggagat
112321 tgtaccaata gtttaaaagg atcgggggaa agaagaggcc aatacttcat aataaggccg
112381 taatagagta agtcaaatig gtaattatcc tctatggcaa tggagatttg gcgccgcatg
112441 ggggccacta gctgtttgag gctctgctaca aagatgtgat gaatgtttt tatgagctgg
112501 aagctgtcga gogcttccac atagagctca tctttttgac tttccataga tgcgtcgtg
112561 ttcacccacc ccacctgtg aaactcctt ttttagtgcg gaatgtctaa cggcaccgg
112621 ctaccgctta acaataggcg atacgttacc tgaagcgcac tgtttgaaa aaagaaaatg
112681 tgttgtctat aaggggggat cctgtggca acgtaaatt tttctcgaat gctttaaaa
112741 gttgtctcag gaaaatact atactcgtat tacatcgtct caatttctgg catcatcacg
112801 tttgtctcct cggccagatc ctccacaaaa agtttttcaa actcatctaa atcatcgtat
112861 tctccaccca ccacgtatg ggaagcttt tctcccaat cctcggcgtt aaaattttgt
112921 aaaatttctt tgtccttagg ggttcgctgc aggtccttgc ggcaggcctg taacacgttt
112981 gcaggaacgg atcccaaaaa aataaacgtc ttcgtgtact cattttccac aggattataa
113041 agagtaactc gttagaggatt tgttaaaaag tcaatttggg aatccattat acccggfata
113101 gaaaataaaa tttaaaataa aaaacggatg atatctatca tggaccgttc tgagattgtt
113161 gcacgggaga acccgggtgat taccacaaga gttacaatc tctacaacac caatgctctc
113221 ctactat tca tgcccattga tatccatgaa gtacgatag gagcctacac acttttcatg
113281 tatggttccc tcgaaaacgg ttacaaagca gaagtaagga ttgaaaacat cccagttttc
113341 tttgacgtac agattgagtt caatgataca aaccagcttt ttttaaagtc gctactgacg
113401 gctgaaaata tttgtatgta acggctggag acgctcacc agcgtcctgt aatggggtac
113461 cgcgagaagg aaaaagatt tgcaccatac attcgaatat ttttaaaag cctgtatgag
113521 cgcagaaaag ccaattacta cttaataat atgggctaca acacggccgc ggacgcacaca
113581 acctgttatt accgaatggt tccccgagaa ttaaaactac ctcttacaag ttggatacag
113641 cttcagcact atctactaga gcctcgggc ttggtacaca ggttttccgt aacccccgag
113701 gatcttgttt cctatcagaa ttagggccc acagaccaca gcatcgttat ggcctacgat
113761 atagagacct atagccctgt taaggaacc gttccggacc caaatcaggc aaacgacgtg
113821 gttgtctatga taatgatcgg cattttttgg attcactcca cagagcctct agcagacacg
113881 tgcatacaca tggcaccctg caaaaagtcc tcagagtggg ccaccattct atgctcctct
113941 gaaaaaaatt tgttgttaag ctttctgtaa cagtttagcc gctgggctcc tgatataatg
114001 acaggggtca atgatctcgt gtacgactgg ccctttatcg ttgaaaaatc tatgcagcac
114061 ggtattctag aagaatctt taacaaaatg agccttttct ggcacaaaa gctggaatcc
114121 attcctaaat gctatctagt aaaggaaaag agagtcaaaa tctcggccga aaaaatcgatc
114181 atttctcct ttttgctac ccctggatgc ctaccattg atgtccgcaa catgtgtatg
114241 cagctttacc ctaaaagcga aaaaacaagc ttgaaagcgt ttttagaaaa ttgtgggtta
114301 gattcgaagg tagacctgcc gtaccatctc atgtggaagt attatgaaac acgagacacg
114361 gaaaaaatag cgcacgtggc ctattactgc attatagatg cccagcgtg tcaggacctt
114421 ctggtcgcgc caatgttat ccccgatcgc agagagtag gaattctgtc atacacctcg
114481 ctgtatgact gtatctacta cgcgggagga cacaaggat gcaatagct catgacctat
114541 gccatccatg atgaatacgg cgtatgtct tgcagtacca ttgcccgagg taagcgggaa
114601 cacggaaaat atcccggcgc ctttgtgata gaccccgta aagggttga acaggataaa
114661 cccaccacag gtctcactt tgcgtcgtg taccctcac tcatcatggc ctacaacttt
114721 tcgcccagaaa aattttagc ctctcgggat gaggcaata gcctcatggc caaggtgaa
114781 tctcttact acgtctctt tcactttaac aatcgtctcg tggaaagatg gtttgtggg
114841 cataataacg ttcctgataa aatgggattg taccaaaag tactcatcga tctactaac
114901 aaacggaccg cctttaaaca agagcttaa aaactagggt agaaaaaaga atgtatccat
114961 gaatccatc ctgggtttaa ggaactacag tttcggcatg ccatggtaga cgcgaagcaa
115021 aaggcgttga aaattttcat gaacacgttt tacggcgagg caggtaacaa tttgtcggc
115081 tcttctcgc ttcctctagc cggaggagt accagttcgg gtcaatataa tcttaactt
115141 gtctataact ttgttatcaa taaaggttac ggcatacagt acggtgacac cgaactatta
115201 tacattacat gcccagatag tctttataca gaggtaacag acgcatattt aaacagccaa
115261 aaaacgataa aacattatga gcaactctgc cagcaaaaag tgcttctgtc tatgaaagcc
115321 atgtctacac tatcgcgcga ggtgaatgaa tacctcgcac aagataatgg caccagtac
115381 ctacgtatgg cctacgagga agtactctt cctgtgtgct ttacaggcaa gaaaaagtat
115441 tatggtatg ctcatgtaaa cacaccaat ttaatacaa aagaattatt catccgagg
115501 atagatatca ttaagcaggg tcaacaaaaa ctacaaaaa cgataggaac gcaatattg
115561 gaagaatcca tgaactacg ccgcccgtg gaccatcgc cccctcttat tgaatcgtt
115621 aaaacggttt tgaaggatgc tgtggttaac atgaagcagt ggaattttga agacttcatc
115681 caacagatg cgtggagacc ggacaaagac aacaagcag tccaactctt tatgtctcgc
115741 atgcacgctc ggcgtgagca actaaaaaaa cacggcgtg cagcatcgca atttgcgtgag
115801 cccgagccgg gagaacgctt ctctcactt atcgtggaaa aacaggtaca gttgatatc
115861 caggccacc gcacagatc ctccagaaa ggggacaaga tggatacgt cctgaaagca
115921 aaggctaaaa atcttctat tgatataatg tttataatca acaactatg tctaggctg
115981 tgcgagatg tcatatga aatgaagaa tttcaacccc ctgacaacgt cagcaataag
116041 gatgaatag ctacggccg agctaaatc tacctacaaa aatcgtgca atccattcac
116101 cctaaagaca agtctgtcat taagcaaggc aatgttcatc gacagtgcta caaatacatt
116161 caccaagaaa ttaaaaaaaa aataggcatc tttccgacc tttataagga atttttaa

116221 aacaccacaa accccatcga aagctttatt caaagcactc agtttatgat acaatacttt
116281 gatggagaac aaaaagtaaa ccattctatg aaaaaaatgg ttgaacagca tgcctacggct
116341 agtaatcgag ctggtaagcc cgctggtaat ccagccggca atgcgctgat gcgggctata
116401 tttacgcagc tgattacgga agaaaaaaa atgtacaag ccttatacaa taagggggat
116461 gcaatacacg atcttctcac ctatatcatt aacaataaa attacaaaat tggcacgttt
116521 cagacgaaac agatgttgac gttcgagttt tccagtaact atgtagaact gctattaag
116581 ctgaataaaa cgtggcttat ttggctgga attcatgtgg caaaaaaaca tctgcaagct
116641 tttttgatt catataacaa tgaatcgccg tctagaacat tcaatcagca ggctatagag
116701 gaagaatgtg gcagatttaa accatcttgc tacgacttta tttcctaata cttcttaaga
116761 aactctttaa acaaggactt cgcattgtca aaggttctaa acccatggcc cttatgattc
116821 gccaaaaaag cggtttcacg aagattttct aacccttica cggatgaaga aataagggtg
116881 tggcctcgt ttgcccattt tctatgattt tttttcacct cgggttctag atctgttttc
116941 tccataactc catttggttc atatttttt ttggaggag gcgtgggtgg aggaatgggt
117001 ggaggaagta caccgcactt tcccgcttca accgttttat aaaaaaatag aagcataata
117061 caaagaataa ggactatcgc aaatatgata accagtgtcc cagtcgaggg cattttgtta
117121 tataagtaac gttttttttt attttttata attcgaatga agaaccatgt tgaatagtct
117181 tctactcaaa gacattttgt tatacggtaa atgagaattt ataaaatccg aatatcacta
117241 tcaactgtt tctctgagaa ggtctcactg ggtcctgtga tggagaacc atactctgta
117301 atgctggggt ttataatgtg gtcaggactg acaagcacat tttcgaactg cgagagtctt
117361 aggttttagc gcagtcgtaa tagtcgctgt atattgtaa taatatatag attgcgatg
117421 agcgagatgt caaagcgatc ctttccaatt tgtactaagg tgggcttttg tattccaact
117481 cccacttgtt taacgatgga ccagggtcct tcttcccgat ttgttccgt gatataggtc
117541 agcacactat tttctgtata tgaggatga tgcgcataat taatactgg tgcattcca
117601 actggcgggt gtgcaattcg ggctgtaccg ggaccaaac atcgtggagt ttataaaca
117661 tatcgttcta gcgtatttaa aaattcctta aggtatttta cagtagcat gaaggtgtct
117721 attaaaacag gttgaggtt tataaccatt gtcataaacc attgcatgc tccaataca
117781 ttttgaatg ctgacgggg aggcggggca ggtaatccac gtatgtgaa taaagcggtt
117841 aattgtgcac cggctgtttg gggcgtata tttgtatta aattatcat cgaattggct
117901 tgcccgcat ttcctataag atcgattaa ttggttattt gacctcgata ttgtgtacc
117961 cagttttgaa tggcagcag gatctcaggg gttggattgt ttgaaattc aggtgtttgt
118021 attagattat tcaacttctc tctgtatct tcaagctgag tctaataag atttaactcg
118081 cctataattt ggttctatc aataacattt cttaaacctc gaactgttcc agccaatcgt
118141 atagtacgca caatttcatg taaggcctgg tttatgtata ttgacatgg atggcccac
118201 cgctcacgct cacgttgaat acctcggcc aaactaggac ctgcctcgtc ataatacaat
118261 tgtgtaggat aaaggcttcc aaatagcact ttatgaaaa ttggtcaga aagaaattta
118321 ggcggcccca attttagcg gttgtcccct ctaaagatgc gtgacatga tccggcgttg
118381 cctttggata gtaactcatt cccatattga gtaatagaga ccgagacata ggggtttata
118441 agaagtttta gcataaattc tgcagattt atggggggac gattcggat gtttaatacc
118501 tctgcaacat ctggttgagg agccgtgggt tccagagatc gtaacttttc agccgaaatg
118561 ccgtacataa gacaagcaat ttttcaaaa ctatagtcat agttgtaaat attgccaagt
118621 ggtatagatg attcacatg ataggataa tttcataatc aaacaagtta
118681 aatatgcgct cgcgctctc attagagcca agagtgcgtg ttgaccttt cggcgacact
118741 attttggaa tatgattgat ttgctcctc tggtaagagc ttccacgaa ggaatattc
118801 tcttgcaatg ttttacgaag cgaatacact gcattatcc ctattcccgc tgttataatg
118861 ggtttatcgt ctctgttctc gctaataaga ttaactccac caaaagtatt ttcattgtac
118921 atatacactg ttttaaaact acggatattt atgataaact ggagagcctg aatggcgtgg
118981 gtataaaagt gttcaaatcg cgtgggagta atttgttgc gagcaactac cgtttcatta
119041 tagtttttca tgataagctg tactccgggc atatctgaga gctgtaccgg atcatttccc
119101 agtaattttc ttgtccgcta tagtagttta aactcggggg agccccttcc aaggttcggg
119161 taaagaagag gatcataac ctcatattt tctattctta ggtcatgtaa ataataagc
119221 gaaagtgaat tattataata aggcctccta ttgtaccggg acataatagt ttgaatgaag
119281 tgttcttctg tttcaagata gatgggatga tccgtaagct cgtgcaggac ctccatggca
119341 gaatctgcca gagtctgaga gcctctaag atcccgtcga tcaactgcac cagtctctt
119401 cgcacaacat cgctcgtatt atttgtgcg tctcctaggg gcataagcgt aacattggga
119461 cgaataacgc cgccaattcc ccgcagggcc gctgaccga cggatagtcc tgtcgcagga
119521 acatgtttat tattataata aataacggaa tcatattgg ctccaagag tccgctcaga
119581 ttaggccgag ctagtggac atttgtgat tgtataaatt gttttagaag ctctccctgg
119641 ctaataagaa tattaacat tttgttaaat agtgaagat tggctctata atttcttta
119701 aggtaaatgg gaatttctgt taaagtagaa ataagatgct gactcaggcc ctggcgattg
119761 gtaactttaa taagccgctg aagataaagt cccaaagaca gaagaagcac cgactgctct
119821 ctggggtcgc ctctatgacc aaagacgttg ttatgcgtg ctaagtcagg gtgagcatat
119881 cccatctcca tcaactgttg gctaaagtcc ccattagoga atgcattaat aagatttaga
119941 tatatttttc cgctgggagc atcataaaat cgggtaatat atgaagctat gagctggta
120001 aacaccatca tcaactacg attattttga ataccatagt ctgatccgta taggcgataa
120061 cgtcgaaggt tgtttgggc atcattgaca ttggcatagg ttctgagcgc tatgtgtctc
120121 cagtacgctaa gagtattttc ctctcgggct ttgtgtgtac gaataagatt ggagagtcta
120181 aagtctccta gtgccacctg ctctacacga agtccagagt tttctccaa agcatcgtaa
120241 aatcagagtc tactgaatc tcttccgat tgttcaaagc gttcagagga ttgggattg
120301 ttattttatt gaattatgac cgcgtccctt ctttgcgcc cactcgaag ttgcagtaca
120361 ttataaggct ttgtaagcaa ggtgtaggtt ttattatga ttgggttaac cccctcagg

120421 cccaattcac cgccaggaag cggccttctt cccgcatcgg taggtggttt aataagtttg
120481 tcaattaat gttcttccaa ccagtaaaat gagccaggat tagatctatt ttcatagtat
120541 tgaataatgt ttttatcaat atgcgggctt agaagatcaa gaaaatactt cgtgtcggcc
120601 atcaagaat caattaagga aataagacct gtaaaatcta aatgcacttg agcgggtctg
120661 gtttcagga agcgaacttg aaccattttg ttaaaactgg aggtcatttc gaagatattg
120721 gtcaacagga gctgcatgat tcgctgatta tctactaaat accttgccgc caactcttgc
120781 tccggacgaa ctctccacc agcaggaata cccacatag gtacaatcca agcaaaaaga
120841 gtttctgtgg ttaaatttcg gctttgggtt gctgcagccg ctctggtagt gggatcaggg
120901 tacaccatag aaagccgat attgatcttct ttaatgacta atcctggatt tctaactca
120961 gagatggccc cgtgttttct tccgagccag tcaataagat tggcgggtt cacgttggca
121021 gcttgtgtct ctctgaacca ttcgataatg cttttttgaa tcgtaactag gcttaaacct
121081 ttaatgttat tacgaaagt attaagaagt acgtaaatag cactcaataa gttaaacct
121141 gtaataacgg tttcatgaaa cagaaatatt ttgttaacat ctgtatctgc cagtactca
121201 gagccttgaa taagtttga aacgatgtga attttatcgg tagtccctt tttgagtca
121261 ttgatagcct ggccaatgag ttcttggtag gaaattttgc ccaattcttg ttgcagactg
121321 ggatcttcaa acatctcact aagctgtttc ctaaatttt gtacaaaatc ccaactggag
121381 ttgggtgca gcatctctgt ttggacatcc acagagtcta tattgtatag tccggggcgc
121441 cacttggggg taggctgggt tgaaggacta ataaacctat cggagggag taattgtgag
121501 gatgtgtat agccatctc atcaggaaga atggagtagt tggttgatt catcattcca
121561 aaatcattca tagttcgcgc ttctgaaca atgcgttgaa attttcca ttcgggtcgt
121621 gtaatgacac cgtatctcgg gttatttca ttacaaaat ggataagcgc tttttgggt
121681 gcttcttgtt caccatactc taagttaaag ttttggtaa tgactttat tctttgata
121741 agctgacgaa tttcggtttc tgagtactca ccaatgttaa taagctcaat aggacgata
121801 aagataatgc gaataagctc tgagaagatt ccttccagct caggaagcat cgagatctgt
121861 acattttcat ctctaagga aaacaacttt tgataaaat cggcggggc ggaaggcgg
121921 aagtaaaact ctgtgcctc ggaattacc tccggctcta gctcatcgc acccccact
121981 atcatacgcg tgggtataag ttgttacacg ggctcaggcc gttcaacat gtcgtaaatc
122041 cctaatacaa taaaatctt ggcggccata cttttcagca tgaagtgaa gaagacgtcc
122101 tccgtttccc agcgggttga tagggcgtc ttaactccta cagttagagag gttagaccgc
122161 tgagccgctt cctcggcagt ctgtgcaag gccatccttt gtctccaat tctgtatga
122221 tttagatttt taagccacc gaaaagcga gaattgtgaa gatattcaag caaggtttta
122281 tagatttga gggcgacat gggcaccatt tgcgcagct cctctcccc aagcatgtcc
122341 ccaatccggg caaaggcatt gatgatatt ttaagcgcct gaaagttaga aagagagcgc
122401 ccgataaggt cgcgaatgtt tttagcctgg ctgtctcga cgggacggag ggtaccaacg
122461 cttcggcctt gtggatttc agccgcaact ttttctagt agtggcccgc aggagcatta
122521 tccgtaaaga cgttggagtc gttgcctgtg gaggtgggaa aactttcaaa gacttgtgca
122581 agcgtgtccc ctgtgtctc ggtgaacat cgtcctataa tgcgcagcc atccagcatc
122641 ttttggactg ttgaaataga atctatgtt tttacaacg ttttggtaat gtttttaaga
122701 taaagatcta gcccttccag agctcgatag aatcggcgtt ttacatcata ctccagctcg
122761 atggcctta cggttgcctt ccagctact tcttggcacc ctccaggatt tggcccacg
122821 tgtcctcgg caagatctac agccggagaa ttaatgcgcg cacttttttc cgtatccaac
122881 tgcatgagcc gtcccgaat agcatctccg agaatagtg catagttttc ctctaggat
122941 tgaactcct gtttgttatg cgttaaattg gactaaatc gggccacata atagtaatac
123001 ataaaggtgt taattgcctg gttgaggtca acctgcgac gcgcggcctt gctgagccca
123061 agctcttcaa ctgttagggc agcaccgcct accttctac actcgcagtc ctctcgcct
123121 ccatactttt ttgcacaaat atcggataaa aaatcaataa tctgtagcaa gcgagagcag
123181 gactcataaa gatttttaaa attagggtcg gttttagata tctctccaa aacattttta
123241 acaagcgtaa gctgtgttaa gaaggtttcg cgttctctc gtgcggccgc attggtgtaa
123301 aagccgataa gacttagatc aagtgcgatg gtgccatata cattaatgag cgaagagca
123361 tctcgaagcc tcttatgtt cggcgtcaag gcaatttctt taacaagttt gatgcctatt
123421 ttttcaacat ttttcaaaa gtcgttatag gcttgtgtgc ttttatcaa aaatccatg
123481 aggatgtgct ttctatccag tctttgcgt tcaatcctcc tatctagtgg cgttttctcc
123541 tcatcgcccc ctttttggc acaactgttc caaggattt ttgtgcgttc attaaaggtc
123601 tgtcgcaaca ggttcacggc ttttcaaac tcagcaatgt tttctgcgga gacaagacca
123661 ctaaaccttt tgaggtaag ctcttctca aactccgccc agtttttctt ttgaggtac
123721 ttttcaacct tgattcctac tttctggaga gccttattaa ttttatcgc aacagacgca
123781 gcaataccta gattacaag tgtgtacgaa agtactttc caaaattttt ggttccaag
123841 acactatttg tatcatitaa aagtttaata atatccacct catccgtctg cagttatca
123901 agttcctttt ggggtggagt taaaatattg tcaataaaat tctgtaaat gttgatattg
123961 aggttttgtt catttaaaag tgcagatata actgcttcaa tcatgggtac tgcattaatg
124021 acttctcat tggggctgc tttgggtacc tccgtcaca tgcgctcgtg aagtgtctta
124081 atggcgtctt ttaacagctt gatattttca agtgtattt ctatactgcc gttgacatca
124141 agatactctg cgcgagctc atgagtagg gacttaatgt acagaactat ttgtcgacat
124201 atactggcgg ccccttccgt ggtatctata agcttatcct gacctaaatc aataaattcc
124261 tggtaatgg cgtctgcaat cattttacag acggctctct gttttccgc atttttaca
124321 aaggtggaac cggctcgagg atcgggcagt tgtttttga tatctttaa aataatctcg
124381 atggcgtctt ttgtgtctac ttgaacctt attttggcaa tgcacctgat aatctctct
124441 ataatccgca gctttgcttt actcgatac gactctatgt gataatctt aatgtgtgt
124501 acaggatttt tgtcccccc gccattaaaa tatctctccc ctgaaaaagg acgagttgt
124561 ctttgtatat gatcctgtaa ctctcgatat atatttgcct ctgatgaagg cagtggctta

124621 ctagagggtt aagatccacg gttacccatt ataataaaaa aaaataaaga tttaaaacta
124681 caaatatitt gctgtttata aacccaatca tataagacta actaaaacat taaatgtagg
124741 tgagataaaa gcttattttt tttttaaag ttttaataacc atgagtcita ccacctcttt
124801 ttcttcttcc ttttagagggg ttccataaaat gggttgaata aaattatgtg ctctaataac
124861 cttgttaaaa tcaggtgctt ttccatattg ttcaaatatg tgcacagtct tttgtgcaag
124921 catatacagc ttggagtctt taggtacctc cगतgagggc tcttgctcaa acaacgtttc
124981 aaaggaggat gtgcattcat tggtttcatt atcatttttt tcatgaatgt tctccgaaga
125041 tgctgaggat tccgtctcct ctcaaacag cacatgcaga atcatattcc attcttcttg
125101 agcctgatgt tcagtatacc cttgccctgc atatafacga gcagatttca caatatcata
125161 cttaacagta ctaagcaatg tttttatagc ggtcgttaaca atctaccgc tattgataat
125221 ctcaacagaa aaccaattat acaggctacc cगतgaaac acaactgtg aagatgatct
125281 taaatccgtt ttgaagatga cctccatttt catggatata tttaaaataa aatccattca
125341 attttaaaat tataaaataa taagaagatg cctctaata tgaacagtt ttgcaagatt
125401 tctgtatggc tacagcagca cगतccagat ttattagaaa ttatcaacaa cttatgtatg
125461 cttggcaatt tatccggcgc aaagtacaaa cacggagtta cttcattta ccccaaacag
125521 gcaaagatcc gcगतgaaat aaaaaacat gcctactcca atgaccttc acaagccata
125581 aagaccttag aatcactcat ccttccattt tacattccca ctccagcgga gttcaccggg
125641 gaaatcggct cctacaccgg agtgaaatta gaggttgaat aaacggaggc gaataaagtt
125701 attttaaaaa atggagaagc ggtcctagta ccggcggcgc attttaagcc ctttccgtat
125761 cgccgactag cगतctggat catggagtca ggtctatgc ccctggaggg tccccctat
125821 aagcggaaaa aggaggggtg ggggaatgac ccggcggttc ctaagcatat ctgccgtat
125881 actccgcgca cगतtattgc cattgagggt gaaaaggcct ttgatgactg tatgctcaa
125941 aactgggtga gtgtcaataa tccctatctt gccaaagtcg tctccttgct gcttttcttg
126001 tcgctcaacc atcccaccga gtttatfaag gtactgccgc ttatagactt tgacccttg
126061 gtgacctttt atctacttct tgagccctat aaaaagcatg gggatgactt tttaatccg
126121 gaaacctatt tattcggccc taccgatgg aatggtagat atctgtatca aagtgcctatg
126181 ctggagtta aaaagttttt taccagatt actcgccaaa cttttatgga catagccgat
126241 tcggctacta aggaggtaga tgttccata tggtagctgg atcccgaac cgtacattcc
126301 tatgccaatc acgtgcgtac tgaattttg catcacaatg ccgtcaataa ggttacaaca
126361 cctaacctct tcgtgcagc ctataatgag ctcgagcaaa ccaataccat acgacattac
126421 ggccctattt tcccggaaag taccatcaac gcactgcgtt ttggaaaaa gctgtggcag
126481 gatgaacagc gatttgttat ccacggcctg caccgcaagt tgatggatca acccacctat
126541 gaaacctctg agtttgcaga gatcgttaga aatttacggt tttcgcgtcc cggcaataac
126601 tatataaacg agcttaatat tacaagtcct gctatgtacg gcgacaagca taccaccgga
126661 gatattggc ccaatgatag atttgccatg ttggggcct ttatcaacag tactgacttt
126721 ttatcacacc gctttagatt gggataaatt acgcaagcgc aagcgtataa caacggttaa
126781 acagacctag ttccaacagc gctacactct tttttaaact ataactaag caaacttaa
126841 atcttaaac gcgcgcagca aacggttaga aatattcttt caaatgatg tcttaataca
126901 ctgaaacatt atgttaaaca cacgggaaaa aatgaaatac taaagttact tcaagaataa
126961 gtatgtttg acctgtgtg ttgtttacct gtgggtttcc tattggaacc tacgcgcaa
127021 atctgtattt tctttagatt gggataaatt acgcaagcgc aagcgtataa caacggttaa
127081 atatcccat agatgcttct ctccagattg agttaaaaga cctcattaca gctctgggaa
127141 tcccactgcg ggtgtgtgt cgcactcatt taattactac gttaggatat cgtaaatatt
127201 attaatatct aaaaatgaaa aatatatttt aatgttacta gtaaaaatga ctacacacat
127261 ctttcacgca gatgatctcc tacaagcatt gcaacaagca aaagcagaaa aaaatttttc
127321 atctgtattt tctttagatt gggataaatt acgcaagcgc aagcgtataa caacggttaa
127381 atatgtttac gtcaatgtca tagtaaaagg caaaaaagct ccgctaagt ttaactttca
127441 aatgaaaaa catgtaggaa ccattcctcc cagtaccgat gaagaggtta tacggatgaa
127501 tgctgaaaat ccaaggtttt tggtaaaaa acgtgacagg gatccctgtt tgcagtcaa
127561 caaatacaaa atctcggcgc cattggaaga tgatggtctc actgttaaaa agaattgagca
127621 gggtagaaga atataccccc gcgacgaaga aaaaatctaa ttggttcaaa ttatgaaact
127681 gttagaagaa gcctttgaag acgctgtgca aaaaggtcct gaagccatga aaacgaaca
127741 tgttataaaa ttaattcaaa gaaaaatttc taatagcgcg gttaaaacg cagacaaccc
127801 tttgccgaat cctatcgcac gcattcgtat taaaatcaat cccgtacaa gtatactaac
127861 accaatattg ctgtataaaa ataagcccat tactttacag aatggtaaaa caagcttga
127921 agagttaaaa gatgaagacg gcgttaaggc caatccgat aatatcata agcttataga
127981 atcgcatctt atacatgatg gcattcattaa tgcctagatc atttgcatca gcaatatggg
128041 catttcattt ccgctttgct tggaaatggg agttgtaaaa gttttgaaa aaaataatgg
128101 gattgatgtg aactccattt atggctcaga cगतatttca actctgtta atcagattgc
128161 tattgcttaa acaatttgc caaaacaagc ttataaacgt ttcttaggta tgcgatacgt
128221 aatcctaat tctttaataa gttcttttc agtagtgatt tttagaggtta ctaaagtttg
128281 atttttaa atccatact gatttagctt ataattcttt tttttaacg cagctcgaat
128341 tcttattaaa taagaacgg gaccgtaaa atgaagtagt gcgtatggct tttcctcggc
128401 taaggccgta aaaagatcaa gttgatattg gtttttttc cattcaataa aaagtacaca
128461 ctttcttct ccgcagactt ttacagaaaa agaaagatc tttatgcaa gttgggcag
128521 gacgtgtttt aaaaagtttt tttctggaac aataataaga agatccactg cattaaagcat
128581 tttctcttcg cgtcttaagc taccaacagc aacgatgttt ttgataaaa tttttataag
128641 ttgtccatta tattcaaacg caagtcggga ccgtaatgca tttaaaattt ttttctctg
128701 aataagcgtt aacattttat atttaatatt aaaaatcttt cattttatat attatatacg
128761 caaatggca ctgtatggtt caagtggtg aggcctcaat gtagaacat tacttatagt

128821 agcaatcatt gtggttatta tggcaatcat gctttactat ttttgggtga tgcgcccca
128881 gcaaaaaaaa tntagcaagg ctgaagaatg cacatgtaat aacggaagct gttccctaaa
128941 aacaagtaa aacatgcaat tataatgcatg catataaacg catgcatata aacgcataca
129001 tataaaatgc gtaaaatacta tataaaaaaac tataacatata caatcaagga atcaaacactt
129061 ttataatitt ccgtaataata tttttcatcc ataataatgt cagagtacat ggtccctatg
129121 cgaggaacag agcccataag ggtaggcgcg gcaataaccg aaatgggatt cacggcggag
129181 tcaaccgcag catctgtcaa gacctggact ggagacgaca aggccatcog caacaacacg
129241 ttggaaggct ctcttgcaat aagccctgcc tttctagag aggtaaccog tccogtctt
129301 gtcatgagat ctgctgacat gagtaaatga cगतggtgg gaccctgtc ccccataaacc
129361 gttctaattt cactaataat tttttgccgt gccgcttcta tgcgtaaacg ctccatggtg
129421 tctcctatag aggacgatac gatgggtgat gggctgatgt tatcatcaag cattgcgcca
129481 aaaatattag tcccgtttgt ttigtggcg tagatatgt ctagtcttac cagtttcccc
129541 tgggcatcca cacggtggcg cataagctta acaacatcog cattttgat gccctggtatt
129601 cctctaatac gtctatftaa tagtttatcc accacattta cggcaatttt tcatccgta
129661 gccattcggg tattggctact gcgtctaaag gcgctttccc gtaggtatat gcgataatg
129721 atgggaatcc ctgaggcogt gttttccaca gaatgcatga ttaggtgttt ggggtgttta
129781 gctcttagac tattaataat acittctaga ctaatgcttt ttaatatcat ggttgtttg
129841 ttttaattcca agcggataca ccagtttga atatcctctg gggcgttag tagaggatgg
129901 ttttccagaa aatcogtcat ccattccaca tcaactgcaa aatcgggta catcacattt
129961 tttttgtgc ttgaatcgt ttcgtacaat aggtgccact gcaatatcaa ccgttcgaac
130021 gttataagct ctatctggtt agcaatttct tgcgcatatg ttttattgt tccacttcc
130081 gggttcttta gacgtaaaag catttcagag gattgttcag cctctacggg ctctcgcgta
130141 aagatctcct ggggcccac aatcccgcac ttgttggtc ccccgccac ggaccggtgg
130201 tgggagcca gcatatattg tgtcaagggc tctgatacgg actgcggcg caggattccc
130261 actgcctcac cgtagttaat aagacttga gtatattgta gccttatgag gtcaggatg
130321 gcactcaatc gctcgcaggt aatgtttaat gttttaacgg ttgccagttc gatgcaata
130381 agcatgcgca tcagagaggg agcccgttta agataaacgg gtatggcgt ttgtagctg
130441 tcctgaatgt ttttaataaa cacgtagtga agattttgc aaaacgtttt gaccatcgg
130501 tatttttga gaatactttt ttcgtcgaag ggaagcaccg cactggtgga gctcagtaga
130561 atgtttttt cgatgctggc cacgtttacc ggcacctgic taacatctgt aagcagctga
130621 ctgaatata aattttcgac gtttaggaag atctgtcgt atttatctct atcttttta
130681 aggcgtgaaa attctcttc aaacaagggc gattgtatcc cgggtgactt gaatttgtct
130741 tcaagttcct ggtccgacag catgatggt tcaaacgta cggttcaag ctggcgcgca
130801 tcaagccgt cctctcogta caactgctgc acaagacggc tatcgatgga aaccogtogg
130861 taataatcca caatacagga ttgaaggcca aagatggct taccggtggc atagcctgtg
130921 gatgatgctg ataatgcttt gttgatcaag tcaaatcttc cattcatctt cccaagata
130981 aattcagggg aggtaaggcc cgcaatatag ctgttcgaga tgaaccgta ggcctgcgcc
131041 tccagggcaa acctgggta gtacaccagg gtccctaccg aggaaaactg gggttgatg
131101 cgttgtgtat taatttcaat ttggccgatg cccgccatga tttgatcat attggggttt
131161 gagcccttgg cgccagtggc caccatctga aaaagcccat tggttccgg attaatggaa
131221 ttcataatcg gctttaaaat tctatcggga aatttaagcg cattcagctg caatttttcg
131281 tagaagctat gcgtgtcag gcctataggc ggcctgatgt ctccatgaag cagccggttg
131341 tttatctct ccgactcaag cagcagttca ttgataattt ctggacctc ctgatgtcc
131401 tccggggtta ggagcatgct ggcctggac actgtgaatc cggcgttgcg cacgtagttt
131461 agggcgagct gctgggtcgc aaatatcatt tcaagggc gctgcggccc atacctacgc
131521 gaaataaggt gataagattcc accggaggaa cccgctccga cggccttttt gtaaggacg
131581 ccttcaatga gttcggcgtt gcgtatttgt gtagagatgt cctgctgttt ataatgcatg
131641 tagggtgcat acactctga gtaccatgtg gggcctcgtt gataatgat ggggtctgc
131701 ctcaatgaca tagatacaac cgatttgcca tccagcaggt cagttgggga gtagtggca
131761 aaacaaggtg ggtcggtttg ggttgttga aacaacccca tggcgtgcag ctgttctac
131821 acatttttcc ccatgggggt gttcgtgctg gtaagcaaaa agcttcccac cgtggagtcc
131881 tgcacctgcc cattaacggg acccgagctc tttgtggaaa tgaaccgatt tgcacagaa
131941 caaagtagtt cggcctcaac gcggctcatg acgctccagg gaaccagag attcatctga
132001 tcccogtcaa agtccgcat ataccaggca catgctgta cattcatttg aaacgtagaa
132061 atttttgggt tttcaagaac gacaatccgg tgaaccocca tgcctctcg ttcgagagaa
132121 ggtgctgcat taaaaaacgc gacgtcgcca gtgacgactg cacgtaaacg gatgtctct
132181 acctccagcc taaagtcttg ttgagacct tcaatgctgt gaacggatg tttatttgc
132241 ttatacactc ttgaacaacc aggtactgg cgtttccat ttaaaaaata gggcattaat
132301 ctattaatat tataatgttg cactgttcc gcaacttga cgttctgtc aaaggaatg
132361 ggatagccaa cctcgtccag gtgaaggtct gagtcccg agatgggtga cggctgatc
132421 gaccataacct ggtcggccag tagggattta cgaattcttc cctccttgc aggaagctt
132481 cgatgatgg agggagcagg gcgtgcccc atgaogatcc cagccttcc cgtgctccc
132541 tgggttgcgg tgggtgaaac ggaatccaac aaaaagtat agtaagttg ctgtatggtt
132601 tgcaaatgca ggtcaatatt taaggattt tttggccg gcacgatttg taggtcctt
132661 gggatcagca gattcttcc aaccagatac tgaatcaogt ttttaatgct gtgaaagctt
132721 tggggcctg acccgattcc caatctgat ccaggctgta tctgatggg ggggatctga
132781 atggccttaa gcacaagttt ttcgggatgg gagttttac ttgcggccag ttttacaacg
132841 gtgtcgtagg ttacggcga aaaaatctct ctgatgatc gcgggtacag tttgtcaatc
132901 ttgcccgtct gatccgcca aaaggtaaaa taactctcc agtccctaac aattttgggg
132961 tgtactgcct tacagagta gcaactgctt ccttcgggtt ggcttgaagc cgttcaata

133021 agacgcttag gcctaataag gtgctcgtac ctcttttagt caacgatggg agccccgacg
133081 ttgagacata taacccttaa ccatcgtcgt atttcggcga tgaagagcgg ctgaagcacc
133141 ggagcatgca tctgcagtat cccagggtgt cccatacatt gcttgcgctg gtgtgagcaa
133201 gtgatgcatt tataatgggt atcgggtggt cccattcgcg catcatagat acccccttcg
133261 gcggaagggt tgccctcaaa taaattagaa atggtaacct ccataacgcc ttgcctctta
133321 tgatcatgtg caccggcaat attgaactga acggcggcta tttcggcata tccagcctcc
133381 atatitttgc taaatacata ataaaacttc aaatgttaaa aaaaaataac atcggttggc
133441 atatittttt gttaaaacca agtgttaaat gatttctaaa acacttatcg gttcacgaaa
133501 acctaccgca cgggcctgaa gaggaatgcc agttttgggg gaaagctcgg catattccac
133561 ggtaagctct ttccataaa gatgtttttt aaataaggcg ggcgtagtt tttgaaaaag
133621 agcataacga tccgcgtacg tcaaatgctt aggagtgact acaaacccct tttgtttgg
133681 caatcgcgca acccataaaa tggcgcctaa gtcccttccc tttttccct gagtatagtc
133741 cactaaaata aattcagcgt ctacgagcgg ttccagcttg gcaagatcgg ctgagtggtg
133801 gttgtttgat cccgctcat agggcccat tggcattcgt acgatggctc cctcgtagcc
133861 ctcttaata aactgcgct taagcctaag ggcctcatcc acattcttca cgttaaaat
133921 ttcaacttgg tggataaagg taagatcttc ctctctgtta aaaaatattg ttaatagctg
133981 ttgtctcttg ttggaaggca ttggaagctg atcactccaa aaacagtcaa acacgtaaaa
134041 gtgcagctcg gaggaatctg tcttcgcatt cgcctgcccc gcgatccatt gcagaggttt
134101 gcggtgtaaa taaagctcac catccaaata tactctcacg tctataaata aataaagctg
134161 tttgagctct ttttaataat tgtcaagacc taaaaatccc ttttctgtc ggaatacaa
134221 gagaatgcta ccatcgccct gctggcaggc cacagctcga acgccattac gcttgcgctg
134281 cacgatggga tctgtttctt ctcaaaaaa tgccttagga attatattaa aatattttac
134341 cagcataggg gggataatc ctctatttgt gtgggctccc cgctttgtc tggcatggcg
134401 attatattta ctaagggcgt ccttgaatgc ctgatggact accgttgtgg catttttttt
134461 acccaagttt ttccctcgg taacacgtgt catttttgat atccgcaccg ccccttcttc
134521 cacaaaaaat ttgtgaaaa tttcagcaac ggctctttt acatctgtgg aaaaactctc
134581 atctgtgatg ggaatgatcg tgttgtctg caccacttgc acacaaataa tccatgaggc
134641 ctttttccg cttttcgttt cagactcaat cggaggaaaa caaaaaatgt tgttgaata
134701 ttgcccagga aattgattta gcatggtttt acaataaaaa taagcctatc aattttttta
134761 taatttgaat agttattcca aattcaatat ggcttcttta gataatttag tggcacgata
134821 tcagaggtgc ttaataagc agtctcttaa aaatagtact attgaacttg aaatcgtttt
134881 tcaacagata aattttttat tattcaaac cgtatatgag gcacttgtgg cacaagagat
134941 ccctagcacc atctcccaca gcatccgctg catcaaaaaa gttcacctag aaaaccactg
135001 ccgggaaaaa attttgccgt cggaaaaatc ttacttcaaa aaacagccct tcatgttttt
135061 taagttttca gacgctgcat ctctgggctg taaggctcgc ctggccatcg agcagcccat
135121 tcgtaaattt atctttgact cctccattct cgttcggctc aaaaaatcga agcactttcg
135181 ggtatctgaa ctttgaaaa tagagcttac cattgtaag cagctgatgg gaagcggagt
135241 ctctgcaaaa ctgcccgtt tcaaacgct tctgtttgac accccagagc aacaaacgac
135301 aaaaaatag atgacgttaa taaaccaga tgacgaatat ctttacgaaa tagaaataga
135361 gtatacagga aagcccgaat ccctaacggc ggcagatggt ataaaaatg aaaaacagg
135421 gttgacactt atttctcaa accatttaat gctaacagcc taccaccagg ccatgtaatt
135481 cattgcctcc catatactgt cctcagaaat ccttcttctc cgtatgaaga ggggaagtg
135541 ggggcttaaa cgcctctcc cccagtgtaa atccatgacc aaagcggatt acatgaaatt
135601 ttatccgccc gttggctact atgtaacgga caaagcagat ggaatagag gcatcgccgt
135661 cattcaggac acgcaaaatt atgtggttgc agaccagtta tacagcctag gtaccaccgg
135721 cattgaacc ctttaaccaa ccaatttgga cggtgaattt atgacctgaaa aaaaagaatt
135781 ttatgggttt gacgtcatca tgtatgaggg caatctattg acgcaacagg ggtttgaaac
135841 aagaattgag tctttaagca agggcattaa agtcttaca gcgtttaaca taaagcaga
135901 aatgaagccc ttatittcgc taacaagtgc agatcccaac gtgctcctca aaaacttga
135961 aagcattttt aagaaaaaaa ctgcgccata ttctattgat ggcatcattt tagtagaac
136021 ttgcaactct tatctaaata caaacacctt faagtggaag cccacctggg ataacacatt
136081 agactttttg gtgcgaaaa gtccggagag tttaaacgta ccagagtacg cgccccaaaa
136141 agggttttcc ctgcatctac tattttagg catctccgga gagcttttta aaaaattagc
136201 gctaaattgg tgtccaggat atacgaaact atccccgtt acacagcgca accaaaaacta
136261 ctttccagta cagttccagc catcggattt tccattggca ttttttatt accaccaga
136321 tacctcgtca ttttctaata tagatggaaa ggtccttga atgcgtgtc ttaagagaga
136381 aatcaatcac gtcagctggg aaattgtaaa aatccgggag gataggcagc aggatcttaa
136441 aaccgcccgg tattttgca atgatttcaa aacagccgaa ctccatggc ttaactatat
136501 ggaatccctt tcctttgagg agctggcaaa gggcccttct ggaatgtact tgcgggtgc
136561 caaaaccggc atataccggt ctcaaacagc acttatttcc ttatlaaac aagaaatcat
136621 ccaaaaaata agtcaccaat cctgggttat cgtcttggga ataggaaaag ggcaggacct
136681 aggagcttac ctggagcag ggataaggca tcttgttggg atcgataagg atcaaacgc
136741 gcttgcggag ctgtttatc gaaaaatctc gcatgctacg acccgacagc acaagcacgc
136801 tacciaacatt tacgtgttgc atcaagacct cgcagagcct gcgaaagaaa tcagcgaaaa
136861 ggtacaccaa atttacgggt ttcccaagga gggagcttct tccattgtta gcaacctgtt
136921 tattcaacta cttaataaaa acacgcagca ggtggaaaac ctggccgttc tgtgccataa
136981 gcttcttcag ccggggggaa tgggtgtgtt taccaccatg ttgggagaac aggtcttaga
137041 attacttcat gaaaaatagaa tagagctcaa tgaagtatgg gaggctcgtg aaaacgaagt
137101 ggtcaaat t gctattaaac gtctctttaa agagatata ttacagggaaa ctgggcaaga
137161 aattggagtc ctgttacct tcagcaatgg cgactctac aatgaatac tttgaaac

137221 agcgttttta attaaatat ttaaacatca cggcttttcc ctagtcaaaa agcagtcctt
137281 taaggactgg attccagaat ttcaaaactt tagtaaaagt ttgtataaaa ttcttacaga
137341 agccgataaa acttggacaa gcctttttgg gtttatttgt ctgocgcaaaa attaaatatt
137401 ttttcataag aagtactacc cagggttttaa agaaatagct aaaaaatca tatggatact
137461 gccatgcagc ttaaaacgtc tatggttta attacatgtc gtatgaacac ccaaaaatac
137521 caaatagaaa ctattctggt tcaaaaacgt facagccttg ctttttcaga atttattcat
137581 tgtcattact ctataaatgc taatcaaggt catctgatta aaatgtttaa taacatgaca
137641 attaatgaac gactgcttgt caaaacactg gatittgacc gcatgtggta tcatatttgg
137701 attgaaactc cagctctacga actataccac aaaaaatacc aaaaaattag gaaaaattgg
137761 ctctcccggg ataatgggaa aaagcttatt tcatlaatca accaagcaaa gggctcagga
137821 acacttctat gggaaatccc taagggttaag ccgaaggaag acgagtcgga ccttacctgt
137881 gccatacggg agtttgaaga agaaccggg attaccocgg aatattacca gatctccca
137941 gagtttaaaa aatctatgct atactttgac ggtaaaacag aatataagca tatctacttc
138001 ctggcaatgt tatgtaagtc gttggaggaa cccaatata atcttctttt acaatacga
138061 aaccgaattg ccgaaatttc taaaatttct tggcaaaata tggaggctgt acgttttatt
138121 agcaaacgcc agtcattaaa cctggagcct atcatcgggc ctgcatttaa ttttataa
138181 aactatttac gatacaagca ctaggatgcc gcaatlaaa gcccataag gtaatacact
138241 aggaatgtcg cacacgcaca agaatacaac gtcgocggag atttatfatc tagtacacgt
138301 tttatgtatg tacaatcgcg ctcatattaa tataattgagc ggatgtacta tgtatttatt
138361 ttaacaaaaa acatattttt tttttaaact tcatcatctg ttttataaa ctcagtaata
138421 tcaaaagtag ctgtgggggt ttccaggggt tcacctgggt tatcctccgt gaggataaca
138481 tgttcttcag gttcgtcgtc actggagaac ccatcattta atctctctc actcaacatc
138541 tgtaaaaaat ctccaagct ttgcctatcg ttaaaactc catcatccat aagaataatg
138601 gtaccttctc catcgtttcc tcttgtttc gttgctaaat aggcctgcat ggcatttga
138661 aaagatcaa aataggctga gtcagattgc tgttccaaa tatggccttg cgtattaaat
138721 gtggttgcat cgtttgtaaa tgcttgcaaa facagtaagg gattatatac cattattatt
138781 aagcaaaaaa aatttaaatt attttgcac cगतttagg taaaataaa caattgctat
138841 aggtgttaag caatgtttat tgattttaag tactcaaca ccatgatgta aatactatac
138901 agcacttttg gattttfaat caaatccaga ttaactata ctcttttgt gatacagttc
138961 gtaataatg tatcctgctc atcgtttgtt aagatttctt ttaataatt ttttttacc
139021 gggatactaa gcaattgatt attttctttt aaaaactcct ttgatattc aatcgtctta
139081 ttcatggaat atttgtatat aactataat acaaatgttc aatgaattgt tattcatgct
139141 gggagatggc tatttaaaaa tcatgtccta ttttctttg ctcaataagc atccaaatat
139201 tttcatggcg ttttattaat tgttcattat tgaacgtatc acaagatca tttataaatt
139261 gcagatagtt tattatttct ttcaagagag taacaaaact tacttcagca gaacataata
139321 taagttaact taagtggctta aaagaatttt gatcttgtt atacgccaat ggcgaggact
139381 taaggagatt tgggggtctt gcccaaaacc ctaggctgct gttctgttt tttaggcgt
139441 cataagaaa tgaagcaca ttgcaaggct taagccgca catctcttc cccttggcc
139501 ctttccatat ttttagatct aagatctcat ccgagcttat agagtaggta tagtaagtt
139561 tttcaaaaaa gcataatgc ttgaagtctt ttttagaac actttcaaga agcatttcta
139621 taatgttaac aagttttgtt aggtttaagg cctgttctg tgaagctcc tcttgcact
139681 gatagactga aaaagtgtgc tttagaatga aaatactcc cgtggcactg gccgtgtgc
139741 tgccaggat atagtacacg ctgctgttag caagctgtac cggcacaatt tgcccactt
139801 ctgcaacatt attttgcgat tggacgagg gtatgacaat agttacgggt tcagtcaata
139861 ggctttccgc gagaataata ttactgtcat ttttaataat ttaacggcc gctattaaat
139921 caaaggcatt taagttaaga acaacagcag aaaaacttac atgcatatc cctctccgc
139981 tattattcgt acgcataata aaacaagggg agcgttgtat aacgccagta atattaagaa
140041 taaaactggt ttgaaacac ttaccacat aaatgtttc aagctcctc aaaagatgag
140101 cctccacatt tgtacaaaaa ttggtaggat catcaatatt caacgtgtc tcaaaaattt
140161 tttggtcgat catatctata atataattct tctatttcaa ttaataaat atacgaataa
140221 ataacgagat tattttatta aataagcaat ggtgtatata ctttgtattt actttagat
140281 atactttgtg tatcacaacg tgcctaaga tgtgtgcaca agtgacggca tttgtcgtt
140341 aaaaaggtaa aaccagcggg ttccatcctg cattccattt ggttgattac gagcctccat
140401 ttctttttgc aaaaggttat tgcgaatga taagcagagc ttgatggcac taatctttgt
140461 aaggtttaaa ctatgcca atttgctcagc aatttttgt tgctcctccc gtcgocgtgt
140521 ttgcatacag gctcccgggt tttagcatcg aatatcagta atctcattct ttttaaac
140581 ctggataggt gggcggattt taaatttaag ggcctttccc ttgctttcca tatagcctat
140641 gacgatgtcg ttttctttc gtttaacatt aatataagc atataagcg gaatttcatg
140701 ccaggtttta tcttctcggg aggtaataag tgcacggag tctcctggg catagccacc
140761 tagagtgtg tcatccccag gcacgtggct tataatttta aaaatgtccg gaaatggctg
140821 aatattcttt ttgaaaaag cgatgaaaaa cttttataa acctcgacaa gggccccat
140881 acctgcaaga ttatctataa taagtgtctc tagcatcgta tagtgaaatg aagcggggt
140941 gtggatgagt acctgctcca ttggctcatc ctgaaaatcc ttctgaaact tttcatacaa
141001 tacttgaag ggttctttgg tctgagagt ttccagggat ttggtaatc ggatgctgtg
141061 catcgcggga ggctgaaaat cccgaataa tgtttcaata tctaataccg gttccttttt
141121 atggttaagc accgcagcga cgtacaaaag ctacggcttt gccgcacat gcataatggt
141181 gcaaaagcga ttctgtatcc ataattcctt gcactggttt tttgagtagc atagagaaat
141241 gagcggcagc gcgaagtgt cctctgagaa gattttata tcgatggtaa ttcctgtat
141301 gagcttggga gtggaacag ccttccatag ctccggagtc gtcacacgg ggcgtgccat
141361 aaacaaagat ataataat tagaaattgt ttttacctc tgctccccg atccataggc

141421 ctcaaaaggtta ttgaggacgg tggctccgac gtttgccggc gtgatgga tgactaagggg
141481 cagactttcc aacataggct tatcaatcct aatctggttg gtgaacccat caatggcgtg
141541 ctttcgcagc gccttatccc cctcctgat taaaatgtat tcttttaatt ttgtgcgta
141601 cttagcgagc tctggccctc catcgggtgt tgtcगतacg tacaaataaa ttgtcacgtt
141661 gcgctcactg ggggggagct ccatgtgtga attttttgc accaccctcc caaatacctg
141721 aataagccgg ggaatatcaa gggcaatga cataatcctc tcgtaccgca cggcctgaaa
141781 gttcaaacc tccacaatca ccttggaccc gatgagaata cgcagctggt ggccttccag
141841 gttggacgag gcgttaaaaa gagccaggct tctgtcgcgt acagcgggct ctatctcgt
141901 gtgcagaatg gtgaaccgta ctggaataaa ctgatggtcg ctatgtgtg gctcatcgcg
141961 aatcgcggcg cagatggagc agcgggtcgt tcccacaggg gacgaacctt catttaaaat
142021 gccattactt tgtaaaatctt cttgcaagat aagaaccccc gacatgcgga cccgatgtg
142081 gtaaatfaaa attttcccc ggccttggcg aataatggaa agaatgtctt tcatcattg
142141 agtgtatctt ccgctataaa aggccaatcc cgagatgtgc gttggggct gcagcgacaa
142201 aaagctgcca ctacattaa agggggctct acgcgaagcc tcaataatct gtaccccggt
142261 ttccagaagc cagtctgtgc ttgccataga aaggggcgtg ggggttccg tgcagtfaa
142321 caggccgtaa gccttgggtt cgtttgttt tgaaaatctt ggggtgggaa acaccatgtc
142381 ataatgctg tacgcattac tgcagatctt agggctcagg cccagctgtt taagcgtttc
142441 aagctgatac tcagacatgg ggcattcgat gaaatgt aag tacggcaatg tttcgtctt
142501 ataggacaac atctttccgg caaataatct ttcggggtaa aaatggtgt tggatccaa
142561 caaaaaagat acccttccgg tctcagctc ttcacaaga gctagggcgt cctttttcca
142621 tttaaaccgaa tcccactgc tgtcaaacag ttgctggcgc tggaggggct ggcgttggg
142681 cagctcatgc cgcggaacca aaaggtttaa caggctcagc tttccatga cactcccgtt
142741 tacggcggtt gccgacatga agacggcctt gggggcctgg tgaggggaa aggcattccag
142801 gacatactgt aaagcgatgc cataatctt tctgtcctgg atattgtaca cgttgtgtat
142861 ttcattccga atgagcagtc ctcccctaag ttgctccatg atttttgat tccccggat
142921 gaggccgttt tctcggcct cgctaatttt ttgcacgaac tgagatata cgttctcatt
142981 caatgtatct tctgtctcgt cagaacgatg aaacagagaa agcacatcaa agtttttctc
143041 ttcaccctta ctgtaaat tgaaaagctt ggatgcaaat tcttatagc cgtaaaactg
143101 aaaaagcct cgcgggtttc tatcggttaa accggcgttt aacgtactaa cgaaccctt
143161 tagatgccg gattgcagc acgtgggtgct gccagactgc ttgcaatgt gaagaagccg
143221 gttgtagctca ggcacctctt tgtaagaaac aaatcccagc tcaggagctt tttagcattt
143281 tgtttgaatg atggcgcgtg taaagcctac cacaaaaatc caggggcgat tttcaataaa
143341 atcatgtag tggttcataa attgacgcgc gatggcaatc gcggcaatgc ttttcccg
143401 cccggtctgc cagtttaata aaagacgcga gttagggcgtg ttgggatttt gaaagttttg
143461 gacgaaaagc tggcattat gcaatggag acccttgat gaaggaaagg gcgacgcgta
143521 ggggtcaacg tgataaagctt gtaaaaaacg ctgcgcccc cttctcagc ccaggcccac cgtctggac
143581 aaaaatgacc cgcagatcac gaatgagctc tttttggtg acaggagggg aatcaacga
143641 tttaaactcc tttctcgcg ccaactgctg caaaaagtct gcggcatcca atctgggata
143701 cgccatatta tcataaaaaa aataaacctt tttatgaaa cttttatgt atctgtatt
143761 gcaattgttt tttatgaata ctgtaataaa cggatcaac ttgttttct aacgaagagc
143821 cgttattctt ttttctgga tataaataa taataagat aataatag actaaacagc
143881 aggcaatcac tatcaaacctc atattatact tacttttta taaaagtat tatactttat
143941 gaatgcgcaa gttcagctaa ttgttcgtc cttggaatgt gggactgcag ggaggtggag
144001 ttttccctt tctaaagaa tacccggaaa tgggtggtgag gctcaggttg ttgtacatag
144061 tagctaggag gaggtttagg tatgctcagc ttgcagctca tagtccggtt atagtaaacg
144121 atggcaacga tgataaagat aataatgagc aaaaacaaa tgcccaggag aatcgcagtt
144181 gttccgggat atttggcgtg tgtatgggtt aaaaagcctt ggggtctttg tttaatccc
144241 tccgggttg acaggttatg agaaaagcgt ggagacgttt cagtgctcat ttattacaat
144301 tgaacagtta tattaatctc aataaaaaa taacacaaaa ttaattatgg ccatgcaaaa
144361 gttatttacg tatatttacg agtttatga atatcgt aag atggtgctgt tggagaaaa
144421 gttaccatag gataagtttg ttcaaatggt acttaataca ggatttttct gttatcaggc
144481 ggagacgctg aatcacggaa tctatccgt gtttatctt ggagcaaatg gcaagtactg
144541 tcaccacgga ggcgacatga gaacgctttt aacgaatcgc cttaatgaaa aaaaacatta
144601 tgaagaatta attttaatcg ttgataagcc cgttttaagc aaaaaaata ttttagatat
144661 aatcgtcagc cagcgcctg caaatcccac gattgtaata aacatatac cctaccacct
144721 gttctgcatt aacattccca aggtgagtgct cattcctaaa cataaactaa ttactcagg
144781 ggagggcagc gaggttttg gtcgcgaata tctgcaaccg caggacctca tgcaaattag
144841 cgcgtcagac ccccggtgg tctggctggg aggaagaccg ggagactttg tgcaaatgta
144901 cggccctca gagacagcta tgcacgctgt gtttatccg tttatcacca agtccaaaat
144961 ttgagtcctg ttttaaaaga tgacagacag ctaagtaagc atatcgtaa aatgtcgtat
145021 gtcctctgt gataagcgc ttctcctga gcagcaaat ttttcataca tctccatggg
145081 ggatggcgag gctttaatag tatgtaggct acgtaagaac tgttgtatga tgggatattt
145141 gcttttaaa aactggggt gtttcataac tggaaattat tgaaagataa agacctcca
145201 tccaaagtag ccaaccacat ttggcatttc gggacacgcg gtttcataag gcatagaata
145261 gtgaatagt tactgatctt ttgatacag cgtttcaagt agttggcgaa atgttccgc
145321 gtcgagcgtg ccataatctt gaggagcctc ggtgtgctcc tgttagagc agatcgtgat
145381 gattcccag gcaagcggga gcatggactc tggaggggtg atatccgtat tggctcatt
145441 attcgatccc agctgatgaa tgcgcacac gcgaacatg gcctcagct agatgcccat
145501 agagatagcc ggcgaaggg caagaccgga ttgtatttgc ggcataatag aggagggcac
145561 cgagttttt attttccgt tgaatgggga ctttatttct accagcacgg ggaatgcgtt

145621 cgtggcctca tagcgtacgt tgttaaaaat tgttttgatt tcccaggact gttgagtga
145681 tcccagcgtt aggtgacaaa acccatcggg gctattacta tgtccgggtt atcccaata
145741 ggtcccatca atatgaatat tgtcacctat gacgggtggt tggcagaaca actcaagcag
145801 atctttacta acacgctcaa aaagggttcc ccagctacaa gcagcgggt tcaaatctt
145861 cttaaaaaga ttgcttttt cgcacaaggt tatataatag cttttgtaag ggtttaaac
145921 taaaacgctg gcaaggtcag agccaccac ctgagtgcca cgaatagcat gccaggcatc
145981 ggagcgtcgc tggaggaggt ctttaaacag gcgtacaag gtttccatta tactgtttt
146041 aacaggaatt caatataaaa agtcaacaca gtttgcaatt ttccaatct caagatatag
146101 ccatacattt tttttccaa ttggcgaata tgtttaagct catgtgtttc aatattagca
146161 tccggaattt taaatgcata aagatgttca aaggcctgat ttatacagct atcaaaggat
146221 ctgtggtatg ttattagcct cagcatgtgt gccagatctt caagatggtc taaattata
146281 cggttttcca cgtggtggat catgtctgcc acatcttgag ccccatcca ggggatcaca
146341 aggtactccc ccttaaaagt gatctgctgt tttttaaaa aatcatgaaa acgttttaa
146401 gcttcaagaa aggggcagtt gggctttgac cccaaaatgc tgacgacgat atcctcggg
146461 atgatgtatt cgcagtgagg atagtagttt acggactcta attcagcggc ccgctgttt
146521 atttcgtatc ttgccagttt ttgccagttt attcagagag factccacgc ctccgaccac aacagacatc
146581 ctatctatta aaaaataaca ataaaaacct tatgaaatct atgtatagtg gccctaaaa
146641 tgtctatatt agaaaaaatt acgtcaagtc cctctgaatg cgcagagcat cttacaaca
146701 aagatagctg ttaagtaaaa aaaatacaaa aagagctcac ctctttttg gaaaaaaaag
146761 agacactcgg ttgcgatcgc gagtccctgcg taattaccca ccccgccgtg aaggctatg
146821 cgcacaacaaa gggactggac cctccaaaag aactggagac tcggtttaaa gcgccaggac
146881 ccagaaacaa cacgggtctt cttacaacct tcaatatga tgaaacgctg cagagggtggg
146941 ccataaaata caccagttt ttcaactgtc cttttccat gatggacttt gagagggtcc
147001 attataaatt taatcaagtg gatatggtaa aggtatataa gggagaagag ctacaatatg
147061 tagaaggcaa agtggtaag cgtccttcta acacctcgg atgcgtttt aacacggact
147121 tttcaacggg gactgggaaa cactgggtag ccatcttgt ggatagcgc gcgactgct
147181 ggagcatcga atattttaat tcgacgggaa atctctctcc aggtcccgtt atctgttga
147241 tggacgggtt caaacagcag ctattaaaa tacaccacac cgtgaaaacg cttgcagtta
147301 ccaacatctg tcaccaacgg tcgcagaccg agtgcggccc ctacagcctg ttttacaatc
147361 gggcacgcct cgacaacgtg tcatacggcc attttatatc cgctaggatt accgacgaag
147421 acatgtataa gtttagaacc catctgtttc gcatcgcata aactaataaa gtttgaattc
147481 tttatagtaa taaaaatgga agcgtttgaa atcagcgtt tcaaagagca tgcgaagaaa
147541 aaaagcatgt gggctggcgc cctcaacaaa gtcactattt cgggtcttat ggggtcttt
147601 accgaagatg aggccttat ggcgttacc attcacagag accactgccc cgtttgtta
147661 aaaaattttg acgagatcat cgtaaatgcc acggatcatg aaagagcttg ccaatacaaa
147721 acaaaaaaag taacttacct taaaatttcg ttgataaag gtgtgttttc ttgcgaaaaac
147781 gatggcccg gaaatcccat tgcaaaagcat gagcaagcca gtcttatcgc caagcgcgat
147841 gtgtatgttc ccgaggtggc ttcatgtcac ttttagccg gaacgaacat caataaggcc
147901 aaggactgta tcaagggggg aaccaacggc gtcgggctga agctcgccat ggtgcatctg
147961 cagtgggcca ttcttaccac cgcgcagcgg gcgcaaaagt atgttcaaca tatcaacca
148021 cgcctagata tcatagacc tcctaccatt acaccctcca gggaaatgtt tacagtatc
148081 gagctcatgc ccgtatacca ggaactaggg tacgcccggc ctctgtctga aacagagcag
148141 gcggatcttt ccgcctggat ttacctcgc gcccgccaat gcgccccta cgtgggaaa
148201 ggcaccacca tttattacaa tgataagcct tgccgcagcg gctctgtgat ggcgctagcc
148261 aaaaatgaca ccctgttag cgcgccta at agcacgatac atacggcgac catlaaggcc
148321 gacgcaaaag cctatagcct gcacccctg caggttgcgg cggctgtgtc ccccagttt
148381 aaaaaatttg aacacgtgtc cgttatcaac ggggtaaat gcgtaaaagg agaacaatgc
148441 accttttga aaaagactat taatgaaatg gtcgttaaaa aatttcaaca aacgatataa
148501 gataaaaacc gcaaaacac attacgagac agctgttcaa acatctttat cgttatagtg
148561 ggttccattc caggaataga atggaccggc cagcggaaag atgaacttag catcgcggaa
148621 aatgttttta aaacgcatta ctccattctc tctagttttt taacaagatg gacaagaatc
148681 atcgtggata ttcttctgca atccatttct aaaaaagata accataaaca ggtcgacgta
148741 gacaatata cgcgtgccg caatgcggga ggaaaaagg cgcaggactg catgctactc
148801 gcggcggag gggatagcgc actttccctg ctgcgcagcg gactaacctt gggaaagtcc
148861 aaccaagcg ggcctcctt tgacttctgc ggcgatctc ccctgggagg agtcatcatg
148921 aatgcctgca aaaagggtgac aaacattaca acggactctg gagaaacatc tatggtcgc
148981 aacgaacagc ttaccaataa taaagtgtg cagggaaatc gcaggtatt ggtctagac
149041 ttcaactgcc attacaaac acaggaagag cgagcaaacg tgagatagcg ctgcatgtt
149101 gcgtgcgttg atcaagatct ggtgggtgt ggaaaaaatc ttggactgct gctggcctac
149161 tttcacctgt tttggcctca gcttattatc catggtttcg taaaacgact gcttaccocg
149221 ctgatacgtg tgtatgaaaa gggtaagacc atgcccgtg aattttacta tgaacaagag
149281 tttgatgctt gggcaaaaa gcagaccagc tttagccaacc ataccgtaa atattacaag
149341 ggatggcgg cgcatgacac ccatgaagta aaaagcatgt tcaaacattt tgacaacatg
149401 gtgtacacgt ttaccctgga tgactcagca aaggagtgt ttcatattta tttggcggg
149461 gagtccgagt tgcaaaaag agagctttgc accggcgtgg tgccgctcac cgaaacccag
149521 accgagcca ttcatagtgt ccgacgaatt ccttgcagcc tgcatctgca agtagatacc
149581 aaggcttaca agctggatgc catcgagcgg cagattccca acttcttaga cgggatgacg
149641 cggcgcggc gcaaaaattt agccgggggg gtgaaatgct tcgcttcaa caaccgtgaa
149701 cgaagggttt ttcagttcgg gggctacgtt gcagatcaca tgtttatca ccatggcgc
149761 atgtcgttaa acacaagat tataaaaagcc gccagatatt accaggctc ctcccactc

149821 tatccggtat tcataggcat aggaagtttt ggctccaggc acctgggagg aaaggaigca
149881 ggatccccaa gatacatcag tgtgcagctt gcgtctgaat ttattaaaac aatgttcccc
149941 gcgaggagact catggcttct cccctacgtc ttgaggagc gccagcgggc ggaaccagag
150001 tactacgtgc ctgtgttgcc gcttgctatt atggagtagc gcgccaaacc atcggagggc
150061 tggaaagta caacttgggc ccggcaactg gaagacattt tggccttggg gagggcctac
150121 gtgcacaag acaacccaaa acacgagcta ctgcactatg caataaaaa caagattact
150181 atactcccg tgccggccctc caattacaat ttcaagggcc atttgaagcg gtttggccaa
150241 tactactaca gctacggcac gtacgtcatc tcagagcagc gaaatataat tactattacg
150301 gagcttccct tgcgtgttcc tacggttgca tacatcgaaa gtataaaaa atcgagtaac
150361 cgcatgacat ttattgaaga aatcatcgac tacagtagtt cagaaactat tgaattctg
150421 gtgaaat taa agccaaaatag tcttaaccgt atcgtggaag aatttaagga gactgaagag
150481 caagattcca tagaaaaatt tctgcgcctg cgcaattgtt tacattcaca tctaaacttt
150541 gtaaaacct aaggtggcat tatcgagttt aacacgtatt atgaaatttt gtatgctgg
150601 ctaccttaca ggcgtgagct ttaccaaaag cgtcttatgc gtgagcacgc ggtgcttaag
150661 ctgcgcat tcatggaac tgcatttga cgctacatca atgagctgc agagctaaat
150721 ctttccatt atgaggtga aaaggaggca agccgcatc taagcgagca tggatttccc
150781 ccgctgaacc acacgctgat ctttcccct gagtttgcct ctatagagga actcaatcaa
150841 aaagcactgc agggctgta tacctatata ctatcttgc aggcctgaga attgcttacc
150901 gcagccaaaa ctgctcgggt gaaaaaata aaaaaatgc aagctcgtct tgaataggtt
150961 gagcagcttt tgcaagagtc tcccttccc ggcgccagc tatggctgga gaaatgtat
151021 gccgtggaaa aggctattat aaaaggaaga aatactcagt ggaatttca ttaaaccgta
151081 ccggttttat gatgtccaat aggtgttaag caatcagttc atcaacattt tttcaagaa
151141 ttgaaaagt ttggataat ttctgaatac tttttctaa aagagttatc aaatctctt
151201 gtgaggcctt atgaataatt gttaatacca tttcttgctt atggggaaca cactgatacc
151261 ccacaagct aatatcagga atcatttcat aaatataatg ttttagcaga tttccgatgg
151321 ttggtgttct atctttatc gtgataatgg cctttgtttt ttctcatcc atggaaaaca
151381 gcacaagttc cggctgccc tcttcaaagt tttcataaat tttttgaatg ctttggattc
151441 ggccaataat gatccggcag gcgtttttta aatacgtgc aacggcctgg ttgatattg
151501 gcagcggcac cgctggaag caaagccca ggcgggtgg acgcgggtct gaggtcatag
151561 agctttgctt gtaaccgcta agcgcata atctttttt atcgttggg tactgttcaa
151621 tgtcaagggt gtaaaaatgt gtttaaccg caagattaaa ggcggcatc tttcgtccta
151681 tgccttttt aatatagata tctctataa tcaacgattt tccgggtgt aggaagccaa
151741 tctcaaagg aggatataaa atcgggtatt taagcttag gcctgccacc tggatgagat
151801 cgcggctata gatggtttta acctcacagc tattgtttaa actccgcaga gcaaatacca
151861 gtgtctcgtt ttctgcataa atcggaatga aattaatg gcgttctaata aatgttccc
151921 tcataaacag taccggtgaa tctctgatct tataccacc gggcttaata tctagcatat
151981 aattgggaat tcatcttgc aagaccgcg acagggcgtg gaccgogct ctgctaattg
152041 ctttaaagtc cataacaaca ttgaccggga cgaggggcaa ctgctcctg agctgaaata
152101 gtttttggc cgcattttta ataaagaggt tggaaaagtc tatcaaaaac ggttggattt
152161 ccacgttttg gaaaatttt tccatttga ttataaatat atctatata attcaaatta
152221 ttggtagttta tgccttctc gtttctttaa gtaaggaatc catagatgtg ctacggtttg
152281 tagaggcaaa cttgcccgg ttttaaccag agtataattt tttcaatac caaagaaaaa
152341 actcgatcac gacccccct ctattacgc cgcagcagga aaaaatttcg caaatgttg
152401 agtttttaat ggatgaatat aataagaaca atagaagccc ctccgggccc cccgctgagc
152461 agcccatgca cccattatg ccgtatcaac aatcctcgga cgacagccc atgatgccg
152521 atcaaacgcc cccggggaat gatgatcagc catatgagca aatatacat aaaaaaacg
152581 cgtcgagca agtaatact gaactgaacg attattatca acatattctt gcattaggcg
152641 atgaagcaa aggtatggac agcatgttaa aacttccaga aaaggcaaaa agggatagcg
152701 atgatgagga cgacatgtt tctataaaaa actaacgagc taacaattaa acaaaaaata
152761 aaaatcatta taaaatgaat ctgtaatac tccaagtgt tcaaaaattt aatcaagtac
152821 tctagaact taccaaaaa gtatgtaccg ttgtggcgg gagcaaaccc acctattggt
152881 atcaccacat tagaagggtt tgcctagaat gtccatcct gccgatgagt atgataggtc
152941 cgatctgaa tgcctataaa gcccaattc taacaagga caagaatttt tttatgaatt
153001 tcatccccc gcataatgag tacacctta tcatcaaaa actaaaagaa gcagcccgaa
153061 atatgccgga agacgaatta gaacagtact gggtaaaact tttttttta cttaaaagct
153121 acataaaaat taagcccttt ataatataa gaattgatgc ataactaata aatggccggt
153181 cgtgttaaaa taaaacagaa agagctcata gactctactg taaaaaaca aaatgtgatg
153241 aatctgttcc atgaaattat aggcataaaa ggcaatatta attttagcgt tgtctggccc
153301 aagtttaaaa aatcaaaaca gagcgtttat gactacattt ccaactcttc tgtctggaa
153361 aaagcaaacg ttatgcaaaa cttggaagc gataagaac tgttgaact tttgttaca
153421 aagctgtgg agcctatga agcctattc aaatattcc agatgaaaa atagaggtg
153481 gaagccagg taaatttcaa tctgtacct cagtgctcc tcgaaaagt tagccagtgt
153541 tataggataa gaatcaattc agagctgtc acactcatcc taacagctg tgcctttatg
153601 agtaaatata acgattat tctcaaaaa gatccctaca tactaacct aacccccggc
153661 ctatgctttt ccccattcc caactcagc gacctaaatt ttaaacatct ttacaacag
153721 gataaaaatt ctacgcatga caaaggttt atcatgttta tattatataa gctttatag
153781 gctgccctag gagtgtacaa tgccatctc attccagaca tcgacgtaga agacctgaa
153841 aatatcatcc tatcctgggt gagccagatt aaaaaaaca ttccgcgctg caaagaccg
153901 ttcaaaaaa ttgaatcttc ggtacacct ttgcgcaaaa attttaacac atattacagt
153961 gactatgtgg gctcaggcta caaccaacc atcattatgg aacagtacat taaagacata

154021 tcacaggatt ccaagaacat atcaccacgc atttcctacc agtttgaac catcatcaag
154081 tattaccgcg acatgattgc caccaggcat caaacgatgg acccccaggt attaaacctc
154141 gtaaagcacg tcgaaaagaa attagatatg cttagatagag aaaaaaatta gtatataatag
154201 ttatggtgaa tctttttcct gtttttacct taattgtgat tattacaatt ttaattacga
154261 ctcgagaact atccaccacg atgcttattg tttctcttgt aacagattat attattatta
154321 atacacagta tacggaacag cagcatgaaa acaatacatt ttctcatgcg caaaaaaatt
154381 cttttaacga atcttataat aaagacaaaa aatctaataat acataatccc taccagtggc
154441 tggcgctga actgaaggaa gctgagagca agtactggg gggcaattat gatcctcata
154501 gcgagcccg tctcgctggc gcatctgaa tatctcataa cgtggcacgt caccatcaaa
154561 aacattgccc aacagcacgg gcttgatata aagggtggca ttgtggctc aacatcgcat
154621 ttaataaatt ttttgccaat ttccggggcg cttaacatcg aatgataaac cttcccagt
154681 tgcggcatca aggagataga cctcctatgg gcgcgatta aactattca acattactgc
154741 gccatcggg cccgtcttt atggctgga agtctgaca tcaggcccc tgttcagcg
154801 tggccagcca tgcgcgacag tctaaaaaag ggagcagatg cggctgtat tccctacccc
154861 tcccgatgga acaatcttat acctaccgtc atcaaaagaa tagttgtcca ccaaaaaaaa
154921 tgccttgtag cgggtggatgc acgccacctt gatacagata cccagattgt aggggcggg
154981 atgggctgca tgcctctaac cctaaaggcc ctatgggtgc gcctaagtat tggcaaacag
155041 cccgttaaga tactgtggcc cgacctcac ggcactgccc agggcattcc tctggagggg
155101 gtggagggtg gctggttttt aaacgcttat gcgcataaat taaatatacg ctgcctaggg
155161 gctgatcata ttgcgagca cttaacttaa tctttattt aaaaagtcca cgcattccag
155221 ggcggcctac attaaggccc tacgcacata aatatacatt ggctagaagt acgcttcat
155281 ttaaccatt gaattattta tataatggct gcaaacatta ttgcaacaag agccgtgcca
155341 aagatggcca gcaaaaaaga gcatcaatac tgtctgtag actcccagga aaagcgtcat
155401 gggcattatc ccttttcatt tgaattaaag ccttatgggc aaacaggcgc aatatcata
155461 ggagtacagg gctcacttac ccatgttatc aaaaagacag tatttccatt tatgatctc
155521 tttcctttac aaaaaactca tatagatgat ttatgggtg gacgcattta tttattttt
155581 aaggaactgg acatgcaagc agtttctgat gtaaatggaa tgcaatacca cttcgagttc
155641 aaggttgttc ctgtaagccc caaccaagta gagcttctc ctgtgataa taaatataaa
155701 tttacatag ctataccggt agtgcaatac cttaccocaa tctttatga tctttcggga
155761 ccgctagatt tcccattaga tactctttcg gtccatggtg atatcctctc caatcatata
155821 cagcttccca tccaaaaacca taacctaaac acgggtgatc gtgttttat tctggatat
155881 aaacacctgc aaacgatga attatgtaaa aataacaaga tttttatcaa aaatataccg
155941 cgcctttcat cggaaaaaat aaaactatat atactaaaa atcgaatcag aatccgcta
156001 tactttaaat ctttaaaaac gtctaagtaa taacattttt atagtctact cctagtccg
156061 aaataggctg aatttctttt ttaagctctt taaaccaagg atgtgataca agactcttaa
156121 aggaagccg ctatttttca ttaattgtta aacattccgt gataaactgt tttccgctc
156181 ctgaaatgtt ctgggaata taattttccc gtttcaggat atcatttaa taaaaatftt
156241 ctgcacgaaa tctaaaaaga ttaaccgcca ccatacctat cgtccacacg gttaaaggaa
156301 gctggtagta ataaccataa taataaaatt ctggacacac gtattcccat gttccaaca
156361 tattatattg gggacgggtt tctgtctaat taacagcgtc tccaaagtca atgaccttaa
156421 tgatcttttg atttatgct ataataaggt tctcatcctt aatataccca tggataaagc
156481 ccttctcata aatgtttgt ataataagaa taagctggaa tattattttt ttggctcgg
156541 tttcctcaag tttttaaag taatgataat gaagtagatc aacactattt ggaatattt
156601 ctatgattag tatatgatac atagcatttt cggatattc gataagctta ataacaccgg
156661 gagtatcttg cagggtcttc aacacgatga cttcatttcc tggatttct ttttagaaa
156721 cgtactttaa tataatgggt tgcctactt gatgaccaa aaagacgta tttctgccac
156781 cctcaaacat gggctctgct gcaatgaaat acatgtgctg cgttggtag atcctttcca
156841 ccttgcctg aggataaaac gcatatgtg cctggggatt ttttaacatt ttttaagct
156901 gttgtccgg cctggacatg ttttatagc tttatataa aagggtaga aggttaatt
156961 tcaatataag ccttaatgat gggattata tctgaaaagg tatagcctaa tctactgct
157021 ttgttttttt ttgtaaaaaa ctgtttgcc tctaggata tctataggc ttttacttcg
157081 gcttttaca gcggtggca gggattgggc aaacgtaaat cggctcaaa gtttctatga
157141 aaaagcaag catttgggg ctgacacatc agacagccg tttcgccatt gaaggacat
157201 tcaatggccg ccttttttag taaatcgccg aaacgagaat taagtggct ctttcaagc
157261 cccctttcgt gaaaacgctc atcaatcgtt tttgttct gactgcctc gggataacta
157321 taaaacattt ttgtattagc caccgcatg taaaaaaaag gctgtacgtt tttctctcg
157381 ggcggtagcg catcgtggct accaatgctg ataatgcgag ccttacttg atcctctcg
157441 gccttatccc agtacggctc taggatatga acctgccgcc cgtatttag atccaatccc
157501 tcagctcctg ttttagagac gagtaaaatt ttaataacct ctccgtgat attcagcggc
157561 gaattccaaa gctgctggat catgtcgcgc tctttagata aaattttccc tgaataaagc
157621 gtaaatcgtg ttttttggg ggacaggact aacgtatgg tggcccatc ttcgcaaaag
157681 tttttacca taagatcttt cccatcctta tgaaggagga tgggtgtgtg ccttcttcc
157741 aatactttta ggggctgaag gcaactgtag cctctattt ctaaaaagcg ggccacgacg
157801 tgaaggccca atccacaaa ctgtgagtaa atgagcacag ggcccggaga cgttttaata
157861 ttttttagca tgcgtactat tttgggacta gaattttctg tgaaggctc tttggcagc
157921 tgcgtaacag cctctgataa tttttcatcc tctttactg ttgacattc ggacgcaag
157981 atgctgatca tacgggaacg cacatagtag gaggagcctg actctgctc cgaatcctggc
158041 aggcagaggg cggcggcatt tatttttca tacattcctg agctggcgtg ctttccgcg
158101 ttttcaacgt ctggggccag cagatattgc ctactgct cgggtgacat ttaaccttt
158161 tctataataa gaggaagctc tgtggggaat agcttgttga gctcattctg gtttccagcg

158221 tagcttatca taccactag gcggttagt agttgtccg cgtttaaagg gctattcgtt
158281 gttttatga cataagcggg gtagaatctt tcatagtga gaggtataa gatcgcgcc
158341 cttagcata taaaacaggg caccatttca aaggggtcct tcgaacacgg ggtgctgtt
158401 aaaaacagaa tacgaatatt ttagcttgc ataataat tgtacagctg gcgggcaatt
158461 gttttatcat tggcgtatt gataatcct ctaaagaggt tgtgtcctc gcaacgatg
158521 agcaggcatc catttaggga ccctcccgc tttatgatc gctgcccac gttgtaagcg
158581 tctagggaca caaacctgaa gcgcccggag attttttga gctcttggg gtgatccgtc
158641 gtttccggat ataaaagtt aataagctt acaaaagact gtggaagt tgagtcaac
158701 gacttgggtg cगतcagaat cgggttghaa atatgtgaaa gtgagatggc aagcgacagg
158761 ctcaaatgg tttcccat gcccatctgg tगतगतga ggaggcccg tgtgtttcc
158821 ccctggccta tcccaaat t aggatccgaa aaggcgtgt aaattaaaaa ctggtagtat
158881 ttcagggtc gtgcaagcg ggcagtgagt gagggtctt tgccttccg aagctctta
158941 tattttcat atacctctt taggtatgct tctatttga cggggaagga ggtgtgttg
159001 tgcacgcaag acatgactc ttataaggat cccatat taa aactcatta gaagaatagg
159061 gctgctgata gctagcgtg cacttaaaaa tgggtagcc cttttcttg taaatccgt
159121 gcctgtcgt gacctggcta gaaagcggc ttagtgtatc ttaatgtcc acaacgatc
159181 gtacctttt tcatccgat ccctgccggg taatcgtcc caagatttgc tccatgtgt
159241 ttctgcccc gttgccatg atgatcgt tcatatgct gaaggaaatg cctctagcc
159301 cgtagccata ggtcagcaag ataatggaag cgctgtgtc ctgagaaaga gcggtattt
159361 aaaccccgcc gcataaggag gccacctcc gaacgataa ttgaacatc ttgaattctt
159421 tggaaagcgc ctgataaaaa atttcaaaa gtttgcgaaa tccacgaaa atgatgatc
159481 catacggctc atcggtcccc catttgtgag gctcagcgg atgcaggag taaagccgt
159541 ttgctcatt tacgacaagt tgtatcgcg aaggatctt aagtagtta tcaatggtg
159601 caatgcccga taccitttca ttaataaca cagggtaac gaagtcagga tgtccctgat
159661 attcgattc cctcagctc ccgaaaagg ttgtgtggg acttacatc cctggtggc
159721 gtcctagatg tgcataata atctgtcca taccatcgg ccggtccagg ggtgtagccg
159781 acagtctaa tatccgacta agttgtatt tcaaaaaa ttgtaatc tccggcagt
159841 gtaattcat tgctcatc aacacgacta gaccaaaagg ctcaagaac tgcctaggct
159901 tcttgccag ggtattaat atcccacga tgacgtcga ctcttgctc gcatgtcct
159961 tttcttga cgctgatta ttgtaagcag ctacacgtg gtgggcagg agcaatgta
160021 gctcgtcgt acactgtatt tgaatcgct tgggtggcac gatgaccagg gtagggtaca
160081 aaagttttg aataatgctg atcgcaatac gcttttccc caaacggta tttagatga
160141 ggtaaaagcg ccatagggg gacaggagct tttatgat ctatcgacc atttctgct
160201 ggtagttaaa tagtggaaat tctgttcaa cgcatggag ggcccgcagc gacacggggc
160261 gcgtcgtgta aacctgta aacattcaa actgctttg cagcaatag gaaaaataa
160321 tgtattcccc ctgacgctg aaggcagtt cctgtctat gctatgtgc tttggctgcc
160381 cgggtaatgc ccgcccgtg acggtagcg ccttaagaac gcgcccgaa tcatgtgta
160441 atttacttt tagctctta taatttatt ctatccagc aaaggataa atggcctcca
160501 ttctacgct ggacgggtta tatgcagag ttccaaaatt ctaccagag cgttacgag
160561 agggctgtg tggcaagaat cctctaagct tttatattca acaatttta aatlaatgg
160621 gatgtgacg taacgagtac catgttctt ttaccagcag ctccgaggaa gcaaatc
160681 atatgatcat ggccgctg cgtcgccatt tctgcccag gcagcaagg cctcatgtca
160741 ttatcggagc agccgagccc cctagcgtca ccgaatgtg gaaggcatg gcgaggaaa
160801 aacgctcgt atacaccatc atcccctaa aaaaatttga aatagatcct gttcgggtat
160861 acgatgccat acaaaagcaat acctgcttag cgtgcatc aggcactaat gctgtgtca
160921 aaacgttcaa caaacctcag gacatcagca acgtgttaa aggtatccc ctgcactcag
160981 aagttagtga tctgtttat caaggatgta ttcaaaaaa tccgcccgt gatagtttt
161041 caataaatag tctctacggc ttctgggag tccgtgttt gggaatgaag aaaaaggta
161101 tgcaggatt gggcccgtc attttggag gagggtgag agcgggaagc cctaatatac
161161 ccggaattca tgccatgat aaaacgctaa cccagcaag gccttctatg aaaaaataa
161221 atacaatca tacgctgtc atgaaaact taaaaaaca tcagcatgta tatctacca
161281 tagggggcgt gctcgcagag gacacgtctg cagaaaaat atctaaaaa gacatgcctg
161341 ttgaaggccc gaaggactc ccgggtata tttatttag cgttggcgt gcgcccagg
161401 agctacaaaa aaaaatttct actaaattta atataaagg tggcctgtt gttgacttac
161461 aagagatact gtttctatc aaaatacccc aaaaactg ggagacatta ttttcatcc
161521 aattaagaga taatttgacc aaagaggaca faaaaagagt tatgtgtt ttgatcatt
161581 tagatacct cactcctct ggctctctc ctctccgag ccaactctc tcttttctt
161641 aatcgtttt gttgttcta taataaggga aaagaactcc gtgggatctt gttcccgtg
161701 caggttatct gcgaccataa ggtgcttag aatggtaaac aggtgagaat acataagggt
161761 ttgcgtttta agaaaacct gacgttgaat cataatgaa aacacctgc aaagccgact
161821 catcagttg tctgtaatgg cgttaagcat tttctggaat tttctgtt tttcgggtg
161881 gattttat tcatgtgaa agtgtttcac acctgaggag aagaatctt cctccttga
161941 gagccatct ttgatgtgg gaagttcct gatcagggca aacctctc cctctgggc
162001 ttgcccattc tgaagatact gatggcagat atggtttaga atggtgcaca cgtagctaat
162061 aagctctgag ctgattctt ggttggttt caaatgttg cgaaagtgt tttcaccga
162121 agtgcattgta ataaacgtct tcatttctt ataataaca acagtatgt gactcttaa
162181 tttaaaatta caaggattt tctaggtctt tatgogtata ggtgttctt tgcgtaat
162241 tttcaatagc cgacattgt ttgtaagcag tttctgagt agtactgtc ggttaaggct
162301 cagccggatg agcaggagca ctgcggccg cagggtcggc cggccggccg ccagttgcca
162361 tgactagtct gtcgtaact ggttgtccg taactggtt gttgttctt ggtctgtttg

162421 ttgcccgtct gccctgact ggcttgccca cacttgctgt agtcgctcca gctggtttag
162481 aggtacctgg ttgtggagtg acttctaccc actgctgac ttgataagga ttataaact
162541 gtatatcttc ctcccaata gcagcagct ttttcttct tgaagagaat agatagatta
162601 gaacgatgat aatgatgact aagaccacga tagcaatgag aatagtatac atagtgtgg
162661 agaagaagct tgggttagtg actggtgaca aacactcacc ataatgccgc ggataaaccg
162721 gttgaaaaaa ttcagaatcc atttaagata ctattataaa taatafataa aaatgttgtg
162781 ggcgaatgaa attacagaat ttatggacca actttccaag tattctcaag aaatcttaa
162841 aacgtttaag caattgctc ctagtgaata taaacaatac aatgaatfff taacacaagt
162901 tacaccgttg ctgcaaaaaa cccctgaaaa aattccagag ttggttgacc atataattca
162961 ttacctagac aacgttgaaa aaatttgtga gctcctcgtg aatgctagct caattattat
163021 tagttcaaaa atacagaaac aagtaaaaca cggaatgagc ttcaagctata aagccgacct
163081 cgactccttg gggacattc tctctcaaaa acagtacgtg ctatgcatc tttcaaaaa
163141 tattgcccgc gattatttta atactgttt aaaccaaggg aatccaagt tagatctcaa
163201 agctgcctct gtattttata gtactgcttc ccgaacggca agctcagcag aactctatag
163261 aaaaatgcta tacgcctatg gttcaccgca ggaatfaat tattatactg aaaagccccg
163321 aataaagacg ttggatgtgg aggagagcga cagcatggcc atcatcgaac gaacggcccc
163381 acacaacctt tccctatgc acccgctaga agccatgggg ctacctttg gggcaacca
163441 cacggacgcc gaccggagg atctgaagga caaacgggtg ataaatftaa cgtcccgcga
163501 ggcaacagaa agcatcacct accatcttaa atccctaagt cagctaaaaa aagtaagtac
163561 ggcttcagga ctaatacaaa acattttgaa agcatttgat aatattatft ccaccctgt
163621 gaaaaaaaat aatgtggcct ccaagtggc gcccggtgat gatgctgtg tcaactagca
163681 taacggaaaa acatttttta ctaaaaacat ttaagcaaa aacatgctag cggggcccaa
163741 agagcgggtg ttgcatata ataactcat tagtaattta aataactcct gttcataca
163801 aatcacaac gattttttta gacagcagga ctctggccc ttctatgacg cgcacaattt
163861 taccacaag ttttaatgc agcctatttt ttccggcgag acccgtctc ggcttcaggg
163921 agccatggag gcggcgcatg tggaaacgca tctcagcga tttftacaaa gtatcagcc
163981 ctctaggcca caagatccct ctgttttggc ttcccccaag ttatctgctc taactttaa
164041 ctaaaaacag ctttcttgg acttaaatga tggctacca gttttgaaa taacttagag
164101 aactatgaag attttcatga aatttaaat agagatttgc aaaggttact tgcggtcatt
164161 ttctgtttaa ttaataaatt atcgaatag tataatgct gaagatattc gtcgtggctc
164221 tggcagaccg ccaaaagaaa gggttgttcc caactttgag cgcaaggcca ttctgaaaa
164281 accagtctgg ccacaagacc gtctcgagt ttccctatgat aaccgctga tattaaaaa
164341 tctttttatt tacttataaa accttaaaag taaaaatatt ttggtgcat gtacccccac
164401 cgagattacc ttttttccac gtgaccagtc gcaggcaagc ttgtttatg ccaccatcga
164461 cggaaaaaac gtgaaccatt atacgccag tgaatgcttt tggctaggca tcaacagaga
164521 gctcgtttaa aaaaatgfta acagcattga tgcctctttt ttaaaaaata ccatcgttca
164581 ccgctatgac aagcctgaaa cctgttttt tatctttacg gattttgaca ttgacaagga
164641 gtgcacgat cagattacgg tctcggagcc cgagctcgat atggacctta tcaaatgga
164701 aaaaagcadc agtgaagaaa gactcaagaa ctatcctctg cgtcgggagt ttacctcaa
164761 gcagctcaag aaaaacttta ggcactatc aaactacacc gagctcgtga ccatgaaa
164821 actcggcggc gatcgcggc tgcaacctga tttccaaaag ttaactcca tctcatcca
164881 cgagatgata aatcttcca acaagatcaa cctgacctcg accatctcta agtcgcagg
164941 gttccagata aatgttaaaa ttgctcacat caagtcgctg gcctcggcta tggcaccga
165001 caagatccgc atctgtgagg aagaaaatgg gaacctaatc tttcaatcgg aatggatgc
165061 ccttatgfta aatacagata cctgaaacac cagcatatag ttcggttaaca ttgatgttc
165121 taatatttag catctaaata ataccgtgta gtccggtcag ggtgctgca cagtttccc
165181 attttttgc ctgctcggcg gtggccaccg ttgcccctatc atttacgccc ggttaagaca
165241 agctaaaggc gttcagcggg gcttgcaat gcccgcccag cgtgaaggag ctggaggat
165301 ttgcccgc cogaatccc ttgaccatgt gtttaaacac ttccggtacg tcaatcagat
165361 gaaggatcc ctgggatcc gtaatgtaa agacgcagtt tctaaagcgc atgtatgga
165421 ttgaacgatt atcgggggtt ttgaaggtaa cagtgttccc ctgctgtac ttaaggggg
165481 accatccggt aaaatatac caaatgaaag caataaat taaaataacc aacacaatag
165541 ttatagacaa cacaaagtct gtagtgccc ccatatttaa ataaaaat tttagaccgc
165601 cggcttaaaa ttacttatt gctcatagct taagtctatt ttattcatag cttaagfta
165661 ttgctcatgg cttaagtcta ttgcttatag cttaagtcta tttattcat agcttaagtc
165721 tattgttcat ggcttaagtt tgtgctcat agcttaactc cactactgat agcttactga
165781 tcatgactta aataaaaata tttgcccgc ttaaaaattg tttaggtttg aaaaaaag
165841 agatggaggg ggcaacttat cgtcatgtg tttaccacca ctggaagaca tcaaacggta
165901 aataattata agaatcaaaa tgattaatat aagggttaaa aaaggatgat tcatcacatt
165961 aattaaaaac gtatttataa cgctgttga gttgaaatft tggataggt cggaaatatt
166021 gcccgagcct ccgattctg caatgtctg acataggtg agtccggagg ggcactgctt
166081 gttggtcaaa atattcttt gctcgttgt tttataggca tttttattc catfacagg
166141 agcaaacgca cattcagccc atagggtgcc ggagttcaca caggcacaat actggctata
166201 cgcatactca tctttgagc acaatccctg tttatcgcat atgctcccaa taatattgtc
166261 atctccgccc gttttgttat ttgtatgca gogtaaaata gcggcccagg ccttgggctc
166321 ctttttttgc agctcgaaa tcgaagggcc tgtacagcta aagtcgacc aaatattatt
166381 gcatttctgt gaaactggca tgcaagacat aattgaaata attaataagt atatatcatg
166441 gcaacaaatt tttttattca acctatcacc gaagaagctg aagcactacta cccaccttcc
166501 gtgataacga ataaacggaa ggacctgggg gttagcgtat actgttgctc cgacctagtg
166561 ctccaacctg gactaaaat tgttcgctg catattaaag tagcatgcca acacatggg

166621 aaaaatgcg gttttaaact catggcgaga agcagtatgt gcacccatga acggctgctc
166681 atccttgcac acggaattgg tttaatagac cccgggtatg tggcgagct catgctcaag
166741 atcattaatc ttggcgacac cccggcccaa atatgggcca aagaatgttt ggtgcagttg
166801 gtggcccaag gtgaccatgt gcctgaccat atcaacatcc taaaaagaaa ccaaatatft
166861 ccgctgtttg cgcctacccc aagaggcgag ggtagatttg ggagcacggg cgagggcggg
166921 attatgagaa cttaatttta tttttttct faacataatg ggaggctcta caagcaaaaa
166981 ttcttttaa aatacgacca acattatcag caattccatt ttcaatcaga tgcaaaagtg
167041 tatttccatg ttggatggca aaaattacat aggcgtatcc ggtgatggaa atattttaaa
167101 ccacgttttc caggatttaa acttatcatt aaacacaagt tgcgtgcaaa agcacgtaaa
167161 cgaggaataa ttcatataca atctttcgaa ccaaatfact caaaatttaa aagaccaaga
167221 agttcggtta acccaatgga tggacgcagg aactcacgat cagaaaacgg atatagaaga
167281 aaatataaag gtaaaactta caaccacact tttcaaaac tgcgtttcat cctgtcggg
167341 tatgaacgtg ctgggtgga aggggaatgg caacattgtt gaaaacgcaa ctgagaagca
167401 gtgcagcaaa atcatctcta actgcttgca ggggagcaag caggccatag acaccacaac
167461 cggcatcact aacacggtaa atcagtactc acactacacc tcaaaaaact tttttgactt
167521 cattgcagac gcaatttcgg ctgtttttaa aaacatcatg gtccggctg tagttatcgt
167581 tctaatcact gtagggttta tagccgtctt ttactttttg cattcacggc accgcatga
167641 ggaggaagaa gaagctgaac cactcataag caacaaggta ttaaaaaatg ctgccgtttc
167701 gtaataatft aattaaaagt aaaaaaaaaa ggtattgtta tagtgatggc agattttat
167761 tctccaactc agtatttgaa agaagattcg agggaccgga cctctatagg tctctagaa
167821 tacgatgaaa atgccgacac gatgataccg agcttcgcag caggcttggg agagtttgaa
167881 cccattcccg actatgacc taccacatca acttccctgt attcacaatt gaccacaac
167941 atggaaaaaa tcgcagagga agaggatagt aattttctac acgatactag ggagtttact
168001 tcactggtcc cogatgaggg agacaataaa ccggaagatg acgaaagaag cggtgcaaaa
168061 cctaaaaaga aaaaacattt gtttcaaaa ttaagctcgc ataaatcgaa gtaaaaatg
168121 aagcgaaaaa aagtagaaaa aaaaatgttg gagcttttgt aagccaccgt ttgtggtcag
168181 atagtgttg tacgaccacc tgcatacaaa acagcattgc taattatgta gccttcggcg
168241 acaaaatgg atttcccttt aaatcagctc aggtatttat tgccggccct agaaggctg
168301 tgataaatat tcaggaagat gataaagtgt agctttttaa gatgattgtt aagcacaatc
168361 tttgggtgt tgctcatgga acctacttag atgtgccctg gtcccgaag agtgcgtttg
168421 ttacacattt tatacaacaa gaactactta fatgcaagga agtccgtatt aaagggttag
168481 ttttacacct aggcgctgtg gagcctgaac ttattatgga aggactaaaa aaaattaagc
168541 cggttgaggg ggttgcatt tacctgaaa ccccgcaaaa caaacatcat acatataaat
168601 acagtacaat tgagcagatc aaagaattgt ttttacggat acgaaatacc aggttgaac
168661 agattggttt atgcattgat acggctcaca tctggtcttc cgggtgcaac atctccagct
168721 ataagcagc ggggcaatgg ctgcccctgc tggaaaaact tcattccgtg atcccccaa
168781 gccacattat gttccaccta aatgatgccg ccacagaatg cggaaagcgg atagaccgac
168841 atgcaagctt tttgaaagga atgatttga aatcatatag ccataaaata aagcaaaagc
168901 gtttataatg tttgttgtaa tacgttacgc gacaccagtg tccggctata ttggagagaa
168961 acctcgggtc ttccatgcaa ttacaacccg ctttaaccgc agaatttact acatataaat
169021 cgttatttaa ataggatga gttttagcga atgtccctta gttatagtg catgcaaaaa
169081 atttctacaa aagcgtatta caatagagaa tgaagcactt ataaatgcct taataaccgc
169141 tttagcgcag accagcagct tgaatgatct ttgtttatta cctatcaaaa cctatttgc
169201 tagttataaa aatgcttttg agtggataca ctctgtatgt attgcaatca ccactatftt
169261 ggataataag tataactgga aggactgtac ggtagatatt aattatattt tctccatgt
169321 aacctatatt tacaatatta aaaccaagga atacctagac tactgttctt aaactttatt
169381 ttttctatat ttacgcaaaa gagaatattt aaagtftttt ttgaaaaaaa ataataatg
169441 tagataaaat tcagttacat gatataatgt taaacatgtg ttgtaaacaa catatggtta
169501 tgctttataa gataaatgag cataatataa gtaaacaaaa tatggttatg tgttaaatgc
169561 atataaatgt attttaactg atactttgtg ataatggata tatgcattta ttaaaagagg
169621 ctgtatttat tataactctt gctaaggatg ccatgtgcaa catatatacc atgtggaca
169681 aatgctgttg cgatccagtt cttttttttt tgattttgtt taatgctatc ctttttgaag
169741 ggatggttgt ccaccatatt tatctgatgt tcaatgaata ggtctgcttt tctgtaaggc
169801 agtgaaggtc gttccaagac tccttgaacg aaggacgtgt tttcttggat ccacttaaaa
169861 agcacgtggc atcaaaaac aggacagtga ttggatcctt ggatagctt tggacagcca
169921 atgcttgaag agatgtatgc cttttctttt aggacaagct tctccacgtc ggggcaacag
169981 agatcgttca agttctggac ggtcgcattt ggaatgttga aacttcgtat ccatcacc
170041 tccggtcctc ccttatgaag aaggagtatt tgctcatggt ccttagtaat cttaaccaaa
170101 gtttgaaga tcattttttt acctgcttta aaggcctgaa ggggtgctagt tggcaaaagc
170161 attgaattcg ggagtggtt ttcatcaagc gtgaaatggt gaatgtgacg cgactggaaa
170221 gaaaacgacc gttgatttat tttttcaag attgggtcga ttcgccaatg aaagaacagc
170281 tgcaagattt tagaagcgtt atttttttcc caataaaaaa tgaccacttc tctggtggtt
170341 aaaaatcgtct gttgtccatt ttcatataat aattggccca taaagccatc aacgtcaatc
170401 aacacaaaaa gcattggtata gagagctttt agaaccggag ttcgttaaaa aaatacaaa
170461 ttctgtttaaa acgtgtaagt ttactaaaaa aatgtaatgt ttaaatgata atgataaccac
170521 atgcattaat gaaaaaaact tttaaaattt tgttttaata ttgcatgaa aatgaaaca
170581 tttttagctt gtttatttca caatgcagat ggtttacatc aacagattca ggaattttg
170641 tatttatgac ggatgcataa ttacgaaaca aatctttact taaagcagga actatcacgg
170701 cttatataac caaataggca actttctttt gtgttactta tgcacctttc ccttctaaga
170761 aactgggatg acattgaata ttaacggac gttgtagatg ataagcagac tctacattac

170821 gcgccaatt tgctgacaaa ctacgttcta catctatcca tgtttcaaaa gctgacaaaa
170881 ccatacttcc ttttagcggg caagcggggtc agcgaaaaac tcaacaaaaa gcagcgacat
170941 tcattttacg aggtattggg aacctccgaa acctgaata attatgaaaa cctatctaaa
171001 aacatthtaa atacgttgat gtttgccgtg cgctacgtat ttaaacctac gccgaactat
171061 tcagaaattc tcgcagaggt ggaaaaaaaa aataaaattc accatattat ttttaatatg
171121 gtaattacgg attttgcgca aatccgtgaa caacaaatgg ataaacatct gtgtgaaca
171181 aataatgagc ttcgicagga atgtaaaaga actatthttg atttaaaggt ggtaggaat
171241 gtttagccaa taaactcatg cccgcatttt itacaggtac aaaaatcgtt ggtggctca
171301 tcgagggcgc gtggttgtag ttctctgtag gtacacatac gctgcttcca gttgggacac
171361 ttataaagt gtgacgtctt ttcggcgacc ttttgcgtgc aacgtagagt aatctctgtc
171421 ttctccttta agcggcgaga ggggcaaacg tcggcgaaac tcatgctacc aatggcctcc
171481 ggttttagct cgccagaaat tagcttatta agggcatcgt tatcctgttg ttggtgactt
171541 ttttttgcg agttaataat atgattgat gtcaccacac gggttgaata ttctctaaa
171601 aaggthtttt ctgttgctg gtacgtataa tgataaacag aggcctcgat ttttgcgcg
171661 taltccgtgc ataaatcagt atgttcctta aaaaacataa gttttgaag cgttctaaa
171721 aacatcattt ggatgatac acgcattttc aaaataatat agggttctag tctttggaa
171781 tctttcataa ctagatcggg ggtaatattc ttagtcatac aatttatta aatggttta
171841 atataattga aatatttttt aggcgtgtca gccgtgaaaa aacattctg ttcaatctta
171901 tttgtaagga tagtattttg caaatactta tttagcaaaa atacgataga atcggggct
171961 atatgcattt tcatataatt ttttttttaa aatttaatac aaaaaaaga agtatagact
172021 ctctctctag tccggttagt tcggtgggtg cctcaacatg gagactcaga agttgatttc
172081 catggttaag gaagccttag aaaaatatac ataccctctt actgctaaaa atataaagt
172141 agtgatacaa aaagagcaca atgtcgtctt acctacagga tctataaata gcatactgta
172201 cagtaactca gaactttttg agaagattga taagacaat accatthtcc ccccgctttg
172261 gatccgaaa aactaatgt aaccagtagt acatthtaag atagthtaag cagtaaatgt
172321 agaataacac agtttaagca taataacaa gtatatagga atataagga atataagga
172381 atataagaa atataagaa atagctaacg ttaatactaa ttcagctttt ttttaacta
172441 aaacctgaat agatcgaag tagcggacat atacatactaa aataagcca tacatttact
172501 ttctcttga acatgaaacc ttttttctt ctgtgttgg tatataaaca ataggactgt
172561 ttgctgaggt tgatgatct tctacaactg ctgtctcagg atgacgatgt tttttaaac
172621 taaaagtgtg atgtgtaag agtggaatat agttatggct cgacttatcc tgtttcgtac
172681 agaatatttt ttacaaaata gaacgcaaca agcatatgaa taaaacaga aatgatatac
172741 aggagcataa aatagatag aacactaagg ggtagcagct tttataacgt tccgtattht
172801 tcttagctat caattgattt accgtaatat ttatctcggg aaactthgtt ctacaatatt
172861 ttgtttgga ttccagaaac tcatgtcctg gcttattccc gcagcthtaa aatgatatac
172921 aaaaatggtt atgttacta aaattaatc tcttaagaa aaactgcgga agacgcttta
172981 ggtacgtctg ttcctgtttt agtaggaagt agtataagg acaatttctt tttccacaca
173041 ttagattatt gtaatatagg taggttgggg tgttgagcg aataagtttt ctgagatgt
173101 tataatctat gacttgtaaa tctgtatacc tttaggtccaa aaacttgagt tctttaccaa
173161 agccacctgc aatttcagaa atatttttca tcccgacggg gataatacgg atgtctgaa
173221 acgtctttaa aatcttctga ttgtagttaa facttatgtt atttttttgt aataatctta
173281 tgtcatgaca agtgcataa atgccagcag cattgcttgg tatagttata tatgcaggaa
173341 gaactatact actatgaga atagtcacat tgtacttata ccatgtatta tttctgata
173401 taaagtattt gcaggtgacc tgtggtttaa tctacctgt taagccactt cctaaaaaaa
173461 caaaaaaat gaaaaccctt agcatcctgt atatactatt aaaaattttt aaaattttct
173521 gtttaaatth catttagaca aaaaaataa fatatatac tcagcaagaa atataatac
173581 gattatataa ttttctgatt ttttttgcc acaataagca tcatlatag catltaaatc
173641 tcaatactaa acactaaaat ctaaaatcta agcatthaat tctaagcatt aatcttatg
173701 cactaaactg taagcactaa aatctaagta actaaaatca acactaaatg tatgcaacct
173761 aaaaatgtaa gcatlactca tcatcctcct ctctctcacc ctcatcatca taggttaaga
173821 tataatgctc atctctcatt tcttcacatt catcttata agcatcactg ggtattgggtg
173881 gaacattgga tgcagcattt ttaaaaatth ctatgtcttc tggtagaac tcatctaatg
173941 atttttgac agtcttttth acttccatgg gatattgac caaatcctct ttatataaga
174001 gtttacggta gcttttagct gcatccacat ttgctggaga atctggattt ggctcattga
174061 gcagtgaaat tacactaaga agaatggat caatcttttg agccggagac caagtcattc
174121 cctgttcttc atcattgtct ccgtgtaaga tagagataca tagttttcca tcagagtaaa
174181 tattaggatg ccacatttca gaggtgaatg ttaatctggg tggtagcatat gggtatctg
174241 gaggaaaggc gatthttgccc ttgaataagc ctccctcata aaaagtgtca ggtgggccc
174301 ttaagatcac atcccattca gcatatctt tctcattcac cgaathtttg aatthctcag
174361 agggattctc tatcagggtg ctgtactctg ctatthaaa cctggaaacc atggthattt
174421 aatthtaatt aatthccctg gthtatctct cctthaaagt agatgaacct cthttgtttt
174481 thattgggtt cattthtact aatthtatga actggaaaa actthaacgg cataatthtc
174541 aatgcgaag ggggatcgt ataaaatcct agcttgccgg taatggctat taagthaaat
174601 ttggtaccag taacactaat atthaaaaag ccctgatcat taactthcca catthaaaga
174661 thattatatt cgaatgtttg tccaataggg acaactthgt caccagatgt tacattthgt
174721 ttggttgtht gtggctgaag ctthggcacia tcaaaaataa gcccatthac actaagatat
174781 agaggatgg gtgtatctat thtctcatag thtaattatc catctthcca cgtaatagct
174841 tgataattht ccgagcaat gagthgaaat thtaataata gtacaggggt thtagthgtc
174901 gthatacatt taaaggtgt thtaaaaaa taaaaataa taatthttaa aagthataa
174961 ataactgcca aataatthc atactthttt tataagaatt atactagtha tggththta

175021 aatattagct aaatttaaaa aaacttcatg atttttaaaa cagggaaaaa ggggat tagg
175081 ttgaataaaa aaggttagca ctgtctata tttttttt acaatgtgc ctgagtcgc
175141 atttttaact ggctggggag tatcagagtg gaatatact gtagtaggtc tataaggctc
175201 tgttaaaata tgatcggtca ttgtttcgt actagtgca tttagggctg accgatagc
175261 tcgataaaa gtatagggg ataacctatc aaatacagtc ttatctgtgc tgaatgtat
175321 atcgtcttct ttatcactaa taatat tagg aatggctgtc attaataat tactactgt
175381 tgttgtgggt gaaatagtgt tactggattt attggaatg gctgtcatta aataat tact
175441 acttgttgtt gtgggtgaaa tagttgtact agtattatta gaaatggctg tcttaataa
175501 attactacct attacaagta aactaatgct aactacatt ttaacctcaa taaacctaaa
175561 aagccatact aaatacctaa acaacatcct gttataatat gagcagaaaa aaaaaataag
175621 tataattagg gaattattct tattcgctta ctattaagaa taattcagaa tcttatttag
175681 ttagaaaacta tcataaagtg aataggactc atcgtcggat gaagattccg tttcagagat
175741 agtttctttt tcttctcag aataatctgt tctacaata gaatcgggtg catcctcaga
175801 aagagaagta ttaaatatg gactatctat agcaaatacc tcttctatct cgcaatcctc
175861 ctctccattt tccatagtgt gtaggagaat atttttatca tcatgctcac tttttttt
175921 gttgaaagat gaaccgtcct caatacgggt catgttaagt tcttcatct tatgtataat
175981 ttcgtaatc cgtgatgtt ttgacatgta agatggttt aaggttata ccacaataac
176041 aggagaatct ctatcattt catttgataa acttgatct ttgatttctt cgtctaaaat
176101 tcttgtcttt tttgggtac tagatgaaat agaggaatc atattctgaa acgatatatc
176161 aaggggagct ggaccgttt tccaattaa accgttttc gagatactat gat tagatga
176221 atgatcttta atgttccac ccttgatag actatagtta gatatttac ctttaataa
176281 tattcttcta tacaagttat tcttaggtaa agaattagta tggattccta tttttatc
176341 tgaaggagt tccatctcg agaacgtcct ctacgaata tttgaccac gagcatttc
176401 atccactata ggcagtattt tggtcggcta tgggtctttg ttgtgacaat tctatgagat
176461 ttgattgcaa atcaattttt agttttaa atattggtc ctaggacaaa gaaagtatat
176521 atagccaata attatccac taattgatt tccagactga tgggtatgga gccatgtgt
176581 ctctgcagac gatcgcaaaa atggccgtag caacaaacac ctactccaag taccactatc
176641 caactactgaa ggtctttggg ctgtggtgga aaaacaatc gctaaatggc cctattaaa
176701 tatgtaacca ttgcaacaac ataattgtag gagaatacc tatgtgttac aatcatggaa
176761 tgagtctgga tatagctttg attcgggcag taaaggagc taatatatcc ttagtccag
176821 ttttcaccga atggggggga aatattgact atggggcact ttgtgctaac actccatc
176881 tgcaaaagt atgtaaaagt ttgggagcca aaccaccaa gggccgaatg tatatggatg
176941 ctcttataca tcttcagat accttgaatg ataattgatc gat taggggg tatgagattt
177001 ttgatgataa tagcgtgttg gattgtgtca atctcatag actcaaaaata atgcttacct
177061 tgaagggccc tatacctctc atggaacaac tagaccaat tgccttaaaa caactctgc
177121 agcgatactg tatgcccag gctgtacaac acaacttaac aatcgtatc cactattttg
177181 ataatacat tccataatata aagccattta gtctgcgctg tgccttgtat ttaatgatc
177241 cctttaaata ccatgatgct tgcagaactg taaatatgga tccaatagat atgatgaca
177301 ttgcttgtca acaggattta aactttcaaa gcatttacta ttgttatctt tttagggctg
177361 atattaatca ggctatgcta atgtctttaa agtatggta tctttctaat atgtggtttt
177421 gcatagattt gggggcggat gcctttaaag aggcaggggc gcttgcctgag aaaaaaata
177481 aaagagtgtt acaacacata ttaggcttta atactttaa gcgagagtgt attccccct
177541 gtaagatcc tgatccttat caaatcaaaa tctgtttaa aaactacatt ctaaaaatg
177601 tctcaactgt ttttacaat tattgcagat agccattgtt tatatcagaa aataacccat
177661 ttgtttatct tttttgtgg ggcaaccatt aagaccgac gcaaaaaaag ataatcttt
177721 tatcagatac cttaaacggt ctataaggga gtctatgaga tggatcata tttgatggtc
177781 atagtaagaa gcaagctttt tggcgaaaac aacggagtta aagaatttaa cccgctcatg
177841 tttggatagg acttttaaca gcgagccaaa acagtattta aaaaattggc aatagttttt
177901 ttgggatgca ataaacaac acttgatcag tgcggcttc actttctgat cagacatggt
177961 tgccgataaa caggcctttt taaacttagt aatataatta tgttccgcaa gcaccattaa
178021 caagggaaag atgggaagct gctttcttg gtgaaattta cgtaaatatt cgtggccc
178081 cgctggagc actgtgtaat ttactaagt t agaaatgata gctttcatgg ttgtaaaaat
178141 atacatagga ttttctttt ctgtatcag ttgaaaagc ttatgattac gtgaaatgat
178201 ggccattttt aatacaagat ggtatagtgt atctttaggt aaaaatgctt tgcgaagccg
178261 gatgatgtcg atgtgtctc catgaacagc gatagaact aatgttcca atctaaatg
178321 ttttatctgc ttttaatagaa gaatgcagtc aatgttatta tacttaataa tactgtaata
178381 caccgaatca atgaccgtca tctgagaatc aagctgactt attagtaaat ttaacgtttt
178441 tttggaggca tgaccttga tgcggcact aagtgacac agtatagcaa aatgtttaa
178501 tacattttga tttaggagaa ggagtaatat tttcctcgg ttatagtagc cagcatctgt
178561 gatgattatt ggccgataaa tgttaaaatg tgttaacagc ttttaaaaa aacggaagta
178621 attttttgg atcgcgtgtt gcatcatcga aataatgaga taatcagggt atataatggg
178681 taggtcacat gctacctcta acaagaata gtgcoccaa ctaaaggctg tgtgaaaag
178741 cgtactatca tcatcgtat cagtagccc tgcgttaca aaccaagcga taagatgaat
178801 gtgcccgtcc ttgcaagcta tgcgaatag ggagtttctt atggaatgct gaataatgta
178861 ctccctattt ttttcaaaa tgtttgaaa atgtatagc gtgcccagc acagtagaca
178921 ctccattctg cggttataat ttttactttt acatataat aggtggaaga actogaataa
178981 tcttgagaa ctgtttaa gcataatag gtgataattt ggtgtcgtta aatggtatga
179041 gaaaatgcat tctaatacat ctttccggt atgctttagc gcctgagcta aggcataatc
179101 aggcctgacc cataggacta gtgttctat aattgagata ttcgctgct ttgcccaggc
179161 atactttaag acgctccgg tagaaaaat gttgtatga agatggataa ccgatatcat

179221 ttttacgatg ggaccattcc agtatagtcc faaatgctgt agcagatcct ttgttagttg
179281 tgaagcgttc tgggtgtca tataaatatg ttgcaggct ttttctgta aggagaacat
179341 ttcgtcgtaa tgcgtacaaa aaaaataaa atttgggcat ggatgattca aacataacaa
179401 aatcaagatt ttataacagt ttgcattaac ctatacatat atgcaagtaa atgagatatt
179461 atctatcata acgaatcaag ggatatttgt atatatcagg agtttctgaa ataagatat
179521 gaagattatc atagtagtat ccatcaatca caatgcaact tcctttaagg cataatttag
179581 taaactcagc actcccatct tctggatgct ttacaactaa cattaaaaac tcctcagtca
179641 tattatctgt aataaaataa gatcctcctg gagccatttg tagcatgtct ctattccta
179701 caaaatcctt ttgggatgg taaaaactca gcagtttcaa actctttttt agttttttt
179761 cctggatttt aagccatttg ttataaaaca gtttcttat gaaaatgcat ttgaaaatat
179821 tgggaatggt taaccatgct tcttccgagc acatctccag atacttaact tctttgttc
179881 ccatgtctaa ttatgtctc actaagttag taatgaatct attttaata tctactttac
179941 taatctatct taataaccta tcttataatc tatcttaata acctaattat aacctattta
180001 taatggcta atgctgccgg catttcatgc ctatctaacc aactcctact aagcaatcta
180061 ctattacata tatagattca cttttatata ttgtaaatca tgagaattat aaaatcatta
180121 ctcatTTTTA ttgtaaatTA gtgggtattt gtaaaaatct tcaaacgttt taagatagtt
180181 ttctagagag aagtaatctt tgccatcaat atataatgct ttctctttaa actccagttt
180241 tgctatgttt agtgagccgt ttctagatct ttttggcaa taaatagatt ttcatgggt
180301 gcatcgtccg taagcagaaa ggtaccacta ggcacgttaa aaaacatagc ttctatttca
180361 tggtcggatt ttgagaata gaaaaaatct aatTTTTA tccgcgttaa cctTTTTA
180421 tcaatcttcc cagactgttt tatatatact ttatgcaaa tcttaacatc ctctatggct
180481 tcattatact tttttgctt atcctctatt gacatgtccg ttttgatag gtaacttccg
180541 ttaagccggt tccccatggt tttagataga ttttaattc agttgtatc ttttattatg
180601 aggcataaat atagaagttt gatcctaaaa aaataaaaag atttgtaca tttattatg
180661 gtttatagcg gtatagagcg cgataaaaagg tatccgggta gtctcctatg atatcgtcaa
180721 ttttggata ataacagttg ttatggtagt atgttccaaa ccgagtagt atgcccgggt
180781 gaagcgtccg cccgctaatt gtacagttcc aggttaagac aatcatatca cacccaaaaa
180841 gagaggaac agcatagggt cccaaaaggt cattatataa catacgccgc atattttta
180901 gtttttttcc tccatggtaa taatcacagg ttttcatgct ctgcttaata ggatgattcc
180961 ccatgtatga taatatataa taaatttagt ttttagcttt ttcaaaaaat tgggcgctcg
181021 aaactaaatt ttcttatca cagcgtttgg agaaagcgta ttaaaagata tatcttctc
181081 taacaagact gcaaaaaaaa tcttaccctt ttttttata atgttcatca tagcgtttga
181141 agatatacaga aggtgccagg tttataaaa atatccttta ggatttataa cgatacaagg
181201 gtctataaaa tatatggggg tataatctta taaaatcctc gatTTTTA taatattctc
181261 cgtttataca ataaagatca taacagatat tgatgcgtag atgcattatt cgcggttccg
181321 ttggcagact aaaggatata acaacgtagt ttttttaag aaaagacgaa actacataag
181381 tccctaaggg ttcatgtaat agtaaacgcc atattgttt taaattttgt tgttaccat
181441 agtagtattc gcacttttcc aagtcttttt taataagcct attccccatg tatgcttata
181501 aataaaaaat tagaaatgtg ctatattatt tggtagtaa tcatgaacac gtcttatatg
181561 ttgatattgt actttaaaaa catttattt ttcaacagac gcgttctatt cttattaaga
181621 atgatccgt ctttatttta aacctgggt taaaatttaa agaagtattt ataactata
181681 atcatgggaa cttttcagt aactgcctct gcaaaaagtg acgatgctgt ttgtaagtat
181741 ttagaagaac caatagatga aaattacaga aacatataa gaaatgagca tgttaaaaa
181801 aatttaaatg aggcctctgaa tgcacatatt actacctata atccagtagt tgatgggtg
181861 aataactatt caacatttcc atctcaggat ttcgatgaat ataaaattta tatacatagc
181921 gatcttatgg atggacgacc tcttccaaaa aaaacatggt gtgtcatcat gtaatgttg
181981 ttagttttat ataaacgcaa aaatattctt ctaggagatg ttgatatact acctatgaa
182041 ttcaatataa taaagtacat ttctggctat tcccattacg gtattattat tactattttt
182101 aagagctaga tgggatttta agtaataata acattctccc gtctcctcta gagacacctc
182161 atcaaatcc catcctatgc aacctttatg ttgtaaacat aatgattgac agcattcatc
182221 ttcttttgac caagctgccc aaatcctacc aagatctata cgtgttttcc caaatggaga
182281 ttgaagatca gcagtagtgg cattaaacct ataaaaacca ggtgcataat cacatgaacg
182341 gatcgtagga tctaatttaa tatcttttat atctgtttt actgcttcta gacaactttt
182401 atcagtagat gtcccagta cacagtggtg tcctttatcc ttacaatccg tatctgtctt
182461 acattttttt ttggcggtt tatgtttcag atggtaaaaa cccagtatta aaataatcac
182521 aagaataaatt cctataagta cttgaacaac aggataaaac attttaatat taatatatt
182581 ttttaattaa atgaatagat ttaatccaag tagtatttaa attttttaga aatagtgttc
182641 tacaataat gaaatgaatg gtccaaaaaa aataaggtgt acaataatgt aatataatgt
182701 taggctaagt aaatttaata ttttaagta tttggaaaaa tttttttta catatgatgt
182761 ctaggaatat tttttagaca tttaaaacca tatagttact ttatttatta cactgaactt
182821 gaaaagactt ataccataaa atatttaatag atgaagtaat atgtgtaat ttgagtcata
182881 acatgggtgg gaaacaaaaa tctcgtataa tgaaaaataa acatcctaaa aagagtgcaa
182941 ttgtataaag ttatgtaac tttattttta agtaagaata taaaatatg agtacaagag
183001 gaataggggc cactactaac atggctcca acatcctgtt gtctacaaaa aaaaatattt
183061 tttttagcaa aaaaaatcc atggaaggat attaatacac ataattattt gacatcacat
183121 tagtgtactt accaaatagt aatatacaac catcctaata ttccacttta tgaatgatc
183181 ccaacctata cggtaaaata gtataggttt taataaagaa aaaagatatt ctgtggtttt
183241 tatttttgta tagtgtgtga atacaaaata aaatcccaaa ttttaacctt ttctttttt
183301 ttctatacag gatgttagaa atagatttgg caacgctgct aggcgacctg cagcggctcc
183361 gggttcttac cctcagcag cgggcagttg ccttcttcc agccaactact aaggagctag

183421 aggacttctt atgctcagat gggcagctcg aggaggfact gtctggcccc cttcttaacc
183481 gtctactaga accctcaggc cctcttgata ttttaaccgg atatacacta tttcgtcaga
183541 atcccaaggc aggtcagttg cgcggccttg aggtcaagat gcttgaccgg ttatagcatg
183601 ctaatattta caataactg tctcggctgc ggcctgaaaa agttcgcaac aaggctattg
183661 agctatactg ggtttccga gctatccata tttgtcatgc tctttagtt ttatagattg
183721 tacgatatga ggaaccggac tttgctgaac tggcctttat ttgtcctgct tactttgggtg
183781 aacctcaggt aatgtatttg ctctacaaat atatgcctct gaccccgcca gttcttacgg
183841 atgccaatccg gataagtctt gagagcaaca accaggtagg gatttgcctat gcttacttga
183901 tgggaggcag cctcaaggga ctagtctccg cccactgcg taaacgtctg cgcgccaaac
183961 tacgctcgca gcgcaaaaag aaggacgttc tttcaccoca cgacttctta ctgctgctcc
184021 agtagctttt ttgcccagag gaccaccgag gataggagct cctccacgct cgcgatccgg
184081 cgctggaagc ggaaccgatc gaccgccacc tgcctccagg gacccttgcg ctgatgtcg
184141 tggccttccc acacctcgac ggctgtggca aaatggacat gcttcgctgc gttcgtccgt
184201 tttttgccc gctccccat tatcttctct gtaagattag ttttaatac ctataataac
184261 ataattttaa gatttaatat accaaaactt aaactatitt tgtatagtaa ctattagcat
184321 gtctacacat gattgttctc taaagagaaa accggttgat atgaacgata tatctgagaa
184381 atcagttgtc gtggataatg caccggagaa accagctgga gcgaatcata tacctgagaa
184441 gtcggcccg gaaatgacat catcagaatg gattgctgaa tattggaag gtataaacg
184501 tggaaatgac gtgcatggtt gttgtccaag aaaaatgacc agtcagaca aaaagttttc
184561 agtatttggg aagggatccc taatgcgctc catccagaag aataattaaa aaaatattt
184621 tttttagcaa tttttaaac tattttaaac aatgtgtaa aaaaatccac ataataatta
184681 aagtgaacgt gttagaatta atattttttt ataactggat ataatatcca ttaaatcaat
184741 aaatgatagt gttgctacca cactaaacaa taacaaacag aaacgcacga tacctttcct
184801 catgatttat aatagcgtgt tatctaaaga ttttttgaa aaaaatatta aattttagtt
184861 gattattttt ttcagttaca acattgcttt agaaaaata cctaattact acatagcaaa
184921 taaagcgagc gcatgtttac aaacaacatt ttttgcgcc tggactactcc tatatatgag
184981 aactataata cggatatatta atcctattac caacattgct aataatagta tgtaggcaat
185041 gacatacttt aaataccaaa tatccatggt tatttctaaa aatctgaaa aaacgttaa
185101 ttttagatcg gtcacctacg acagtaatac taattttaat aatgatgac tgaatcata
185161 atataatgcc gtgcgaaaaa taattatttt tgggttaag ataccattac ataaaaata
185221 tggcatctac tctacaagtg ctgtctaaaa aggtattggc cttaggggag cataaagaaa
185281 atgaacatat atctagagaa tattattatc atatatataa gtgttgggtt ttatgggtggc
185341 atgaagctcc gattatactt tgttatgatg ggagtgaaca aatgatgata aagactcaa
185401 tctttgaaga aggcataatta cttaactctg cattaatgaa agctgtacag gagaataatt
185461 atgaatfaat aaagtgttt actgaatggg gagcaaacat caattatgga ttaatttcca
185521 ttaataccga gcatgcccgg gatctatgtc gaaaattagg agctaaagaa atgctgaa
185581 gaaatgaatt tatacaaat atattcaaaa cattagatga taccaccagt agtaataata
185641 ttttatgta tgaattatc accaacaatc ctcttttaga gaatgtaat atgggggaaa
185701 tgaggatgat aattttatgg aggatgaaaa atttaacgaa cctattatta aataatgact
185761 ctattagtga aatattaact aaattctggt atggatagc agtaaaat atcttaag
185821 atcgatcca atatttttac cagagattca tggacttcaa cgagtggcga gtaacatgtg
185881 ctctttcttt taataatgtg aatgatcttc ataagatgta tataacagag aaggttcata
185941 tgaataatga cgaatgatg aatctagcct gcagcattca agacagaaat ttatcaacca
186001 tttactattg ttttctattg gggggctaac atcaatcaag caatgttaac ctcagatta
186061 aattataata ttttaactt atcttttgt atagacttag gggctgatgc ctttgaagag
186121 ggttaagacc tggcgaacaa aaaggggtat aatgaaatag tggaaatctt atcattagat
186181 atcatttata gtccaatc tgacttctca tcaaaaatag aacctgaaca tattagttct
186241 ttgttaaaaa acttttatcc aaaaaatctg ttcgctttg atcgtgcaa ccccggttta
186301 tattattctt agaggaccgc tacaaaaatt atttttttt ctgtatcaaa gctccaaaat
186361 aattattaga ttaaagtgc ctatagcagc agcccactcc aaaaaagta ttttatagta
186421 caaaaaacac gaaaaatagt ttgcccggcg cggcaaacata tttgtgttg tctaaaactt
186481 aatgtttttt taatattttt aaatgcaacc atggattgtt ggactatcag ggagaagaac
186541 tatagctaca tcatattgtc aatactggtt atactatcaa tatggtatct tatacttaac
186601 tattgtcgat cgaaaaaaa tgcagtaca aacaacatgc cgcaccata cacggtgtca
186661 agtagctgtt ctcaataata gggttgatg acgctcttcg taataatag ttgattgacg
186721 catcataaaa tgcgtggtt gattaatatg ttgattgtcg cctactttat tatataagta
186781 atgatttttg tataaaatc gggttgtga gggctttat tttcttatt agaacaagc
186841 atgcaattta aggcctacag caagagtaat itaacaccta caacagtaat ttaagggtca
186901 gtaataatgt ttaattaagg cctgaccact aaaaactaaa cgattttgta aaaaaaatg
186961 tctactccac tttcttaca gactctgtt aaaaaagtc tggccacaca gcacatatct
187021 aaagaacact actttttttt gaaatattgt ggtttatggt ggcatgaag cccgattacg
187081 atttgcattg atgaggatag ccaaatattg ataaaaatcg caagcttcaa agaaggctta
187141 tctttagata tgcattaat gaaagctg caagaaaaata accatgattt aatagagttg
187201 tttaccaagt ggggtgcaga tatcaactct agcttagtta ctgttaatac ggagtatacc
187261 cggacacttt gtcagaaatt aggcgcaaag gaagctttga atgaaaggga tattttaca
187321 atattttata aaacacgtca tcttaaaact agcagtaata ttattttata taatgaaattg
187381 ttttctaata atctctttt ccaaaaata gagagattga gtttaatagt ttataggggc
187441 ttgaaaaact tatcaatcaa ctttatattg gatgatattt catttagcga aatgttaact
187501 agatactggt atagtatggc gatattatat aaccttactg aagccatcca atattttat
187561 caacgatata ggcattttaa agattggcgg cttatatgtg ggctttcttt taacaatttg

4) Test ASFV Sanger Sequencing Data 제작

① ASFV Korea(GenBank: OQ417689.1), Chuncheon2/2023, (1~1083)

ASFV Korea(GenBank: OQ417689.1), Chuncheon2/2023, (1~1083)

```
atgataacttatttttttaataatttctaacatagttttaagtattgattattgggtt
agttttaataaaaacaataattttagatagtaataattactaatgataataatgatataaat
ggagtatcatggaattttttaataattcttttaatacactagctacatgtggaaaagca
ggttaacttttgtgaatgttctaattatagtacatcaatatataatataacaaataatgt
agcttaactatttttcctcataatgatgtatttgatacaacatatcaagtagtatggaat
caaataatataatatacaataaaaattttaacacctgctactcccccaaatcacatat
aattgtactaattttttaataacatgtaaaaaaataatggaacaacacataatataat
ttaataataatgatacttttgttaataataactaatgaaagtatacttgaatataactgg
aataatagtaacatatacaattttacagctacatgtataatataatacaatagtaca
tctaataaacaacactataaattgtactatttaacattgtcatctaactatttttat
actttttttaattatattatattccatgaagcatcataatgggataacaataagtatt
cttcttatatccatcataactttttatctttacgaaaagaaaaaacatgttgaagaa
atagaaagtcaccacctgaatctaatagaagaagaacaatgtcagcatgatgacacct
tccatacatgaacctctcccagagaaccttacttctaagccttacagtcggtatcag
tataatacacctatttactacatgctccctcaacacaacctcaacctttccctta
cctaaccgtgtcctccaccaaacatgtccgccaccaaacatgtcctccacctaaa
ccatgtccttcagctgaatcctattctccaccaaacctacctagatcccgctacta
cccaatatcccgcattatctacccaaaataattcgctattcacgtagatagaattatt
taa
```

② ASFV Korea(GenBank: OQ417657.1), Gimpo2/2019, (1~366)

ASFV Korea(GenBank: OQ417657.1), Gimpo2/2019, (1~366)

```
ccatttatccccgctttggatcggaaaaactaattgttaaccagtagtaccttaagga
tagtttaagcagtaaatgtagaataacacagtttaagcaataaataacaagtataaggaa
tatataggaatatataggaatatatagaatatatagaatagctaaagcttaatactaat
tcagctttttttaactaaaacctgaatagatgccaagtagcggacataacatactaa
aataagccatacatcttactttcttctgaacatgaaaccttttttcttctgtgttggt
atataaacaataggactgtttgctgaggttgtatgatcttctacaactgctgtctcagga
tgacga
```


③ ASFV Korea(GenBank: OP795765.1), Paju4/2019, (1~366)

ASFV Korea(GenBank: OP795765.1), Paju4/2019, (1~366)
atgataacttattttttaatatcttaacatagtttaagtattgattatgggtt
agttttaataaaacaataattttagatagtaataattactaatgataataatgatataaat
ggagtatcatggaattttttaataatcttttaatacactagctacatgtggaaaagca
ggtaacttttgtgaatgttctaattatagtacatcaatatataataaacaataatgt
agcttaactattttcctcataatgatgtattgatacaacatacaagtagtatggaat
caaataataatatacaataaaaattataacacctgctactccccaaaatcacatat
aattgtactaattttttaataacatgtaaaaaaataatggaacaacacataatataat
ttaataataatgatacttttgttaataatactaatgaaagtatacttgaatataactgg
aataatagtaacat taacaat tttacagctacatgtataat taataatacaat tagtaca
tctaataaacaacacttataaattgtacttatttaacatgtcatctaactattttat
actttttttaattatattatattccat taagcatcataat tgggataacaataagtat t
cttcttataatccatcataactttttatctttacgaaaagaaaaaaca tgtgaagaa
atagaaagtcaccacctgaatctaatagaagaagaacaatgtcagcatgatgacaccact
tccatacatgaaccatctcccagagaaccattacttctaagccttacagtcggtatcag
tataatacacctattactacatgctccctcaacacaaccactcaacccatttccctta
cctaaccgtgtcctccaccaaaccatgtccgccaccaaaccatgtcctccacctaaa
ccatgtccttcagctgaatcctattctccaccaaaccactacctagatcccgtacta
cccaataatcccgcattatctacccaaaataatctcgcttattcacgtagatagaatatt
taa

④ ASFV Korea(GenBank: OQ948252.1), Pocheon5/2023, (1~1083)

ASFV Korea(GenBank: OQ948252.1), Pocheon5/2023, (1~1083)
atgataacttattttttaatatcttaacatagtttaagtattgattatgggtt
agttttaataaaacaataattttagatagtaataattactaatgataataatgatataaat
ggagtatcatggaattttttaataatcttttaatacactagctacatgtggaaaagca
ggtaacttttgtgaatgttctaattatagtacatcaatatataataaacaataatgt
agcttaactattttcctcataatgatgtattgatacaacatacaagtagtatggaat
caaataataatatacaataaaaattataacacctgctactccccaaaatcacatat
aattgtactaattttttaataacatgtaaaaaaataatggaacaacacataatataat
ttaataataatgatacttttgttaataatactaatgaaagtatacttgaatataactgg
aataatagtaacat taacaat tttacagctacatgtataat taataatacaat tagtaca
tctaataaacaacacttataaattgtacttatttaacatgtcatctaactattttat
actttttttaattatattatattccat taagcatcataat tgggataacaataagtat t
cttcttataatccatcataactttttatctttacgaaaagaaaaaaca tgtgaagaa
atagaaagtcaccacctgaatctaatagaagaagaacaatgtcagcatgatgacaccact
tccatacatgaaccatctcccagagaaccattacttctaagccttacagtcggtatcag
tataatacacctattactacatgctccctcaacacaaccactcaacccatttccctta
cctaaccgtgtcctccaccaaaccatgtccgccaccaaaccatgtcctccacctaaa
ccatgtccttcagctgaatcctattctccaccaaaccactacctagatcccgtacta
cccaataatcccgcattatctacccaaaataatctcgcttattcacgtagatagaatatt

taa

⑤ ASFV Korea(GenBank: OQ948248.1), Yangyang/2023, (1~1083)

ASFV Korea(GenBank: OQ948248.1), Yangyang/2023, (1~1083)

atgataacttattttttaataatttctaacatagttttaagtattgattattgggtt
agttttaataaaacaataatttagatagtaataattactaatgataataatgatataaat
ggagtatcatggaattttttaataattcttttaatacactagctacatgtggaaaagca
ggtaacttttgtgaatgttctaattatagttacatcaatataatataacaaataatgt
agcttaactatttttccctcataatgatgtatttgatacaacataatcaagtagtatggaat
caaataataattatacaataaaaattataaacacctgctactcccccaaatatcacatat
aattgtactaattttttaataacatgtaaaaaaataatggaacaaacactaatatata
ttaataataaatgatacttttgttaataatactaatgaaagtatacttgaatataactgg
aataatagtaacattaacaattttacagctacatgtataattaataacaattagtaca
tctaatagaacaacacttataaattgtacttatttaacattgtcatctactattttat
actttttttaattatattatattccatgaagcatcataatgggataacaataagtatt
cttcttatatccatcataactttttatctttacgaaaagaaaaaacatgtgaagaa
atagaaagtcaccacctgaatctaatagaagaacaatgtcagcatgatgacacct
tccatacatgaacctctcccagagaaccttacttctaagccttacagtcgttatcag
tataatacacctatttactacatgctccctcaacacaacctcaacctttccctta
cctaaccgtgtcctccaccaaacctgtccgccaccaaacctgtcctccacctaaa
ccatgtccttcagctgaatcctatttccaccaaacctacctagtatcccgctacta
cccaataatcccgccattatctacccaaaaataattcgcttattcacgtagatagaattat
taa

⑥ ASFV China/GX(GenBank: OM986457.1), GX/202012, (1~679)

ASFV China/GX(GenBank: OM986457.1), GX/202012, (1~679)

cgaagtgcattgtaataaacgtcttcatttcttataatatacaacagtatgttgagtctt
taatttaaaattacaaggagtttctaggcttttatgcgtatagggtttctttgtcgt
aattttcaatagccgacattgtttgtgaagcagtgcttgagtagtgactgtcgtgtaag
gctcagccggatgagcaggagcactcggggccgcaggcggccgcccggcccagttg
ccatgactagtctgtccgtaacctgggtgtccgtaactggttgtttgttgctggctgt
ttgttgccggcttgcctgactggcttgccctacacttgctgtagtcgctccagctggtt
tagaggtacctggttgtggagtgacttctaccactgctgatcttgataaggattataa
actgtatatttctcctcaatagcagcagctttttcttcttgaagagaatagataga
ttagaacgatgataatgatgactaagaccacgatagcaatgagaatagtatacatagtg
tgagaagaagcttggtagtgactggtgacaaacactcaccaataatgccgaggataaa
ccggttgaaaaattcagaatccatttaagatactattataaataatataaaaaatgtt
gtggcgcaatgaaattaca

5) Test ASFV Sanger Sequencing Data 분석 결과

- 2019년 ASFV Korea(GenBank: OQ417657.1), Gimpo2/2019, (1~366) Sanger Sequencing Data의 마지막 데이터에서 총 4개의 Mismatch 발생

The screenshot shows the SeqScape software interface. On the left, there is a sidebar with 'Information' and 'Sequence' fields. The main window displays a 'Reference List' and a 'Sequence List'. The 'Sequence List' table is highlighted with a red box, and a large green arrow points downwards from it.

Num	Filename	Size	Result	Mismatch	Gap	Direction	Reference
1	ASFV_2020_China_GX.seq	679	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #17 (160,321 - 170,340 : 10,020byte)
2	ASFV_ChinaHebei5_2020_Korea.seq	1082	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #5 (70,141 - 80,160 : 10,020byte)
3	ASFV_Gimpo2_2019_Korea.seq	372	98.92%	4	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #18 (170,341 - 180,360 : 10,020byte)
4	ASFV_Pocheon5_2023_Korea.seq	1083	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #6 (70,141 - 80,160 : 10,020byte)
5	ASFV_Pocheon5_2023_Korea.seq	1083	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #8 (70,141 - 80,160 : 10,020byte)
6	ASFV_Yangyang_2023_Korea.seq	1083	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV Korea(GenBank: OR180305.1) #8 (70,141 - 80,160 : 10,020byte)

```
//
// 4. Result
//
- Filename : ASFV_Gimpo2_2019_Korea.seq
- Sequence Size = 372Byte
- Percent Match = 98.925%
- Mismatch = 4EA
- Mismatch location = 2270,2271,2272,2273
- Gap = 0EA
- Sequence Sync location = 1902
```

```

gaggttgatatgatcttctacaactgctgtctcaggatgacgatgtttt
tattagctaaatttaaaaaacttcatgatttttaaacagggaagaaag
aaaagagtgttacaacacatatagggtcttaatatctttaagcgagagt
ttactaatctatctttaataacctaattataatctatctttaataaccta
gaggttgatatgatcttctacaactgctgtctcaggatgacgatgacga
MMM

```

- Sanger Sequencing Data의 마지막 데이터에서 총 4개의 Mismatch 발생-

6) ASFV Reference Sanger Sequencing Data 변경 후 2차 테스트

- ASFV Reference Sanger Sequencing Data 184,501bp

Num	Filename	Size	Result	Mismatch	Gap	Direction	Reference
1	ASFV_2020_China_GX.seq	679	100.00%	0	0	Forward	>Contig : ASFV #16 (150,301 ~ 160,320 : 10,020byte)
2	ASFV_Chundcheon2_2023_Korea.seq	1083	99.91%	1	0	Forward	>Contig : ASFV #8 (70,141 ~ 80,160 : 10,020byte)
3	ASFV_Gimpo2_2019_Korea.seq	372	94.62%	4	16	Forward	>Contig : ASFV #17 (160,321 ~ 170,340 : 10,020byte)
4	ASFV_Paju4_2019_Korea.seq	1083	99.91%	1	0	Forward	>Contig : ASFV #8 (70,141 ~ 80,160 : 10,020byte)
5	ASFV_Podcheon5_2023_Korea.seq	1083	99.91%	1	0	Forward	>Contig : ASFV #8 (70,141 ~ 80,160 : 10,020byte)
6	ASFV_Yangyang_2023_Korea.seq	1083	99.91%	1	0	Forward	>Contig : ASFV #8 (70,141 ~ 80,160 : 10,020byte)

III. HPAI 유전자 NGS, Data 분석

1) HPAI Reference Sanger Sequencing Data 출처

구분	세부설명	비고
NCBI GenBank	https://www.ncbi.nlm.nih.gov	
ASFV Sanger Sequencing Data Size	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KY926744.1 14,767	Influenza A virus (A/chicken/Cameroon/16VIR3791-12/2016(H5N1))
JOURNAL Submitted	Submitted (11-APR-2017) National OIE and FAO Reference Laboratory for Newcastle Disease and Avian Influenza, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, viale dell'Universita 10, Legnaro, Padova 35020, Italy	

2) Influenza A virus (A/chicken/Cameroon/16VIR3791-12/2016(H5N1)) / GenBank: KY926744.1

```

atggaagaataaaagaactaagagatttgatgtcacagctctgcaccccgagatactg
acaaaaaccactgtggaccataatggccataatgaagaaatataacctcggaaggcaggag
aagaatcctgccctcaggatgaaatggatgatggcaatgaaatataccaattacagcagac
aaaaggataatggagatgatcccggaaagaaatgagcaaggccagaccctttggagcaag
acaaatgatgctggatcagacagagtaatggatcgccctcggctgtgacgtggtggaac
agaaatgggccaacgacaagtacagtcattatacaaaggtttataaaacctacttcgaa
aaggtcgaaaggctaaaacatgggaccttcggccccgttcaactcagaaaccagggttaa
atcgcccgagggttgacacaaaatccaggccatgaggatcttagtgctaaagaagcaciaa
gaagtcataatggaggctgatttccaacgaagttggagccaagataatgacatcagag
tcccagttaacgataacaaaggagaaaaagaggaactccaggaaatgcaaaaatgccccct
ttaatggtggcatacatgtggagagagaaatgggtcgcaaaaccagatctcaccagta
gctggcgggacaagcagtggtatatacgaagtatatacttgaccaaggacctgctgg
gagcaaatgtacacaccgggaggggaagtgagaaatgatgaccttgatcagagtttaatt
attgctgctagaaatattgttagaagagctacagtatcagcagaccctggcatcgctt
ttggagatgtccatagtacacaaatggcgggtaaggatgatggacatccttaacaa
aaccaacagaagaacaagctgtggatataatgcaaagcagcaatgggtctaaggatcagt
tcatccctcagctttggaggtttcaactttcaaaaggacaagtggtcatctgtcaaaagg
gaggaagaagtgctcactggcaacctccaacatgaaaaaagagtagatgaagggtat
gaggaattcacaatggtcggaagaagggaacagccattctaagaaagcaaccagaaga
ttgatccaattgatagtgagtggaagacgagcaatcagtcgcccaggcaatcatagtg
gcaatggtgtctcacaagaggatgcatgataaaggcagtgagaggtgatttgaatttt
gtcaacagagcgaaccaacggctaaatccatgcaccaactcctgaggcatttccaaaag
gatgcaagggtgctgttccaaaactggggaattgaaccatgacaatgtaatggggatg
atcggaataatgacctgacatgacccccagcacagagatgcatgagaggagtgagagtc
agtaaaaatgggagtagatgaatataccagtagtagagagtgccgtgagtagatagatcga
ttcttgagggtccgggaccagagaggaaacgtactcctgtctcctgaagaagttagtgaa
acacaggagcagaaaagctgactataacttatcatcgccatgatgtgggaaatcaat
ggtccggaatcagtgctagttaacacataatcaatggatcattagaaatgggaaactgtg
aagattcaatggtccaagaccctacaatgctttacaataagatggaatttgaacccttt

```

caatccctagtgccctaaggctgccagaggccaatatagtggaatttgaaggacgctattc
cagcagatgcgtagtgctagggacatttgacactgtccaaataaaagctattacca
tttgagcagccccaccggagcagagtaggatgcagttttcttctctaactgtgaacgtg
aggggttcaggaaatgagaatacttgtgagaggcaattctcctgtgttcaactacaacagg
gcaaccaagaggcttacagtacttggaaaggatgcaggtgcatgtagggagaccagat
gagggaacagcaggagtggaaatctgcagtatgagaggatttctgatcctgggcaaagaa
gacaaaagatatgggcctgcatgagcatcaacgaatgagcaatcttgcgaaaggggag
aaggctaacgtgtgtagggcaaggagacgtggtgtggtaatgaaacggaacgggac
tctagcatacttactgacagccagacagcgaccaaaggattcggatggccataatag
atggatgtcaatccgacttactttcttgaaagtgccagtgcaaaatgccataagcacc
acattcccttatactggagaccctccatcacagccatggaacagggacagggtagacca
tgacacagtcaacagaacacaccaatatcagaaaaggggtgtggacaacaacacagag
accggagcaccagctcaacccaattgatggaccattaccgggggacaacgagccaagt
gggatgacaaaacagatgtgtatggaagcaatggctttccttgaagaatcccacca
ggaaatcttgaaaaatcgtgtcttgaaacgatggaaatgtccaacaacaagagtggat
aaataaccaaggtcgccagacttatgactggacatgaaatgaaaccaaccggctgca
actgctttggccaacactatagaaatttcagatcaaacggtctgacagcaagtgaatcg
ggaaggctgatagatttctcaaggatgtgatggaaatcaatggataaggaagaaatagag
ataacaacacatttcagagaaagagaagagtaagagacaacatgaccaagaaaatggta
acgcaaagaacaatcgggaagaaaaaacaaggctgaacaaaaggagctaccatgataaga
gcgctgacgctgaatacaatgaccaaggatgcagaaaggggcaaatgaagagcgagca
atgcaacacccggaatgcaaatcagaggatcgtgtactcgttgaacactagcgagg
agtatctgtgagaaactgagcaatctggactcccagtcggaggggaatgagaagaaagct
aaactggcaaacgtcgtgaggaagatgatgaccaatcacaggatactgaactctccttt
acaattactgggacaacacgaaatggaatgagaatcaaaatcctagagtgtttctggca
atgataacatacatcacaaggaaccagcctgaatggtttcgaaatgttttaagcattgcc
cctataatgttttcaaacaaatggcaagactagggaaaggatacatgttcgaaagtgaag
agcatgaagtacggacacaaataccagcagaaatgcttgcaacattgacctcaaatac
ttcaatgaaatcaacgaaaaggaaaaatgagaagataagaccccttttaatagatggtaca
gcctccttgagccctggaaatgatgtagggcatgttcaatatgctgagtacagtcctagga
gtttcaatcctgaatcttgggcagaagaggtacaccaaaccacatatggtagggacggg
ctccaatcctctgatgatttgcgtcttatgttaaatgcccgaatcatgagggaatacaa
gcaggggtagataggttttataggacttgtaactagtgggataaatatgagcaagaag
aagtcttacataaatcggacagggacatttgaattcacgagtttttctaccgctatgga
ttcgtggccaatttcagtatggagctaccagtttggagtgctggaatfaatgagtcg
gcccagatgagcattgggtgttacagtgataaaaaacaatatgataaacaacgacctggg
ccagcaacagctcagatggctctcagctattcatcaaggactacagatcacataccga
tgccacagaggagacagcgaatccacacgaggagatcatcagagctgaagaagctatgg
gaacaaaccgctcaaaggcaggactatgggttcagatggaggaccaaatttatacaat
atccgaaaccttcataatcctgaggtctgcttgaaatgggaatgtaggatgaagactac
cagggtagactgtgcaatcctctgaatccatcgtcagccatagggaaatgaaatctgtc
aacaatgctatggtaatgccagctcatggccggccaagagatggaaatgatgccgtt

gcaaccacacattcttggattcctaaaaggaatcgttccattctcaacacaagccaaagg
ggaattcttggaggatgaacagatgtaccaaagtgtgcaatctatcogagaaattcttc
cccagtagttcgtatcggagaccagttggaatttccagtatggaggagccatgggtgtct
cgggcccgaattgacgcacgaattgatttcgagctggaaggattaaagaagaagattt
gctgagatcataaagattctgttccaccattgaagagctcagacggcaaaaatag
atggaagactttgtgcgacaatgcttcaatccaatgatcgtcgagcttgcggaaaagaca
atgaaagaatatggggaaaaatccaaaaatcgaaacgaacaaatcgccgcaatatgcaca
cacttagaagctcgttcatgtattcggacttccactttatagatgaacgaggtgagtca
ataatcgaagaatctggcgatccaaatgcatattgaaacaccgatttgagataattgaa
gggagagaccgaacaatggcttggacagtagtaaatagtatctgcaacaccacaggagtc
aataagcctaaattcctcccagacttgtatgactacaaagagaaccgattcattgaaatt
ggagtgacacggcgggaagttcacataactacctagaaaaagcaacaagataaaatca
gagaggacacacatccacataattctcattcactggagaggaaatggccaccaagctgac
tatactctcgatgaggagagcagagcaagaattaaaaccaggctgttactataagacaa
gagatggccagtaggggtctatgggactcctttcgtcaatctgagagaggcgaagagaca
atgaaagaaggtttgaaatcacaggaaccatgcgaggcttctgaccaaagcctccca
ccgaacttctccagcattggaattttagagcctatgtggatggattcaaaccgaacggc
tgcatgagggcaagctttctcaaatgtcaaaggaagtgaacgccagaattgagccattt
atgaggacaacaccacgcccctctcagactacctgaggggcctcccggccccagcggctcg
aagttcttactgatggatgccctcaagtaagcattgaagatccaagccatgaaggggaa
ggcataccactatgatgcaatcaaatgcatgaagacattttcggctggaagatccc
aacatcgtaagccacatgaaaaggcataaatcccaattacctcctggcttggagcag
gtgctatcagaactccaagacattgaaaatgaagataaaatcccaaaaacaagaacatg
aagaaaacaagccaataaagtggtacttggtagaataatggcaccagaaaaagtagac
tttgaggattgcaaagatgttagcgatctaaaacagtagacagtgatgaaccagaacct
aggctattcaagctggattcagagcgaattcaacaaagcattggaattgacagatcog
agttggattgaacttgatgaaataggagaagatgtagctccaattgagcacaattgcaagt
atgagaagaactatctcacagcgaagtgtctcattgcagggccactgaatacataatg
aaggagtgatataaacacagctctatgaaatgcatccagtgagccatggatgacttc
caactgattccaatgataagcaagtgcagaaccaagaaggaagacggaaaaacaatcta
tacggattcattataaaaggaaggtccatttgaggacgacaccgattgtgtaaacattt
gtgagcattggaattttcttactgaccgaggctggaaccacacaagtgggaaaagtag
tgtgttcttgaataggagacatgctattacgaactgcaataggccagggtcaagacc
atgttctgtatgtgagaaccaatgggacatccaagattaagatgaaatggggcattggag
atgagggcattgccttctcaatcccttcaacaaatgagagtagattgaaagccgagctct
tctgtcaaagaaagacatgaccaagaatttttgaaccaaatacagaacgtggcca
atggggaaatcacctaaaggggtggaagaaagctccattggaagggtgagcagaacatta
ctagcaaaatctgtattcaacagcctgtatgcatctccacaacttgaggggtttcagcc
gaatcaagaaaatgtcttctcattgttcaggcacttagggacaacctggaacctgggacc
ttcgatcttgggggctatataagcaattgaggagtgctgattaatgatccctgggtt
ttgcttaatgcatcttggttcaactccttcctcacacatgcactgaaatag
atggagaaaatagttattctctttgcaacaatcagccttgttaaaagcgatcatatttgc

atggagaaaatagttattctctttgcaacaatcagccttgtaaagcgatcatatttgc
attggttatcatgcaataatcgacagagcaggttgacacaataatggaaaagaacgtt
attggttatcatgcaataatcgacagagcaggttgacacaataatggaaaagaacgtt
actgttacacatgccaagacatactggaaaagacacacaacggaaagctctgcatcta
actgttacacatgccaagacatactggaaaagacacacaacggaaagctctgcatcta
aatggagtgaagcctctgattttaaaagactgtagttagcaggatggctcctcggaat
aatggagtgaagcctctgattttaaaagactgtagttagcaggatggctcctcggaat
ccattgtgtggcgaattcaccaatgtgccagaatggctcctacatagtagagaaggccaat
ccattgtgtggcgaattcaccaatgtgccagaatggctcctacatagtagagaaggccaat
ccagccaatgattctctgttaccaggaatttcaacgattatgaggaactaaacatcta
ccagccaatgattctctgttaccaggaatttcaacgattatgaggaactaaacatcta
ttgagcaggataaaccattttgagaaaaacagatcatccccaaagattcttggtcagat
ttgagcaggataaaccattttgagaaaaacagatcatccccaaagattcttggtcagat
catgaagcctcatgggggtgagcgcagcatgttcataccagggaaattcctccttcttc
catgaagcctcatgggggtgagcgcagcatgttcataccagggaaattcctccttcttc
ggaaatgtggtgtggcttatacaagaagaacaatgcataccaacaataaaaaaggctac
ggaaatgtggtgtggcttatacaagaagaacaatgcataccaacaataaaaaaggctac
aataataccaaccgagaagatctcttgatactgtgggggatccaccatcctaatgatgaa
aataataccaaccgagaagatctcttgatactgtgggggatccaccatcctaatgatgaa
gcagagcagacaaagctctatacaaaaccaactacctataattccgttgggacttcaaca
gcagagcagacaaagctctatacaaaaccaactacctataattccgttgggacttcaaca
ctaaccagagattggtacaaaaatagccactagatccaaaaataaacgggcaaagtggc
ctaaccagagattggtacaaaaatagccactagatccaaaaataaacgggcaaagtggc
aggatagatttcttctggacaattttaaaaccgaatgacacaatccatttcgagagtaat
aggatagatttcttctggacaattttaaaaccgaatgacacaatccatttcgagagtaat
ggaaatttcattgctccagaatatgcatacaaaatgtcaagaaaggagactccacaatc
ggaaatttcattgctccagaatatgcatacaaaatgtcaagaaaggagactccacaatc
atgagaagtgaggtagaatatggttaactgcaacaccaggtgtcaaacccaataggggcg
atgagaagtgaggtagaatatggttaactgcaacaccaggtgtcaaacccaataggggcg
ataaaccttagcatgccattccacaacatcacctctcactatcggagaatgtccaaa
ataaaccttagcatgccattccacaacatcacctctcactatcggagaatgtccaaa
tatgtgaaatcaacaaatagtcttggcaactgggctcagaaatagtcctcaaagagag
tatgtgaaatcaacaaatagtcttggcaactgggctcagaaatagtcctcaaagagag
agaagaagaaaaagaggactgtttggagctatagcaggttttatagaggaggatggcag
agaagaagaaaaagaggactgtttggagctatagcaggttttatagaggaggatggcag
ggaaatggtagatggttggatgggtaccaccacagcaatgaacaagggagtggttacgct
ggaaatggtagatggttggatgggtaccaccacagcaatgaacaagggagtggttacgct
gcagacaaaagaatctactcaaaaggcgaatagacggagtccaataagggtcaattcaatc
gcagacaaaagaatctactcaaaaggcgaatagacggagtccaataagggtcaattcaatc
attgacaaaatgaacactcagttttaggctgtaggaaaggaatttaataacttagagagg
attgacaaaatgaacactcagttttaggctgtaggaaaggaatttaataacttagagagg
agaatagaaaaatttaacaagaagatggaagacggattcctagatgtctggactataaat

agaatagaaaatttaacaagaagatggaagacggattcctagatgtctggacttataat
gctgaacttctgggtctcatggagaatgagagaactctagacttccatgactcaaatgtc
gctgaacttctgggtctcatggagaatgagagaactctagacttccatgactcaaatgtc
aagaacctttacgacaaggtccgactacagcttaaggataatgcaaaagagctgggaaac
aagaacctttacgacaaggtccgactacagcttaaggataatgcaaaagagctgggaaac
ggttgtttcgagttctatcacaaatgtataatgaatgtatggaaagtgtgagaacggg
ggttgtttcgagttctatcacaaatgtataatgaatgtatggaaagtgtgagaacggg
acgtatgactatccgcagttatcagaagaagcaagataaaaagagagggaaataagtgga
acgtatgactatccgcagttatcagaagaagcaagataaaaagagagggaaataagtgga
gtaaaatggaatcaataggaatctaccaaatactgtcaatttatcaacagtgccgagt
gtaaaatggaatcaataggaatctaccaaatactgtcaatttatcaacagtgccgagt
tccctagtgtggcaatcatgatggctggctctatctttatggatgtgttccaacgggtcg
tccctagtgtggcaatcatgatggctggctctatctttatggatgtgttccaacgggtcg
ttacagtgcaagaatttgcaattga
atggcgtctcaaggcaccacacgatcttatgaacagatggaaactggaggagcgcag
aatgctactgagatcagggcatctgttgaagaatgggggtggcatgggaggtcttat
atacagatgtgcacagaacttaactcagtgaccatgaaggagagactgatccagaacagc
ataacaatagagagaatggtaactttctgcaatgatgaaagaaggaacaggtacctgga
gagcaccacagtcgggggaaggacctaaagaaactggaggtccaatttatcggaggaga
gacgggaaatgggtgagagagctgattctgtacgacaaagaagagatcaggaggatttgg
cgccaagcgaacaatggagaggacgcaactgctggccttaccaccctgatgatatggcat
tccaatctgaatgatgccacatatcagagaacaagagctctcgtgcgtaccggaatggac
cccaggatgtgctctctgatgcaaggatcaactctcccaggagatcgggagctgctggg
gcagcagtgagggggtaggaacaaatggtaatggagctgatcgaatgataaaacgaggg
ataaacgaccggaatttctggagaggcgaataatgggagaagaacaaggattgcatatgag
agaatgtgcaacatcctcaagggaatccaacagctgcacaaagagcaatgatggat
caagtgcgagagagcagaatcctgggaatgctgaaatgaagatctaattttctggca
cggctgactcatcctgagagggctcagtgcccacaagctcctgcttgcctgcttgtgta
tacggacttgcaagtgccagtggtatgacttcgagagagaaggatctctctgggtgga
atagatcctttccgtctgcttcaaacagccaggtctttagcctcatagaccaaataaa
aaccagcacataagagtcaatagtggtggatggcatgccactctgcagcaatggaggac
cttagagttcaagttctatcagaggggcaagatgggtccaagagggcagctatccacc
agaggggttcaaatgcttcaaatgagaacatggaaacaatggactccaacaccttga
ctgagaagttagatactggccataagaaccaggagcggaggggaaccaaccagcagagg
gcatctgcagggcagatcagcgttcaaccactttctcggtagagagaaccttcccttt
gaaagggcgaccttatggcagcaatctacaggaatactgaaggtagaacgtccgacatg
aggactgaaatcataagaatgatggaaagtccaaccagaagatgtgtcatccagggg
cggggagtctcgagcttccggacgaaaaggcaaccgaaccgatcgtgccttctttgac
atgaataatgaaggatcttatctcggagacaatgcagaggagtatgacaataa
atgaatccaaatcagaagatagtgaccatggatcaatctgtatggtaattggaataat
agcttgatgttacagatgggaacataatctcaatatgggtcagtcattcaatccaaca
gggaatcaacaccaactgaaccaatcagaataactaatctcctcactgagaacactgta

gcttcagtaacat tagctggcaat tcatctctttgccccat taaaggatgggctgtacac
agtaagacaacagataaaggat tgggtccaaggggatgtgtttgtaattagagagccg
ttcatatcatgctcccattcgggaatgcagaacctctcttttgaccaggagctttactg
aatgacaagcactccaacgggactgtcaaagacaggagccctcatagaacgctaataagt
tgccctataggtagggctccctctccatataaactcaagatttgagctgttgcttggctcg
gcaagtgttgccatgatggcaccagt tgggtgataaattggaatttctgggtccagacaat
ggggctgtggcgtat tgaatacaatggcataataacagacactatcaagagt tggagg
aataataactgaggaccaagagtctgaatgtgcatgttgaatggctcttgctttact
gttatgacagatggaccaagtaatgggcaggcatcatalaagattttcaaaaagaaaa
gggaaagtagttaagtcagtcgaat tgaatgcccccaattatcactatgaggaaatgctcc
tgttatcctgaggctggcgaatcatalgtgtgtgcaggataat tggcatggctcaaac
aggccatgggtatctttcaatcagaatttggagatcaaaataggatataat tgcagtgga
gttttcggtgacaatccacggccgaatgacggtacggggagt tgggaccagtgtccctc
aacggggcatatggggtaaaagggttctcat taaatattggaatgggtgtctggatcggg
aggacaaaagcactcat tccaggagcggctttgaaatgatttgggatccaaacgggtgg
actggaacagacagtgaattttcgatgaaacaagata tagtagcaataactgat tggcca
ggatatacggggagt tttgtacagcaccagaactgacaggat tagat tgcatagagacct
tgcttctgggttgagttaatcagagggcggcccaagagagcacaatttggactagtggg
agcagcatalctttttgtggtgtaaatagtgacactgtgagt tggcttggccagacggg
gctgagttgccattcaccattgacaagt ag
atgagctctctaaccgaggtcgaaacgtacgttctctctatcatcccattcaggccccctc
aaagccgagatcgacagaaact tggagatgtatttgcaggaaagaacactgatctcgag
gctctcatggagtggctaaagacaagaccaatcctgtcacctctgactaaaggaatcttg
ggatttgtgttcacgctcaccgtgccagtgagcaggactgcagcgtagacgtttgtt
cagaatgccctaaatggaaatggagatccaaataataatggataggcagttaagctatat
aagaagctgaaaagagaaataacattccatggagctaggaggctgcactcagttactca
accggtgcacttgccagt tgcattgggtctcatalacaacaggatgggaacggtgactaca
gaagtggcttttggcctagtgtgtgccact tgtgagcaaat tgcagat tcaacagcatcgg
tctcacagacagatggcaaccatccaacccactaatcaggcatgagaacagaaatgggtg
ctggccagcactacagctaaaggcaatggagcagatggcgggatcaagcagcaggcagca
gaagccatggaggt tggcaaccaggctagacagatgggtgcaggcaatgaggacaattggg
actcatcctaaactctagtgtgtgagagataatctcttgaaaaattgcaggcctac
cagaacgaaatgggagtgagatgcagcgtatcaaatgatcctcttat tgttggcgcaag
tatcat tgggatcttgacctgatattgtggattatgatcgtctctcttcaaatgcat
ttatcgtcgcttaaatacggt tggaaaagaggccctctacggaaggggtaccggagt c
tatgaggaagagtaccggcaggaacagcagaatgctgtggatgtgacgatggtcattt
tgtcaacatagaattggagtaa
atggatcccaacactgtgtcaagttttcaggtagactgctttctctggcatgtccgcaaa
cgatttgcagaccaagaactgggtgatgccccattcttgaccggcttcgccgagatcag
aagtccttaagaggaagaggcaacactcttggcttgacatcgaaacagctactcgtgcg
ggaaaacagatagtgagcggatcttgatgaggaacctgatgaggcacttaaaatgccg
acttcacgctacctaaactgaaatgactctcgaagagatgtcaagggactggttcatgctc

```

atgcccaagcagaaagtggagggtccctttgcatcaaaatggaccaggcaataatggat
aaaaccatcactactgaaagcaacttcagtgatgttttaaccggtagagaccttaata
ctactcagagctttcacagaagaaggagcaattgtgggagaaatctcaccttaccttct
cttccaggacatactggtaggatgtcaaaaatgcaattggcatcctcatcggaggactt
gaatggaatgataaacacagttcgagttctgaaactatacagagatcgcttgagaaac
agtgatgagggtaggagacttcactccctccaaatcagaacggaaactggcgagagca
attgagtcaaaagtttgaagaaataaggtaggctgattgaagaagtagacatagattgaa
aatcacagaaaacagcttcgaacagataacgtttatgcaagctttgcaactactgcttga
agtgaggaagagataagagccttctcgtttcagcttat ttaatgataaaaaacacctt
gtttctact

```

3) Influenza A virus (A/chicken/Cameroon/16VIR3791-12/2016(H5N1)) / GenBank: KY926744.1
 데이터를 총 8개로 분리 DB에 등록

Sequence Alignment Inspection(Ver 1.00a)

Inspection	Result	Target	Member	Setup
Information		Reference List		
24.02.27 22:42:32		Num	Reference	Size
- User	admin	1	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #1 (1~10,020 : 2...	2280
- Target	H5N1(OR180305.1)	2	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #2 (1~10,020 : 2...	2274
- Information	Highly pathogenic Avian In	3	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #3 (1~10,020 : 2...	2151
- Reference	8EA	4	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #4 (1~10,020 : 1...	3384
- Sequence	0EA	5	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #5 (1~10,020 : 1...	1497
		6	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #6 (1~10,020 : 1...	1350
		7	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #7 (1~10,020 : 9...	982
		8	>Contig : AI(GenBank: KY926744.1) #8 (1~10,020 : 8...	849

4) Test Influenza A virus Sanger Sequencing Data 제작

① HPAI Test #1 Sanger Sequencing Data (742bp)

```
gagcaaatgtacacaccgggaggggaagtgagaaatgatgaccttgatcagagtttaatt  
atgtgctgctagaaatatgttagaagagctacagtatcagcagaccgctggcatcgctt  
ttggagatgtgccatagtacacaaattggcgggtaaggatgatggacatccttaacaa  
aacccaacagaagaacaagctgtggatataatgcaaagcagcaatgggtctaaggatcagt  
tcatccctcagctttggaggtttcactttcatgtcgacaagtgggtcatctgtcaaaagg  
gaggaagaagtgtcactggcaacctccaacaatgaaaaaagagtacatgaagggtat  
gaggaattcacaatggtcggaagaagggaacacagccattctaagaaagcaaccagaaga  
ttgatccaattgatagtgagtgaggaaagacgagcaatcagtcgccgaggcaatcatagtg  
gcaatggtgttctcacaagaggattgcatgataaaggcagtgagaggtgatttgaatttt  
gtcaacagagcgaaccaacggctaaatcccatgcaccaactcctgaggcatttccaaaag  
gatgcaagggtgctgttccaaaactggggaattgaacccatgacaatgtaatggggatg  
atcggaataatgcctgacatgacccccagcacagagatgtcatgagaggagtgagagtc
```

② HPAI Test #2 Sanger Sequencing Data (680bp)

```
aaactggcaaacgtcgtgaggaagatgatgaccaattcacaggatactgaactctccttt  
acaattactggggacaacacgaaatggaatgagaatcaaaatcctagagtggttctggca  
atgataacatacatcacaaggaaccagcctgaaatggtttcgaaatgttttaagcattgcc  
cctataatgttttcaaacaaattggcaagactagggaaaggatacatgttcgaaagtaag  
agcatgaagttacggcacacaaataccagcagaaatgcttcgaaacatgacctcaaatac  
ttcaatgaatcaacgaaaaggaaaaatgagaagataagacccttttaatagatggtaca  
gcctccttgagccctggaatgatgatgggcatttcaatatgctgagtagctcctagga  
gtttcaatcctgaatcttgggcagaagggtacacccaaaaccacatatgggtgggacggg  
ctccaatcctctgatgatttcgctcttatgctgccccgaatcatgaggggaatacaa  
gcaggggtagataggttttataggacttgtaaaactagttgggataaatatgagcaagaag  
aagtcctacataaatcggacagggacatttgaattcacaggtttttctaccgctatgga
```

③ HPAI Test #3 Sanger Sequencing Data (804p)

```
ataatcgaagaatctggcgatccaaatgcattatgaaacaccgatttgagataattgaa  
gggagagaccgaacaatggcttggacagtagtaaatagtatctgcaacaccacaggagtc  
aataagcctaaatcctcccagactgtatgactacaaagagaaccgatcattgaaatt  
ggagtgacacggcgggaagttcacataactacctagaaaagcaacaagataaaatca  
gagaggacacacatccacatatctcatcactggagaggaaatggccaccaagctgac  
tatactctcgatgaggagagcagagcaagaattaaaaccaggctgttactataagacaa  
gagatggccagtaggggtctatgggactcctttcgtcaatctgagagaggcgaagagaca  
atgaaagaagggttgaatcacaggaacctgcccaggcttgctgaccaaaagcctcca  
ccgaacttctccagcattggaatttttagagcctatgtggatggattcaaaccgaacggc  
tgcatgagggcaagctttctcaaatgtcaaaggaagtgaacgccagaattgagccattt
```

```
atgaggacaacaccacgcctctcagactacctgaggggcctccctgccccagcggctcg  
aagtcttactgatggatgccctcaagttaagcgcttaagatccaagccatgaaggggaa  
ggcataccactatatgatgcaatcaaatgcatgaagacat t t t t cggctggaagatccc
```

④ HPAI Test #4 Sanger Sequencing Data (680bp)

```
ataatcgaagaatctggcgatccaaatgcattat t gaaacaccgat t t gagataattgaa  
gggagagaccgaacaatggcttggacagtagtaaatagtatctgcaacaccacaggagtc  
aataagcctaaat t cctcccagact t g t a t g a c t a c a a g a g a a c c g a t t c a t t g a a a t t  
ggagt g a c a c g g c g g g a a g t t c a c a t a t a c t a c c t a g a a a a g c a a a c a a g a t a a a a t c a  
g a g a g g a c a c a c a t c c a c a t a t t c t c a t t c a c t g g a g a g g a a a t g g c c a c c a a a g c t g a c  
t a t a c t c t c g a t g a g g a g a g c a g a g c a a g a a t t a a a c c a g g c t g t t c a c t a t a a g a c a a  
g a g a t g g c c a g t a g g g t c t a t g g g a c t c c t t t c g t c a a t c t g a g a g a g g c g a a g a g a c a  
a t t g a a g a a a g g t t t g a a t c a c a g g a a c c a t g c g c a g g c t t g c t g a c c a a a g c c t c c c a  
c c g a a c t t c t c c a g c a t t g g a a a t t t a g a g c c t a t g t g g a t g g a t t c a a a c c g a a c g g c  
t g c a t t a g g g c a a g c t t t c t c a a a t g t c a a a g g a a g t g a a c g c c a g a a t t g a g c c a t t t  
a t g a g g a c a a c a c c a c g c c c t c t c a g a c t a c c t g a g g g c c t c c c t g c c c c a g c g g t c g  
a a g t t c t t a c t g a t g g a t g c c c t c a a g t t a a g c g c c t a a g a t c c a a g c c a t g a a g g g g a a  
g g c a t a c c a c t a t a t g a t g c a a t c a a a t g c a t g a a g a c a t t t t t c g g c t g g a a a g a t c c c
```

⑤ HPAI Test #5 Sanger Sequencing Data (620bp)

```
cgccaagcgaacaatggagaggacgcaactgctggccttaccacctgatgatatggcat  
tccaatctgaatgatgccacatatcagagaacaagagctctcgtgcgtaccggaatggac  
cccaggatgtgctctctgatgcaaggatcaactctcccaggagatcgggagctgctggt  
gcagcagtgaaagggtaggaacaatggtaatggagctgattcgaaatgataaaacgaggg  
at t a a c g a c c g g a a t t t c t g g a g a g g c g a a a a t g g g a g a g a a c a a g g a t t g c a t a t g a g  
a g a a t g t g c a a c a t c c t c a a a g g g a a a t t c c a a c a g c t g c a c a a a g a g c a a t g a t g g a t  
c a a g t g c g a g a g a g c a a g c a g c c t g g g a a t g c t g a a a t t g a a g a t c t a a t t t t c t g g c a  
c g g t c t g c a c t c a t c c t g a g a g g g t c a g t g g c c c a c a a g t c c t g c t t g c c t g c t t g t g t a  
t a c g g a c t t g c a g t g g c c a g t g g g t c a a g c t c g a g a g a g a a g g a t a c t c t c t g g t t g g a  
a t a g a t c c t t t c c g t c t g c t t c a a a a c a g c c a g g t c t t t a g c c t c a t t a g a c c a a a t g a a
```

4) Test HPAI Sanger Sequencing Data 분석 결과

The screenshot shows the Sequence Alignment Inspector (v1.20a) interface. On the left, there is a sidebar with 'Information' (User: admin, Target: HPAI(O/160305.1), Information: Highly pathogenic Avian In, Reference: SEA, Sequence: SEA) and control buttons for Target and Log Display. The main area displays a 'Sequence List' table with a red box highlighting the first five rows. A large green arrow points from this table to the detailed 'Sequence List' table below.

Num	Filename	Size	Result	Mismatch	Gap	Direction	Reference	Date & Time	Sequence Filepath
1	HPAI_Test_01.seq	720	99.44%	4	0	Forward	>Contig : A2[GenBank: KY...	2024-02-27 22:57:20	C:\WProject_BTW2024_2
2	HPAI_Test_02.seq	660	99.24%	5	0	Forward	>Contig : A2[GenBank: KY...	2024-02-27 22:57:20	C:\WProject_BTW2024_2
3	HPAI_Test_03.seq	780	97.44%	4	15	Forward	>Contig : A2[GenBank: KY...	2024-02-27 22:57:21	C:\WProject_BTW2024_2
4	HPAI_Test_04.seq	660	99.70%	0	2	Forward	>Contig : A2[GenBank: KY...	2024-02-27 22:57:22	C:\WProject_BTW2024_2
5	HPAI_Test_05.seq	600	98.50%	5	4	Forward	>Contig : A2[GenBank: KY...	2024-02-27 22:57:23	C:\WProject_BTW2024_2

Official Report

Evaluation of the effectiveness of the ASFV DNA detection kit (XQ-Station) compared with OIE-based real-time PCR

A/Prof. Duy Do Tien and Research Team

Faculty of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Nong Lam University-HCMC,
Quarter 6, Linh Trung ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City 700000, Vietnam; Email:
duy.dotien@hcmuaf.edu.vn, Tel: (+84) 91 835 67 44.

Abstract

African swine fever (ASF) is a dangerous infectious disease of domestic pigs and wild boars caused by the African swine fever virus (ASFV). Rapid and effective diagnosis is crucial to prevent the spread and minimize economic losses in livestock production. This study evaluated the efficiency and accuracy of the ASF nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) compared with the standard real-time PCR method, recommended by OIE (OIE p72 real-time PCR). A total of 41 pigs suffered from clinical symptoms in the ASF outbreak and 12 healthy pigs from ASF-negative farms were sampled. Each pig collected 3 kinds of samples, including oropharyngeal swabs, whole blood, and spleen tissue. The XQ-Station POCT real-time PCR had higher positivity (94.31%) of testing result than OIE p72 real-time PCR (79.67%). The highest rate of ASFV DNA detection was observed in oro-nasopharyngeal swabs (100%) in both OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR. The positive rate of whole blood and spleen tissue were 80.48% and 58.53% for OIE p72 real-time PCR and were 97.56%, and 85.37% for XQ-Station POCT real-time PCR, respectively. There was a statistical difference of Ct value between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). The overall ASFV detection rate of the samples was statistically different between the OIE p72 real-time PCR and the XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). There was statistical difference of the detection rate in oropharyngeal swab, spleen tissue and whole blood samples between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). XQ-Station POCT real-time PCR had better sensitivity due to its ability to detect ASFV DNA at low concentrations. The results showed that the XQ-Station POCT real-time PCR has a high sensitivity when compared with OIE p72 real-time PCR because of its ability to detect low ASFV loads in various types of samples.

Keywords: *swine, ASF, ASFV, OIE-based real-time PCR, POCT, OIE p72.*

Introduction

African swine fever (ASF) is an infectious disease that has recently devastated the swine industry. It is a viral disease caused by the African swine fever virus (ASFV) with general systemic clinical manifestations such as high fever, lethargy, anorexia, fast-spreading, extremely high mortality, and difficulty in the differential diagnosis. In the current situation, there have been many efforts to prevent and treat the disease; however, none have been proven effective (Wright, 2022); this is a matter of concern in the livestock industry.

ASFV is a double-stranded DNA virus in the *Asfivirus* genus of the *Asfarviridae* family (Alejo et al., 2013). ASF was first documented in Kenya in 1921 (Eustace Montgomery, 1921); however, it has only been in recent years that the disease has become notable. According to FAO, only after one year of the outbreak, almost 5 million pigs in Asia died or were culled due to the spread of ASFV. At that time, the loss was about 10% of the total pig population in China, Vietnam, and Mongolia (FAO, 2019).

In 2019 Vietnamese pig farming was heavily affected by African swine fever. From the beginning of February 2019 to July 22, 2019, after only 6 months of discovery, African swine fever occurred in 6016 communes in 558 districts of 62/63 provinces. The number of destroyed pigs was 3.7 million, equivalent to the destroyed weight of 211.5 thousand tons. As of December 19, 2019, African swine fever occurred in 8,527 communes in 667 districts of all localities nationwide, with a total of nearly 6 million destroyed pigs, equivalent to a total weight of 340.8 thousand tons. The country's total pig herd in December 2019 decreased by 25.5% compared to the same period in 2018 (General Statistics Office of Vietnam, 2021).

Like the outbreak of COVID-19, farmers have been accepting that co-living with the ASF is inevitable. Early detection of the disease is required to implement sanitary and biosecurity control measures to prevent the spread of the disease. A good laboratory diagnosis and interpretation provides relevant information on infection dynamics that will be very helpful in deploying effective control-eradication programs. However, at present, diagnostic methods such as immunofluorescence and immunohistochemistry need at least two days to get results (Do & Nguyen, 2018) and do not meet the needs of medical professionals. PCR tests are the first choice for early detection of the ASFV genome in epidemic situations, although not all such tests are fully sensitive to the low viremia levels, which can be most

often evident in infected animals of endemic zones, but it needs to be equipped with modern machines and highly skilled technicians and is not suitable for rapid diagnosis at the farm.

From the above issues, point of care testing (POCT) is becoming the world trend because it solves the problem of the ability, simplicity, and convenience it brings when it does not require too much infrastructure and human technique. This study aimed to evaluate the effectiveness and detection ability of the African swine fever virus nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR method) compared with OIE p72 real-time PCR.

Materials and Methods

Sampling

The study had 159 samples, of which 123 were suspected to be positive for ASFV, taken from ASF outbreaks in a province, Vietnam and 36 samples of 12 healthy pigs collected from a negative farm. Following the specification that each pig with clinical signs, 3 types of the sample were taken, including oro-nasopharyngeal swabs, whole blood, and spleen tissue. Those farms had clinical manifestations of ASF or were positive with the rapid test method on representative livestock of the farm. The sampling detail was shown in **Table 1**.

Table 1. Sample count used in the study

Sources	No. of pigs	Oro-nasopharyngeal swab	Whole blood	Spleen tissue	Total
Positive farms	41	41	41	41	123
Negative farms	12	12	12	12	36
Total	53	53	53	53	159

Sample Preparation and Testing

Samples were transported to the laboratory in a cool container (2-8°C) and then divided into two parts; one was taken for DNA extraction and tested with the standard real-time PCR method, recommended by OIE (OIE p72 real-time PCR) and the rest was tested directly by the XQ-Station POCT real-time PCR without DNA extraction simultaneously by the same technician (**Figure 1**). The oro-nasopharyngeal fluid was obtained by mixing oral and nasal swabs in a 1:1 ratio. The spleen tissue suspensions were obtained by crushing 1 gram of tissue with 9 grams of PBS 1X, then centrifuging at 3000rpm for 5 minutes and collecting

the supernatant. Whole blood was anticoagulated by EDTA then extracted DNA for OIE p72 real-time PCR and tested directly for XQ-Station POCT real-time PCR.

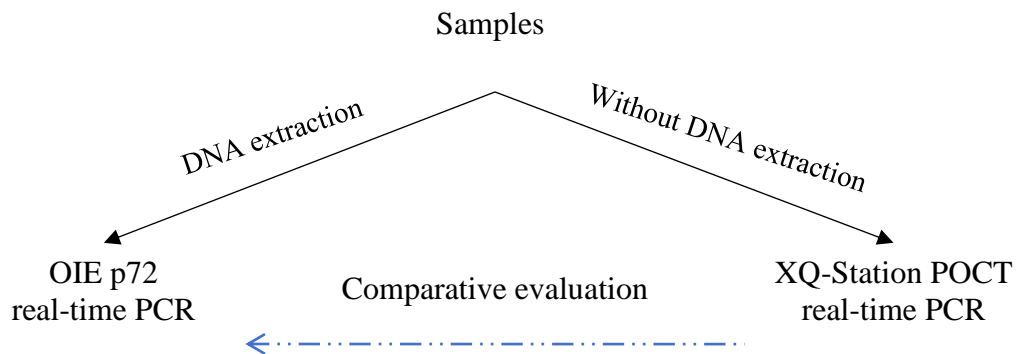


Figure 1. Study design

Real-time PCR

DNA extraction was performed according to the instructions for use included in the GeneJET Genomic DNA Purification Kit, 250 preps (K0722, Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's instructions (Thermo Fisher Scientific, 2016). Real-time PCR was performed following OIE protocol (King et al., 2003).

XQ-Station POCT real-time PCR

Sampling the cartridge: open the lid of the test cartridge, break the sealing film, and add 50 μL of magnetic beads and 10 μL internal control (mix it fully suspended before use), and test sample into the cartridge (100 μL with the oro-nasopharyngeal swab, 25 μL of blood mixed from 50 μL whole blood and 450 μL of PBS 1X, or 50 μL of spleen sample mixed from 50 μL splenic tissue suspension and 450 μL of PBS 1X), mix by repeatedly pipetting 10 – 15 times, then close the lid. Software operation: on the AIGS Automatic Integrated Gene Detection System version: V-1.0 (POSTBIO Co., Ltd, Korea), click to enter the "Library" interface of the instrument, choose the ASFV protocol, a dialog appears, input the name of the sample, then OK. After the corresponding dialog appears, select a channel, and insert the test cartridge into the selected channel tightly. Pay attention to the direction of the cartridge with the barcode side up. Click the run button in the lower right corner, and the program enters the running interface. After the test is finished and the data is effective, click the "Analysis" button to do data analysis. And the software performs automatic data analysis and determines the qualitative result of the evaluated sample. 3.4.3.2. Result in judgment and explanation: The test data analysis was processed automatically by software, including

baseline, threshold judgment, and Ct value, and then judges the qualitative result was according to the Ct value and the preset judgment standard as **Table 2**:

Table 2. Quality judgment of test results

Result	FAM (ASFV)	ROX (Internal control)	Result Judgment	Quality Judgment	Solution
1	Positive	Positive	Sample: ASFV nucleic acid positive	Acceptable	No
2	Positive	Negative	Sample: ASFV nucleic acid positive	Acceptable	No
3	Negative	Positive	Sample: ASFV nucleic acid negative	Acceptable	No
4	Negative	Negative	Test failure	Unacceptable	Retest

Statistical analysis

The data were compiled and statistically analyzed using Excel 365 software (Microsoft Corporation, USA), processed by IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corporation, USA), and R 4.2.2 software with integrated development environment RStudio 2022.07.2 Build 576 (Posit, USA). The statistical significance of the positivity rate between the two methods in each sample type was performed by SPSS. Pearson Chi-square or Fisher's exact test was selected based on the minimum expected count value. If the minimum expected count value was greater than 5, the Pearson Chi-square was considered, otherwise, the value of Fisher's exact test was considered. The difference value $P < 0.05$ was considered significant. The degree of similarity between testing techniques is the percentage of high agreement between the results of the two testing techniques. Cohen's Kappa value (κ) was used to assess the significance of the agreement between random outcomes (Landis & Koch, 1977). ROC curve analysis was applied to evaluate the effectiveness of the ASFV DNA detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) compared with OIE p72 real-time PCR technique in the ASF diagnosis based on the area under the curve (AUC). Each point on the ROC curve was

the coordinate corresponding to the true positive frequency (sensitivity) on the vertical axis and the false positive frequency (1-specificity) on the horizontal axis. The more the curve deviates to the top and the left, the clearer the distinction between positive and negative states. Accuracy was measured by the area under the ROC curve; if the area was between 0.8 – 0.9, a good test; 0.6 – 0.8, the fair test; 0.5 – 0.6, no diagnostic value (Zweig & Campbell, 1993).

Results

In 123 suspected positive samples taken from 41 sick or/and dead pigs, there were 116 positive samples from the XQ-Station POCT real-time PCR, accounted for 94.31%, meanwhile 98 positive samples from the OIE p72 real-time PCR which accounted for 79.67%. The 36 samples with suspected negativity showed all negative results. The testing results were described in **Table 3**.

Table 3. Summary of results of 2 test methods

		OIE p72 real-time PCR		Total
		Positive	Negative	
XQ-Station POCT real-time PCR	Positive	97	18	115
	Negative	1	7	8
Total		98	25	123

Among 123 ASFV-positive suspected samples, the highest rate of ASFV DNA detection was observed in oro-nasopharyngeal swabs (100%) in both OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR. The positive rate of whole blood and spleen tissue were 80.48% and 58.53% for OIE p72 real-time PCR and were 97.56%, and 85.37% for XQ-Station POCT real-time PCR, respectively. There was a statistical difference of Ct value between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). The overall ASFV detection rate of the samples was statistically different between the OIE p72 real-time PCR and the XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$). There was statistical difference of the detection rate in oropharyngeal swab, spleen tissue and whole blood samples between OIE p72 real-time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR ($P < 0.001$).

Table 4. The results in detection of ASFV in ASFV-positive suspected samples

Testing methods	Samples		Positivity		Ct value	
	Types	Number	n	%	Range	Mean
OIE p72 real-time PCR	Oropharyngeal swab	41	41	100	17.41 - 32.33	21.48
	Whole blood	41	33	80.48	14.58 - 28.71	17.77
	Spleen tissue	41	24	58.53	16.3 - 32.08	19.73
XQ-Station POCT real-time PCR	Oropharyngeal swab	41	41	100	11.52 - 29.12	17.59
	Whole blood	41	40	97.56	10.03 - 26.42	14.57
	Spleen tissue	41	35	85.37	12.48 - 27.59	16.12

XQ-Station POCT real-time PCR had better sensitivity due to its ability to detect ASFV DNA at low concentrations, which the comparison of Ct values between the two methods for three types of samples was also shown in

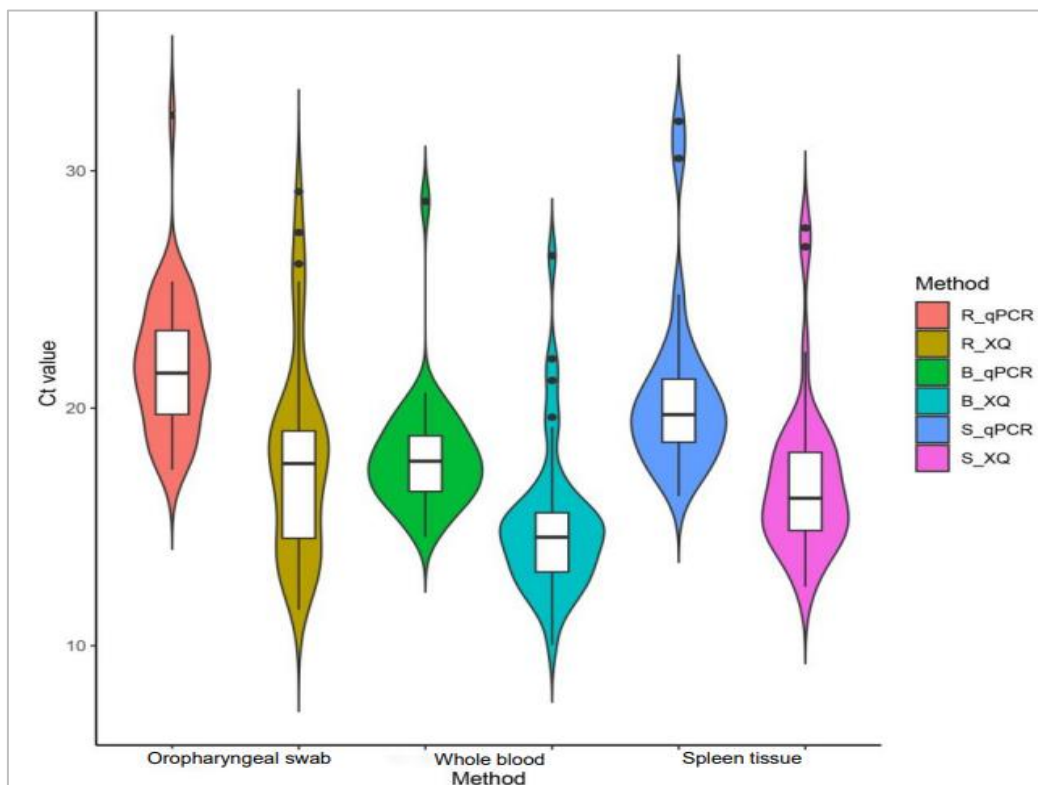


Figure 2.

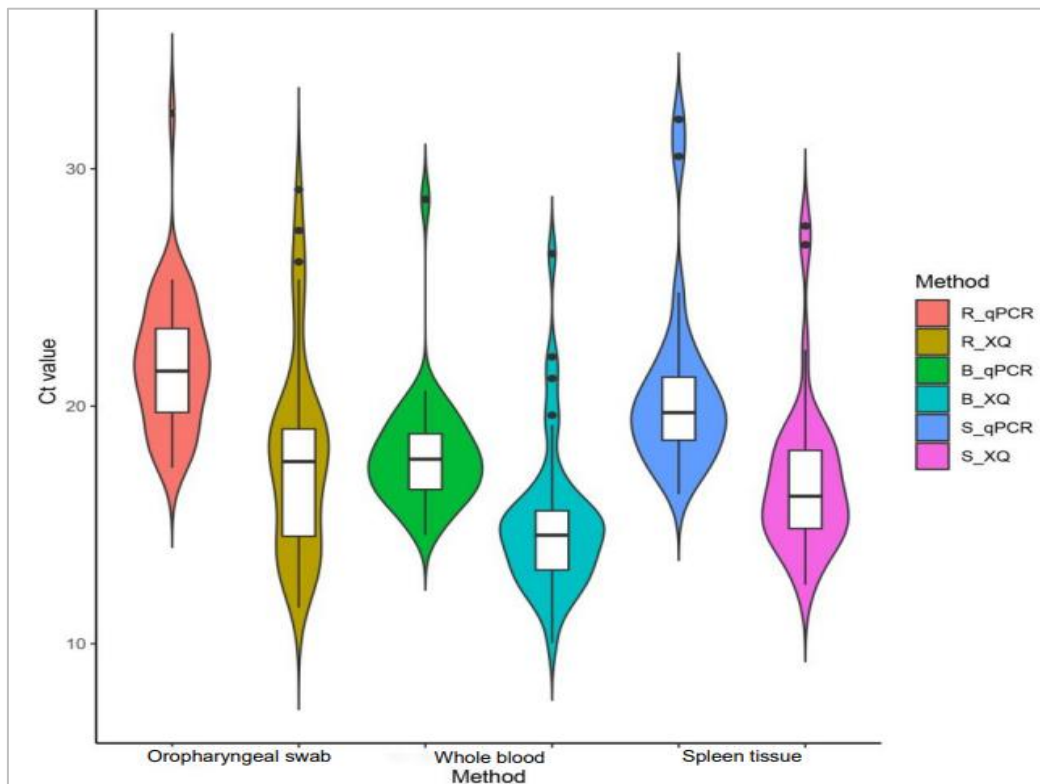


Figure 2. Comparison of Ct values between the two methods for three types of samples. Data in the left of each sample type were represented for OIE p72 real-time PCR (qPCR) and data in the right of each sample type are represented for XQ-Station POCT real-time PCR (XQ).

From the 123 samples analyzed, the kappa index was 0.36, the similarity between XQ-Station POCT real-time PCR and OIE p72 real-time PCR was fair consistency. Through the study, it was easy to see that the sensitivity is relatively high, reaching 98.98%. This was followed by accuracy, positive predictive value, and negative predictive value of 84.55%, 84.35%, and 87.50%, respectively.

Discussion

Related studies have been published, for example, a field-deployable diagnostic for identifying influenza A (H7N9) carried out by Ken Inui's research team. Insulated isothermal reverse transcriptase PCR (iiRT-PCR) was used to determine the H7 antigen of the H7N9 avian influenza virus. The obtained results had a sensitivity and specificity of 98% and 100%, respectively (Inui et al., 2019). Thereby, it can be seen that the difference in sensitivity and specificity between XQ-Station POCT real-time PCR and iiRT-PCR method in this study is extensive, especially in specificity.

In detail, if considering each sample type, the oro-nasopharyngeal sample gave 100% similarity between the two methods. This shows that detection ability of XQ-Station POCT real-time PCR on this type of sample is very sensitivity compared to the reference method. The difference in positivity rates between the two methods raises the question of whether the reference method (OIE p72 real-time PCR) was sensitive enough to detect ASFV. Three hypotheses were proposed, one due to unintentional mispairing of components in PCR reaction, leading to false-positive results of XQ-Station POCT real-time PCR (Garafutdinov et al., 2020). Since the components inside a cartridge were product secrets, it was not easy to unravel. In addition, the positivity of ASFV by XQ-Station POCT real-time PCR may not be false. All those samples were taken from pigs at the ASF outbreaks and showed clinical signs. The possibility that those samples were indeed positive cannot be ruled out. This may be due to bias in OIE p72 real-time PCR results. One of the possibilities may be that the DNA concentration in the extract was too high, leading to the inhibition of the fluorescence reading of the real-time PCR reaction (Acharya et al., 2017). Or it may be because the amount of DNA in the extract was below the detection threshold of the reference method. If the cause was these things, it could be seen that the detection ability of XQ-Station POCT real-time PCR was excellent, as it can detect even samples with high DNA concentrations to inhibit the reference method; or the amount of DNA was less than the limit of detection (LOD), which was presumed 10^2 (King et al., 2003); that is, XQ-Station POCT real-time PCR can detect earlier the presence of viral DNA at low concentrations (with lower LOD than OIE p72 real-time PCR).

Regardless of the method, the oro-nasopharyngeal swab sample gave a higher positive rate, followed by the whole blood and spleen tissue samples. In ASFV pathogenesis studies, blood was the early detection of the virus, and subsequent virus detection in secretions such as nasal, oral, and fecal secretions was lower and progressively higher at the time of clear clinical manifestations (Walczak et al., 2022). The ability to detect viruses at low

concentrations will provide an opportunity to diagnose the presence of viruses in secretions with low concentrations earlier during incubation. However, previously used testing techniques had a low ability to detect viruses in secretions. In this study, diseased pigs were clinically collected in the paroxysmal phase, when the pathogen was excreted through orifices. However, we need more extensive research to confirm this difference between the test methods in different types of samples.

Conclusions

The African swine fever virus nucleic acid (DNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR) showed high sensitivity, detecting the presence of DNA in the sample then much better than reference method.

The study indicated that the oro-nasopharyngeal swab is the good and alternative sample for ASFV screening based in XQ-Station POCT real-time PCR. This sample type is a non-invasive, quick, and convenient sample to collect.

To increase the persuasiveness of the study, several extensive experiments need to be carried out. Among them can be mentioned, such as diluting the extract with different dilutions before performing real-time PCR or using a third reliable method that can also be considered.

References

1. Acharya, K. R., Dhand, N. K., Whittington, R. J., & Plain, K. M. (2017). PCR Inhibition of a Quantitative PCR for Detection of *Mycobacterium avium* Subspecies Paratuberculosis DNA in Feces: Diagnostic Implications and Potential Solutions. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00115>
2. Alejo, A., Andrés, G., del Rosal, M., & Salas, M. L. (2013). Chapter 534—African Swine Fever Virus Polyprotein Processing Proteinase. In N. D. Rawlings & G. Salvesen (Eds.), *Handbook of Proteolytic Enzymes (Third Edition)* (3rd ed., Vol. 2, pp. 2385–2390). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382219-2.00532-9>
3. Do, T. D., & Nguyen, P. H. (2018). *Thực Hành Chẩn Đoán Bệnh Học Truyền Nhiễm Trên Heo*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

4. Eustace Montgomery, R. (1921). On A Form of Swine Fever Occurring in British East Africa (Kenya Colony). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 34, 159–191. [https://doi.org/10.1016/S0368-1742\(21\)80031-4](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(21)80031-4)
5. FAO. (2019, August). *FAO - News Article: One year on, close to 5 million pigs lost to Asia's swine fever outbreak*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/news/story/en/item/1204563/icode/>
6. Garafutdinov, R. R., Galimova, A. A., & Sakhabutdinova, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 39(9), 1251–1269. <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1803354>
7. General Statistics Office of Vietnam. (2021, April 8). *Livestock of pig has recovered*. General Statistics Office of Vietnam. <https://www.gso.gov.vn/en/data-and-statistics/2021/04/livestock-of-pig-has-recovered/>
8. Inui, K., Nguyen, T., Tseng, H.-J., Tsai, C. M., Tsai, Y.-L., Chung, S., Padungtod, P., Zhu, H., Guan, Y., Kalpravidh, W., & Claes, F. (2019). A field-deployable insulated isothermal RT-PCR assay for identification of influenza A (H7N9) shows good performance in the laboratory. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 13(6), 610–617. <https://doi.org/10.1111/irv.12646>
9. King, D. P., Reid, S. M., Hutchings, G. H., Grierson, S. S., Wilkinson, P. J., Dixon, L. K., Bastos, A. D. S., & Drew, T. W. (2003). Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *Journal of Virological Methods*, 107(1), 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00189-1](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00189-1)
10. Landis, J. R., & Koch, G. G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*, 33(1), 159. <https://doi.org/10.2307/2529310>
11. Oura, C. A. L., & Arias, M. (2021). Chapter 3.9.1. – African swine fever (infection with African swine fever virus). In *OIE Terrestrial Manual 2021*. OIE. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.01_ASF.pdf
12. Thermo Fisher Scientific. (2016). *User Guide: GeneJET Genomic DNA Purification Kit*. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0012663_GeneJET_Genomic_DNA_Purification_Kit_UG.pdf

13. Walczak, M., Szczotka-Bochniarz, A., Żmudzki, J., Juskiewicz, M., Szymankiewicz, K., Niemczuk, K., Pérez-Núñez, D., Liu, L., & Revilla, Y. (2022). Non-Invasive Sampling in the Aspect of African Swine Fever Detection—A Risk to Accurate Diagnosis. *Viruses*, *14*(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/v14081756>
14. Wright, C. (2022, September 26). *African swine fever: No treatment yet*. The Pig Site. <https://www.thepigsite.com/articles/african-swine-fever-no-treatment-yet>
15. Zweig, M. H., & Campbell, G. (1993). Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*, *39*(4), 561–577.

Official Report

Evaluation of the effectiveness of the Avian Influenza RNA detection kit (XQ-Station) compared with Real-time PCR

(Assoc. Prof. Dr. Do Tien Duy; Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University HCMC, Vietnam)

Introduction

Avian influenza viruses are zoonotic agents recognized as a continuing threat to both veterinary and human public health. Highly pathogenic avian influenza viruses (HPAI) of the H5 subtype have caused seasonal epidemics and epizootics as well as unanticipated outbreaks with significant socioeconomic impacts in Southeast Asian poultry, resulting in the death or depopulation of large numbers of ducks and chickens (Neumann et al., 2010).

Influenza A viruses belong to the family *Orthomyxoviridae*, which comprises enveloped viruses with segmented RNA genomes of negative polarity (Lamb & Krug, 1996). The ancestral HPAI H5 virus is believed to have originated from a virus circulating in domestic geese in Guangdong province, China, in 1996 and introduced in Hong Kong poultry markets in 1997 (Chen et al., 2004). In 2022, 67 countries in five continents reported HPAI H5 outbreaks in poultry and wild birds to WOA, with more than 131 million domestic poultry lost due to death or culling in affected farms and villages (WHO, 2023).

In Vietnam, highly pathogenic influenza viruses were first reported in 2001 being one of the first countries to announce the epidemic and begin to cause huge economic losses in the poultry industry until now. By December 2003, other HPAI H5 virus strains continued to be detected in the northern provinces of Vietnam and by the end of 2004 the virus strains had caused large poultry outbreaks in 57/64 provinces (Nguyen et al., 2005). Viet Nam had culled about 65 million poultry and quails during 2003-2016 period. According to the Department of Animal Health under the Ministry of Agriculture and Rural Development, in 2022, there were 49 bird flu outbreaks in 39 districts of 22 provinces and the total number of poultry destroyed was up to 103,028.

The ongoing challenges posed by HPAI H5 necessitate a proactive approach to address future trends. Surveillance and early detection of the disease are key areas that require focused attention and research to effectively manage the spread and impact of the virus. Highly accurate

laboratory diagnosis and interpretation provides relevant information on infection dynamics that will be very helpful in deploying effective control-eradication programs. The advent of molecular methods such as polymerase chain reaction has allowed improvements in the detection methods currently used in epidemic situations. Although PCR is one of the most sensitive and specific techniques and the presence of infectious virus is low, the assay requires multiple manipulations of the samples after the amplification step with modern machines and highly skilled technicians to avoid the risk of carryover contamination.

PCR-based molecular tests are one of the most sensitive ways to detect the influenza virus, and conventional and real-time RT-PCR methods have been developed to diagnose H5 HPAI virus infections. However, only centralized and well-equipped laboratories with trained personnel can perform these analyses. Since to all of these issues, point of care testing (POCT) is becoming a global trend since it addresses the problem of the ability, simplicity, and convenience it provides when it does not require a large amount of equipment or human skill. The purpose of this study was to compare the effectiveness and accuracy of a highly pathogenic avian influenza virus nucleic acid (RNA) detection kit (XQ-Station POCT real-time PCR technique) to real-time PCR.

Materials and Methods

Sampling

40 sick ducks from an outbreak were collected, each duck collected 4 different types of samples such as oro-nasopharyngeal swabs, serum, lung tissue, and feces. These clinical samples were collected from sick ducks with various clinical signs, including high fever, anorexia, respiratory distress, sudden death with high mortality. In addition, 23 clinically healthy chickens from a chicken breeder farm were collected, each chicken also collected 4 different types of samples as above. Thus, the total samples collected for testing are 160 from sick ducks and 92 from healthy chickens, were described in table 1.

Table 1. Sample quantity used in the study

Sample sources	Oral-naso pharyngeal swab	Serum	Lung tissue	Feces	Total
Suspected positive ducks	40	40	40	40	160
Healthy chickens	23	23	23	23	92

Total	63	63	63	63	252
--------------	-----------	-----------	-----------	-----------	------------

Comparison test between POCT XQ-Station kit and Real-time PCR

Sample Preparation

Each sample was tested with two POCT XQ-Station kits to determine AIV and HPAI compared to routine Real-time PCRs recommended by the WOAH/OIE. The samples were carried to the laboratory in a cold container and then separated into three parts: one for RNA extraction for testing using WOAH/OIE-recommended real-time PCR and two remaining specimens for conducting of the AIV and HPAI XQ-Station kits without RNA extraction. Detail was shown in figure 1.

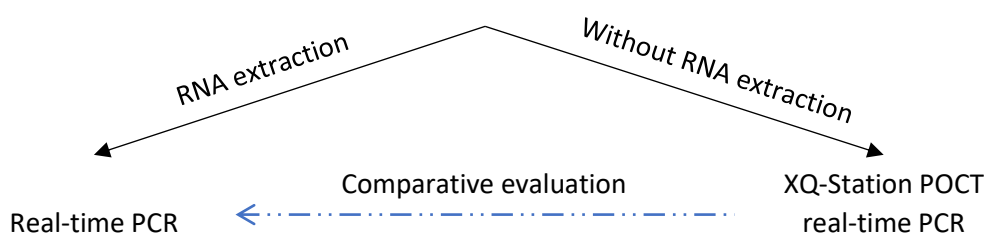


Figure 1. Study design

Oral and nasal swabs were mixed in a 1:1 ratio to obtain the oro-nasopharyngeal swabs. Serum was collected by centrifuging whole blood at 3000rpm for 5 minutes, and collecting the supernatant. Crushing 1 gram of tissue with 9 grams of PBS 1X, centrifuging at 3000rpm for 5 minutes, and collecting the supernatant yielded the lung tissue suspensions. The feces were obtained by mixing feces with 25 μ L of PBS 1X, then vortexing and collecting the suspensions.

Real-time PCR

RNA extraction was performed according to the instructions for use included in the GeneJET Genomic RNA Purification Kit, 250 preps (K0722, Thermo Fisher Scientific, USA) according to the manufacturer's instructions (Thermo Fisher Scientific, 2016). RNA was stored at -20°C until being used. Real-time PCR was performed following National Technical Standards (8400-26:2014) protocol in Regional Animal Health Office No.6 which is developed from the procedure recommended by WOAH/OIE.

XQ-Station POCT real-time PCR

Cartridge sampling: open the test cartridge lid, break the sealing film, and add 10 µL of magnetic beads and 10 µL of internal control (completely suspended before usage) and sample into the cartridge (100 µL with the oro-nasopharyngeal swab, 50 µL of serum mix from 50 µL serum and 450 µL of PBS 1X, 50 µL of lung sample mixed from 50 µL lung tissue suspension and 450 µL of PBS 1X, or 100 µL feces sample mixed from 25 µL feces suspension and 475 µL of PBS 1X), mix by repeatedly pipetting 10 – 15 times, then close the lid. Software operation: on the AIGS Automatic Integrated Gene Detection System version: V-1.0 (POSTBIO Co., Ltd, Korea), click to enter the “Library” interface of the instrument, choose the HPAIV protocol, a dialog appears, input the name of the sample, then OK. After a matching dialogue opens, select a channel and tightly insert the test cartridge into the desired channel. Pay attention of the cartridge's orientation with the barcode side up. Click the run button in the lower right corner, the program launches into the running interface. When the test is completed and the data is ready, click the "Analysis" button to start the data analysis. And the program analyses the data automatically and determines the qualitative result of the assessed sample.

3.4.3.2. Judgement result and explanation: The test data analysis was automatically processed by software, including baseline, threshold judgement, and Ct value, and then the qualitative result was assessed based on the Ct value and the preset judgement standard as **Table 2**.

Table 2. Quality judgment of test results

Result	FAM (HPAIV)	ROX (Internal control)	Result Judgment	Quality Judgment	Solution
1	Positive	Positive	Sample: HPAIV nucleic acid positive	Acceptable	No
2	Positive	Negative	Sample: HPAIV nucleic acid positive	Acceptable	No
3	Negative	Positive	Sample: HPAIV nucleic acid negative	Acceptable	No
4	Negative	Negative	Test failure	Unacceptable	Retest

Statistical analysis

The data were compiled and statistically analyzed using Excel 365 software (Microsoft Corporation, USA), processed by IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corporation, USA), and R 4.2.2 software with integrated development environment RStudio 2022.07.2 Build 576 (Posit, USA). The statistical significance of the positivity rate between the two methods in each sample type was performed by SPSS. Pearson Chi-square or Fisher's exact test was selected based on the minimum expected count value. If the minimum expected count value was greater than 5, the Pearson Chi-square was considered, otherwise, the value of Fisher's exact test was considered. The difference value $P < 0.05$ was considered significant. The degree of similarity between testing techniques is the percentage of high agreement between the results of the two testing techniques. Cohen's Kappa value (κ) was used to assess the significance of the agreement between random outcomes (Landis & Koch, 1977).

Results

In 160 suspected positive samples were tested by HPAI XQ-Station POCT real-time PCR and AIV XQ-Station POCT real-time PCR, 114 out of 160 were positive for HPAI XQ-Station POCT real-time PCR, accounting for 71.25%, and 154 out of 160 were positive for AIV kit, accounting for 96.25%. With routine Real time PCR method, there were 154 positive samples (96.25%). The comparative testing results were described in table 3.

Table 3. Summary of results of 3 test methods with suspected positive samples

	Positive	Negative	Total
XQ-Station POCT real-time PCR- AIV	154	6	160
XQ-Station POCT real-time PCR- HPAIV	114	46	160
Real time PCR	154	6	160
Total	422	58	480

A total of 92 samples from healthy chickens were examined with all techniques. Results revealed that 92/92 had negativity from XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and XQ-Station POCT real-time PCR-AIV and routine Real time PCR.

Table 4. Summary of results of 3 test methods with suspected negative samples

	Positive	Negative	Total
--	-----------------	-----------------	--------------

XQ-Station POCT real-time PCR-AIV	0	92	92
XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV	0	92	92
Real time PCR	0	92	92
Total	0	276	276

For XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV, oro-nasopharyngeal swabs showed highest positivity (100%), followed by those in lung tissue (90%), feces (62.5%) and serum (32.5%). Meanwhile, The XQ-Station POCT real-time PCR-AIV showed highest positivity both in lung tissue (100%) and oral-nasopharyngeal swab (100%), followed by those in feces and serum with 97.5% and 87.5%, respectively. The real time PCR had the highest positivity (100%) in oral-nasopharyngeal swab, lung tissue and feces while those of serum was 85%. Testing results including detection rates of 4 sample types and corresponding Ct values of 3 methods are described in Table 5. The Ct value of positive samples between XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and XQ-Station POCT real-time PCR-AIV was statistically significant ($P < 0.001$) compared to real-time PCR.

The XQ-Station POCT real-time PCR-AIV had the significant higher positive rate of the samples compared to XQ-Station POCT real-time PCR-HPAIV and ($P < 0.05$), whereas there was no statistical difference of the detection rate in lung tissue between the two methods ($P > 0.05$) but there was a statistical difference in detection rate in serum and feces samples ($P < 0.05$).

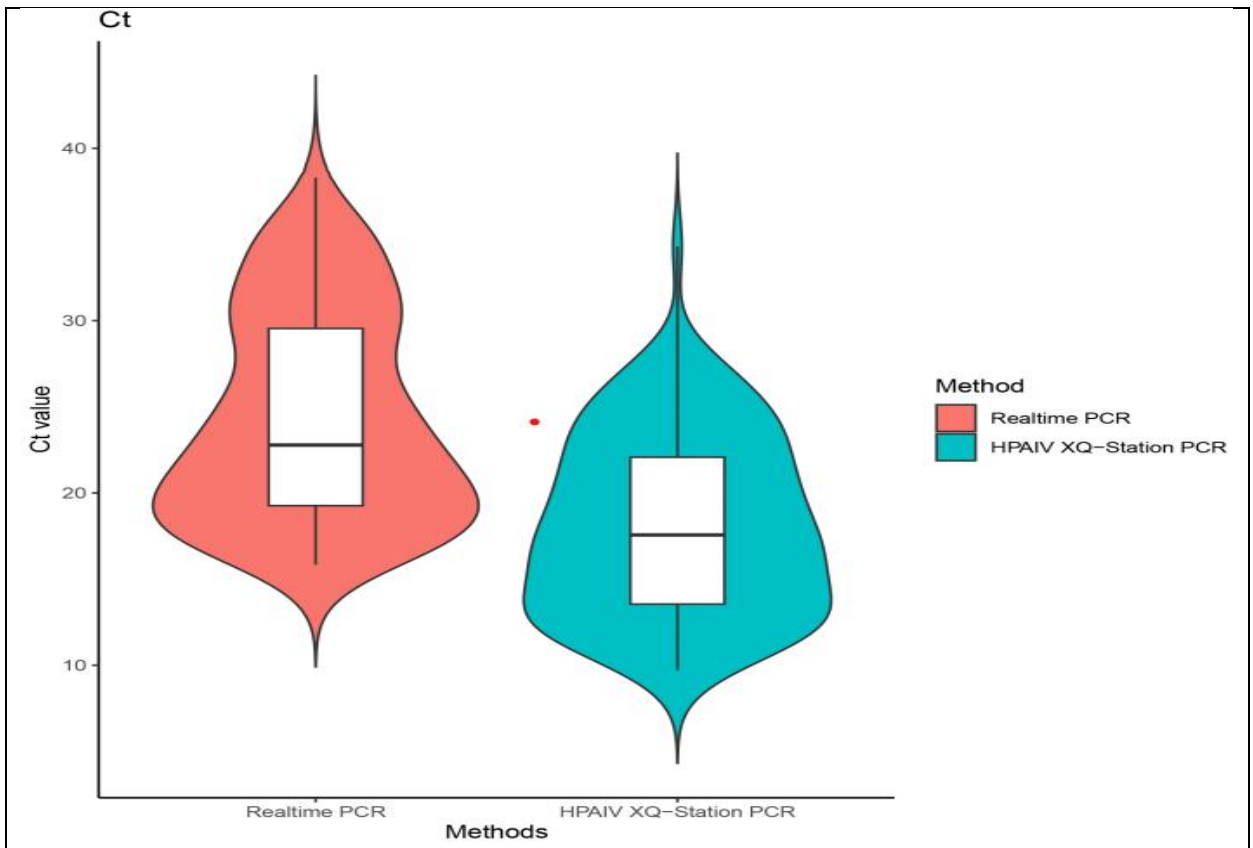
All samples from healthy chickens tested negative for both Real time PCR and XQ-Station POCT real-time PCR.

Table 5. The results in detection of HPAIV and AIV in positive suspected samples

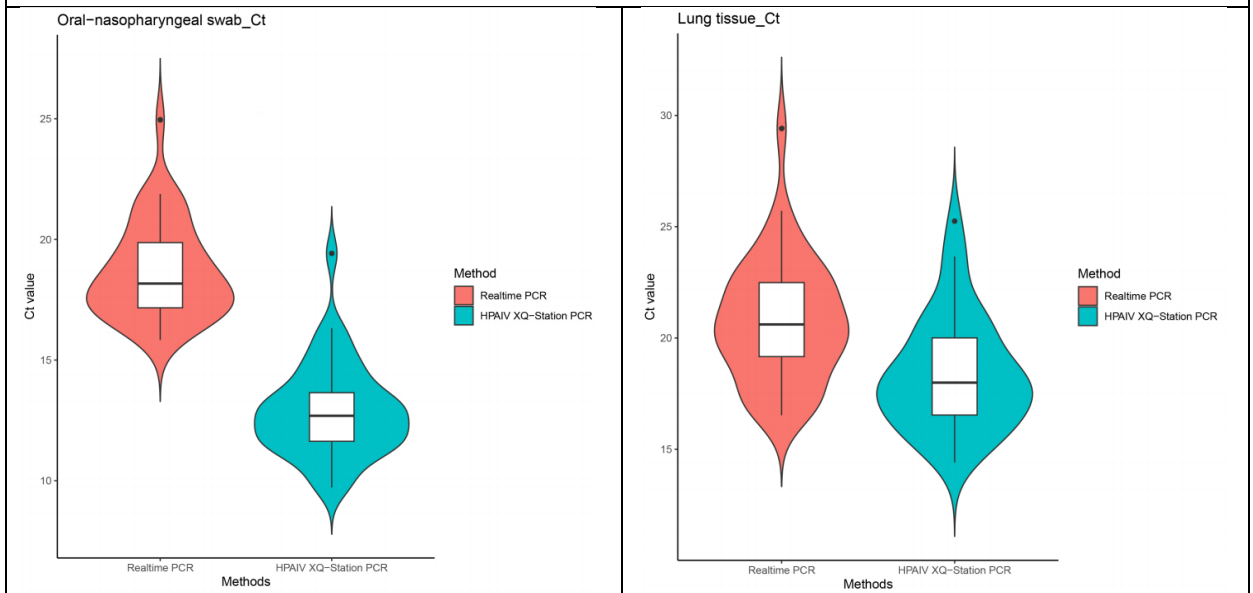
Methods	Samples		Positivity		Ct value	
	Types	Number	n	%	Range	Mean
	Oral-nasopharyngeal swab	40	40	100	9.72-19.42	12.69
	Serum	40	13	32.50	16.06-34.31	24.64

XQ-Station	Lung tissue	40	36	90.00	14.41-25.25	18.00
PCR- HPAIV	Feces	40	25	62.50	14.01-28.07	23.14
	Oral-nasopharyngeal swab	40	40	100	7.18-19.03	10.42
XQ-Station	Serum	40	35	87.50	14.14-31.81	24.24
PCR-AIV	Lung tissue	40	40	100	7.62-32.27	16.13
	Feces	40	39	97.50	13.45-31.74	24.10
	Oral-nasopharyngeal swab	40	40	100	15.83-24.95	18.66
Realtime PCR	Serum	40	34	85	22.77-38.30	31.84
	Lung tissue	40	40	100	16.53-29.41	20.71
	Feces	40	40	100	19.37-36.90	27.10

In four types of samples, the Ct value of XQ-Station POCT real-time PCR with oral-nasopharyngeal was lower than lung tissue, serum and feces in positive samples for both testing techniques. This was remarkable when looking at the limit of detection of a test kit in different type of field samples. This findings suggested that the test kits are able to detect the target RNA at a lower concentration (Figure 2).



A



B

C

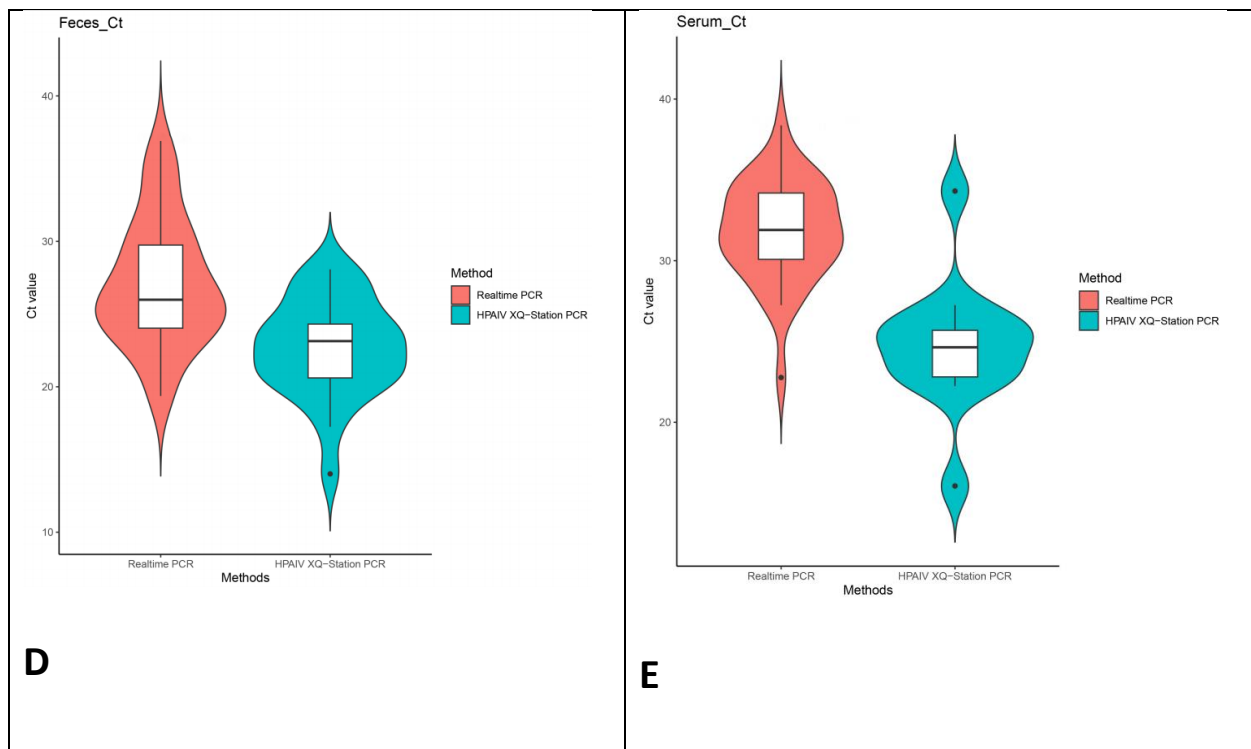


Figure 2. Comparison of Ct values between the two methods for four types of samples. A, Mean Ct value in whole samples; B, Mean Ct value in oro-nasopharyngeal swabs; C, Mean Ct value in lung tissue; D, Mean Ct value in feces; and E, Mean Ct value in serum,

Conclusion

XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV are capable of detecting Avian influenza virus on clinical samples (oro-nasopharyngeal swabs, serum, lung tissue, and feces) collected from the field. XQ-Station PCR-AIV has a detection ability that is absolutely similar to the routine Realtime PCR. In serum and feces samples, the ability of XQ-Station PCR-HPAIV to detect HP Avian influenza virus is lower.

The mean Ct value of positivity in the investigated samples of XQ-Station PCR-HPAIV and XQ-Station PCR-AIV was significantly lower than those value of the routine Realtime PCR. Oro-nasopharyngeal swab was the best candidates, with the highest detection rate and lowest Ct value in the results of all 3 testing methods.

References

Chen, H., Deng, G., Li, Z., Tian, G., Li, Y., Jiao, P., Zhang, L., Liu, Z., Webster, R. G., & Yu, K. (2004). The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(28), 10452–10457. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403212101>.

Garafutdinov, R. R., Galimova, A. A., & Sakhabutdinova, A. R. (2020). The influence of quality of primers on the formation of primer dimers in PCR. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 39(9), 1251–1269. <https://doi.org/10.1080/15257770.2020.1803354>.

Lamb, R. A., & Krug, R. M. (1996). Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In D. M. Knipe, P. M. Howley, & B. N. Fields (Eds.), *Fields Virology*. Lippincott-Raven Press.

Neumann, G., Chen, H., Gao, G. F., Shu, Y., & Kawaoka, Y. (2010). H5N1 influenza viruses: Outbreaks and biological properties. *Cell Research*, 20(1), 51–61. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.124>.

Nguyen, D. C., Uyeki, T. M., Jadhao, S., Maines, T., Shaw, M., Matsuoka, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, X., Balish, A., Klimov, A., Tumpey, T. M., Swayne, D. E., Huynh, L. P. T., Nghiem, H. K., Nguyen, H. H. T., Hoang, L. T., ... Katz, J. M. (2005). Isolation and Characterization of Avian Influenza Viruses, Including Highly Pathogenic H5N1, from Poultry in Live Bird Markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *Journal of Virology*, 79(7), 4201–4212. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.7.4201-4212.2005>.

Ongoing avian influenza outbreaks in animals pose risk to humans. (n.d.). Retrieved 6 November 2023, from <https://www.who.int/news/item/12-07-2023-ongoing-avian-influenza-outbreaks-in-animals-pose-risk-to-humans>.

별첨 7. 기술이전계약서 (주식회사 베이직사이언스)
[표준계약서]

기 술 이 전 계 약 서

■ 계약 기술명 :

1. XQ ASFV POC qPCR Kit
2. XQ AIV Screening POC qPCR Kit
3. XQ HPAI Genotyping POC qPCR Kit

■ 계약 당사자 :

(갑) : 포스트바이오(주) 대표이사 : 천 두 성

경기도 남양주시 순화궁로 282, 에이스하이엔드타워 1303호

(을) : (주)베이직사이언스 대표이사 : 김 종 섭

경기도 하남시 미사대로550 현대지식산업센터한강미사1차 527호

2024년 02월 12일

포스트바이오(주)(이하 "갑"이라 한다)와 (주)베이직사이언스(이하 "을"이라 한다)는 "갑"이 개발한 "1) XQ ASFV POC qPCR Kit, 2) XQ AIV Screening POC qPCR Kit, 3) XQ HPAI Genotyping POC qPCR Kit 기술"의 소유권을 "을"에게 이전함에 있어 다음과 같이 합의하고 계약을 체결한다.

제1조(용어의 정의)

본 계약서에서 사용되는 다음 각 호에 기재되어 있는 용어는, 다른 특별한 언급이 없는 한, 각각 다음의 의미를 갖는다.

① "계약기술"이란 "계약특허"에 관한 기술을 말한다.

("을"에게 이전될 기술이 특허가 아닌 경우, 이전 기술의 범위를 상술 또는 별지 첨부함)

② "계약특허"라 함은 "갑"이 현재 개발하여 출원준비중인 기술을 의미한다. (단, 출원중인 지식재산권이 등록되지 아니하는 경우에도 본 계약은 유효하며, "을"은 본 계약상의 이행사항을 성실히 수행하여야 한다.)

제2조(소유권 이전등록)

"을"은 본 계약 발효일 이후 "계약특허"에 대한 보정, 등록, 유지, 방어 이전등록 등에 소유되는 일체의 비용을 부담하여야 하며, "갑"은 기술이전계약서 수령 후 "을"의 "계약기술" 소유권 이전등록에 지체 없이 협조하여야 한다.

제3조(기술실시를 위한 상호협조)

① "갑"과 "을"은 "계약기술"의 실시 및 "계약제품"의 설계, 제조 등을 효율적으로 수행하기 위하여 추가 연구개발 등에 대한 계약을 별도로 체결할 수 있다.

② "갑"은 "을"의 기술실시에 있어서 기술지도 등 기술적인 지원을 요청할 경우, 이에 성실히 협조하여야 한다.

단, 기술지도 등 기술적인 지원과 관련하여 발생하는 비용, 기간, 내용, 방법 등에 대해서는 별도로 기술자문계약을 체결한다.

제4조(신의성실의 의무)

본 계약이 목적하는 바를 상호 충족시키기에 필요한 제반 사항에 대하여 "갑"은 신의, 성실을 다하여 "을"에게 적극 협조하여야 하며, "을" 또한 본 계약을 성실히 이행하여야 한다.

제5조(면책)

- ① "갑"은 본 "계약기술"의 특허 유효성 또는 등록유지를 보증하지 않으며, "을"에 의한 "계약기술"의 실시가 제3자의 지식재산권을 침해하지 않음을 보증하는 것이 아니다.
- ② 본 "계약기술"과 관련하여 제3자에게서 제기된 모든 소송이나 청구는 "을"의 비용과 책임으로 방어하여야 하며, "갑"은 정당한 사유가 없는 한 관련 자료의 제공 등 최대한 "을"에게 협조하여야 한다.
- ③ "갑"은 본 "계약기술"을 현재 있는 상태로 "을"에게 제공하며, 본 "계약기술"을 이용한 제품의 시장적합성과 경제성 및 시장개척 또는 영업에 대하여 "갑"은 책임지지 않는다.
- ④ 법원의 판결 등에 의해 "을"이 더 이상 "계약기술"을 사용할 수 없게 되는 경우, 본 계약은 "을"의 선택에 의해 해지되며, 이 경우 제10조 제2항에 따른다.
- ⑤ "을"은 "계약특허"의 유효성에 대하여 다투지 아니하며, "을"이 직접 또는 간접으로 "계약특허"의 유효성을 다투는 경우에는 "갑"은 본 계약을 해지할 수 있다.

제6조(비밀보장)

"을"은 "계약기술"이 제3자에게 제공되거나 누설되지 않도록 보안에 유의하여야 하며, 이 의무는 그 임원 및 피용자나 그 승계인을 통하여 사실상 위반됨이 없도록 하는 의무를 포함한다. 또한, 본 조항은 본 계약이 해제 또는 해지되었을 경우에도 계속 유효하다.

제7조(계약의 변경)

본 계약의 내용은 "갑"과 "을"의 서면합의에 의하여 유효하게 변경될 수 있다.

제8조(불가항력)

본 계약의 어느 일방도 본 계약을 이행함에 있어 천재지변 또는 불가항력으로 발생하거나 기타 일방의 고의, 과실 또는 태만에 의하지 아니한 하자로 인하여 발생한 여하한 성격의 손실 또는 손해에 대하여도 그 일방은 상대방에게 책임을 지지 아니한다.

제9조(계약의 해지)

- ① "갑"은 다음 각 호의 경우에 30일의 기한을 두고 "을"에게 그 이행을 서면으로 최고함으로써 본 계약을 해지할 권리를 가지며, 이에 따라 해지되었을 경우 또는 제6조 제4항 또는 제6조 제5항에 따라 해지되었을 경우에 "갑"은 기지급 받은 금액(기 영수 약속어음 포함)을 환불하지 아니하며, "을"은 기술 자료를 "갑"에게 반환하고, 본 계약상의 모든 권리를 포기하여야 한다.
- ② 제6조 제4항 또는 제6조 제5항 또는 본 조 제1항 각 호에 따라 본 계약이 해지 또는 해제되었을 경우, "을"은 스스로 또는 제3자로 하여금 "계약기술"을 실시토록 하거나 "계약제품"을 생산하지 않는다.

제10조(일부무효의 효과)

- ① 본 계약의 어느 조건 또는 어느 조항이 어떠한 이유로든지 간에 무효, 부적법, 집행불능일 경우에는 그 무효, 부적법, 집행불능은 본 계약의 다른 조건 또는 조항에는 아무런 영향을 미치지 아니한다.
- ② 제1항의 조건 또는 조항이 무효, 부적법, 집행불능으로 인정되는 한도 안에서 그 조건 또는 조항이 이 계약에 포함되지 아니한 것으로 한다.

제11조(손해배상)

본 계약상의 의무를 위반한 당사자는 상대방에게 그로 인한 손해를 배상하여야 한다.

제12조(명칭사용)

"을"은 본 계약과 관련하여 지득한 정보 및 "갑"이 "을"에게 제공한 보고서나 문서의 일

부 또는 전부에 대한 그 원본이나 복제, 복사물을 광고, 판매촉진, 기타 선전의 목적 및
쟁송상의 자료로 사용하지 않을 것이며, 또한 상가의 목적으로 "갑"의 명칭을 암시하거나
사용하여서는 아니 된다.

제13조(중요사항의 변경)

"을"이 본 계약 체결 후 법인의 주소 등 중요사항을 변경하였을 경우에는 이를 지체 없
이 "갑"에게 통보하여야 하며, 그 불이행으로 인한 "갑"의 착오는 "을"의 항변으로부터 면
책된다.

제14조(분쟁해결)

본 계약으로부터 또는 본 계약과 관련하여 계약기간 중 또는 계약종료 후에, 본 계약의
해석 또는 계약의 효력 또는 본 계약에 의한 권리와 의무에 대하여 당사자 간에 분쟁이
나 이견이 발생하는 경우, 먼저 당사자 간의 상호 협의를 통해 원만히 해결토록 노력하
여야 하며, 협의에 의해 분쟁이나 이견이 원만히 해결되지 않은 경우에는 대한상사 중재
원에 의한다.

제15조(계약의 효력)

- ① 본 계약의 효력은 쌍방이 서명 날인한 날부터 유효하다.
- ② 본 계약은 "갑"과 "을"간 기술양도에 관한 기본적인 사항을 규정한 것으로 이전의 "갑"
과 "을" 간의 모든 문서에 우선한다. 또한, 본 계약과 관련 있는 다른 협이나 계약은 본
계약서에 언급되고 서면으로 작성되어 권한 있는 당사자의 서명이 없는 한 그 효력이 없
다.

제16조(해석)

본 계약에 명기되지 아니하거나 본 계약상의 해석상 이의가 있는 사항에 대하여는 쌍방
의 합의에 의하여 결정한다.

본 계약의 체결을 증명하기 위하여 본 계약서 2통을 작성하여 양 당사자가 각 서명 날인 한 수 각1통씩 보유하기로 한다.

2024년 02월 12일



<갑>

<을>

주 소 : 경기도 남양주시 순화궁로 282
에이스하이엔드타워별래 1303호

주 소 : 경기도 하남시 미사대로 550
현대지식산업세터한강미사1차 527호

상 호 : 포스트바이오 주식회사

상 호 : 주식회사 베이직사이언스

대표이사 : 천 두 성



대표이사 : 김 종 섭



출원번호통지서

출원일자 2023.12.20
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무) 참조번호(Pn2023N0443)
출원번호 10-2023-0187602 (접수번호 1-1-2023-1434508-15)
(DAS접근코드1E4C)
출원인명칭 포스트바이오(주)(1-2020-031927-7)
대리인성명 특허법인 지원(9-2017-100021-1)
발명자성명 천두성
발명의명칭 현장진단이 가능한 아프리카돼지열병 바이러스 검출 카트리지

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr-지식재산제도>

【서지사항】

【서류명】 특허출원서

【참조번호】 Pn2023N0443

【출원구분】 특허출원

【출원인】

【명칭】 포스트바이오(주)

【특허고객번호】 1-2020-031927-7

【대리인】

【명칭】 특허법인 지원

【대리인번호】 9-2017-100021-1

【지정된변리사】 김지원, 심성렬

【발명의 국문명칭】 현장진단이 가능한 아프리카돼지열병 바이러스 검출 카트리
지

【발명의 영문명칭】 AFRICAN SWINE FEVER VIRUS DETECTION CARTRIDGE FOR POINT
OF CARE TESTING

【발명자】

【성명】 천두성

【성명의 영문표기】 Cheon Doo Sung

【주민등록번호】 -1XXXXXX

【우편번호】 01744

【주소】 서울특별시 노원구 노원로22길 71,

【출원언어】 국어

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】**【과제고유번호】** 1545027079**【과제번호】** 122018022SB010**【부처명】** 농림축산식품부**【과제관리(전문)기관명】** 농림식품기술기획평가원**【연구사업명】** 가축질병대응기술고도화지원**【연구과제명】** 국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자
DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구**【기여율】** 1/1**【과제수행기관명】** 포스트바이오**【연구기간】** 2023.01.01 ~ 2023.12.31**【취지】** 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인 지원

(서명 또는 인)

【수수료】**【출원료】** 0 면 46,000 원**【가산출원료】** 15 면 0 원**【우선권주장료】** 0 건 0 원**【심사청구료】** 0 항 0 원**【합계】** 46,000원**【감면사유】** 중소기업(70%감면)[1]**【감면후 수수료】** 13,800 원

출원번호통지서

출원일자 2023.12.20
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무) 참조번호(Pn2023N0442)
출원번호 10-2023-0187601 (접수번호 1-1-2023-1434507-69)
(DAS접근코드C002)
출원인명칭 포스트바이오(주)(1-2020-031927-7)
대리인성명 특허법인 지원(9-2017-100021-1)
발명자성명 천두성
발명의명칭 현장진단이 가능한 고병원성 조류 인플루엔자 검출 카트리지

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr-지식재산제도>

【서지사항】

【서류명】 특허출원서

【참조번호】 Pn2023N0442

【출원구분】 특허출원

【출원인】

【명칭】 포스트바이오(주)

【특허고객번호】 1-2020-031927-7

【대리인】

【명칭】 특허법인 지원

【대리인번호】 9-2017-100021-1

【지정된변리사】 김지원, 심성렬

【발명의 국문명칭】 현장진단이 가능한 고병원성 조류 인플루엔자 검출 카트리
지

【발명의 영문명칭】 HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA DETECTION CARTRIDGE
FOR POINT OF CARE TESTING

【발명자】

【성명】 천두성

【성명의 영문표기】 Cheon Doo Sung

【주민등록번호】 1XXXXXX

【우편번호】 01744

【주소】 서울특별시 노원구 노원로22길 71,

【출원언어】 국어

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】**【과제고유번호】** 1545027079**【과제번호】** 122018022SB010**【부처명】** 농림축산식품부**【과제관리(전문)기관명】** 농림식품기술기획평가원**【연구사업명】** 가축질병대응기술고도화지원**【연구과제명】** 국제연구네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자
DB 구축 및 신속현장 유전자진단키트 실용화연구**【기여율】** 1/1**【과제수행기관명】** 포스트바이오**【연구기간】** 2023.01.01 ~ 2023.12.31**【취지】** 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인 지원

(서명 또는 인)

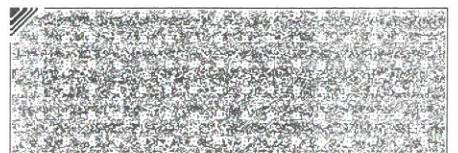
【수수료】**【출원료】** 0 면 46,000 원**【가산출원료】** 14 면 0 원**【우선권주장료】** 0 건 0 원**【심사청구료】** 0 항 0 원**【합계】** 46,000원**【감면사유】** 중소기업(70%감면)[1]**【감면후 수수료】** 13,800 원



별첨 9. 채용 증빙(남권진, 2022년)

건강보험자격득실확인서				
가입자	성명		주민등록번호	
		남권진		<input type="text"/>
자격득실확인내역				
NO	가입자구분	사업장명칭	자격취득일	자격상실일
1	직장가입자	포스트바이오 (주)	2022-12-26	
2	지역세대원		2016-11-09	2022-12-26
3	직장가입자	<input type="text"/>		2016-11-09
4	지역세대원			2016-10-01
5	직장피부양자			2012-07-21
6	지역세대원			2011-07-20
7	직장피부양자			2011-02-17
8	지역세대원			2010-11-18
9	직장피부양자			2008-11-01
10	지역세대원			2003-04-01
11	지역세대원			1998-08-11
12	직장피부양자			1998-04-01
13	지역세대원			1997-05-08
14	직장피부양자			1996-04-22
15	직장피부양자			1996-04-01
16	직장피부양자			1995-08-16

◆본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 정부24(gov.kr)의 인터넷발급문서진위확인 메뉴를 통해 위·변조 여부를 확인할 수 있습니다. (발급일로부터 90일까지) 또한 문서하단의 바코드로도 진위확인(정부24 앱 또는 스캐너용 문서확인프로그램)을 하실 수 있습니다.



자격득실확인내역				
NO	가입자구분	사업장명칭	자격취득일	자격상실일
17	지역세대원		1994-08-19	1994-08-26
18	직장피부양자	우리레미콘(주)	1994-06-01	1994-08-19

건강보험 자격득실내역을 위와 같이 확인합니다.

2023년 08월 03일

국민건강보험공단이사장

-직인생략-

- ※ 이 확인서의 취득일·상실일은 실제의 사업장 입사일·퇴직일과 다를 수 있습니다.
- ※ 이 확인서는 국민건강보험공단 인터넷 홈페이지(www.nhis.or.kr)에서 직접 발급이 가능합니다. (공인인증서 필요)
- ※ 이 확인서는 건강보험 자격확인용으로 다른 용도(제직증명서, 경력증명용, 대출용 등)로 사용 시 공단에 법적인 책임이 없음을 알려드립니다.

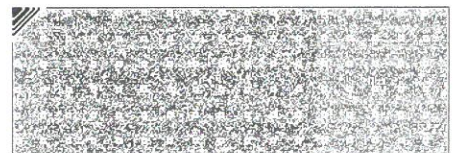
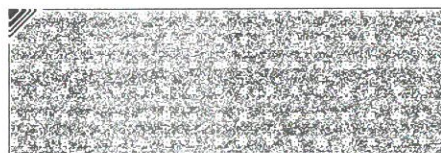
264-81-18840

포스트바이오(주) 천두성

경기도 남양주시 순화공로 282 13층
1303호(볼내동.에이스하이엔드타워)

제조업 연구용세약
서비스업 실험동물연구대행서비스

◆본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 정부24(gov.kr)의 인터넷발급문서진위확인 메뉴를 통해 위·변조 여부를 확인할 수 있습니다.
(발급일로부터 90일까지) 또한 문서하단의 바코드로도 진위확인(정부24 앱 또는 스캐너용 문서확인프로그램)을 하실 수 있습니다.



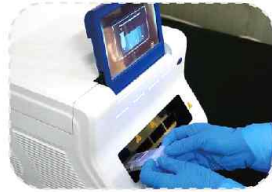
별첨 10. 과제 제품 개발 사진 등

별첨. 진단키트 제품 개발 자료

[진단검사 프로세스]



Sampling



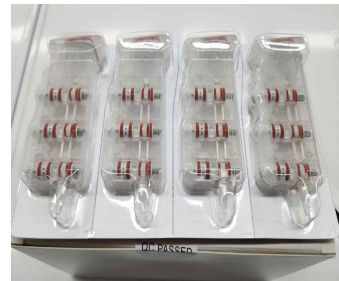
Load cartridge to the machine



Report



[XQ-Station 1Ch.]



[XQ-Station 장비 검사결과화면 및 내용물]



[ASFV Nucleic Acid Detection Kit]



[HPAI Nucleic Acid Detection Kit]

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업, ‘국제연구 네트워크 기반 신변종 가축감염병에 대한 유전자 DB 구축 및 신속현장 유전자진단 키트 실용화연구’개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.