

```

>hg18_knownGene_uc001pyp.1 range=chr11:122433310-122438154 5'pad=0
3'pad=0 strand=- repeatMasking=none
tattggccggggaagccgtaatggcaggcagcagggcgggcccttctggaaggttctaagatagggtta
taagaggcaggggtggcgggcggaaccgggATGTCCAAGGGACCTGCAGTTGGTATTGATCTTGGCACCA
CCTACTCTTGTGTGGGTGTTTTCCAGCACGGAAAAAGTCGAGATAATTGCCAATGATCAGGGAAACCGAAC
CACTCCAAGCTATGTGCGCTTTACGGACACTGAACGGTTGATCGGTGATGCCGCAAAGAATCAAGTTGCA
ATGAACCCACCAACACAGTTTTTGgtgagttcctaatttttaaatgacagaacaaatataacagggctag
gaagcacaaaagtttatgaaacgtgaggagggaaactttttgattttagaaaaactgagctgagagacttg
ttatcaagtcctgttataaaacaggttgtagaaacctttcaggctgaaatctggataacgtaggaggttga
agtttgaacctttgctacctatatggtagttgaattcacctacctatgaactgttaggtatttgagtaaat
catggacttgagttttatcagaagagctatgaaattgaaagtgttttcatttgacaccttttacagATGC
CAAACGTCTGATTGGACGCAGATTTGATGATGCTGTTGTCCAGTCTGATATGAAACATTGGCCCTTTATG
GTGGTGAATGATGCTGGCAGGCCCAAGGTCCAAGTAGAATACAAGGGAGAGACCAAAGCTTCTATCCAG
AGGAGGTGTCTTCTATGGTTCTGACAAAAGATGAAGGAAATTGCAGAAGCCTACCTTGGGAAGgtgaggtt
ggtttttcagtatggggtgcattccggagtagttaaagcccgatgactcccgggggcactggcacctgg
cgagggaggggaacagatggggctcagctcagggttaagaccacgtgcccaacagtgccttaggctctct
aggtagatgggtctgtcaacaccagaaaccagtgaatcttgacaattacacagtaatttacattttgggtg
gggggggtgctccagctgttctttcaccagcattaatccatttgctggagtttgcatatatgtaagtata
atagttaccaatctgtggtcttttcttattccttagACTGTTACCAATGCTGTGGTCACAGTGCCAGCTT
ACTTTAATGACTCTCAGCGTCAGGCTACCAAAAGATGCTGGAACATTGCTGGTCTCAATGTACTTAGAAT
TATTAATGAGCCAACTGCTGCTGCTATTGCTTACGGCTTAGACAAAAAGgtatgtaccattttgtgatgca
agttcgggattattttaagattaatttgatccatcgtaaatttaaatgagattgtttttaacggcagGTTG
GAGCAGAAAGAAACGTGCTCATCTTTGACCTGGGAGGTGGCACTTTTGATGTGTCAATCCTCACTATTGA
GGATGGAATCTTTGAGGTCAAGTCTACAGCTGGAGACACCCACTTGGGTGGAGAAGATTTTGACAACCGA
ATGGTCAACCATTTTATTGCTGAGTTTAAAGCGCAAGCATAAGAAGGACATCAGTGAGAACAAGAGAGCTG
TAAGACGCCTCCGTACTGCTTGTGAACGTGCTAAGCGTACCCTCTCTTCCAGCACCCAGGCCAGTATTGA
GATCGATTCTCTCTATGAAGGAATCGACTTCTATACCTCCATTACCCGTGCCCGATTTGAAGAAGTGAAT
GCTGACCTGTTCCGTGGCACCCCTGGACCCAGTAGAGAAAAGCCCTTCGAGATGCCAAACTAGACAAGTCAC
AGATTTCATGATATTGTCTCGTTGGTGGTTCTACTCGTATCCCCAAGATTTCAGAAGCTTCTCCAAGACTT
CTTCAATGGAAAAAGAACTGAATAAGAGCATCAACCCCTGATGAAGCTGTTGCTTATGGTGCAGgtaacaat
ggatatctcaattaaccctaaaggcaggcaggcccaaggtgactcgctgtgatgagtgattgttaaacatt
cgtagtttccacaaaaagccttggtcaatgatggcaacaccttccttggtatgtctgagcgagtgatagtta
aaacaggagctatgtactgggttttcttttaacttcttttaacgttaactttttgtttgctagCTGTCCA
GGCAGCCATCTTGTCTGGAGACAAGTCTGAGAATGTTCAAGATTTGCTGCTCTTGGATGTCACTCCTCTT
TCCCTTGGTATTGAAACTGCTGGTGGAGTCATGACTGTCCTCATCAAGCGTAATACCACCATTCTTACCA
AGCAGACACAGACCTTCACTACCTATTCTGACAACCAGCCTGGTGTGCTTATTTCAGgtatgtttctgtac
ttctctgtttggcttactgataaacagataaagggaagtcttgactgactcgctatgatgatggattcca
aaaccattcgtagtttccaccagaaagtcttatgttggccagttccttccttggtatgtttgagcgaccat
tcttccttagcaggaccctagcactgtcacagacctggagtccattgtagtaatttgttttatttcctac
caagGTTTATGAAGGCGAGCGTGCCATGACAAAGGATAACAACCTGCTTGGCAAGTTTGAACTCAC
AGgcataacctcctgcacccccgaggtgttcctcagattgaagtcacttttgacattgatgccaatgggata
ctcaatgtctctgctgtggacaagagtagcggaagagagaacaagattactatcactaatgacaagggtta
aggaggcactgtcatctggtccttgacagggataatgggtatttcaattgagttactggtgcctaaggcggt
ctagctaagagaaaactagagttacacatacacaggtaatttaaggcctttacttagagtttaatttctttc
ctaggccgtttgagcaaggaagacattgaacgtatggtccaggaagctgagaagtacaaagctgaagatg
agaagcagaggggacaaggtgtcatccaagaattcacttgagtcctatgccttcaacatgaaagcaactgt
tgaagatgagaaacttcaaggcaagattaacgatgaggacaaacagaagattctggacaagtgtaatgaa
attatcaactggcttgataagaatcaggtttgtgtttttttttttttttttttttttttttttttttttttt
ggggaagggggttggtaaaccaagccttgagctgtgatttcagtgtagggtcacaatgatgaatgggtccaaaa
cattcgcggtttccaccagaattcaaggtgttggaactaccttccttggtatgtctgagtgacccaagat
gttaaggaagaataaggccctatttttaattgttggtagtgccctcttgtaagagtttgccagactttt
agtatcagattgcgtcagggagaaagaagggttattaacattaaaagaacttgagtaattccttttttct
cttcctcagactgctgagaaggaagaatttgaacatcaacagaaagagctggagaaagtttgcaacccca
tcatcaccaagctgtaccagagtgcaggagGCATGCCAGGAGGAATGCCTGGGGGATTTCTCGGTGGTGG
AGCTCCTCCCTCTGGTGGTGCTTCCTCAGGGCCACCATTGAAGAGGTTGATTAAcaattgctttg
agtctttaataatctcccaggccagctggtgggagaagtaggcttaggtgattatgtgactcttacttt
ctccttcctcttaagcttg

```

51 + 91 = 142pb (produto esperado)

```

>hg18_knownGene_uc001pyo.1 range=chr11:122433310-122438154 5'pad=0
3'pad=0 strand=- repeatMasking=none
tattggccggggaagccgtaatggcaggcagcagggcgggcccttctggaaggttctaagatagggta
taagaggcaggggtggcgggcggaacccggtATGTCCAAGGGACCTGCAGTTGGTATTGATCTTGGCACCA
CCTACTCTTGTGTGGGTGTTTTCCAGCACGGAAAAAGTCGAGATAATTGCCAATGATCAGGGAAACCGAAC
CACTCCAAGCTATGTGCGCTTTACGGACACTGAACGGTTGATCGGTGATGCCGCAAAGAATCAAGTTGCA
ATGAACCCACCAACACAGTTTTTGgtgagttcctaatttttaaatgacagaacaaatataacagggctag
gaagcacaaaagtttatgaaacgtgaggagggaaactttttgattttagaaaaactgagctgagagacttg
ttatcaagtcctgttataaaacaggttgtagaaacctttcaggctgaaatctggataacgtaggaggttga
agtttgaacctttgctacctatatggtagttgaattcacctacctatgaactgttaggtatttgagtaaat
catggacttgagttttatcagaagagctatgaaattgaaagtgttttcatttgacaccttttacagATGC
CAAACGTCTGATTGGACGCAGATTTGATGATGCTGTTGTCCAGTCTGATATGAAACATTGGCCCTTTATG
GTGGTGAATGATGCTGGCAGGCCCAAGGTCCAAGTAGAATACAAGGGAGAGACCAAAGCTTCTATCCAG
AGGAGGTGCTTCTATGGTTCTGACAAAAGATGAAGGAAATTGCAGAAGCCTACCTTGGGAAGgtgaggtt
ggtttttcagtatggggtgcattccggagtagttaaagcccgatgactcccgggggcactggcacctgg
cgagggaggggaacagatggggctcagctcaggggttaagaccacgtgcccaacagtgccttaggctctct
aggtagatgggtctgtcaacaccagaaaccagtgaatcttgacaattacacagtaatttacattttgggtg
gggggggtgctccagctgttctttcaccagcattaatccatttgctggagtttgcatatatgtaagtata
atagttaccaatctgtggtcttttcttatttccctagACTGTTACCAATGCTGTGGTCACAGTGCCAGCTT
ACTTTAATGACTCTCAGCGTCAGGCTACCAAAGATGCTGGAACATTGCTGGTCTCAATGTACTTAGAAT
TATTAATGAGCCAACTGCTGCTGCTATTGCTTACGGCTTAGACAAAAAGgtatgtaccattttgtgatgca
agttcggattattttaagattaatttgatccatcgtaaatttaaatgagattgtttttaacggcagGTTG
GAGCAGAAAGAAACGTGCTCATCTTTGACCTGGGAGGTGGCACTTTTGATGTGTCAATCCTCACTATTGA
GGATGGAATCTTTGAGGTCAAGTCTACAGCTGGAGACACCCACTTGGGTGGAGAAGATTTTGACAACCGA
ATGGTCAACCATTTTATTGCTGAGTTTAAAGCGCAAGCATAAGAAGGACATCAGTGAGAACAAGAGAGCTG
TAAGACGCCTCCGTACTGCTTGTGAACGTGCTAAGCGTACCCTCTCTTCCAGCACCCAGGCCAGTATTGA
GATCGATTCTCTCTATGAAGGAATCGACTTCTATACCTCCATTACCCGTGCCCGATTTGAAGAAGTGAAT
GCTGACCTGTTCGTGGCACCCCTGGACCCAGTAGAGAAAAGCCCTTCGAGATGCCAAACTAGACAAGTCAC
AGATTTCATGATATTGTCTCGTTGGTGGTGTCTACTCGTATCCCCAAGATTTCAGAAGCTTCTCCAAGACTT
CTTCAATGGAAAAAGAACTGAATAAGAGCATCAACCCCTGATGAAGCTGTTGCTTATGGTGCAGgtaacaat
ggatatctcaattaaccctaagggcagggcagggcccaaggtgactcgctgtgatgagtgattgttaaacatt
cgtagtttccacaaaaagccttggtcaatgatggcaacaccttccttggtgctctgagcgagtgatagtta
aaacaggagctatgtactgggttttcttttaacttcttttaacgttaactttttgtttgctagCTGTCCA
GGCAGCCATCTTGTCTGGAGACAAGTCTGAGAATGTTCAAGATTTGCTGCTCTTGGATGTCACTCCTCTT
TCCCTTGGTATTGAAACTGCTGGTGGAGTCATGACTGTCTCATCAAGCGTAATACCACCATTCTTACCA
AGCAGACACAGACCTTCACTACCTATTCTGACAACCAGCCTGGTGTGCTTATTTCAGgtatgtttctgtac
ttctctgtttggcttactgataacagataaagggaaagtcttgactgactcgctatgatgatggattcca
aaaccattcgtagtttccaccagaaagtcttatgttggccagttccttccttggtatgtttgagcgaccat
tcttccttagcaggaccctagcactgtcacagacctggagtccattgtagtaatttgttttatttcctac
caagGTTTATGAAGGCGAGCGTGCCATGACAAAGGATAACAACCTGCTTGGCAAGTTTGAACTCAC
AGGCATACCTCCTGCACCCCCGAGGTGTTCCCTCAGATTGAAGTCACTTTTGACATTGATGCCAATGGTATA
CTCAATGTCTCTGCTGTGGACAAGAGTACGGGAAAAAGAGAACAAGATTACTATCACTAATGACAAGGgta
aggaggcactgtcatctggtcttgacagggataatggtatttcaattgagttactggtgcctaagggcgt
ctagctaagagaaactagagttacacatacacaggtaatttaaggccttttacttagagtttaatttccttc
ctagGCCGTTTGAGCAAGGAAGACATTGAACGTATGGTCCAGGAAGCTGAGAAGTACAAAGCTGAAGATG
AGAAGCAGAGGGACAAGGTGTATCCAAGAATTCACTTGAGTCCATATGCCTTCAACATGAAAGCAACTGT
TGAAGATGAGAACTTCAAGGCAAGATTAACGATGAGGACAAACAGAAGATTCTGGACAAGTGTAAATGAA
ATTATCAACTGGCTTGATAAGAATCAGgtttgtgttttttttttttttttttttttttttccctcccccactcaatgga
gggggaaggggatggtaaaaccaagccttgagctggatttcagtgtagggtcacaatgatgaatgggtccaaaa
cattcgcggtttccaccagaattcaaggtgttggaactaccttccttggtatgtctgagtgacccaagat
gttaaggaagaataagggcctatttttaattgttggtagtgccctcttgtaagagtttgccgcagactttt
agtatcagattgcgtcagggagaaagaaggggttattaacattaaaagaacttgacgtaatttcctttttct
cttcctcagACTGCTGAGAAGGAAGAATTTGAACATCAACAGAAAGAGCTGGAGAAAGTTTGCAACCCCA
TCATACCAAGCTGTACCAGAGTGCAGGAGGCATGCCAGGAGGAATGCCTGGGGGATTTCTGGTGGTGG
AGCTCCTCCCTCTGGTGGTGGTTCCTCAGGGCCCAACCATTGAAGAGGTTGATTAAcaattgctttg
agtcttttaataatctcccaggccagctggtggggagaagtaggcttaggtgattatgtgactcttacttt
ctccttcctcttaagccttg

```

186 + 233 + 182 = 601pb (produto esperado)

Primer Forward: AGCGTGCCATGACAAAGGAT

Primer Reverse: GGGTGGTAACTTCTCCAAC

$$T_M = 2 \cdot (10) + 4 \cdot (10) = 20 + 40 = 60^{\circ}\text{C}$$

$$T_{\text{Anelamento}} = 60^{\circ}\text{C} - 4^{\circ}\text{C} = 56^{\circ}\text{C}$$