

€D• , f „ A2(PLA2G2D)...† ‡ ^ %o

(Š< Œ• Lumi nexŽ• • ' ' ")

" • _ _ ~ ™§

> • œ• ž

Ÿ | €E¤> • ¥| • §" ©ª «!

↵ - ®

[̂ ° ± •]

² ‡ ^ %o³ • ´ μ j ' ' " ¶ · † ¶ ™š , ¹ ° , » ° • ¼½» ° ¾¿ ÀÁÂ° ¾¿ ÃÄÅ¹ ÆÇÈÉÊ— —Ā
 ĩ È PLA2G2Dĭ · Í

[‡ ^ %oĬ Ĩ]

‡ ^ ĘÑ	Ò·	‡ ^ ĘÑ	Ò·
96ÓÔÕÖ×ØÙ	1	96ÓÔÚÛ	4
ÜÝÞ	2	ÜÝÞßàĀ	1á 20mL
Šā	1	ā ä å æĀ	1á 20mL
...† ç ĀĀ	1á 120èL	...† ßà ĀĀ	1á 12mL
...† ç ĀBŒPE-SAÛ	1á 120èL	...† ßà ĀB	1á 12mL
éĀ	1á 10mL	êëì ĀŒ30á Û	1á 20mL
> • œ• ž	1		

[Ĩ Ĩ Ĩ ŒñĨ ò‡ ^]

1° Lumi nex MAGPI Xó¥ Lumi nex 100ó¥ Lumi nex

200ó¥ ÆBi o-Radó, Bi o-Pl exóā ä ö Œö ÷ ö ø> • ù ú ù ¯ ù , ù ý þ î ...ÿ Ý Û

2° Ž Æ Œ Āø ò

3° ßà ÞŒEP .

4° Æ •

5° Š

6° èĀđĭ ø

7° 0.01mol /LŒÆ1á Û, á æ (PBS)¥pH=7.0-7.2

8° ø

9° „ ÜŒ ø

[‡ ^ %oŒ ò °]

1° ð ± ^ % ~ ± ^ ! ± ^ " Ü # Å \$ % Í & ' (¥) * ± ^ % + & , - . Ü Ý Þ ° ... † Ç Å Á
 ° ... † Ç Å B / ò % Ó Ô % § - 200 Ç ¥ Ç 1 ± ^ & 2 § 40 Ç % ï • Í
 2° > • + ð ± ^ % ~ 3 1 ± ^ 4 í ! 5 ± ^ " Ü # \$ ð 6 7 % Í
 ' (~
 ± ^ % ï „ Ü 8 9 : ; ¥ ! < = í > 9 ã ? > • @ > • + ð 3 1 ± ^ % ö ÷ A B ? < = + 1 C D Í > • E F Í G
 P H ° I J / % • Å ð Ü # K Ý ¥ % L ° Í • ã M N % O P ¶ ð Í

[Ü² ð QRS %]

„ 1 ~ .) R S „ 1 ã È ð T „ Ü² A U 6 2 2™ I Æ 4 O C H V ¥ W + 1,000 á g ' 20 ã X ¥ Y Å¹ Z 9 ¥
 . Å¹ 2 § - 200 Ç Æ - 800 Ç % ¥ [\] ^ _ ` Í
 „ » ~ • E D T A Æ a b c K µ d ^ Q R Ü² ¥ ü . Ü² A Q R + ð 30 ã X Í § 2 - 80 Ç 1,000 á g ' 15 ã X ¥ Y Å¹
 Z 9 ... † ¥ Æ . Å¹ 2 § - 200 Ç Æ - 800 Ç % ¥ [\] ^ _ ` Í
 • ¼ ½ » ~ | e f g ð • ¼ h ï ½ » ð i " j | e
 1 Ü Y " . • ¼ k ¥ A ~ I P B S Õ 0.01 mol / L ¥ pH = 7.0 - 7.2 Ü È¹ è m „ Å ¥ ½ » ù n Ñ o Í
 2 Ü . • ¼ p q T M k ¥ ½ ð r 2 A s Å ð t u v Å Å ã æ Å (w x I S 007 ¥ ± y z { Ü | x ð } ¾ ¿ ¶ ~ •
 € | e f g ð á æ Å) ð • , L ø È Õ Æ T M ð • ¼ f „ ... † Ü Í Õ L • | ± ^ = 1 : 20 - 1 : 50 ¥ % ... ~ 1 mL Å Å ã
 æ Å È Š r 20 - 50 mg • ¼ ² Í Ü
 3 Ü . < * ð Æ • Å Ž H • • ' ' " " 1 Í
 4 Ü . h ï p ð ½ » Å 10,000 á g ' 5 ã X ¥ • — — ¥ Å¹ Z 9 • § ... † Æ 2 § - 200 Ç ~ % Í
 ¾ ¿ Å Å Å¹ Æ Ç È — Ü² ~ & 1,000 á g ' 20 ã X ¥ Y Å¹ Z 9 ... † ¥ Æ . Å¹ 2 § - 200 Ç Æ - 800 Ç % ¥
 [\] ^ _ ` Í
 ' (~
 1° / Å Ü² í ™ % ¥ 40 Ç % ™ § 1 § ¥ - 200 Ç | • H 1 C D ¥ - 800 Ç | • H 2 C D Í
 2° Ü² > æ ç „ j • ž Ÿ + ... † | ¥ • † ç „ Ü² | Ç E æ † ¥ ... † Í
 3° Ü² > • ù ± á | § " U 6 ¥ | ± Š ù > " ` Á Í
 4° © §ª † Ò z ¥ « ¬ - ® > • „ 1 ~ | O „ » c K ² E æ ... † Í

[Lumi nex200 ã ä ö]

1. ã ä j ± ~ 50 u L @
2. Ç • f g ~ Š â Mag P l e x ;
3. ° Š â • ~ 50 ± / ² ;
4. M F I ³ ~ M e d i a n .

[± ^ Ý ï]

1° > • ù . ð ± ^ ý Ü² á | § " U 6 Õ 18 - 250 Ç Ü ¥ ... | ´ ± ^ % A - µ I J Í | ¶ > • ¥ & Ý Y > ²
 ? ± = í ð „ Ü 8 ý ± ^ ¥ ü . 3 1 ð „ Ü 8 ð ± ^ ! • ¶ 8 „ % Í
 2° Ü Ý Þ (_ ¹ Þ) ~ ° " Ü Ý Þ Š r Ü Ý Þ B à Å 0.5 mL ¥ » p + U 6 ¼ 2ª ½ 10 ã X ¥ e I ¾ ¾ ¿ Å Õ [\ Á
 Å Ù ¥ Ç ê 7 K 2000.0 pg/mL Í Ý ï 7 C B à Ü Ý Þ ð E P ¥ ° C E P È Š r 300 Å L ð Ü Ý Þ B à Å ¥ ... Ä \$
 y ? Å ^ B à q 2000.0 pg/mL, 500.0 pg/mL, 125.0 pg/mL, 31.25 pg/mL, 7.81 pg/mL, 1.95 pg/mL, 0.49 pg/mL ¥
 Ü Ý Þ B à Å (0 pg/mL) Æ Ç c K Ö × Ó Í K % È < = | < ¥ ° ? < = & > • u ð Ü Ý Þ ç Å Í

item	1	2	3	4	5	6	7	Tube
PLA2G2D	2000.0	500.0	125.0	31.25	7.81	1.95	0	pg/mL

3° ...† ç ÂÀò...† ç ÂB̄ Detection A òDetection BA> • ù&• É Ê Ë ~ Æ Ì Í ' ' ' ¥ / > Î Ï A Ð Æ" » ð Â ĵ - ‡ * Ñ Í " • ù ã Ò / ...† Ñ à Â Æ B 1:100 Ñ à (... ~ 10 Æ L...† ç Â Æ / 990 Æ L...† Ñ à Â Æ) ¥ Ó ã Ô ½ ¥ Ñ à ù Ò z ~ ñ Ò x p ð ° ? < = í ð ° • Ø h (100 Æ L / Ó) ¥ < Û Ø h ĩ ± Ø h 0.1-0.2 mL Í

4° è è ì Â ~ 580 mL Æ • Š r 20 mL è ì Â Ò 30 á Û Ñ à " 600 mL" Ú c Â è 7 Í ' (~

1° Ü Ý Þ ð Ñ à | ¶ Æ Ç A Ô Ë Ë ð Í

2° Ü Ý Þ & § " • ù 15 ä X Í Ø h Í ' Ü Ý Þ Û ¶ > • - ? Í

3° Ü Ý Þ ° ...† ç Â Æ Ú c Â ° ...† ç Â Ñ Û c Â & > • É ± ð Ñ à Â Ø h ¥ Ñ à Â | ¶ Ô • Í • Â Û ¾ ¾ Ý Þ Ó ã Ô ½ ¥ [\ Á Â Í K % È < = ĵ ð Ý Ñ < & > • Æ • ¥ ù Ý Æ • Â Ø Í & y z í ð • Ñ Ø h ¥ , • | „ > • Æ • Ø h ð ĩ " Ò ... Y ...† ç Â Æ ĩ ¥ - ? | „ ™ § 10 Æ L Û ¥ / [\ à q ê 7 á á Í

4° & ã o ^ > • ä Ž Ñ à H ð Ü Ý Þ ° ...† ç Â Æ Ú c Â ÿ ...† ç Â Ñ Û c Â Í

5° è ì Â Ò 30 x Û È ... ä ä > ¥ & ñ 6 æ " U 6 ¥ ¾ ¾ Ô ½ ¥ " * ä E T ç Á ç Ë ð Ø h Í

6° ‡ ^ % Ë è ä ‡ ^ K Â ¥ é é ì Ø 2 q Ú c Â + > • ¥ A Ø 2 H è È 9 ¶ • K ĩ í L • â Æ L ĩ ĩ ¥ / ò < = È • ð ñ ð ĩ 7 á ¥ à q < = ĵ | Ý Ñ ¥ ó " E T ó á Í & > • ' Ø 2 Í

[Ü² ' ']

1° ² ð ö Û ÷ ‡ ^ % ² ø ù ú ¥ | ÷ • > • ' ‡ ^ % à q ð ² ù ð ù ú ¥ & > • ù > • ù Ó ä ý þ * ² ð 9 ¶ > • • ¥ ~ ý Ó ð ² Í

2° < = ù ± ñ ~ † ² È † - è 7 Í è 7 | A Ü Ý ð Í ĩ ¥ • è Ñ ¶ Ç ¶ < = ð Ý Þ Ñ à Â Ó Í ... ĵ Þ È † - è 7 H Æ H ¥ & ÷ ² ý " ð Ñ à Æ è Í ² Ñ à ĩ • Þ Ñ Í

3° ... ² | ĩ A œ • ž ² " È ¥ ö ÷ Ë ð ~ < = = È Ç < ¥ ù ' (ý ² Í

4° > • Â Â Â ħ ĩ ð • ¼ ½ » Æ ¾ ¾ ú Y Â 9 ¶ ĵ § - L ð r < = ĵ á Í

5° ² K ¾ ¾ Â Â Â ¹ ¥ • K ' f ² ¹ • b ¥ ... ~ ¾ ¾ ° ¾ ¾ Ò • ° Q ĩ J ¥ / 9 ¶ A ... † | > ð ! Í

6° " W | x Æ o • | x ¥ # \$ % ð & % o • | x ¥ 9 ¶ • K S ² G Þ > • ð ... † μ ĵ ò ' (μ ĵ |) Ø ¥ ~ | Ø ... † > Í

7° ö ÷ > • u v ² ¥ % ĩ J H * 9 ¶ ĵ • | x + Á Æ , < ~ < = ĵ á Í

[- c. /]

1° . < = Ô ð ° Ó Í Š r 200 ul ä ä ä æ Â • / ~ O ¥ 1 + A „ Ü Ò ø Æ U 6 2 10 ä X ¥ " + È ¹ Ó Í Â ĵ ¥ Z 9 • § Š - c Í

2° Š ~ ä ð ñ Ü Ý Ó ° † Þ Ó ° Ò x Ó Í ñ Ü Ý Ó 7 Ó ¥ y ? Š r 100 Æ L | e è 7 ð Ü Ý Þ Ò 3 ‡ ^ Ý ĩ 2 Û Í Ò x Ó Š 100 Æ L Ü Ý Þ Ñ à Â Ò 3 ‡ ^ Ý ĩ - 4. Ý + - Û ¥ 1 Ó Š † Þ Ò Æ Ñ à + ð Þ Û 100 Æ L ¥ ° Ó Š 10 ul Š ä ¥ „ Ü Ó Š Å Ú Û ¥ 370 C „ Ü Ò ø 6 æ 1.5 ™ ĩ ¥ Å 5 6 ñ 2 K 800 rpm ¥ 72-4mm ¥ 8 9 Š ä - + Í

3° Å Š ¥ 2 ä X + • Â ĵ ¥ Š % : ð ~ È ¹ ¥ | • è ĩ Í

4° ° Ó Š ...† ç Â Æ Ú c Â 100 Æ L Ò " • ù Ø h Û ¥ „ Ü Ò Ú Û ¥ 370 C „ Ü Ò ø 6 æ 1 ™ ĩ ¥ Å 5 6 ñ 2 K 800 rpm ¥ 72-4mm ¥ 8 9 Š ä - + Í

5° Å Š ¥ 2 ä X + • Â ĵ ¥ ° Ó • 200 Æ L ð è ì Â è ì ¥ ; Â 1-2 ä X ¥ • Ó Í Â ĵ Í o ^ è Ô 3 ? Í Ý + - ? è ĩ + ¥ Y Æ < > 31 ð è ĩ ä æ Â ¥ . „ Ü Ò < = A > Å ¥ . ? ý A Ó Í ð Â ĵ T è ¹ Í † H è f 9 ĩ Å Š è Ô @ Æ E q Í

6° mŠ ¥° ÓŠ...†çÂBÚcÂÕ¨ • ùØhÙ100ÃL¥, ÜÔÚÛ¥370C, ÜÔ ø630ãX¥ Å
56ñ2K800rpm¥ 72-4mm¥89Šâ - +Í

7° ÅŠ ¥2ãX+• Âj ¥° Ó• 200ÃLðëì Âëì ¥; Â1-2ãX¥• ÓÍ Âj í ëÖ3?¥i
" e. /5Í

8° mŠ ¥° ÓŠéÂ150ÃL¥ 2 2ãX¥> Æ• BÆC ¥Z 9Å@DÒÍ
' (~

1° ‡ ^ Ýì ~ Ýì - ? <= í „ ð „ Ü8¥ÇÈð9EÆÓÔÅ: ~ ¥™ ¥! 5œ• ž „ >% ¥/ì ~ ?
> • Í

2° Š ~ <=- cĚ&> • - ?< ðFG ¥[\î ï Í Š I ' (| „ HÂG-¥. ÞŠŠ „ ÜÖÑè
¥, • | I ðÓÐ¥¾¾J ÂÔ½Í S] ±† ^ Šr - ¥Š HèĚ - - CÓSÿ+ - CÓS I J J K,
• ™Ö- LMhA10ãX/Í Û¥...j Nª ¥. j | eðO 6æPI J ¥E - • QR• ž * †. ³ ðÝ
N< ðo ^ < Í KS†³ ðÝN< ¥- ®ñ2 ^ ÓE¤ <=Í

3° 6æ~ K89 Þ T¥<=I &. ŠÅ»ÆÚÛð „ ÜÔ2§O%Í ¥/[\Âj T¥ëÔ+±, - E¤
~ . - c¥UVI WM±[\ „ ÜÔ' §¹ X ¥eI ±YZ[\] ¶ð6æI J ý67Í

4° èì ~ Óãèì ^ _o „ ¥A° ?èì HèĚ¥M „ . èì ÂETÊ¹ Í ...j > • î ÂëÔ@¥&A` a > •
+ç• §bc <=HèĚÍ

5° ...j <=UÍ O7 §60%¥- ®> • ŠOøú O7 dí

[<=\$']

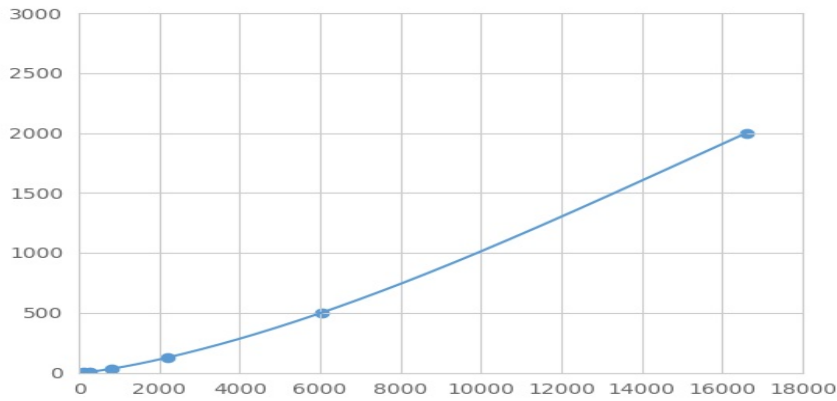
. PLA2G2Dµj Ø§Š< Æ• ef ¥hqgÉh_j ¥i Æ• ĚãÒŠr ÜÝÞÆÜ² ¥ÇĚ PLA2G2DSj Ç§g
Éh_j Åðµj k¥W+Šr - -b ðPLA2G2Dµj ¥A. kð - -b µj ëí +¥Šr PEÜI ðmý
b ¥PEøñT + ¥Öz MFI³ ÖMedian Fluorescence IntensityÜðª ™ÿ ÞĚð PLA2G2Dê 7BbÉÉÍ • Lu
minexã ä ö † ¶ ¥Öx Þê 7Í

[Öx]

oÜÝÞð ² MFI³ = mÖx ÓMFI³ + cÄÖpqÄÛ¥...ñ2 ^ Ó¥r ±YÇd ³ ÖxÍ / ÜÝÞðê 7
Kst ÜÖÆ÷ Òt ÜÜ¥MFI³ Kut ÜÖÆ÷ Òt ÜÜ¥v> ÜÝ Öÿ i ëc±ywx i ëÖxðR²³
A¶¥/R²³ yz { §1KpÜÍ - ®> • | } hc ~ , E¤ãã¥...curve expert 1.30¥Öz ÞMFI³ ¥
ÜÝ • > Ě±ðê 7¥€/BàÅÒ@Æ• ÜÝ - ðê 7SMFI³ Öx> ÜÝ ðwxi ëc¥. Þð
MFI³ • ri ëc¥Öx> Þê 7¥ç€/BàÅÒ¥ZK Þð<Üê 7Í

[,gÖz]

KSf§Öx¥, ê 7Kî , • ™ MFI³ K• , • ¥« -vÄI 4Q• ÜÝÞðMFI³ cKut ÜÖX „ Ü¥ÜÝ
Þðê 7Kst ÜÖY „ ÜÍ eI KS† = ; ðÆ...< ¥ÄĚú ðO\$†Öz - ^ ÷ Ò³ Í - ®> • ÷ Ò³ ö
†ÜÝ ÄÍ §<=- c8 „ ð| eÖ...- cü° Â ^ %° ëÔ ^ %ý678 „ Ü¥ÜÝ ðMFI³ j
ãŠÍ ú ðÜÝ Ý < ý¥<=úí „ Özî äð<=ö†ÜÝ Í



(€D• , f „ A2)...† ‡ ^ %ÜÝ

[...† _____]

1. 95-2000pg/mL.

[Ÿ ...†Æ]

†³ K20CÖx ÞÖZÜÝÞBàÂÛ†¶ðd ³ Š4ÅÜÝâ ÷±ðê7Í

[Š<]

² ‡ ^ %• § ...† PLA2G2D¥Ž ...† SÇÈÉ• —LŽ• O••] ±Í

§' * ^ %ò ² A' ðÆh¥| 9¶Eq ÉÊÆÉ• —L••] ±...†¥• †² ‡ ^ % 9¶S Ž...
† ðÇÈ—L ••] ±Í

[B™7]

B™7• Þ†¶³ ð, Š" ÒCve \$Í CVÖ%Ü = SD/meaná 100

" Î â ~ Ye" ? ‡ ^ %÷ ° È° ³ ¶³ ² £¤¶• ...†¥° • ² j —†¶20

?¥ãÒÖx| eê7 ² ðd ³ ðSD³ Í

" J â ~ • Y3C| e" ? ð ‡ ^ %ã Ò÷ ° È° ³ ¶³ ² £¤¶• †¶¥° C ² > • e - ‡ ^ %o ^ †

¶8?¥ãÒÖx| eê7 ² ðd ³ ðSD³ Í

" Î â ~ CV<10%

" J â ~ CV<12%

[P¶<]

Ž†¶¥‡ ^ %A ° Î — ! - @67% ¥~ < + 6. ™§5Í

K™™Çè• b÷ ‡ ^ %š > ù+...†³ ð• ž ¥< = Uðæ• 8, í , • %: - ¥ž ÇO< = UÍ 67° O

7ð6æ8, Í Ç? e - < = ÿA£¤ - c9™ | KáâÍ

[< = Çë]

1° < = ùÜÝÞ° ‡ ^ ð ² Ýi @

2° Š ÖÜÝÞÆ ² Û100ÃL¥ŠŠâ ¥37OC,, ÜÔ ø£æ1.5™ | @

3° Š Ê¹ ¥Š...† ÇÃA100ÃL¥37OC,, ÜÔ ø£æ1™ | @

- 4° Š ëÔ3?@
- 5° Š...† ç ÃB100ÃL¥37OC ÀEæ30ã X@
- 6° Š ëÔ3?@
- 7° ŠéÃ150ÃL¥ 2 2ã X+DÒÍ

[œ•]

- 1° Šœ 8, òœ ^% d¥| ¶ ÷ w| ú ð \$\$\$£¤Tfð''¶Sãä¥²GP9¶ A-¶ðL. ^%©ª Í
- 2° Ý«ð<= | S†^ð < ° <=üðÉÊ- c/ð<=œ•™pÉÊ¥&— Ýi Ó ðÜ²i • Í
- 3° |e" ?ðe- GP9¶j -âÒ¥...~ ...†É° - ®7¥&yz † ^%Í œ• ž £¤<=- c¥¯ ° ± • @œ• ž Ýc< ýÍ
- 4° ² † ^%Ø² † ^ Ø² > • ¥| ¶ Ó• Ç³ hà| ðGPÍ Û YZ[\² † ^%ð<=œ• ´j < * Ý ð...† | Í
- 5° A ò6æHëÉ[\. † ^µ¶A. ,ÉÍ † ^" » »¹/89 TÿÉ-—îi ¥• K|x Á „ ð¹ . †³ | ÝNÍ
- 6° ° » ð„ ¼ÔÔÓÉ9¶j - -L¥†Kb_œ½¥|j ÷ <= | àqUV• žÍ „ ÜÔA> • | E t¾¿Y> ¥&ãúùY> Í
- 7° Š- cü| `a° - cÃáÆðá• • DÒðëÁ M 9¶ òá | ðG-Í <=ù&Ã¾ÃDœ• žüÃ†ðøÍ
- 8° A ² hi /ð- cð° CHëÉð, M9¶ | eð<= | ¥ /KSú <= | ð9o^< ¥< =ð° - . - cMí „ YZMhÍ
- 9° † ^%A> Åù ŽHYZL...¥Æ Š³ Ç8, òo<=U8, áŠ¥9¶j àq<= | S> Å | | -Æ| e" ?† ^%" JâÉª ð ! Í
- 10° ² † ^% SÇ³ ÅÉef † ^%Æ| ei " ...te- { ð—ðGPý ÷ ^ ¥ /| Êm...† | | - ð ! Í
- 11° • Šhi † ^%Ëµj ð\É\$Ì _Ko• | x¥Æ Ši o• | x • YðÍ µ° eÍ " Í°i ic o | e¥ /«-Ž" %É´ † ^%9• ŠÇ³ ðöo• | xð...† ¥Í _«-f| ð ÷ > • † ^%...† o • | xÍ
- 12° &¯ Ð PÉ †—ðê7¥ÆüñÖ¯ <=N¶ P...† ê7Í Ñ ð' ' 9/89 ² É ...—| . • > † ^%...† Í
- 13° ´ † ^%9¶| " • Š- <=² ø < | N¶ð Ò<= Pð...† ¥%...¥©• Óm<= Í
- 14° ² - cœ• e " • Š48T† ^%Í
- 15° ´ † ^%Ý £¤> • ¥... Ç• Š'' ©ª «ÆUVÇ³ • Ô¥« ðö. | ÷ • † G-ðÖÖùú¥x| Ø ÛUV" ÚúUÍ

[ÖÖÁÛ]

ÖÖ	9¶\$•	ÁÛi Ý
ÜÝ á	ÜÝPÝi bN	£¤bNðÜÝP7Bà
	Yòèi Óã	Óãð Yòèi
	Â BN	...• ý b Âø

B™7	Š â è ì Ó ã	! œ • ž „ > Ó ã 2 è ì ý ; Â
	Ô ½ Ó ã ý Y † ^	Ó ã Ô ½ ý Y † ^
	o ^ B • ° ĩ ø ý Ú Û	> • Š ø „ à á u ð ° > • u ð ĩ ø ý Ú Û
	Š B N	... • ý b Â ø
MF I 3	° Ó Š ð † ^ • B N	b Â ø ¥ B N Š r † ^
	6 æ l J b N	% È Ó ð 6 æ l J
	6 æ 6 7 b N	† ^ „ d Š “ U 6 ü % È Ý N ð 6 æ 6 7
	PE Û I – Â	à á † ^
	PE Û I – ß à Å Ò ÷	! 5 œ • ž < = - c
	• > D Ò I J D Ò	A œ • ž - ® ð D Ò I J Î D Ò
2 3	b N ð ² i c	b N ² ¥ > • u v ² £ ¤ < =
	b N ð ²) R ý ' ' i “	Q Y b N ð ²) R ý ' ' i “
	† – L A ² È Ì .	> • u v ² ¥ o ^ < =