

BIOINFORMATIKA V PRAXI – CVIČENÍ 3

IDENTIFIKACE GENŮ, PROTEINŮ A JEJICH FUNKCE

STUDIJNÍ MATERIÁLY

Studijní materiály předmětu C2130 Úvod do chemoinformatiky a bioinformatiky, přednáška Predikce genu, Sequence-evolution-function: Computational Approaches in Comparative Genomics.

PRODUKCE BIOINFORMATICKÝCH DAT

Automatické sekvencování produkuje obrovské množství biologických dat (dlouhé sekvence DNA až celé genomy).

Produkce „syrových“ biologických dat, nutná identifikace a anotace genů a proteinů.

„Alignment“ na úrovni proteinů je pro určení funkce genů užitečnější než „alignment“ na úrovni DNA.

Určení čtecího rámce, překlad DNA \Rightarrow protein, identifikace genu a jeho funkce = základní úkony v bioinformatice i molekulární biologii.

GENETICKÝ KÓD

The table shows the 64 codons and the amino acid for each. The direction of the mRNA is 5' to 3'.

		2nd base			
		U	C	A	G
1st base	U	UUU (Phe/F) Phenylalanine	UCU (Ser/S) Serine	UAU (Tyr/Y) Tyrosine	UGU (Cys/C) Cysteine
		UUC (Phe/F) Phenylalanine	UCC (Ser/S) Serine	UAC (Tyr/Y) Tyrosine	UGC (Cys/C) Cysteine
		UUA (Leu/L) Leucine	UCA (Ser/S) Serine	UAA Ochre (Stop)	UGA Opal (Stop)
		UUG (Leu/L) Leucine	UCG (Ser/S) Serine	UAG Amber (Stop)	UGG (Trp/W) Tryptophan
	C	CUU (Leu/L) Leucine	CCU (Pro/P) Proline	CAU (His/H) Histidine	CGU (Arg/R) Arginine
		CUC (Leu/L) Leucine	CCC (Pro/P) Proline	CAC (His/H) Histidine	CGC (Arg/R) Arginine
		CUA (Leu/L) Leucine	CCA (Pro/P) Proline	CAA (Gln/Q) Glutamine	CGA (Arg/R) Arginine
		CUG (Leu/L) Leucine	CCG (Pro/P) Proline	CAG (Gln/Q) Glutamine	CGG (Arg/R) Arginine
	A	AUU (Ile/I) Isoleucine	ACU (Thr/T) Threonine	AAU (Asn/N) Asparagine	AGU (Ser/S) Serine
		AUC (Ile/I) Isoleucine	ACC (Thr/T) Threonine	AAC (Asn/N) Asparagine	AGC (Ser/S) Serine
		AUA (Ile/I) Isoleucine	ACA (Thr/T) Threonine	AAA (Lys/K) Lysine	AGA (Arg/R) Arginine
		AUG (Met/M) Methionine, Start ^[A]	ACG (Thr/T) Threonine	AAG (Lys/K) Lysine	AGG (Arg/R) Arginine
	G	GUU (Val/V) Valine	GCU (Ala/A) Alanine	GAU (Asp/D) Aspartic acid	GGU (Gly/G) Glycine
		GUC (Val/V) Valine	GCC (Ala/A) Alanine	GAC (Asp/D) Aspartic acid	GGC (Gly/G) Glycine
		GUA (Val/V) Valine	GCA (Ala/A) Alanine	GAA (Glu/E) Glutamic acid	GGA (Gly/G) Glycine
		GUG (Val/V) Valine	GCG (Ala/A) Alanine	GAG (Glu/E) Glutamic acid	GGG (Gly/G) Glycine

ÚKOL 1

Přeložte následující DNA sekvenci do aminokyselinové sekvence s využitím tří čtecích rámců:

atgtagaaatgcgttattga

ÚKOL 2

Přeložte následující DNA sekvenci do aminokyselinové sekvence s využitím **šesti** čtecích rámců:

agcccgaaccggct

PREDIKCE GENŮ A PROTEINŮ U PROKARYOT

Prokaryotické geny jsou nepřerušované úseky DNA mezi startovním kodonem a stop kodonem. Nejčastěji je genem nejdelší ORF (open reading frame) odpovídající danému úseku DNA. Nejspolehlivějším ověřením, zda ORF skutečně kóduje protein, je jeho podobnost k již dříve popsánému proteinu („alignment“).

ÚKOL 3

Přeložte následující DNA sekvence neznámého organismu do sekvencí aminokyselin pomocí programu **Translate** – server ExPassy (<http://www.expasy.ch/tools/dna.html>). Určete, které geny/proteiny mohou být těmito sekvencemi kódovány (aplikace BLAST - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Sekvence 1

```
ATGGCTCAATCAGAATTTAACCCAAATCTACGGGAGCAAGGGCAATCAGTGCAGAGTTATTATTCTACGTGTGAATAATCCGGGATACAACA  
CTAATACTTTAGACATCGCAGACATAGAAGATATCATTTCATTTACCTCAAGCTATAGAGTTAGCTAATGCATTTCAATCTGCACCTAGTACCTAC  
TACATCCAACCTTCGGGGAGGACACATTAAGATTTGATGTAGAAAAGGGGATTAGGAATAGCTACTCACGTTTATCCTAGAGCTATAAATGTGAAT  
TATGTAACACGTAACCTTTATCACAACTAATAAACAAGTACAGTCCATGATAAATAAGGTGATAGAAGAGCTAAATCTTTATTAGGAATTAATC  
TGGCTAATTCAGTGTACAACAATTAACCACTGTAATTACAGAACTTTTACAAACCTCTACGTACAACAGCAATCTGCTTGGCTTTTTTGGGG  
ACGCCAAACATCATCACAAACCAATTATACTTATAATATCGTATTTGCAATCCAAAATGCCAAACAGGTTATGAAAGCTATTCCCTATA  
GGGTTTGAGATATCTGCATATATTGCAAGGGAACGCTTATTATTTTTTAAATATTCAAGATTATGCAAGCTATAGTGTCAAATAACAGCAATTC  
AAGTTTATCGACCCATTTGATTCATGAGAGTTTTCAACCCCTAAGAGGCAATTTTAAATATCATAACTCCGTAAATAATAGAAGTGTATTCAAAT  
TACTGAATATTATGACGAAAATACACATGATTTATCCTGTTAAGTTATGGGACTATAATAATATTATTAATCAAATAATGATTTTGTGTTTAAAT  
CAAACCTACCCGTCTTACAGTATTCAAAACCTAATAGCTCGCTATTTAGTACTAACATGGGATTTCTACTCCTGGATCAAATAAAGTTTTTGGCTT  
CTACTAATCGTTGGAACGATTACAATCTGGATTCTTGAAGTACAGCAGATGGTCCATTTTTTAAACAAATATGAAGACACTCAATTTGT  
ATTAGAGATAGAAAATCTAGTACTACTAATGGGACAAATGTTATAGTCAATAGAAAAAATAAATAATGCACAGCAAAAATTTTACTTAAATAAA  
GTAAACCAAGAGTTTCAGGATGGTGTATATAAGATTAAGACTGCCCTAAACAATAGTAGCGTTCTGCAGATGTCTGAAGATTATTTGGTTATA  
CGTCAGATTACTTTGTGAAATATGACCAACAATAAATAATGATATTAACCAAAAATGATTTTTGAATTTGATAGCACAAATCTCGCTATCA  
AATTAAGAGTCAAAGGGATCCTTCCCTAGTACTAGCATGGACTGGAGTGTACCTACTGTTAAACTCCCTATTTCAAATAACGATGATCATCTC  
TGGTTTTCTCAAATTCGGGTGGGTACCTATTATTTGTAATATGACAGACACCCGATATGTTTTAGAAGTGGCTAGTCTTAGTACCACCTA  
ATGGAACGATACTTACAATCAATAAACGAAACGGAAATTTAAATCAAATAATTTTTGTTGGACATGATTAATTA
```

Sekvence 2

```
TAGTATGAATAACAACACCACCGGACCCGACCTATACGCTGCGTGGCTTACAGTTGATTGGTTGGCGTGATATGCAGCACGCCCTCGATTATCTG  
TTTGCTGACGGGCATCTTAAGCAGGGAACGCTGGTTGCCATTAATGCCGAAAAATGCTGACCATTGAAGATAATGCTGAGGTCAGGAGCTAA  
TTAACGCTGCCGAATTTAAATATGCGGATGGCATCAGCGTTGACGTTTACGTAAGTAAAGTACCCGACGGCGCAGGTTTCCCGCGTTGCCGG  
TGCCGATCTCTGGGAAGAGCTGATGGCGCGCGCAGGCAAGAAGGACGCCGGTATTTCTTGTGGCGGTAACCTGAAGTGTGGCGCAACT  
GAAGCTAAACTGCGCAACCAATGGAATGTGAATATCGTTGGCAGTCAAGATGGTTATTTTAAACCCGAGCAGCGTCAGGCGCTGTTTGAACGCA  
TTCATGCCAGCGAGCGCAATCGTCCCGTTGCGATGGGATCGCCAAAGCAGGAGATCTTCAATGCCGACTCCGCTGTTGTCATCCAGAT  
GCTGTATATGGGCGTTGGCGGACTTACGATGTTTTACCCGTTACGTAACACCGCGCACCCGAAATCTGGCAACCGCTGGGACTGGAGTGGCTC  
TACCGCTGCTTTGCGAGCCGAGCCGATTAAGCGTCAGCTTCGTTTGTGCGTTATTTACGCTGGCATTACACCGGCAACCTCTGAATGGTTG  
CGAAAAACATTAACCTTCAAGATATTGACCCTGTGCAACCCAGGAATGGAAGGAAGCGCTTGATTTCCGTTGTTGAATAGCAAAACGTTGACCG  
TGCTGAATTCATTTAGAAAAGTTGTTAGCACATCCCCGAAACGTTGGTGTTCAGTCCCGACTGGCATTACACTCCTTATTTAAATACCAT  
CCTGCCGAGACAGAAGCTCAACTAGCCGATGATGAAATTAAGTAATGCAACCGTTAACGAATTAACCTGCGTTGGAATGGCTTGGCAATGGTGA  
TGCGAGTGGGCGTAAAAAGCGGGGTTGGGGGGCATCTTCCAGTTACGCGTCGATGGCGACTTTATTTGAAGTGGCTTAAATATTTCTT  
TCGGGGCGATGATTTAGTCTTTTTCCAGGGACATTCGGCAGAGGGTATTTATGCGCGCGCTTTCTTGGAGGGCGCCTTAGCGAACGAGATTTA  
ATCCATTTTCGTAAGAAGCGTTGACAAAGGGGATTTCTTCTTATCTCACCCCTTTTTAATGCCTGATTTTGGCAATTTCCGACGGTTTCGA  
TGGCCCTTGGACCCCTTGATGGCGATTTATCAGGCCCAACTATTGAAATATTTACACCATCGAAAAGCTGGTAGATACCCGAGGGCGAAAAGTATG  
GGCTTTTTGCGGCGATGGTGAGACGGGAGAACCAGACGTTAGGCGGTCTATTAGTAGCGAGCCGAGAAAATAGATAATCTCATTTTTATC  
GTTAATGCAATTTACAGCGTCTCGATGGTCCGGTATCCGGTACCGGTAATAAATATCCAGAATTAGAGGGCCTTTTTCCGGGGCCCGGATGGC  
GAGTGAATTAAGTTATTTGGGGTCAAGATTGGGAGCGATGTTTAAAGAAAGATAAATCCGGCTTGTGTTAAAGCGGCTTTCCGAAATGGTGA  
CGGTGAATACCAAGCGTGTTTTTCCAAAAGACGGCGCTCATTTGCGCGAGCATTTCTTTGGAAAAATACCCGAAATATTAGAGCTGGCAATCTGTAT  
ATGAGCGACGATGAACATAAACAATGACTGACGGCGGCCATGATCCAAAAAAGTTTACGCGGCTTATACGGAAGCGATGAAAGATTGCGGAA  
AACCCACGGTAATCTTACTAAAACCGTGAAAGGCTATGGTTATGGGAAGAAGGCGAATCCAAAACATCGCTCATAATTTAGAGGAAATTAG  
CGAGGAGGGATTAATACTTTCCGCAACGGTTGATTTACCTTATCCGATAAACAATTAAGGATCTTGAATTTTATAAACCCTGATGACAAT  
AGTCCAGAATTAATTTTACGCAAGCAACGTGAAAAATTAGGCGGACTTTTCCCGCACGAGACGAAAAATTTGAATCGATAAAAAGTCCAG  
ATTTAAGTTTATTTGAACCTGTATTGAAAGGCACCGAGGAGCGCTCTGTGTCAACGGGCGCGCATTTTCCGCAATTTGGGGTTGATGCTGAA  
AGATAAAAATATCGGGATCGTATCGTCCCTATGTGGCGGATGAAGCTCGGACATTTGGGTTTGAAGGCTTGTTCGACAAACAGGCATTTAT  
GCTGTGGAGGGCCAAAATATACGCGGAAGATCAGAGTAAATTAATTTTTATCGCGAAGACAAAGACAGGACAACTTTTACAGCAAGGAATTT  
CAGAAGCCGGGCAATGCCCAGTTGGATAGCGGACGTTACTCTTTGGCAATAAATAATATCCTTTAATTCCTGTGTATACTTATTTATGCCAT  
GTTTGGCTATCAACGCGTGGTATTGGTATGGGCGCTGCCACATGCACGCTCGCGGTTTTATCTTAGTGGATTGGCAGGTAGAACCCT
```

TTGCCGGGCGAAGGATTACAGCATCAGGATTCTCATAACTTATTAATGTTTAGCATGGTACCGACGTGTCGTTCCCTATGACCCTGCTTTTGGGT
ACGAATTGGCCGTAATTATTCAAGACGGTTTACGTCCGATGTACCAAGATAAGGAAAATGTTTTTATTACCTTACCCTGATGAATGAAAGTTA
TCAGCATCCCCCATGCCAAAAGGGGTGGAAGAAAGCATAGTCAAAGGGATGATTTATTTAAAAAGGGTAATGGAAAATATCTAAACCGGT
CAACTGTTAGGTGCAGGTGCTATTTTACGTGAAGTCATTGCCCGTCCGAAATTTAGAAACAATTTAAAGTCGCCCGGATGTGTGGAGCG
TGCCAAGCTTTAATTTGTACGCCATGACATTGAATCAGTAGATCGTTATAATCGCTTGCATCCCGATCTGCGCCAAAACAAAATATGTCCA
AAAATGTTGGATAACAAAAGGCCCGGTGATCGCCGACGGATTACATGAAATGCTGGCTAATCAAATCCGCGAAGCGGTTAAACAACCC
TATTACGTATTAA

ÚKOL 4

Charakterizujte část genomu neznámého organismu. Přeložte DNA sekvenci do aminokyselinové sekvence pomocí programu **ORF Finder** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>). Určete, které geny/proteiny mohou být touto sekvencí kódovány.

ACTAAATAGTATATTTTGATTTTGGATTTTGGATTTTCAATAATAACAATTTATTTACTTATTTAATGTTTTGATCAATATTTTTTTCTGTT
AAACAAAGGGAGCATTATATGGTAAAGATAATATTTGTGTTTTTATTTTCTTATCATATTTTCATATGCAAAATGATGATAAGTTATATCGGG
CAGATTTAGACCTCCTGATGAAATAAAGCAGTCAGGTGGTCTTATGCCAAGAGGACAGAATGAGTACTTTGACCGAGGTACTCAAATGAATAT
CAACCTTTATGATCATGCAAGAGGAACCTCAGACGGGATTTGTTAGGCACGATGATGGATATGTTTCCACCTCAATTAGTTTGAGAAGTGCCAC
TTAGTGGGTCAAACATATTTGTCTGGTCATTCTACTTATATATATATGTTATAGCCACTGCACCCAACATGTTTAAACGTTAATGATGTATTAG
GGGCATACAGTCCCTCATCCAGATGAACAAGAAGTTTCTGCTTTAGGTGGGATTCCATACTCCCAAATATATGGATGGTATCGAGTTCAATTTGG
GGTGTGATGAACAATTACATCGTAATAGGGGCTACAGAGATAGATATACAGTAACCTAGATATTGCTCCAGCAGCAGATGGTTATGGATTG
CGAGCTTTCCCTCCGGACATAGACCTTGGAGGGAAGAGCCGTGGATTATCATGCACCGCCGGGTTGTGGGAATGCTCCAAGATCATCGATGA
GTAATACTTGCATGAAAAAACCCAAAGTCTAGGTGTAATAATTCCTTGACGAATACCAATCTAAAGTTAAAAGACAAATATTTTCAGGCTATCA
ATCTGATATTGATACACATAATAGAATTAAGGATGAATATGATTAATAATTAATAATTTGGTGTTTTTTTTACAGTTTACTATCTTCAGCATATG
CACATGGAACACCTCAAATATTTACTGATTTGTGTGCAGAATACCACAACACAAAATACATACGCTAAATGATAAGATATTGTCGTATACAGA
ATCTCTAGCTGGAACACAGAGATGGCTATCATTACTTTTAAAGATGGTGAACCTTTTCAAGTAGAAGTACCAGGTAGTCAACATATAGATTCA
CAAAAAAAGCGATTGAAAGGATGAAGGATACCTGAGGATTGCATATCTTACTGAAGCTAAAGTCGAAAAGTTATGTGTATGGAATAATAAAA
CGCTCATGCGATTGCCCAATTAGTATGGCAAATTAAGATATAAAAAAGCCACCTCAGTGGGCTTTTTTGTGGTTCGATGATGAGAAGCAAC
CGTTTTGCCCAACATGTATTACTGCAAGTATGATTTTTTATTCACATCTTAG

PREDIKČNÍ PROGRAMY

Jak predikovat geny, které nemají sekvenční homology? Predikční programy využívají *ab initio* metody – predikce na základě statistických parametrů DNA sekvence.

ÚKOL 5

Charakterizujte část genomu pomocí predikčního programu **GeneMark** (<http://exon.gatech.edu/GeneMark>). Určete možnou funkci predikovaných genů/proteinů pomocí aplikace BLAST.

ATCTGGCCGGTTTTATTACGCCTGTTACTCGCGGCAGCCGACGCTTGCCGCCGCGCTGATGAAAGATGTTATTGCCGAACCATACCGCGCGCG
TTTACTGCCGGGCTTTAGCCAGGCGCGGCGAGCGGTGTCCGAGATCGGCGCGCTGGCGAGCGGGATTTCCGGGTCCGGGCGGACGCTGTTTGGC
CTATGCCGATAAACCGGACCGGCGAGCGCTCGCGGATGGCTGAGCAAAACATTTATCTGCAAAATCAGGAAGGTTCTGCTCATATTTGCGCG
TGGATACGGCGGGCGCACGAGTAGTGGGATAATCAATGAACTCTATAATCTGAAAGACCATAATGAGCAGGTGAGCTTTGCGCAGGCGGTCAC
GCAAGGACTGGGCAAACAGCAGGACTTTTTTTTCCGCAAGATCTGCCGGAGTTAGCCTGACGGAAATGATGAGATGCTCAACCAGGACTTT
GTCAGCCGTAGCGCAAAGATCCTCTCGGCATTTATTTGGCGATGAAATACCGCAGCAAATCTGGAAGAGCGCGTCCGCGCGGCGTTTGGCTTCC
CGCCAGCGGTAGCGCAGGTAGAAAGCGATGTCGGCTCGCTGGAGCTGTTCATGTTCCGACGCTGGCCTTTAAAGACTTCGGCGGGCGGTTTTAT
GGCGCAAATGCTGACGCATATACAGCGGCGACAAACCGGTGACGATTCTGACTGCAACGTCAGGCGATACCGGCGCGGCGGTGGCTCACGCGTTC
TATGGCCTGGAATAATGTCGGGTCTGCTATTCTTACCCGCGCGGTAAGATCAGTCCGTTGCAGGAAAATGTTCTGTACGCTGGGCGGCAACA
TTGAAACCGTGGCGATCGACGGCGATTTTCGACGCGTGCAGGCGCTGGTGAACAGGCATTTGATGACGAAGAACTGAAACGGCGCTGGGGCT
GAATTCGGCTAATTCGATTAATAATCAGCCGCTGTTGGCGCAAATTTGCTACTACTTTGAAGCCGTGGCGCAACTGCGCGAGGGGCGCGTAT
CAACTGGTATCTCCGTCGCCAGCGCAACTTTGGCGATTTGACGGCAGGGCTGCTGGCGAAGTCGTTAGGCCTACCAGTGAACGTTTTTATCG
CGCCACCAACGTCACGACACGGTGCAGCGTTTTCTGATGACGGAAAGTGGGCGCCGAAAGCGACGACGAGGCGACCCTGTCGAATGCGATGGA
TGTCAGCCAGCCGAATAACTGGCCGCGGCTGGAGGAGCTATTCGCGCTAAAATCTGGCGCTGACTGAGCTGGGCTATGCGGCGGTGGATGAT
ACTACGACACAGCAGCATGCGCGAGCTGAAAGCGAAAGTTATATCTCGGAACCTCATGCGGCGGTAGCGTATCGGGCAATTACGCGACCGAT
TAAACCTGGCGAGTATGGCTTGTTCGGAACGGCGCATCCGGCGAAGTTTAAAGAGAGCGTGGAGTCCATTTGGGAGAAACGCTGGCCTT
GCCTGAAGCGCTCGCCGAACGCGCCGACCTGCGCTGCTTTACATCATCTGCTGCGGATTTTGGCGCCTGCGTAAGTGTGATGATGACCCG
CAATAACCATTTGCGCCCGTGGCGCTGTCGCTTACCGGCGCTATGGGGTGGTGTTCGATTTGTAGGCGGGATAAGCCGTAACCGCATCCGCGCA
TGCCGTTACTGCTCGTAGGCTTTAAAGACCAGCTCGTCTGTGTGGAGTTTCTCATCAAGAAATACCCCTACGCGTCAAACGCGGTAAAGT
GTTCCGGCTTCGTTAAGCGTTTTTCAATAATAAAACGGCTCATCAGTCCGCGCGCTTTTTTGGCGTAGAAGCTTTACCACCTTAAACTTGGCGTT
TTTCTCATCAAGGAACAGGGCTTAATCAGTTCGGCATTCAGTTTCTTGGCTTACCAGATTTAAATAATTCCTCGGAGGCGAGATTCACCACC
ACCCGATCGCCCTGCGCTCAAGCGCTTCGTTGAGCTTATCGGTAATGATATCGCCCCAGAATGATAAAGATCTTTGCGCGCGGATTTCTCCA
GGCAATCCCCATCTCCAGCAGATAAGGCTGCATTAATCCAGCGGCGCAATACGCCATACAAGCCAGAGACATACGCAGATGTTGTTGAGC
AAAATCAAATCCGCTCGTTGAAACGTTTTCCGCTGTAGGCGGATATAAACATCGCCTTTGAACGCGAATCGCTGGCGTGCATTTATCCGGC
GTAATAAGGCTGCCAGTCATGAAACGCGTGGCGTTGAGATCCGCCAGTTTGTGCTAATTTCCATCAGCCTGGAATTTGCGGCGCCGAAA
GCTGGCGGGCTGTTGAATAAGCTGCTGGCTGTGATCAACAGCTCCGCTGGGTATAGCGGGTTCGTTGGCCAGCGGGCTTTGATAATCAAGCT
TTTTGCAGGTGAAATCAGATATCAGTCTTGCAGGAAATTTCTGCGACTTAGCAAAAAACCGCGCAGGTTGACCGATGGTTG
CGATTTGTCGGCTTAATCCGCGGATGCGCCCTCCAGGATCTGCGCGCAAGTTGTGGTTCGATATCCGGGAAAGCGCGCGGATCGAATCGAGCTC
TTACGCCAGTTTTCCGTTGTCGAGATAATCGCTGGCAGGGTATACACCACCGGTGAGAGCAACAAAATCGCCGTCAGATTGGTAAATGGCCAT

ACAGGCCATGATCATGTGTCAGCGAGCTGCCATATCAGCGGAAAACCTGATAAGCGTACCGGCGATAACCATGCCAAGCGTCGCAAGGCGTAATAGC
CAGATAGCCTTTTCGGTTATGTAACCGCAGAAAAACAGATTGTTTTCCGGCTAAATATAGTTGGCGACGATAGAACTGAACGCGAACAGAAATGA
CGATAAGCGCGCAAAAACCTGGCGCCCCATTACCAGGTCAACGAAACCATTGCAATGTTGGAGAAGCTGAATGCCTTCTGTGACGAGTGGGACGC
GTGATTTCCCCGCCAGCAGGATAATCATCGCGCTGGCGGTACAGATGATAATGGTGTGCTGAATACGCCAATCATTTGCACAATCCCCTGCGCG
ACAGGGTGAGGGGGATACGACGTTGCCGCTGCCGCCGATTAGGCGTTGACCCCATTCCTCGCTTCATTAGAGAACATCCCACGCTGAAAAACCGC
TGGTAATAGCCTGGGTGAGCGTATATCCGGCTGCGCCTGCCCGGGCTTCTGCCAGCCAAATGCGCTTTTGACTATCGAGGGGATAACGCCAGG
CATTTGCTCAATATGCCAGAGGCAAAATGAATACGCTGCCCGGCCACCAATAACCGCGATGAGGGGAATCAGCCATTGCATCAGACGGGGCAGC
CCTTTGATGCCGGAATGATAATTAACAGGGCACAGAACGCCAGGCAATGCCGGAGATAAGCGCGGAATGTTGAAGGCGAAATGGAGCGCGC
GTGAGACGGCATTCGCCCTGCACGCTATTAATAATCAACCCGTAGGCGACGAGCAGAAAGAGGGCGAAAACACGCCCATCCAGCGCATTCCCAG
CCCACGGCCATATACCACGCCGGGCGCCGCGGAACCTGGCCTGTCCGGTACGCTTCTTTATAAAGCTGGGCAAGCGAACACTCGGGCAAGGAG
CTGCCCATGCCAATGATGGCCGAGACCACATCCAGAATACCGCGCCGGGACCCGCTGCGGCGATAGCCAGCCACGCCGCGCCAGGTTACCGC
TGCCAATCCGCGCCGAGGCTGGTACACAGAGCCTGAAATGACGTCAGGCGCCCTGGCTGCGGGCTAAGGCTGCCTTTTCAGACTGCGGCTAAA
TTGGCGAATATAACGAAACTGAATGAATCCGGTACGCCAGGTAACCAACATCCTGCGCCGAGCAGCAGGTAATCATTACCAGCCCCAGAGT
ATTTCTGTAATAAACTGAAAACTCAGGCATTAACGTCCTCTTGTGATGCCGGCAGCCTTTGATAATCCTGTATAAGCGTGACCCATGATG
TAGATGACCTTTGTCAGACTAATATTAACGGCAGTTTACCATAAATACCGTGGTATCCTTTAATTGCGCATCAACCGTCGGCAGATACGCAAA
GTGCACAAGGGCAGCCAGGTGCATGTAGGCGGTTGCGCTGTGAGTGCCTGTGTTATCATCAGGGTAGACCGGTTACATCCCCTAAACAAGCTGT
TTAAAGAGAACTCTATCATGACGGACAATGACCTCCTTCGTGAGTTCACCACCGTAGTGCTGATACCGGAGATATCGCGCAATGAAAC
TGTATCAGCCGAGGATGCTACAATAACCTTCTCTCATTCTTAACGCGAGCGAAATCCCGAATATCGTAAGCTGATTGACGATGCTGTGCG
CTGGCCAAACAGCAGAGCAGCGACCCGCGCGCAGGTTGTTGACGCGACCGATAAGCTGGCGGTGAATATTGGCCTGGAGATCCTGAAGCTG
GTGCCGGGGCTATTTCTACCGAAGTTGACGCGCTGTCTTATGACACTGAAGCGTCTATCGCCAAAGCAAAACGTATCATTAAACTCTACA
ATGATGCGGGTATCAGCAACGATCGTATCCTGATCAAGCTGGCGTCCACTGGCAGGGCATTCTGTGACGCCAAGCAGCTGAAAAAAGAAGGCAT
CAACTGTAACCTGACGCTGTCTTCTCCTTCGCGCAGGCGCGTGCCTGCGCGAAGCGGGCGTCTACCTGATCTCGCCGTTCTGATGGTCTGATT
CTTACTGGTATAAAGCCAAATACCGACAAGAAAGACTATGCGCCAGCTGAAGATCCGGGCGTGGTTTCCGTAACGGAATCTACGAGTACTACA
AACAGCATGGTTACGAAACCGTCTGTTATGGGCGCAAGCTTCCGTAACGTAGGCGAAATCTGGAGCTGGCGGGCTGCGACCGTCTGACTATCGC
GCCGGCATTGCTGAAAGAACTGGCGGAAAGCGAAGGGGCGATTGAGCGTAAGCTCTCTTCTCCGGCGAAGTCAAGCGCGCCCGGAACGCATT
ACCGAAGCCGAGTTCTGTGGCAGCATCACCAGGACCCCATGGCGGTTGACAAACTGGCGGATGGTATCCGTAAGTTTGGCGTAGACCAGGAAA
AACTGGAAAAAATGATCGCGATCTGCTGTAATCATTAAACGCGTGGCCCTGATATGGGTACCGTACCTCTTCTGAAACCTGTCTGTCTCTCC
TTGCGAGTGTATCATTTCTGTTTAAACGAGACTGTTTAAACGGAATAATCATGGATACCTTACGTATTGGCTTAGTCTTCTATCTCCGACCGCGCTT
CAAGCGCGGTTTACCAGGATAAAGGCATTCCTGCGCTTGGAGGAGTGGCTCGCTTCTGCGCTGACCACGCCTTTGAGGTTCAACGCGCTTAAT
TCTGTGAAACAGGAAATATCAGCAAAACGTTGTGTGAACTGGTTCGATGAGATGAGCTGTATCTGGTGCTGACCACCTGGCGGTACCGGTCCG
GCGCGTCGCGACGTCACGCCGGACCGACCCCTTGCCATCGCCGACCGTGAATGCCAGGTTTGGCGAGCAGATGCGCCAGATCAGCCTGCGCT
TTGTGCCGACCGCATTTCTTCCCGCCAGGTGGCGGTTATCCGTAACAGGCGTTAATCTTAATCTGCCTGGACAGCCAAAATCGATCAAGA
AACGCTGGAAGGCGTAAAAGCGACGATGGCAGCGTTAGCGTGCCGGGCAATTTTTCGAGCGTGCCTGATGACATACAGCTGCTTACCGGCGC
TATGTGAAACCGCGCCGGAAGTGGTTGCCGCTTCCGTTCAAAGAGCGCCAGACGTTGAGAATATGTGCGACTGACCGGAAAAACTGATAGTA
GGGTTATCTCTCCCGGTGCGGGAGGAATAAAAGAGATTTAGTGCCTCGCCGATTGGCAGAATAGTGGCGCCAAATGCTCGTTTAGCCTTC
ACCCATCGCCAGATAAATAGCGCTGGCGCCGAAACAGACCAACCCAGCCTGCGGATAGGATAGTTGCTTACCGGTGATATTGCCGACC
GCCAGCAGAGCGAACAGTACGGTCAGGCTCAGGAAAACAATTCAGCGCGCGGGCGGCTTTCAGCGTACCGAAGAACATAAACAGCGTGAACA
CGCCCCACAGACCTAAAATAAGCGCCGAGTAGCTGAGCGTC