

Appendix 7: Multiplex Mixtures for Part I and II

Table A7.1 and A7.2 give the primer volumes added during the first attempt at multiplexing the species-specific primers. Tables A7.3 through A7.6 give the primer volumes added leading up to, and including, the final multiplex. Table A8.3 shows the multiplex reactions using TE for dilutions and also the 75 nM and 150 nM multiplexes. Table A7.6 shows the primer volumes for the final version of the multiplex. Most multiplex reactions were adjusted to volumes of 20 μ L with sterile water except when the volumes of added primers exceeded this value.

Table A7.1: The various multiplex primer mixtures for Part I. Values are all in μ L for one PCR and were adjusted for the total number of samples being tested. The following reagents were placed into every multiplex in the same volume: dNTPs (2 μ L); buffer (2 μ L); DNA (1 μ L); Taq (0.3 μ L) and; water to a final volume of 20 μ L. Primers were added to the master mix at a concentration of 10 mM except for those in bold. Bold values indicate primers were added to the master mix at a concentration of 100 mM.

Primer	Multiplex Number											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9a	9b	9c
Taq	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
dNTPs	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Buffer	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Universal 1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Universal 2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Universal 3		1.00	1.00	2.00	4.00	4.00	3.50	3.00	3.00	3.00		
Hsapien1		1.00	0.50	1.00								
Vvulpes1		1.00	0.50	1.00	1.00	1.00	0.50	0.25	0.25			
Rnorveg1		1.00	0.50	1.00	1.00							
Ocunic1										1.00		
Eeuropa1			0.50		1.00	1.00	2.00	3.50	3.50			
Fcab1	1.00										1.00	1.00
Chircus1	1.00											
Hsapien2	0.50	1.00	0.50	1.00								

Multiplex Number

Primer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9a	9b	9c
CanisF2	1.00											
Eeuropa2			0.50		1.00	1.00	0.50	0.25	0.25			
Cat Nath		1.00	0.50	1.00	1.00	1.00	0.50	0.25	0.25			
Hum Nath		1.00	0.50	1.00								
Cow Nath	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50	0.50	0.25	0.25	0.25			
Dog Nath	1.00			1.00								
Chircus2	1.00											
Easinus2												3.00
Ecab2	1.00										1.00	
CanisF3	1.00											
Homos4	0.50	1.00	0.50	1.00								
Btaurus2		1.00	0.50	1.00	1.50	1.50	1.00	0.50	0.50			
Ocunic2										3.00		
Rnorv2			0.50									
Vvulpes2		1.00	0.50	1.00	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50			
Fcatus2		1.00	0.50	1.00	1.50	1.50	1.50	1.00	1.00			
DNA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Water	3.70	0.70	4.70	-1.30	-1.30	-0.30	1.45	2.20	2.20	6.70	10.70	8.70

Table A7.2: The various multiplex primer mixtures for Part I. Values are all in μL for one PCR and were adjusted for the total number of samples being tested. The following reagents were placed into every multiplex in the same volume: dNTPs (2 μL); buffer (2 μL); DNA (1 μL); Taq (0.3 μL) and; water to a final volume of 20 μL . Primers were added to the master mix at a concentration of 10 mM except for those in bold. Bold values indicate primers were added to the master mix at a concentration of 100 mM.

Multiplex Number											
Primer	9d	9e	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Taq	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
dNTPs	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Buffer	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Universal 1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Universal 2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Universal 3			2.50	0.25	2.50	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Hsapien1						0.05	0.05				
Vvulpes1			1.50	1.20	0.70	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08
Rnorveg1											
RatRev						0.10	0.10	0.05	0.05	0.05	0.02
G Pig 2						0.20	0.20	0.20	0.20		
Ocunic1						0.10	0.10	0.20	0.20		
Cporc1						0.10	0.10	0.10	0.10		
Sscrofa2						0.01	0.11	0.15	0.16	0.16	0.16
Eeuropa1			0.40	0.50	3.50	0.40	0.40	0.50	1.00	1.00	1.00
Fcab1						0.10	0.05	0.10	0.15	0.15	0.15
Chircus1		1.00				0.05	0.04	0.20	0.20	0.15	0.15
Hsapien2						0.05	0.05		0.05		
RDCase2											
Harvest M2							0.10	0.07	0.07	0.04	0.03
CanisF2	3.00		0.40	0.70							
Oaries1		1.00	0.50	0.10	0.03			0.10	0.20	0.05	0.06
Eeuropa2			1.00	0.50	0.30	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Hgrypus1											
Celaph1								0.10	0.50		
Ocunic3							0.10				
Sscrofa1						0.01	0.05	0.05	0.03	0.02	0.02
Cat Nath			1.00	0.60	0.30	0.05	0.07	0.03	0.06	0.07	0.07

Multiplex Number

Primer	9d	9e	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Hum Nath						0.05	0.06		0.06	0.06	0.06
RDCase1											
Cow Nath			0.50	0.25	0.15	0.05	0.03	0.20	0.20	0.20	0.25
Dog Nath	1.00		1.00	1.00	0.20	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.02
Mmeles1											
Chircus2		1.00				0.02	0.03	0.20	0.50	0.45	0.45
Ccapre1											
Easinus2											
Ecab2						0.30	0.10	0.05	0.15		
CanisF3	3.00		0.30	0.50	0.70	0.10	0.07	0.04	0.10	0.06	
Homos4						0.15	0.20				
Mmuscul1							0.10	0.05	0.03		
Btaurus2			0.30	0.50	1.00	0.20	0.20	0.20	0.30	0.40	0.40
Oaries2								0.10	0.70	0.70	1.50
Ocunic2								0.50	0.50		
Mminutus1							0.10	0.05	0.05	0.05	0.02
HouseMous2							0.10	0.20	0.20	0.25	0.25
Rnorv2						0.10	0.10	0.05	0.04	0.04	0.04
Vvulpes2			1.50	0.20	2.00	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Fcatus2			1.00	0.90	0.80	0.10	0.30	0.06	0.24	0.40	
DNA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Water	5.70	9.70	0.80	5.50	0.52	11.29	10.67	10.04	7.56	9.29	8.98

Table A7.3: New multiplex begun after quantification of DNA at AFDIL. Blue highlighting represents the samples which were diluted in TE and yellow highlighting when the primer dilution test was performed. All values are in μL . 0.01 μL equates to 5 nM final concentration from the 10 mM stock of primers. Bold values indicate 100 mM primer stock was used.

Multiplex Revision Number								
Primer	1	2	3	4	5	6	7	8
Taq	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
dNTPs	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Buffer	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Universal 1	0.20	0.25	0.25	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Universal 2	0.20	0.25	0.25	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Universal 3	0.40	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Btaurus2	0.10	0.20	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
GPig3	1.00	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
Cat4	1.00	0.25	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Vvulpes1	0.10	0.30	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Oaries2	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
RatRev	0.10	0.30	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Europa2	0.10	0.50	0.80	0.80	0.80	0.80	0.15	0.30
Mminutus1	0.10	0.30	0.10	0.10	0.10	0.10	0.15	0.30
G Pig 2	0.10	0.30	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Badger 3	1.00	0.30	0.40	0.40	0.50	0.50	0.15	0.30
Cat3	1.00	0.30	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
HouseMous2	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Ocunic1	0.10	0.30	0.60	0.60	0.50	0.50	0.15	0.30
Rnorv2	0.10	0.20	0.30	0.30	0.20	0.20	0.15	0.30
Ocunic3	0.10	0.30	0.60	0.60	0.50	0.50	0.15	0.30
Fox3	1.00	0.20	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Scrofa1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.15	0.30
Horse3	1.00	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.15	0.30
Sscrofa2	0.10	0.25	0.50	0.50	0.30	0.30	0.15	0.30
Dog4	0.10	0.50	0.90	0.90	0.80	0.80	0.15	0.30
Human Nath	0.10	0.20	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
Badger2	1.00	0.30	0.60	0.60	0.50	0.50	0.15	0.30
Chircus1	0.10	0.30	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Hsapien1	0.10	0.10	0.30	0.30	0.20	0.20	0.15	0.30
Cow Nath	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Dog Nath	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Chircus2	0.10	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Ecab2	0.10	0.30	0.40	0.40	0.40	0.40	0.15	0.30
Sheep 3	0.10	0.20	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
Easinus2	1.00	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
Donkey 3	1.00	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
Harvest M2	1.00	0.20	0.40	0.40	0.30	0.30	0.15	0.30
House Mouse 1	0.10	0.30	0.80	0.80	0.50	0.50	0.15	0.30
Celaph1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.15	0.30
RD Case 2	0.10	0.20	0.30	0.30	0.30	0.30	0.15	0.30
Europa1	0.10	0.50	0.80	0.80	0.70	0.70	0.15	0.30
DNA	2.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Water	0.10	2.50	-1.40	-1.30	0.60	0.60	8.20	2.80

Table A7.4: New multiplex begun after quantification of DNA at AFDIL. All values are in μL . 0.01 μL equates to 5 nM final concentration from the 10 mM stock of primers. Bold values indicate 100 mM primer stock was used.

Multiplex Revision Number								
Primer	9	Primer	10	11	12	13	Primer	14
Taq	0.30	Taq	0.30	0.30	0.30	0.300	Taq	0.300
dNTPs	2.00	dNTPs	2.00	2.00	2.00	2.000	dNTPs	2.000
Buffer	2.00	Buffer	2.00	2.00	2.00	2.000	Buffer	2.000
Universal 1	0.20	Universal 1	0.20	0.20	0.20	0.200	Universal 1	0.200
Universal 2	0.20	Universal 2	0.20	0.20	0.20	0.200	Universal 2	0.200
Universal 3	0.50	Universal 3	0.50	0.50	0.50	0.500	<i>Universal 3 Rev</i>	0.500
Btaurus2	0.40	Btaurus2	0.50	0.50	0.35	0.400	Btaurus2	0.400
GPig3	0.50	GPig3	0.80	0.80	0.10	0.150	GPig3	0.150
Cat4	0.31	Cat4	0.35	0.35	0.40	0.330	Cat4	0.330
Vvulpes1	0.50	<i>Vvulpes2</i>	0.30	0.30	0.30	0.500	<i>Fox4</i>	0.200
Oaries2	0.50	Oaries2	0.51	0.51	0.57	0.460	Oaries2	0.460
RatRev	0.31	RatRev	0.32	0.32	0.30	0.000	<i>Rat4</i>	0.150
Eeuropa2	0.50	Eeuropa2	0.51	0.51	0.70	0.800	Eeuropa2	0.800
Mminutus1	0.08	Mminutus1	0.10	0.10	0.15	0.130	Mminutus1	0.130
G Pig 2	0.50	G Pig 2	0.80	0.80	0.13	0.150	G Pig 2	0.150
Badger 3	0.50	Badger 3	0.53	0.53	0.53	0.530	Badger 3	0.530
Cat3	0.50	Cat3	0.55	0.55	0.65	0.470	Cat3	0.470
HouseMous2	0.50	HouseMous2	0.55	0.55	0.65	0.800	HouseMous2	0.800
Ocunic1	0.60	Ocunic1	0.80	0.80	0.12	0.150	Ocunic1	0.150
Rnorv2	0.15	Rnorv2	0.13	0.13	0.12	0.140	Rnorv2	0.140
Ocunic3	0.50	Ocunic3	0.50	0.50	0.42	0.420	Ocunic3	0.420
Fox3	0.21	Fox3	0.21	0.21	0.21	0.250	Fox3	0.250
Scrofa1	0.08	Scrofa1	0.06	0.06	0.03	0.040	Scrofa1	0.040
Horse3	0.30	Horse3	0.23	0.23	0.25	0.260	Horse3	0.260
Sscrofa2	0.30	Sscrofa2	0.21	0.21	0.40	0.400	Sscrofa2	0.400
Dog4	0.35	Dog4	0.40	0.40	0.6	0.000	<i>Dog6</i>	0.300
Human Nath	0.10	Human Nath	0.10	0.10	0.05	0.080	Human Nath	0.080
Badger2	0.60	Badger2	1.00	1.00	0.13	0.135	Badger2	0.135
Chircus1	0.33	Chircus1	0.33	0.33	0.31	0.310	Chircus1	0.310
Hsapien1	0.40	<i>Hsapien2</i>	0.30	0.30	0.15	0.150	<i>Hsapien2</i>	0.150
Cow Nath	0.30	Cow Nath	0.30	0.30	0.30	0.300	Cow Nath	0.300
Dog Nath	0.40	Dog Nath	0.30	0.30	0.15	0.200	Dog Nath	0.200
Chircus2	0.50	Chircus2	0.70	0.70	0.10	0.850	Chircus2	0.850
Ecab2	0.31	Ecab2	0.17	0.17	0.17	0.180	Ecab2	0.180
Sheep 3	0.20	<i>Sheep 3 Rev</i>	0.20	0.20	0.19	0.210	<i>Sheep 3 Rev</i>	0.210
Easinus2	0.30	Easinus2	0.30	0.30	0.15	0.150	Easinus2	0.150
Donkey 3	0.30	Donkey 3	0.30	0.30	0.15	0.150	Donkey 3	0.150
Harvest M2	0.40	Harvest M2	0.20	0.20	0.40	0.370	Harvest M2	0.370
House Mouse 1	0.35	House Mouse 1	0.20	0.20	0.15	0.180	House Mouse 1	0.180
Celaph1	0.00	Celaph1	0.30	0.10	0.05	0.080	Celaph1	0.080
RD Case 2	0.00	RD Case 2	0.30	0.30	0.23	0.230	RD Case 2	0.230
Eeuropa1	0.60	Eeuropa1	0.80	0.80	1.50	0.000	<i>Hedgehog3</i>	0.300
DNA	1.00	DNA	1.00	1.00	1.00	1.000	DNA	1.000
Water	1.12	Water	-0.36	-0.16	2.64	3.845	Water	3.395

Table A7.5: New multiplex begun after quantification of DNA at AFDIL. All values are in μL . 0.01 μL equates to 5 nM final concentration from the 10 mM stock of primers. Bold values indicate 100 mM primer stock was used.

Multiplex Revision Number							
Primer	15	16	17	18	19	20	21
Taq	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
dNTPs	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Buffer	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Universal 1	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Universal 2	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Universal 3 Rev	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
Btaurus2	0.370	0.350	0.290	0.290	0.250	0.250	0.230
GPig3	0.900	0.100	0.110	0.120	0.100	0.130	2.000
Cat4	0.350	0.400	0.375	0.375	0.375	0.375	0.376
Fox4	0.150	0.148	0.146	0.146	0.147	0.147	0.149
Oaries2	0.500	0.520	0.520	0.520	0.520	0.520	0.520
Rat4	0.300	0.210	0.210	0.208	0.190	0.190	0.194
Europa2	0.900	0.750	0.730	0.740	0.745	0.755	0.755
Mminusus1	0.100	0.080	0.080	0.080	0.085	0.085	0.075
G Pig 2	0.100	0.135	0.120	0.100	0.000	0.140	0.200
Badger 3	0.520	0.490	0.470	0.450	0.420	0.420	0.390
Cat3	0.500	0.550	0.545	0.545	0.545	0.545	0.550
HouseMous2	0.700	0.630	0.500	0.490	0.440	0.440	0.460
Ocunic1	0.150	0.100	0.125	0.130	0.100	0.100	0.110
Rnorv2	0.145	0.144	0.144	0.142	0.140	0.140	0.135
Ocunic3	0.400	0.420	0.500	0.490	0.490	0.490	0.430
Fox3	0.230	0.200	0.160	0.159	0.160	0.160	0.157
Scrofa1	0.055	0.057	0.056	0.056	0.056	0.054	0.053
Horse3	0.250	0.220	0.240	0.280	0.260	0.260	0.250
Sscrofa2	0.390	0.370	0.365	0.365	0.361	0.360	0.357
Dog6	0.500	0.700	0.900	0.130	0.000	0.120	1.740
Human Nath	0.080	0.083	0.082	0.083	0.082	0.082	0.082
Badger2	0.125	0.140	0.130	0.128	0.126	0.126	1.250
Chircus1	0.305	0.300	0.295	0.300	0.300	0.300	0.280
Hsapien2	0.145	0.145	0.146	0.147	0.146	0.146	0.142
Cow Nath	0.310	0.300	0.305	0.307	0.307	0.307	0.295
Dog Nath	0.150	0.165	0.160	0.159	0.160	0.159	0.158
Chircus2	0.880	0.700	0.695	0.688	0.688	0.688	0.695
Ecab2	0.185	0.185	0.190	0.210	0.240	0.240	0.245
Sheep 3 Rev	0.270	0.290	0.310	0.300	0.305	0.310	0.315
Easinus2	0.150	0.200	0.150	0.150	0.000	0.270	0.230
Donkey 3	0.150	0.200	0.150	0.150	0.000	0.260	0.200
Harevest M2	0.350	0.320	0.310	0.300	0.277	0.277	0.245
House Mouse 1	0.185	0.185	0.183	0.181	0.180	0.180	0.177
Celaph1	0.075	0.070	0.063	0.066	0.069	0.069	0.069
RD Case 2	0.150	0.153	0.155	0.156	0.160	0.160	0.165
Hedgehog4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.150	0.000
DNA	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Water	2.780	3.790	3.891	4.659	5.375	4.394	0.121

Table A7.6: New multiplex begun after quantification of DNA at AFDIL. All values are in μL . 0.01 μL equates to 5 nM final concentration from the 10 mM stock of primers. Bold values indicate 100 mM primer stock was used. The green highlight on revision number 28 indicates that it is the final revision and that those concentrations will be used for all validation testing.

Multiplex Revision Number							
Primer	22	23	24	25	26	27	28
Taq	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300
dNTPs	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Buffer	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Universal 1	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Universal 2	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Universal 3 Rev	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
Btaurus2	0.230	0.231	0.240	0.240	0.240	0.240	0.240
GPig3	0.200	0.200	0.150	0.140	0.130	0.120	0.120
Cat4	0.376	0.371	0.376	0.376	0.376	0.375	0.375
Fox4	0.149	0.148	0.151	0.165	0.173	0.183	0.183
Oaries2	0.520	0.520	0.520	0.535	0.550	0.520	0.520
Rat4	0.194	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200	0.200
Europa2	0.755	0.200	0.765	0.765	0.765	0.765	0.765
Mminutus1	0.075	0.075	0.080	0.082	0.081	0.082	0.081
G Pig 2	0.200	0.200	0.150	0.140	0.130	0.120	0.130
Badger 3	0.390	0.380	0.380	0.375	0.375	0.373	0.373
Cat3	0.550	0.551	0.650	0.700	0.700	0.070	0.070
HouseMous2	0.460	0.451	0.480	0.450	0.465	0.468	0.468
Ocunic1	0.110	0.800	0.150	0.160	0.140	0.080	0.130
Rnorv2	0.135	0.125	0.135	0.131	0.128	0.124	0.124
Ocunic3	0.430	0.474	0.430	0.430	0.430	0.470	0.450
Fox3	0.157	0.158	0.155	0.155	0.156	0.156	0.156
Scrofa1	0.053	0.055	0.053	0.053	0.053	0.053	0.053
Horse3	0.250	0.240	0.280	0.262	0.245	0.220	0.220
Sscrofa2	0.357	0.350	0.357	0.357	0.357	0.354	0.354
Dog6	1.740	0.174	0.150	0.140	0.150	0.150	0.150
Human Nath	0.082	0.080	0.080	0.080	0.078	0.078	0.078
Badger2	1.250	0.124	0.115	0.110	0.110	0.108	0.108
Chircus1	0.280	0.289	0.280	0.278	0.280	0.279	0.279
Hsapien2	0.142	0.140	0.142	0.142	0.142	0.142	0.142
Cow Nath	0.295	0.306	0.300	0.300	0.301	0.301	0.301
Dog Nath	0.158	0.151	0.158	0.158	0.158	0.155	0.155
Chircus2	0.695	0.696	0.700	0.700	0.700	0.702	0.702
Ecab2	0.245	0.245	0.265	0.266	0.267	0.267	0.267
Sheep 3 Rev	0.315	0.311	0.320	0.317	0.307	0.250	0.225
Easinus2	0.230	0.251	0.220	0.210	0.207	0.200	0.200
Donkey 3	0.200	0.220	0.220	0.221	0.223	0.223	0.223
Harevest M2	0.245	0.269	0.245	0.245	0.246	0.246	0.246
House Mouse 1	0.177	0.174	0.177	0.165	0.160	0.152	0.148
Celaph1	0.069	0.069	0.064	0.064	0.062	0.063	0.062
RD Case 2	0.165	0.160	0.165	0.168	0.169	0.170	0.170
Hedgehog4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
DNA	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Water	1.921	4.412	4.497	4.520	4.546	5.341	5.331