

ICS 11.220
CCS B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4661—2025

猫泛白细胞减少症诊断技术

Diagnostic techniques for feline panleukopenia

2025-01-09 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国伴侣动物(宠物)标准化技术委员会(SAC/TC541)归口。

本文件起草单位：军事科学院军事医学研究院军事兽医研究所、宁夏大学、北京市动物疫病预防控制中心、广东省农业科学院动物卫生研究所、天津瑞普生物技术股份有限公司。

本文件主要起草人：扈荣良、陈腾、赵洪进、李敏、张菲、齐宇、张艳艳、周鑫韬、张守峰、郝秀静、王林、张启龙、王晓虎、罗胜军、车艳杰、黄旺森。



猫泛白细胞减少症诊断技术

1 范围

本文件规定了猫泛白细胞减少症临床诊断、样品采集、保存、运输、实验室诊断及综合判定的要求。
本文件适用于猫泛白细胞减少症的诊断。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

FPV:猫泛白细胞减少症病毒(feline panleukopenia virus)

PCR:聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

Real-time PCR:实时聚合酶链式反应(real-time polymerase chain reaction)

Real-time RPA:实时重组酶聚合酶扩增(real-time recombinase polymerase amplification)

LAMP:环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification)

5 临床诊断

5.1 临床症状

5.1.1 FPV 感染具有高度接触传染性，潜伏期一般 2 d~7 d,可引起全身感染。临床表现多样，分为特急性型、急性型、亚急性型和亚临床感染：

- a) 特急性型不待临床症状出现即突然死亡；
- b) 急性型多见于幼龄猫，早期多见呕吐、腹泻症状，病情发展迅速，可于 24 h 内死亡；
- c) 亚急性型病程可持续数日，呈双相热，第一次发热体温在 40 ℃ 左右，持续 1 d,平息数天后第二次发热，体温 40 ℃ 以上，同时出现精神沉郁、厌食、呕吐、血便以及脱水等症状；
- d) 亚临床感染多见于老龄猫和免疫猫，无明显临床症状。

5.1.2 孕猫感染时，可导致怀孕母猫流产、胎儿早期死亡、新生猫死亡或表现出共济失调综合征等中枢神经系统症状。

5.2 血常规检查

采血进行化验，检查白细胞数、红细胞数、血小板数、血红蛋白、红细胞比容。疾病最初阶段，白细胞明显减少，通常小于 4.0×10^9 个/L(正常值为 5.5×10^9 个/L~ 19.5×10^9 个/L)。总白细胞数小于 2.0×10^9 个/L时常预后不良。白细胞减少症发生后，嗜中性粒细胞数可能在 24 h~48 h 内回升，并伴有明显核左移。肠道感染猫可能因便血导致贫血和血小板减少。

6 样品采集、保存和运输

6.1 采集

取疑似病猫肛拭子或病死猫肠内容物,放入盛有 0.5 mL 灭菌 PBS 样品管中。PBS 配制方法符合附录 A 中 A.1 的要求。标记编号,同时填写送检单。

6.2 保存

样品管在 2 °C~8 °C 条件下保存,应不超过 48 h,不高于-20 °C 可长期保存。

6.3 运输

样品管应置于干冰或冰块的冷藏包装中,保持全程冷链运输。样品运输应符合 NY/T 541 的相关要求。

7 实验室诊断

7.1 病毒分离和鉴定

7.1.1 仪器、设备和耗材

二氧化碳恒温培养箱、微量组织研磨器、台式离心机、细胞培养瓶、0.22 μm 针式微量滤器、离心管等。

7.1.2 试剂

DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶-EDTA、含 10 000 IU/mL 青霉素和 10 000 μg/mL 链霉素的溶液。

7.1.3 细胞

F81 细胞。

7.1.4 FPV 特异性阳性血清

应用猫制备 FPV 特异性阳性血清。制备方法符合附录 B 的要求。

7.1.5 样品处理

取 200 μL 样品液,加入 800 μL 的 PBS 中混匀,2 °C~8 °C 10 000 r/m 离心 5 min,取上清,转移至新的 1.5 mL 灭菌离心管,加等体积含 100 IU/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基,混匀后以 0.22 μm 针式微量滤器过滤除菌,收集滤过液备用。

7.1.6 病毒分离

取 7.1.5 中过滤液,用氯仿处理样品,高速离心后,取中间水相,备用。取传代后 6 h 的 F81 细胞,弃上清,按照细胞培养液体积的 5% 接种氯仿处理后的样品,在 37 °C 恒温箱内吸附 1 h,弃样品,加入含有 2% 胎牛血清 DMEM 培养基,或在 F81 细胞传代的同时接种样品,置 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。同时设未接种样品的 F81 细胞对照 2 孔。每天观察 1 次,至少观察 3 d,记录细胞生长状态。细胞长满后传代,盲传代次不应超过 3 次。如盲传三代内出现细胞病变,则进一步对细胞培养物进行鉴定。

7.1.7 病毒鉴定

取产生细胞病变的细胞培养物 0.5 mL~1.0 mL,加入等体积的 FPV 阳性血清,37 °C 作用 1 h,在 F81 细胞传代同时接种,置 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。同时设不接种的 F81 细胞对照和产生病变细胞培养物接种孔各 2 孔。连续观察 3 d~7 d。记录细胞生长状态。

7.1.8 判定

7.1.8.1 在 7.1.6 中,样品接种细胞盲传三代任何一代细胞出现细胞病变如细胞拉丝、破碎、脱落等,不接种的对照细胞无病变,则判定 FPV 疑似。

7.1.8.2 在 7.1.7 中,不接种的 F81 细胞对照孔均无细胞病变,病变细胞培养物接种孔出现细胞病变,而细胞培养物原液及各梯度稀释液加血清中和孔无病变,则可判定待检样品含有 FPV。

7.2 金标试纸条检测

7.2.1 操作

取 7.1.5 中的待检样品液,按照试纸条使用说明进行操作。

7.2.2 判定

按照试纸条使用说明进行结果判定。

7.3 常规 PCR 诊断

7.3.1 仪器、设备和耗材

小型台式离心机、生物安全柜、冰柜、可调量程的移液器、PCR 仪、水平电泳仪、凝胶成像仪、PCR 反应管、灭菌吸头等。

7.3.2 试剂

DNA 提取试剂或试剂盒、 $2\times$ PCR 预混酶、去离子水、电泳及制胶缓冲液。其中,电泳及制胶缓冲液即为 $1\times$ TAE,配制方法按照附录 A.2 的规定执行。

7.3.3 引物合成与稀释

针对 FPV VP2 基因进行引物设计、合成、制备。

上游引物 F1 序列为 5'-GGAAGTAGTGGCACACCAACA-3'；

下游引物 R1 序列为 5'-GGCCCTTGTGTAGACGCTT-3'。

预期扩增核酸片段大小是 386 bp。由基因合成公司进行合成并提供鉴定报告。各引物分别以灭菌双蒸水或去离子水进行溶解,浓度为 $10\ \mu\text{mol/L}$ 。

7.3.4 样品 DNA 提取

使用 DNA 提取试剂盒对 6.1 中采集的样品和阳性样品对照、阴性样品对照进行 DNA 提取,按试剂盒说明书操作。其中,阳性样品对照和阴性样品对照的制备方式分别按照 C.1 和 C.2 的规定执行。

7.3.5 扩增

7.3.5.1 使用 $2\times$ PCR 预混酶,按照说明书配制反应体系, $20\ \mu\text{L}$ 体系配制见表 1。设被检样品、阴性对照样品和阳性对照样品的份数总和为 N 。

表 1 常规 PCR 体系配制

成分	加入量, μL
引物 F1	$N+1$
引物 R1	$N+1$
$2\times$ PCR 预混酶	$10\times(N+1)$
去离子水	$7\times(N+1)$

7.3.5.2 PCR 反应管中,做好标记,每管加入 $19\ \mu\text{L}$ 7.3.5.1 中配制的预混液,取 7.3.4 提取的样品 DNA $1\ \mu\text{L}$ 加入对应管,与预混液充分混匀,盖上管盖。瞬时离心,将液体集中至管底。

7.3.5.3 按说明书进行扩增条件设置,扩增循环数为 30。

7.3.6 电泳

取扩增产物 $5\ \mu\text{L}\sim 10\ \mu\text{L}$ 点样于 1.0% 琼脂糖凝胶孔中,以 $100\ \text{V}\sim 120\ \text{V}$ 电压于 $1\times$ TAE 缓冲液中电泳约 20 min,凝胶成像仪中观察结果。

7.3.7 判定

阳性对照样品出现 386 bp 扩增带,阴性对照样品在相应位置无扩增带出现时,检测结果成立。

被检样品出现 386 bp 扩增带时判为 FPV 核酸阳性,否则判为阴性。

7.3.8 阳性扩增产物的核苷酸序列测定

根据诊断需要可选做。收集纯化 PCR 产物,送测序公司,以上、下游引物进行 PCR 产物的序列测定,有助于进一步确认 FPV 基因序列和毒株来源。其中,测序结果的碱基比对参考序列见附录 D。

7.4 Real-time PCR 诊断

7.4.1 仪器、设备和耗材

小型台式离心机、生物安全柜、冰柜、可调量程的移液器、荧光定量 PCR 仪、定量 PCR 反应管、灭菌带滤芯吸头等。

7.4.2 试剂

DNA 提取试剂或试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒、去离子水、阳性对照样品、阴性对照样品。其中,阳性样品对照和阴性样品对照的制备方式分别按照附录 C.1 和 C.2 的规定执行。

7.4.3 引物合成与稀释

引物合成如表 2 所示,也可根据实际需要设计或选择引物序列。分别用去离子水将各引物溶解,浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。

表 2 Real-time PCR 所用引物、探针

引物名称	序列(5'-3')
F2	AAACAGGAATTAACATACTAATAATATATTTA
R2	AAATTTGACCATTTGGATAAACT
探针	FAM-TGGTCCTTTAACTGCATTAAATAATGTACC-BHQ

7.4.4 操作

7.4.4.1 以 $20 \mu\text{L}$ 反应体积为例,不同仪器需要不同反应体积时可按比例进行调整。设被检样品、阴性对照样品和阳性对照样品的份数总和为 N ,按表 3 反应体系配制预混液,充分混匀。

表 3 Real-time PCR 反应体系

成分	加入量, μL
2×PCR 反应液	$10.0 \times (N+1)$
引物 F2	$0.3 \times (N+1)$
引物 R2	$0.3 \times (N+1)$
探针	$0.4 \times (N+1)$
去离子水	$7.0 \times (N+1)$
合计	$18.00 \times (N+1)$

7.4.4.2 取 7.4.4 提取的样品 DNA $2 \mu\text{L}$ 加入定量 PCR 反应管中,做好标记,每管加入 $18 \mu\text{L}$ 预混液,与 DNA 充分混匀,盖上管盖。瞬时离心,将液体集中至管底。

7.4.4.3 按仪器和荧光定量试剂盒说明书对荧光定量 PCR 仪进行各类参数设置,40 个循环。

7.4.5 判定

7.4.5.1 成立条件。阳性对照样品 C_t 值小于 30、阴性对照样品无 C_t 值时,实验结果成立。

7.4.5.2 结果判定。被检样品 $C_t \leq 38$,判为 FPV 核酸阳性。无 C_t 值,判为 FPV 核酸阴性。 $38 < C_t \leq 40$,判为疑似。对疑似样品重新进行核酸提取和复检, $C_t \leq 40$ 时判为阳性,否则判为阴性。

7.5 实时重组酶聚合酶扩增(Real-time RPA)检测

7.5.1 仪器、设备和耗材

恒温扩增检测仪、离心管、RPA 反应管。

7.5.2 试剂

DNA 提取试剂盒、Twist Amp™Mexo 试剂盒。

7.5.3 引物合成

如表 4 所示。

表 4 Real-time RPA 所用引物、探针

引物名称	序列(5'-3')
F3	CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAG
R3	AGTCTGTATTTCCCATTTGAGTTACACCACGTCT
探针	CCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG/i6FAMdT/G/idSp//iBHQ1dT/ATAGGAGTTCA ACAAG-/C3 Spacer/
注:i6FAMdT=deoxythymidine nucleoside derivated with the fluorophore FAM;idSp=tetrahydrofuran; iBHQ1dT=deoxythymidine nucleoside carrying a blackhole quencher 1。	

7.5.4 检测

7.5.4.1 反应体系配制

按照试剂使用说明,吸取 29.5 μL 溶解缓冲液(rehydration buffer)于无菌的离心管中,加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的上下游引物各 2.1 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的探针 0.6 μL ,灭菌去离子水 11.2 μL ,再加入待检样品 DNA 2 μL ,混匀后加入到装有白色固体冻干混合酶颗粒的 RPA 反应管(Twist Amp™TM exo),最后加入 140 mmol/L 醋酸镁 2.5 μL ,共 50 μL 体系。同时设置阳性对照(按照附录 C.1 的规定执行)、阴性对照(制备方法按照附录 C.2 的规定执行)和反应体系空白对照。

7.5.4.2 扩增

将配制好的各反应液管立即置于实时 PCR 或 RPA 扩增仪中,在 39 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 20 min(设置 40 个循环,每个循环 30 s)。同时在整个反应过程中收集 FAM 荧光信号。

7.5.5 判定

7.5.5.1 阈值设定及原则

结果分析前应根据仪器噪声情况调整阈值的设定。以阈值线刚好超过阴性对照扩增曲线的最高点为准,且相交于阳性对照样品的扩增曲线。若仪器自动模式下的阈值满足以上原则,则无需手动设置。

7.5.5.2 成立条件

当阴性对照样品扩增曲线无明显对数增长,阳性对照样品出现典型的扩增曲线有对数增长,且阳性对照样品的 C_t 值 <40 ,判定结果成立。

7.5.5.3 结果判定

若待检样品扩增曲线有对数增长,且 C_t 值 <40 ,判定检测结果为阳性;若待检样品扩增曲线无明显对数增长,判定检测结果为阴性,按照附录 A.3 的规定执行。

7.6 环介导等温扩增(LAMP)荧光可视化快速检测

7.6.1 仪器、设备和耗材

恒温金属浴。

7.6.2 试剂

DNA 提取试剂盒、DNA 扩增反应试剂盒、荧光目视检测试剂盒。

7.6.3 引物合成

引物如表 5 所示。

表 5 LAMP 检测方法所用引物组

引物名称	序列(5'-3')
F4	GTAAACCATGTAGACTAACACAT
B3	GCACTATAACCAACCTCAGC
FIP	GCTCCTTCAGATTGAGGCAAAGACATGGCAAACAAATAGAGCA
BIP	GAGTTCAACAAGATAAAAAGACGTGGGGTCTCATAATAGTAGCTTCAGT
LB	ATTTAGAAATGGTGGTAAGCCCAA

7.6.4 检测

7.6.4.1 按以下反应体系进行配制,2 \times 反应缓冲液 12.5 μL 、8.0 U/ μL Bst DNA 聚合酶溶液 1 μL 、5 $\mu\text{mol/L}$ 的 F4 1 μL 、5 $\mu\text{mol/L}$ 的 B3 1 μL 、40 $\mu\text{mol/L}$ 的 FIP 1 μL 、40 $\mu\text{mol/L}$ 的内引物 BIP 1 μL 、20 $\mu\text{mol/L}$ 的环引物 LB 1 μL 、ddH₂O 0.5 μL 、荧光目视检测试剂 1 μL ,待测样品 DNA 核酸模板 5 μL ,总体积 25 μL 。同时设置已知阳性样品(制备方法按照附录 C.1 的规定执行)、阴性样品(制备方法按照附录 C.2 的规定执行)和反应体系空白对照。

7.6.4.2 将配制好的各反应管瞬时离心后,置于预设恒温金属浴中,反应程序为 63 $^{\circ}\text{C}$ 60 min。反应结束后,从仪器中取出反应管进行目视观察。

7.6.5 判定

7.6.5.1 成立条件

当阴性样品和反应体系空白对照为橘黄色、已知阳性样品变绿色,则试验成立。

7.6.5.2 结果判读

待测样本变绿色即判为阳性,否则判为阴性(符合附录 A.4 的规定)。

8 综合判定

8.1 具备 5.1 所列至少 1 种临床表现,或出现 5.2 所列血常规检测异常结果,即可判为疑似病例。对疑似病例,应以 7.1~7.6 检测技术进行实验室确诊。

8.2 具备 5.1 所列至少 1 种临床表现,或出现 5.2 所列血常规检测异常结果,且具备 7.1~7.6 至少一项检测结果阳性时,可判定为 FPV 感染阳性。

8.3 应用 7.1、7.2 所列检测技术至少 1 项检测结果阴性,且应用 7.3~7.6 所列检测技术中的至少 1 项检测结果阴性时,可判定为 FPV 感染阴性。

附录 A
(规范性)
溶液配制及判定示意图

A.1 PBS 的配制

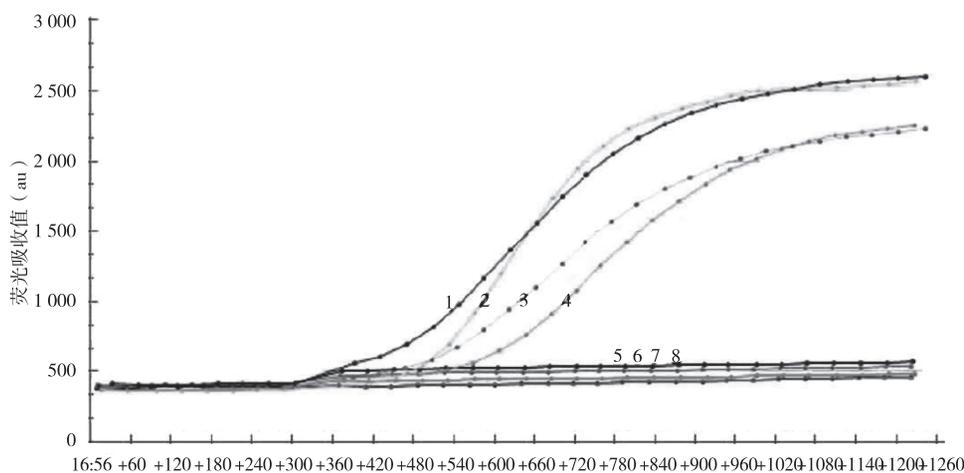
称取氯化钠 8.00 g、氯化钾 0.2 g、磷酸氢二钠 1.42 g、磷酸二氢钠 0.27 g，加 800 mL 蒸馏水溶解，用浓 HCl 调节 pH 至 7.4，用去离子水定容至 1 L，高压灭菌后室温保存。

A.2 1×TAE 的配制

称取 242 g 的 Tris 和 37.2 g 的 $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 加入 1 L 烧杯内，向烧杯中加入约 600 mL 去离子水，充分搅拌溶解。加入 57.1 mL 冰醋酸，充分搅拌。加去离子水定容至 1L，室温保存，此为 50×TAE。50×TAE 量取 20 mL，加去离子水定容至 1 L，室温保存，即为 1×TAE。

A.3 Real-time RPA 结果判定

图 A.1 给出了 Real-time RPA 结果判定示意。

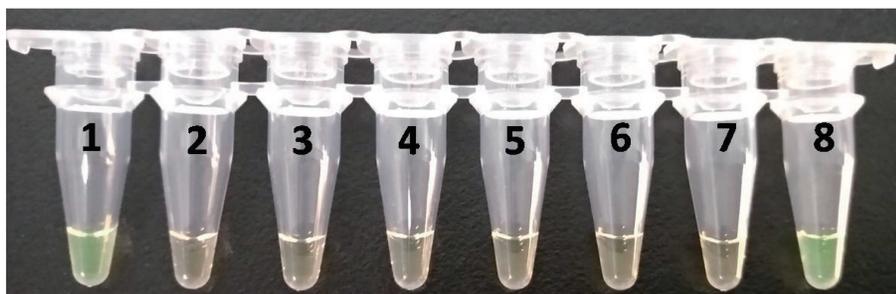


注：曲线 1 为阳性对照样品；曲线 5、6 为阴性对照样品和反应体系空白对照；曲线 2、3、4 为待测样品出现典型的实时荧光曲线，即阳性；曲线 7、8 为待测样品未出现典型的实时荧光曲线，即阴性。

图 A.1 Real-time RPA 结果判定示意

A.4 LAMP 荧光可视化检测判定示意图

图 A.2 给出了 LAMP 荧光可视化检测判定示意。



注：8 为阳性对照样品，6、7 为阴性对照样品和反应体系空白对照；1 为待测样品，出现绿色，即阳性；2、3、4、5 为待测样品，出现橘黄色，即阴性。

图 A.2 LAMP 荧光可视化检测判定示意

附 录 B
(规范性)
FPV 特异性阳性血清

B.1 阳性对照样品制备

B.1.1 制备

用猫制备抗 FPV 特异性阳性血清。取病毒滴度在 10^6 TCID₅₀/mL 的病毒培养液,以 1/1 000 的 β-丙内酯灭活后,加入 1/10 体积铝胶佐剂,混匀后注射猫腹腔,每次 2 mL,共 3 次,间隔 2 周。末次注射 2 周后无菌采集血液,分离血清,56 °C 灭活 30 min,用中和试验法测定效价,中和效价应达 1 : 256 以上。对效价合格的血清进行分装,置 -20 °C 以下冰冻保存。同时抽样进行无菌检验和中和效价检验。

B.1.2 样品要求

B.1.2.1 性状

澄清透明液体。

B.1.2.2 中和效价

将 FPV 病毒稀释为 200 TCID₅₀/100 μl,与 2 倍系列稀释的血清等量混合,置于 37 °C 下中和 1 h。每个稀释度同步接种 4 孔细胞,每孔 100 μl。同时设不接种细胞对照、病毒对照各 4 孔。置 37 °C、含 5% CO₂ 培养箱中培养观察 4 d~5 d。统计各稀释度血清接种细胞有无 CPE 的细胞孔数,能使 50% 细胞孔不出现 CPE 的最高血清稀释度即为该血清的中和效价。中和效价应达 1 : 256 以上。

B.1.2.3 纯净度

按现行《中国兽药典》附录进行检验,应无细菌、霉菌、支原体和外源病毒污染。

B.1.3 保藏

-15 °C 以下保存,有效期 60 个月。

附录 C

(规范性)

阳性对照样品和阴性对照样品

C.1 阳性对照样品制备

C.1.1 制备

将 FPV 分离株按 0.1% 接种量同步接种 F81 细胞,置于 37 °C 温度下培养 4 d~5 d,逐日观察细胞病变。当 CPE 达到 90% 以上时,收获细胞培养液,冻融 2 次,于 -15 °C 以下保存。同时抽样进行无菌检验和病毒含量检验。

C.1.2 样品要求

C.1.2.1 性状

均匀微度混浊悬液。

C.1.2.2 病毒含量

将毒种用 DMEM 细胞培养液作 10 倍系列稀释,取 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 共 4 个稀释度病毒液,分别同步接种 96 孔 F81 细胞培养板,每个稀释度接种 8 孔,每孔 100 μ L,同时设不接种细胞对照,每孔补加含 5% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养基 100 μ L,置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培养观察 4 d。根据 Reed-Muench 法计算 TCID₅₀,每毫升病毒含量应 $\geq 10^{5.5}$ TCID₅₀。

C.1.2.3 纯净度

按现行《中国兽药典》附录进行检验,应无细菌、霉菌、支原体和外源病毒污染。

C.1.2.4 特异性

将毒种以 DMEM 培养基稀释至 200 TCID₅₀/100 μ L,与 FPV 特异性阳性血清(中和抗体效价应不低于 1:64)等量混合,置 37 °C 中和 1 h,同步接种 96 孔 F81 细胞培养板 2 孔,每孔 0.1 mL,同时设不接种细胞对照、病毒对照各 2 孔。每孔补加含 5% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养液 0.1 mL,置 37 °C、含 5% CO₂ 培养箱中培养并连续观察 4 d。病毒对照孔应全部出现 CPE(细胞出现拉网状、破碎、脱落),阳性血清中和孔和正常细胞对照孔应均不出现 CPE。

C.1.3 保藏

-15 °C 以下保存,有效期 60 个月。

C.2 阴性对照样品制备

C.2.1 制备

在含 5% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养的 F81 细胞,置于 37 °C 温度下培养 4 d~5 d 至长满单层,收获细胞培养液,冻融 2 次,于 -15 °C 以下保存。同时抽样进行无菌检验。

C.2.2 样品要求

C.2.2.1 性状

均匀微度混浊悬液。

C.2.2.2 纯净度

C.2.2.2.1 按现行《中国兽药典》附录进行检验,应无细菌、霉菌、支原体和外源病毒污染。

C.2.2.2.2 以上游引物 F1(序列为 5'-GGAAGTAGTGGCAGACCAACA-3')和下游引物 R1(序列为 5'-GGCCCTTGTGTAGACGCTT-3')进行 PCR 扩增,应无 386 bp 核酸扩增条带。

C.2.3 保藏

-15 °C 以下保存,有效期 60 个月。

附 录 D

(资料性)

FPV 普通 PCR 扩增产物参考序列

FPV 普通 PCR 扩增产物(VP2 基因)碱基比对参考序列如下:

GGAACTAGTGGCACACCAACAAATGTATATCATGGTACAGATCCAGATGATGTTCAATT
TTATACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTACACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAG
GAACATTTTTTTTTGATTGTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGC
ATTGGGCTTACCACCATTTTTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGGTG
ATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTA ACTCAAATGGGAAATACAGACTATAT
TACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTATAGTGCACCATATTATTCTTTTG
AAGCATCTACACAAGGGCC
