



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108456740 B

(45) 授权公告日 2021.07.27

(21) 申请号 201810176007.7

A01H 1/04 (2006.01)

(22) 申请日 2018.03.02

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 103789306 A, 2014.05.14

申请公布号 CN 108456740 A

CN 107619873 A, 2018.01.23

(43) 申请公布日 2018.08.28

Kenji Yano等.Chapter 17:introduction to GWAS and MutMap for identification of genes/QTL using next-generation sequencing.《Plant Macronutrient Use Efficiency》.2017,第307页倒数第2段、第315-317页、图17.3.

(73) 专利权人 江苏里下河地区农业科学研究所
地址 225007 江苏省扬州市扬子江北路568号

Hiroki Takagi等.MutMap-Gap:whole-genome resequencing of mutant F2 progeny bulk combined with de novo assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene Pii.《New Phytologist》.2013,第1-4页.

(72) 发明人 肖宁 李爱宏 吴云雨 余玲
戴正元 王志平 刘广青 潘存红
李育红 周长海 黄年生 张小祥
季红娟 蒋敏

审查员 罗洋

(74) 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任公司 32218

代理人 傅婷婷 夏平

(51) Int.Cl.

C12Q 1/6895 (2018.01)

C12N 15/11 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

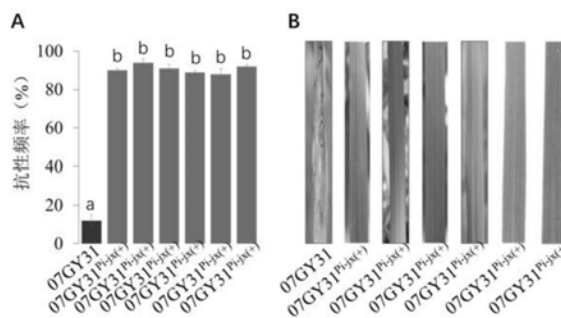
序列表1页 附图3页

(54) 发明名称

一个水稻稻瘟病抗性位点 ‘Pi-jx’ 及其 Indel 标记引物和育种应用

(57) 摘要

本发明公开了一个水稻稻瘟病抗性位点 ‘Pi-jx’ 及其 Indel 标记引物和育种应用。该发明利用自然品种作为定位群体,通过全基因组关联分析的方法在水稻第12号染色体上定位到一个新的稻瘟病抗病遗传位点 ‘Pi-jx’。在此基础上,利用基因组混合池Mutmap方法在抗病/感病品种 F₂ 分离群体中进一步验证 Pi-jx 位点的可靠性。最后,针对抗病位点附近基因组序列设计多态性 Indel 分子标记,通过分子标记辅助选择将 Pi-jx 导入到感病品种中,提高受体亲本稻瘟病抗性。本发明 Pi-jx 抗病位点的定位以及育种应用为培育稻瘟病广谱抗性品种提供了新的基因资源。



1. 稻瘟病抗病位点 'Pi-jx' 的Indel标记引物,其特征在于上游引物如SEQ ID NO.1所示,下游引物如SEQ ID NO.2所示。

2. 权利要求1所述的稻瘟病抗病位点 'Pi-jx' 的Indel标记引物在抗稻瘟病分子辅助育种中的应用。

一个水稻稻瘟病抗性位点‘Pi-jx’及其Indel标记引物和育种应用

技术领域

[0001] 本发明公开了一个水稻稻瘟病抗性位点‘Pi-jx’及其引物和育种应用,属于作物遗传育种技术领域。

背景技术

[0002] 稻瘟病是威胁世界水稻安全生产的最主要真菌类病害之一,全球每年由稻瘟病引起的稻谷减产达10%-30% (Skamnioti and Gurr 2009)。我国近年来稻瘟病在西南、长江中下游和东北等稻作区持续大爆发,给我国水稻安全生产带来了巨大危害 (Wu et al. 2016)。利用抗病基因、培育抗病品种是防治此类病害最为经济有效的方法。目前水稻中已鉴定了数目众多的抗病基因,但不同抗病基因间抗性效应存在较大差异,大多数抗病基因抗谱较窄。目前,已报道的广谱抗病基因,仅有Pi1、Pi2、Pi5、Piz、Pi9、Pizt、Pi33和Pigm。但是在实际生产应用中由于稻瘟病菌生理小种多,致病性分化、变异频繁,利用单一抗性基因培育的抗病品种往往应用较短时间便会快速“丧失”抗性而成为感病品种,例如Piz基因座的Pigm、Pi2、Pi9、Pizt等基因在多年应用后,抗性呈逐年下降趋势。因此,如何快速鉴别新的抗病基因,对培育抗病品种、保障水稻安全生产具有重要现实意义和实践应用价值。

[0003] 传统稻瘟病抗病位点的遗传鉴定是通过构建F₂、重组自交系等分离群体来定位目标基因,缺点是群体构建费时、作图精度低、成本高。GWAS是基于基因组测序的鉴定表型与基因型连锁关系的技术方法,可以直接利用自然群体快速定位目标基因,并且在高密度分子标记帮助下,可以直接鉴定功能基因突变位点,具有快速、高通量、精度高等优点。但是, GWAS定位结果存在一定假阳性问题,如何通过其他方法验证GWAS定位结果是需要考虑的关键技术问题。

[0004] 本发明首次将GWAS和基因组混合池Mutmap定位技术集成在一起,在利用GWAS定位自然群体中的稻瘟病抗病位点后,通过基因组混合池Mutmap方法进一步验证该位点的真实抗病效用。此外,定位的抗病位点通过分子标记辅助选择的方法改良受体亲本抗性水平。

发明内容

[0005] 本发明的目的是针对现有技术的上述不足,提供一个新的稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’。

[0006] 本发明的另一目的是提供该抗稻瘟病位点的应用。

[0007] 本发明的又一目的是提供该抗稻瘟病位点的Indel标记引物及其应用。

[0008] 本发明的目的可通过以下技术方案实现:

[0009] 一个稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’,该位点位于12号染色体的23.13-23.22Mb区间,LOD值=9.34;其中 $-\log(P)$ 值最高的SNP物理位置在23,311,775bp处, $-\log(P)$ 值为10.8,抗病基因型为“A”,感病基因型为“G”。

[0010] 本发明所述的稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’在抗稻瘟病分子辅助育种中的应用。

[0011] 所述的应用,优选通过分子标记辅助选择的方法将稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’抗病基因型导入到感病品种中,改良受体亲本的稻瘟病抗性。

[0012] 本发明所述的稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’的Indel标记引物在抗稻瘟病分子辅助育种中的应用。

[0013] 本发明所述的稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’的Indel标记引物在抗稻瘟病分子辅助育种中的应用。

[0014] 一种快速定位水稻稻瘟病抗病位点的方法,包括以下步骤:

[0015] 1) 选择来自江苏、浙江、安徽、山东、天津等省的199份粳稻品种用于简化基因组测序。

[0016] 2) 基因组测序数据用于分析单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)获得每个品种的基因型。

[0017] 3) 利用从稻瘟病生理小种接种以上测序品种,获得每个品种的抗病表型。抗性调查和病级调查标准如Mack111 DJ;Bonman JM(1992) Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*,82:746-749.记载的方法进行。

[0018] 4) 利用Tassel(version 5.2)软件中的混合线性模型开展品种基因型与表型间的关联分析,获得关联程度最高的抗病位点(-log(P)值最高)和抗/感基因型。

[0019] 5) 将携带抗病基因型的品种与感病品种杂交构建F₂分离群体,并用‘R5-1’生理小种接种F₂分离群体,从中分离出抗、感表型的单株用于构建极端表型混合测序池,通过基因组混合池Mutmap方法验证以上GWAS定位位点的可靠性。

[0020] 6) 根据以上定位位点附近的基因组序列设计Indel标记,通过分子标记辅助选择的方法将抗病基因型导入到感病品种中,实现受体亲本的稻瘟病抗性改良。

[0021] 其中,作为本发明方法的优选,步骤2)获得品种基因型后,剔除基因型与日本晴差异度达30%的品种。

[0022] 作为本发明方法的优选,步骤3)、5)中所述的抗性调查和病级调查标准如Mack111 DJ;Bonman JM(1992) Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*,82:746-749.记载的方法进行。

[0023] 作为本发明方法的优选,步骤4)中所述的全基因组关联分析如Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES. (2007) TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23: 2633-2635.记载的方法进行。

[0024] 作为本发明方法的优选,步骤4)中关联程度标准的-log(P)阈值为7.2。

[0025] 作为本发明方法的优选,步骤5)中所述的混合池分组分析方法如MutMap-Gap: whole-genome resequencing of mutant F₂ progeny bulk combined with de novo assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene Pii. *New phytologist*, DOI:10.1111/nph.12369.记载的方法进行。

[0026] 作为本发明方法的优选,步骤5)中用于每个极端表型混合测序池的F₂单株数为80。

[0027] 本发明的有益效果在于:

[0028] 1) 提供了一个新的稻瘟病抗性位点‘Pi-jx’

[0029] 本研究将GWAS以及基因组混合池Mutmap定位技术集成在一起,不仅利用了GWAS快速定位抗病遗传位点的优点,同时利用混合池Mutmap方法来验证GWAS定位区间的正确性,在缩短定位时间的同时也保证了稻瘟病抗性位点‘Pi-jx’的正确性。

[0030] 2) 提供了可用于改良品种稻瘟病抗性的分子标记

[0031] 在本技术发明中定位了一个新的稻瘟病抗病位点‘Pi-jx’,该区间在其他发明中未见报道。通过‘Pi-jx’位点附近基因组序列开发的分子标记,将‘Pi-jx’位点导入到感病品种07GY31中后可显著提高导入系的苗期抗性水平,该位点的发现为培育广谱抗病品种提供新基因资源。

附图说明

[0032] 图1GWAS以及基因组混合池Mutmap方法分别鉴定自然群体、 F_2 分离群体中的抗病位点

[0033] A:GWAS定位199份粳稻品种中的抗病遗传位点;B:混合池测序Mutmap法定位秀水134(抗病)/日本晴(感病) F_2 分离群体中的抗病位点。图1说明GWAS和基因组混合池Mutmap方法均可以检测到位于水稻第12号染色体的23.0-23.4Mb区间的稻瘟病抗性位点‘Pi-jx’。

[0034] 图2.Pi-jx位点附近基因组序列以及多态性Indel连锁标记开发

[0035] A:秀水134、日本晴12号染色体上Pi-jx位点附近基因组序列以及多态性Indel连锁标记‘P1^{Pi-jx}’设计开发;绿色区域为引物序列区域;红色表示在日本晴中缺失的16bp碱基序列;

[0036] B:Indel标记检测以07GY31为轮回亲本的 BC_3F_3 系中的纯合单株,红色箭头标注的为的Pi-jx纯合基因型。

[0037] 图3Pi-jx⁽⁺⁾可以提高感病品种07GY31稻瘟病抗性

[0038] A:携带Pi-jx⁽⁺⁾的07GY31近等基因系(BC_3F_3)抗性水平;B:携带Pi-jx⁽⁺⁾的 BC_3F_3 近等基因系与受体亲本叶瘟比较。不同字母标记的表示在 $P<0.001$ 水平上存在显著差异。图3说明利用开发的分子标记P1^{Pi-jx}改良分子感病品种,改良品系苗瘟抗性显著提升。

具体实施方式

[0039] 实施例1:稻瘟病抗病遗传位点的GWAS定位

[0040] 1).用于GWAS定位的199份粳稻品种来自江苏、浙江、安徽、山东、天津等省份(表1),每个品种取出50粒种子在45℃恒温烘箱内放置5天打破休眠,随后放入培养箱中进行发芽(发芽条件为45℃/12小时昼夜交替,光照强度:25,000Lx),待苗长到4叶期时,将新鲜叶片取下用于基因组DNA提取。

[0041] 2).基因组DNA提取。每个品种取200mg幼嫩叶片,剪碎装入2ml的离心管中,液氮快速冷冻离心管中的叶片,并碾磨至粉末状。DNA提取按照DNASoltis Lab CTAB DNA Extraction Protocol (Reference:Doyle&Doyle,1987;and Cullings 1992) Revised November 14,2002),获得的DNA使用500mg用于基因组测序文库构建,其余-80℃保存备用。

[0042] 3).测序品种基因型分析。采用Genotyping-By-Sequencing (GBS) 方法构建基因组文库,使用illumina MiSeq&HiSeq1000测序仪测序每个品种的文库,保证获得1.5Gb的测序数据。使用AdapterRemove2以及FastqMcf软件去除以上原始数据中的错配碱基、低质量碱

基、接头污染。数据过滤后,以日本晴 (IRGSP-1.0) 作为参考基因组,使用SOAP2以及Bowtie2将测序数据比对日本晴参考基因组上,并生成BAM格式文件,然后使用SAMtools、GATK软件检测测序品种间的SNPs变异,获得测序品种基因型。

[0043] 4). 抗性表型鉴定。利用从恩施采集的稻瘟病生理小种‘R5-1’接种鉴定以上测序的199份粳稻品种的苗期抗性。每个品种取60粒经消毒、冲洗,催芽后播种在秧盘中,每个品种随机设立3个重复,待幼苗长至3-4叶期时接R5-1生理小种,接种用的孢子悬浮液中孢子体密度为30-35个/视野(100倍显微镜)。接种前先将接种室内进行雾化处理,使得叶片能够充分均匀湿润。接种后,26-28℃条件下保湿24小时,随后移至20-30℃室外,高湿培养7天后进行抗性调查,病级调查标准参照Mack111 DJ and Bonman JM(1992) Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*, 82:746-749.记载的方法进行,根据以上标准将叶瘟病级0-4判断为抗病表型,表型数据赋值‘1’,而叶瘟病级5-9判断为感病表型,表型数据赋值‘0’,以此获得所有品种的抗病表型数据。每个品种的抗病表型鉴定进行3次独立的生物学重复。

[0044] 5). GWAS定位抗病位点。将以上获得的品种基因型和抗病表型分别导入Tassel (V5.0) 软件中,并通过软件的基因型过滤功能将基因频率小于5%的SNP标记去除,并将基因型缺失40%以上的品种剔除。利用过滤后的基因型进行主成分分析,成分数设定为‘3’。获得每个品种的主成分系数后,使用软件中的“intersect join”功能将主成分系数、品种表型以及基因型建立关联,使用混合线性模型 (MLM) 分析与表型显著相关的SNP位点,以 $-\log(P)$ 阈值7.2为标准,大于该值判断为SNP所在的物理位置与抗病表型显著相关。如图1A所示,在第12号染色体的23.0-23.4Mb附近存在与稻瘟病抗性相关的遗传位点,本发明中命名为‘Pi-jx’,其中 $-\log(P)$ 值最高的SNP物理位置在23,311,775bp处,数值为10.8,抗病基因型为“A”,感病基因型为“G”。

[0045] 6). 为进一步验证Pi-jx位点与抗病连锁关系的正确性。将携带抗病基因型的秀水134与携带感病基因型的日本晴杂交获得 F_1 ,自交后获得 F_2 种子,塑盘中播种2,000粒 F_2 种子获得1876株幼苗,利用R5-1生理小种接种以上 F_2 单株,鉴定方法和病级划分标准参照步骤4)。根据鉴定结果,从 F_2 群体中分别选择80个抗病单株以及80个感病单株提取DNA,提取方法参照步骤2)。从提取的每个抗病单株DNA中吸取1ul的DNA混合形成抗病测序混合池,同样从提取的每个感病单株DNA中吸取1ul的DNA用于构建感病测序混合池,测序方法以及分析基因型参照步骤3)。使用基因组混合池Mutmap方法对抗病位点重新定位,方法参照Hiroki Takagi, Aiko Uemura, et al. (2013) MutMap-Gap: whole-genome resequencing of mutant F_2 progeny bulk combined with de novo assembly of gap regions identifies the rice blast resistance gene Pii. *New phytologist*, DOI:10.1111/nph.12369.最终,在12号染色体的23.13-23.22Mb区间定位到一个主效QTL (LOD值=9.34,图1B),该区间与GWAS定位的Pi-jx完全重叠,说明Pi-jx遗传位点与稻瘟病抗性之间确实存在连锁关系。

[0046] 实施例2: Pi-jx连锁多态性标记开发

[0047] 根据秀水134以及日本晴从23,008,201bp至23,008,01b的基因组序列存在片段缺失的情况(图2A),通过软件Primer primer 5.0设计Indel标记,上游引物P1^{Pi-jx}-F: GAGATTTGTTGATTGTGTC (SEQ ID NO.1); 下游引物P1^{Pi-jx}-R: CTCTAAACA ACTAACACAGG (SEQ ID NO.2),目的片段在秀水134中的大小为326bp,而在日本晴中的条带大小为310bp(图2B)。

PCR反应体系为25 μ l,其中包括16.4 μ l的ddH₂O,2.5 μ l的10 \times PCR buffer,2 μ l的2.5mM/ μ l dNTP,2 μ l的10mmol/ μ l的P1^{Pi-jx}-F,2 μ l的10mmol/ μ l的P1^{Pi-jx}-R,0.1 μ l的TAKARA的Taq酶(5u/u)。PCR反应程序以及条件如下:程序1:95 $^{\circ}$ C预变性10min;程序2:94 $^{\circ}$ C变性45s,50.5 $^{\circ}$ C退火45s;程序3:72 $^{\circ}$ C延伸35s;程序4:重复程序2、3、4,循环35次;程序5:72 $^{\circ}$ C延伸10min;程序6:4 $^{\circ}$ C保存。

[0048] 实施例3:标记辅助选择改良感病品种抗性

[0049] 2014年8月用秀水134与07GY31杂交获得F₁,同年12月在海南三亚种植F₁,2015年3月将F₁与07GY31回交,获得100粒以07GY31为背景的BC₁F₁种子,同年5月份扬州种植BC₁F₁,获得65株BC₁F₁植株,每个植株取0.2g新鲜叶片用于DNA提取,DNA提取方法参照步骤2,提取后的DNA用实施例2中开发的Indel标记将携带抗病基因型(Pi-jx⁽⁺⁾)的单株选择出来,并结合田间农艺性状,选择5株携带Pi-jx⁽⁺⁾植株继续与07GY31回交获得5个BC₂F₁系,每个系在12月份三亚种植20株;2016年1月份取以上BC₂F₁系植株叶片提取DNA进行标记检测,从每个系中分别选择1株携带Pi-jx⁽⁺⁾的植株继续与07GY31回交,获得5个BC₃F₁系,同年5月份种植5个BC₃F₁系,每个系20株,取每个植株叶片提取DNA进行标记检测,收获每个系中携带Pi-jx⁽⁺⁾植株的自交种子,同年12月份种植20个BC₃F₂系,2017年3月Indel标记检测出纯合单株后,收获纯合单株的BC₃F₃种子用于抗性鉴定。苗期抗性鉴定,以采集江苏、安徽、浙江、湖北、恩施、广东、海南、江西等8个省的80个稻瘟病生理小种接种以上BC₃F₃纯合系,每个系的抗病水平以抗性频率表示,抗性频率=(表现抗的菌株数)/接种的总菌数*100%,根据实际接种效果,携带Pi-jx⁽⁺⁾的07GY31近等基因系的抗性较对照抗性显著改良(图3A、B)。

[0050] 附表1本发明用于GWAS定位的品种

编号	品种名称	编号	品种名称	编号	品种名称	编号	品种名称	编号	品种名称
1	武运粳 7 号	24	华粳 2 号	47	宁 5055	70	阳光 200	93	丙 03123
2	武运粳 8 号	25	扬粳 805	48	南粳 44	71	阳光 600	94	丙 03123
3	武运粳 21	26	香粳 49	49	南粳 46	72	大粮 203	95	丙 03123
4	武运粳 22	27	扬粳 9538	50	南粳 49	73	临稻 16	96	嘉 02147
5	武运粳 23	28	扬粳 4038	51	南粳 41	74	临稻 17	97	嘉花 1 号
6	武运粳 24	29	扬粳 4227	52	07GY31	75	临稻 18	98	春江 1 号
7	武运粳 27	30	扬粳 806	53	华粳 3 号	76	郑稻 18	99	优 I
8	武运粳 29	31	扬粳 186	54	华粳 5 号	77	新稻 20	100	甬粳 05-8
9	武香粳 9 号	32	扬粳 687	55	华粳 6 号	78	新稻 29	101	甬直 19
10	武香粳 14	33	扬辐粳 7 号	56	华粳 7 号	79	津稻 1007	102	沪粳 312
11	武粳 15	34	扬辐粳 8 号	57	大华香糯	80	津稻 263	103	青角 301
12	武育粳 2 号	35	镇稻 88	58	苏香粳 1 号	81	苏秀 10 号	104	青角 307
13	武育粳 3 号	36	镇稻 99	59	苏香粳 2 号	82	连嘉粳 1 号	105	宝农 34
14	武育粳 16 号	37	镇 9424	60	R109	83	秀水 05	106	金农丰
15	武育粳 20 号	38	镇稻 11	61	R130	84	秀水 134	107	金丰
16	软玉 2 号	39	镇稻 14 号	62	9363	85	秀水 08	108	申士 3 号
17	新软玉	40	镇稻 15 号	63	常农粳 4 号	86	秀水 09	109	C418
18	运村软米	41	镇稻 16 号	64	常农粳 5 号	87	秀水 114	110	轮回 422
19	银玉 2084	42	宁粳 1 号	65	常粳 09-5	88	秀水 123	111	R162
20	银玉 2239	43	宁粳 3 号	66	通粳 981	89	秀水 137	112	湘晴
21	泗稻 785	44	宁粳 4 号	67	南通紫糯	90	秀水 128	113	中超 123
22	泗稻 11 号	45	宁粳 5 号	68	圣稻 15	91	嘉 33	114	C9083
23	泗稻 12	46	宁 9108	69	圣稻 16	92	丙 8979	115	R041

[0053] 续附表1本发明用于GWAS定位的品种

编号	品种名称	编号	品种名称	编号	品种名称	编号	品种名称
116	旱粳王	139	宁粳 35 号	162	佳禾 218	185	淮稻 9 号
117	郑粳 2 号	140	宁粳 38 号	163	日本晴	186	淮稻 11
118	郑早 8 号	141	宁粳 43 号	164	东海不抗条	187	淮糯 12
119	旱稻 8 号	142	丹粳 06-8	165	苏御糯	188	淮稻 13
120	洛稻 998	143	嘉 09-90	166	湘恢 628	189	淮稻 14
121	徐早 29	144	常熟-6-85	167	台湾 30	190	淮稻 15
122	旱稻 44	145	R972	168	台湾 50	191	盐选 2 号
123	旱稻 108	146	宁粳 24 号(宁夏农学院)	169	台湾 65	192	盐粳 6 号
124	旱稻 277	147	宁粳 36 号(宁夏农学院)	170	徐稻 3 号	193	盐粳 7 号
125	旱 287	148	宁粳 37 号(宁夏农学院)	171	徐稻 4 号	194	盐粳 9 号
126	旱稻 442	149	宁粳 41 号(宁夏农学院)	172	徐稻 5 号	195	盐粳 10 号
127	中早 502	150	辽源 31-1	173	徐稻 6 号	196	盐粳 11 号
128	津 9540	151	辽源 31-2	174	徐稻 7 号	197	盐稻 815
129	盐粳 2 号	152	吉粳 80	175	徐粳 8 号	198	盐稻 8 号
130	盐粳 5 号	153	津稻 253	176	中稻 1 号	199	盐稻 9 号
131	吉粳 83	154	天津 28-1	177	连粳 4 号		
132	吉粳 88	155	津源 45	178	连粳 6 号		
133	长白 16	156	松粳 9 号	179	连粳 7 号		
134	龙粳 05-191	157	松粳 12 号	180	连粳 8 号		
135	龙粳 25	158	铁粳 7 号	181	连粳 9 号		
136	龙粳 26	159	豫粳 6 号	182	连粳 10 号		
137	辽粳 21	160	台 0206	183	连粳 11 号		
138	宁粳 28 号	161	盐稻 60	184	淮稻 5 号		

[0054]

[0001]		序列表	
[0002]	<110>	江苏里下河地区农业科学研究所	
[0003]	<120>	一个水稻稻瘟病抗性位点 'Pi-jx' 及其Indel标记引物和育种应用	
[0004]	<160>	2	
[0005]	<170>	SIP0SequenceListing 1.0	
[0006]	<210>	1	
[0007]	<211>	20	
[0008]	<212>	DNA	
[0009]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0010]	<400>	1	
[0011]		gagatttggtt gattgtgtcc	20
[0012]	<210>	2	
[0013]	<211>	20	
[0014]	<212>	DNA	
[0015]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[0016]	<400>	2	
[0017]		ctctaaacaa ctaacacagg	20

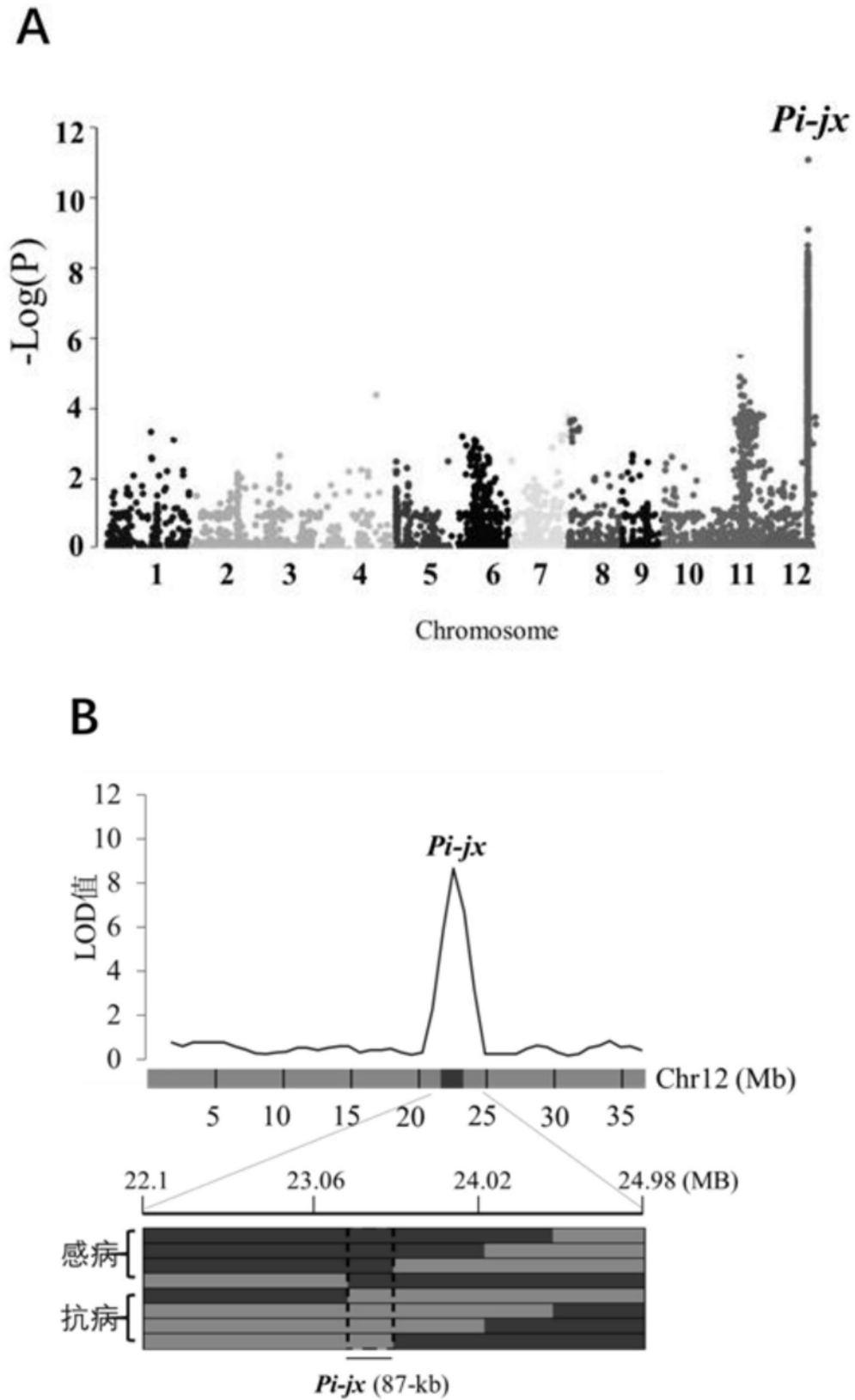


图1

A

>秀水134第12号染色体 23,008,201bp到23,008,601bp的基因组序列

AGCCATTGTTCAAGAACATGTCCCTCCCTTCATACTTGTCTGGGTTT
 TGATCACATTCTATGTTCAACAATACTTTCCAATTTTTGTTTCATGAGAT
 GTTATTTTA**TTTTCCTTTGCCCTTCCT**CCATGAGTCCATGTTAATATGT
 TATAGAGATGGAACTTGTAGAGCACCATTGATGTCTGATGGT**GGGAT**
GGGCGTGGGCCGA**CCCACGGGTA**ACTGTTGGCCTACTTTAGTTCAATC
 AAATAAACTAAATTTTATTTTGAATCCCTCAAACTGAAAATCGGTTT
 ATTCAGTTGAACTAAAATGGGCCACCATTGTCCGCGGTCCGACCT**G**
GACACAATCAACAATCTCTAGAATGTCCAGTAAAAAATGTAGCTTG
 CACAAATATTGAGAGAATCACAAAGGGCAGTTT

>日本晴第12号染色体 23,008,201bp到23,008,601bp的基因组序列

AGCCATTGTTCAAGAACATGTCCCTCCCTTCATACTTGTCTGGGTTT
 TGATCACATTCTATGTTCAACAATACTTTCCAATTTTTGTTTCATGAGAT
 GTTATTTTA**TTTTCCTTTGCCCTTCCT**CCATGAGTCCATGTTAATATGT
 TATAGAGATGGAACTTGTAGAGCACCATTGATGTCTGATGGTGACC
 CACGGGTAAGTGTCCGCCTACTTTAGTTCAATCAAATAAACTAAATT
 TTATTTTGAATCCCTCAAACTGAAAATCGGTTT**CATTCAGTTGAACTA**
AAATGGGCCACCATTGTCCGCGGTCCGACCTGGACACAATCAACA
AATCTCTAGAATGTCCAGTAAAAAATGTAGCTTGACAAATATTGAG
 AGAATCACAAAGGGCAGTTT

B

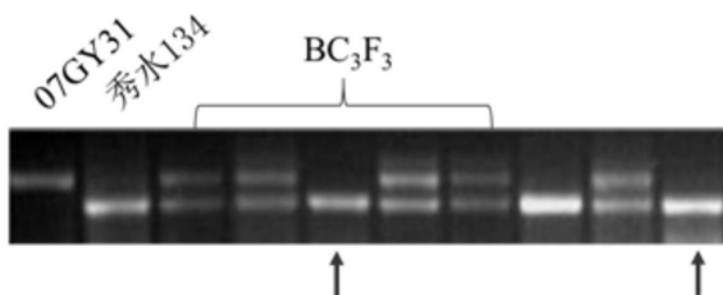


图2

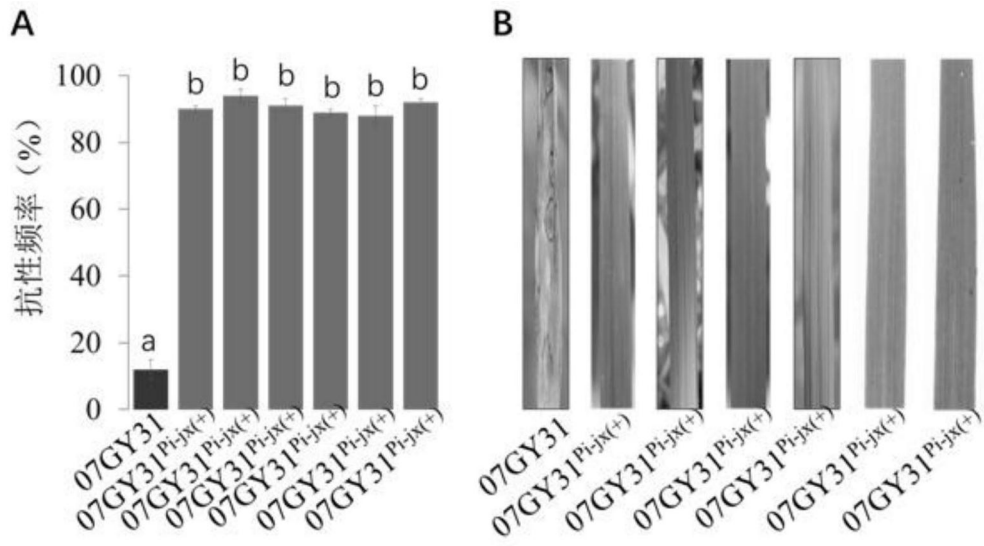


图3