



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108841932 B

(45) 授权公告日 2021.03.12

(21) 申请号 201810768924.4

WO 2017059076 A1,2017.04.06

(22) 申请日 2018.07.13

CN 107108708 A,2017.08.29

(65) 同一申请的已公布的文献号

WO 2010072608 A1,2010.07.01

申请公布号 CN 108841932 A

CN 104513858 A,2015.04.15

(43) 申请公布日 2018.11.20

Hui Zhang等.Selection Signature

(73) 专利权人 东北农业大学

Analysis Implicates the PC1/PCSK1 Region for Chicken Abdominal Fat Content.《PLoS ONE》.2012,第7卷(第7期),e40736.

地址 150030 黑龙江省哈尔滨市香坊区木材街59号

郑晓雅等.PCSK1和PCSK2单核苷酸多态性与新诊断2型糖尿病的相关性分析.《解放军医学杂志》.2014,第39卷(第12期),961-964.

(72) 发明人 张慧 李辉 杨莉莉

K. Zhang等.Identification of a

(74) 专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权

代理有限公司 23211

potential functional single nucleotide polymorphism for fatness and growth traits in the 3'-untranslated region of the PCSK1 gene in chickens.《J Anim Sci》.2017,第95卷(第11期),4776-4786.

代理人 田鸿儒

审查员 吴海燕

(51) Int.Cl.

C12Q 1/6858 (2018.01)

C12Q 1/6888 (2018.01)

(56) 对比文件

CN 101962684 A,2011.02.02

WO 2013188605 A2,2013.12.19

权利要求书1页 说明书6页

序列表1页 附图1页

(54) 发明名称

一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法及应用,属于动物分子遗传学技术领域。本发明所提供的方法是根据鸡蛋白前体加工酶1基因SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物,再根据所得引物进行鸡基因组DNA的PCR扩增,之后利用限制性内切酶对扩增产物进行酶切,再对酶切产物进行电泳分离,最后利用PCR-RFLP技术分析基因多态性,获得鸡腹脂标记基因型。本发明所提供的方法具有操作简单、费用低、精确度高的特点,可进行自动化检测,是一种有效的分子标记育种手段,可大幅加快鸡的育种进程。

1. 一种预示和鉴定肉鸡腹部脂肪量的分子标记方法,其特征在于,所述分子标记方法的具体步骤如下:

1) 根据肉鸡PCSK1基因SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物,获得扩增引物;所述引物的核苷酸序列如SEQ ID NO.1-SEQ ID NO.2所示;

2) 利用步骤1)所得的扩增引物进行肉鸡基因组DNA的PCR扩增,获得扩增产物;

3) 利用限制性内切酶对步骤2)所得的扩增产物进行酶切,获得酶切产物;所述限制性内切酶,是限制性内切酶BsrGI-HF;

4) 利用琼脂糖凝胶对步骤3)所得的酶切产物进行电泳分离,获得分离产物;

5) 利用限制性片段长度多态性聚合酶链反应技术对步骤4)所得的分离产物进行基因型分析,获得肉鸡腹脂标记基因型;所述肉鸡腹部脂肪量,是指肉鸡的腹脂重和腹脂率;所述肉鸡腹脂标记基因型:当肉鸡PCSK1基因位点c.1880C>T为T碱基时,酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为347bp,将其命名为TT基因型;当肉鸡PCSK1基因位点c.1880C>T为C碱基时,酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为383bp,将其命名为CC基因型;该位点杂合的个体酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带为两条,大小分别为347bp和383bp,将其命名为CT基因型。

2. 权利要求1所述方法,其特征在于,步骤4)所述琼脂糖凝胶,琼脂糖凝胶的浓度为3%。

3. 权利要求1或2所述方法在肉鸡腹部脂肪量性状的选择育种中的应用,所述肉鸡腹部脂肪量性状为肉鸡的腹脂重和腹脂率。

一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法及应用,属于动物分子遗传学技术领域。

背景技术

[0002] 肉鸡业在世界范围内,尤其在中国等发展中国家具有良好的发展前景。在过去的半个多世纪,在育种上依赖于表型值的选择已经取得了显著的进展,肉鸡的生长速度和肉产量得以明显提高。随着我国肉鸡业的快速发展,肉鸡的生理性不适症及相关疾病也随之增加,如体脂蓄积过多、腹水综合症、猝死症、腿部疾病、机体免疫功能下降等,这些问题给肉鸡生产者造成的经济损失是显而易见的。肉鸡体脂(尤其是腹脂)过度沉积,不仅会造成肉鸡生产过程中的浪费,提高生产成本,而且肉种母鸡过肥会严重影响产蛋率、受精率和孵化率,并且会诱导脂肪肝综合症的发生,肉种公鸡过肥会影响采精量,降低精液品质,同时过度肥胖引起的一些疾病会加大产蛋期的死淘率,降低经济效益。此外,受到消费者日渐重视饮食健康的影响,目前我国肉制品消费主要以低脂肪禽肉产品为主。

[0003] 近年来,随着分子遗传学的发展,遗传标记逐渐应用于畜禽的标记辅助选择育种中,此项技术可有效促进遗传选育准确性的提高。分子标记辅助选择是一种直接对影响重要经济性状的基因组区域进行选择的方法。畜禽许多数量性状不仅受微效多基因控制,而且还受单个或多个主效基因的影响。选择与数量性状位点相连锁的分子标记,即可实现对基因型的直接选择,从而极大地提高家禽育种效率、加快育种进程,为解决肉鸡腹脂蓄积过多问题提供理论依据。

[0004] 蛋白前体加工酶(Proprotein Convertase,PC)是一类Ca²⁺依赖性的丝氨酸蛋白酶家族,其主要功能是剪切无生物活性的蛋白或肽链的前体,使之变成有活性的功能分子。其中,前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶1(Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 1,PCSK1)主要在神经以及内分泌组织中表达,该基因所编码的蛋白可以激活人体内控制食欲的胰岛素、胰高血糖素以及令人产生饱腹感的阿黑皮素原等。

[0005] 哺乳动物上的研究结果表明,PCSK1基因主要在神经以及内分泌组织中表达。在人上,PC1/3蛋白缺乏症是一种罕见的单基因肥胖病,主要表现为儿童肥胖、小肠吸收功能障碍以及各种内分泌紊乱。对影响人类肥胖的QTL定位结果表明,影响人类肥胖的基因位于染色体5q上,该染色体区域包含PCSK1在内的多个基因。近年来,针对人类肥胖症开展了全基因组关联分析,发现了一些肥胖相关的风险位点,其中包括PCSK1基因。PCSK1基因多态性分析结果表明,该基因上的两个位点的多态性与人类肥胖显著相关。小鼠上的研究表明,PCSK1敲除鼠会出现严重的发育异常,这是由于PCSK1缺失导致了很多神经内分泌激素的成熟过程受到了破坏。对PCSK1缺失小鼠GHRH分泌水平的检测结果发现,PCSK1缺失小鼠的GHRH前体在体内大量累积,而成熟的GHRH水平很低。在小鼠体内阻碍PCSK1基因的表达会引起胰岛素原加工的缺陷,PCSK1基因表达量的减少会引起胰腺以及循环系统中胰岛素原的增加,同时成熟的胰岛素几乎全部消失。目前为止,尚未发现有关于鸡PCSK1基因功能研究

相关的报道,同时,也没有通过PCSK1基因分子标记对鸡腹部脂肪含量进行选择的方法,更没有通过其SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物进而进行分子标记方法用于筛选基因型的报道。

发明内容

[0006] 为解决上述技术问题,本发明提供了一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法,所采取的技术方案如下:

[0007] 本发明的目的在于提供一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法,其特征在于,根据鸡PCSK1基因SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物,再根据所得引物进行鸡基因组DNA的PCR扩增,之后利用限制性内切酶对扩增产物进行酶切,再对酶切产物进行电泳分离,最后利用限制性片段长度多态性聚合酶链反应技术(PCR-RFLP)分析基因多态性,获得鸡腹脂标记基因型;

[0008] 所述引物的核苷酸序列如SEQ ID NO.1-SEQ ID NO.2所示。

[0009] 所述鸡腹部脂肪量,是指鸡的腹脂重和腹脂率。

[0010] 所述方法的步骤如下:

[0011] 1) 根据鸡PCSK1基因SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物,获得扩增引物;

[0012] 2) 利用步骤1)所得的扩增引物进行鸡基因组DNA的PCR扩增,获得扩增产物;

[0013] 3) 利用限制性内切酶对步骤2)所得的扩增产物进行酶切,获得酶切产物;

[0014] 4) 利用琼脂糖凝胶对步骤3)所得的酶切产物进行电泳分离,获得分离产物;

[0015] 5) 利用PCR-RFLP技术对步骤4)所得的分离产物进行基因型分析,获得鸡腹脂标记基因型。

[0016] 步骤1)所述引物,核苷酸序列如SEQ ID NO.1-SEQ ID NO.2所示。

[0017] 步骤3)所述限制性内切酶,是限制性内切酶BsrGI-HF;

[0018] 步骤4)所述琼脂糖凝胶,琼脂糖凝胶的浓度为3%。

[0019] 步骤5)所述基因型分析,分析的部位是鸡PCSK1基因的CDS区。

[0020] 优选地,所述分析的部位,分析的位点是SEQ ID NO.3所示鸡PCSK1基因序列的第627个氨基酸由丙氨酸(Ala)突变为缬氨酸(Va1)的错义突变。

[0021] 步骤5)所述鸡腹脂标记基因型,当鸡PCSK1基因位点c.1880C>T为T碱基时,酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为347bp,将其命名为TT基因型;当鸡PCSK1基因位点c.1880C>T为C碱基时,酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为383bp,将其命名为CC基因型;该位点杂合的个体酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带为两条,大小分别为347bp和383bp,将其命名为CT基因型。

[0022] 所述方法用于鸡的遗传育种。

[0023] 本发明有益效果:

[0024] 本发明证明c.1880C>T突变位点的两种基因型在高低脂双向选择系两系间的等位基因分布频率存在极显著差异($P < 0.01$),且这两个位点高度连锁;在AA肉鸡随机群体中,c.1880C>T突变位点对肉鸡腹部脂肪量性状的影响达极显著水平($P < 0.01$),该位点功能未见报道,更没有文献报道过该位点基因突变的各种基因型各表达为哪种特征。

[0025] 本发明操作简单、费用低、精确度高,可进行自动化检测。利用本发明的分子标记方法对鸡腹部脂肪量进行选择,不仅为鸡育种工作中标记辅助选择提供了一个更为有效、简便易行的分子标记方法,同时为鸡的腹部脂肪性状改良提供了一种有效的分子标记育种手段,可以加速鸡的育种进程。

附图说明

[0026] 图1为PCSK1基因SNP位点c.1880C>T分析图谱。

具体实施方式

[0027] 下面结合具体实施例对本发明做进一步说明,但本发明不受实施例的限制。

[0028] 实施例1缓冲溶液配制及引物设计

[0029] 1. 实验动物和性状测定

[0030] 东北农业大学选育的肉鸡高、低脂双向选择系第十九世代542只公鸡、第二十世代685只公鸡;AA肉鸡随机群体348只鸡。对高、低脂系肉鸡及AA肉鸡分别于7周龄时翅静脉采血,EDTA-Na₂抗凝。7周龄屠宰前测定活重,屠宰后测定腹脂重,并除以7周龄活重计算出腹脂率。

[0031] 2. 药品和酶

[0032] 三羟甲基氨基甲烷(Tris),Sigma Chemicals Co;Tris饱和酚,北京鼎国生物技术的发展中心;蛋白酶K(Proteinase K),MMERCK Co;DL 2000,大连宝生物公司;dNTP(dATP;dTTP;dCTP;dGTP)、Taq酶、DNAMarker,北京全式金生物技术有限公司;限制性内切酶BsrGI-HF,北京NEB公司;琼脂糖(Agarose),原平皓公司。

[0033] 3. 主要仪器

[0034] PTC-200PCR仪(PERKIN ELMER)、Biometra梯度PCR仪、UVP多功能成像系统、电泳槽、电泳仪。

[0035] 4. 缓冲液与常用试剂的配制

[0036] 1M Tris·Cl:121.14g Tris碱溶于800ml双蒸水中,用盐酸调pH值至8.0,定容至1000ml,高压灭菌。

[0037] TE缓冲液:10mM Tris·Cl,1mM EDTA,pH8.0,高压灭菌。

[0038] 20×SET缓冲液:3MNaCl,1M Tris·Cl(pH 8.0),20mM EDTA(pH 8.0),高压灭菌。

[0039] 50×TAE缓冲液:242g Tris碱,57.1ml冰乙酸,100ml 0.5MEDTA(pH8.0),加水至1L。

[0040] 1M Tris·Cl:121.14g Tris碱溶于800ml双蒸水中,用盐酸调pH值至8.0,定容至1000ml,高压灭菌。

[0041] 0.5M EDTA:186.1g EDTA溶于800ml双蒸水中,用NaOH调pH值至8.0,定容至1000ml,高压灭菌。

[0042] 禽血裂解液:10mM Tris·Cl(pH8.0),0.1M EDTA(pH8.0),0.5%SDS。

[0043] 5. 引物的设计与合成

[0044] 根据鸡PCSK1基因SNP位点c.1880C>T上下游190bp序列设计引物,由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成:

- [0045] PC1-CY-F:5' -TAAATCCCACCTTCTGATAAGTTCTGTCCCT-3'
- [0046] PC1-CY-R:5' -GCACAAAGAAAAGCATTAAATGAGACACTACCTGT-3' ;
- [0047] 实施例2DNA的提取、产物扩增及电泳分离
- [0048] 1. 鸡DNA的提取
- [0049] 鸡DNA的小样提取可采用以下两种方法:
- [0050] 方法一:
- [0051] (1) 取20 μ l 抗凝血液, 加入500 μ l 禽裂解液, 加入蛋白酶K至终浓度为100-200 μ g/ml, 混匀55 $^{\circ}$ C消化12hr, 直至溶液中不再有粘稠的团块。
- [0052] (2) 将溶液冷却至室温, 加入5M NaCl至终浓度1.5M, 混匀10min。加入等体积酚/氯仿, 反复颠倒离心管混匀10min。
- [0053] (3) 12,000rpm, 室温离心10min。取上清, 加等体积氯仿混匀10min。
- [0054] (4) 12,000rpm, 室温离心10min。取上清2倍体积无水乙醇沉淀DNA。
- [0055] (5) 将DNA挑出放到1.5ml离心管中, 用70%乙醇洗1次。
- [0056] (6) 7,500rpm, 室温离心5min, 弃上清。
- [0057] (7) 将DNA干燥后(注意不能太干)溶于200 μ l TE中。
- [0058] 方法二:
- [0059] (1) 将20 μ l全血加入装有700 μ l 1 \times SET的1.5ml离心管中, 轻轻混匀。
- [0060] (2) 加入蛋白酶K (10mg/ml) 至终浓度100-200 μ g/ μ l和10%的SDS至终浓度0.5%, 55 $^{\circ}$ C消化12h。
- [0061] (3) 待消化完全后, 加入等体积的Tris饱和酚, 来回颠倒, 使其混匀
- [0062] (4) 12,000rpm离心10min, 用剪去尖端的吸头将上层水相小心移入另一个离心管中, 弃去有机相。重复第三和第四步一次。
- [0063] (5) 向水相中加入等体积的酚、氯仿、异戊醇混合液(体积比为24:23:1), 混合10min。12,000rpm., 离心10min, 移出水相到另一个离心管。
- [0064] (6) 向水相中加入等体积的氯仿、异戊醇混合液(23:1), 来回颠倒混合10min, 12,000rpm, 离心10min, 移出水相到另一个离心管。
- [0065] (7) 向水相中加入1/10体积NaAc (3M, pH5.2) 和2倍体积的无水乙醇, 来回颠倒, 沉淀DNA。
- [0066] (8) 将DNA挑出放到1.5ml离心管中, 用70%乙醇洗1次。
- [0067] (9) 7,500rpm离心5min。小心倒掉管中乙醇, 将倒置在滤纸上, 让乙醇流尽, 置于空气中干燥。
- [0068] (10) 加入200 μ l的TE, 置50 $^{\circ}$ C水浴中过夜溶解DNA。溶解后贮存于-20 $^{\circ}$ C备用。
- [0069] 2. 鸡DNA的扩增;
- [0070] PCR反应
- [0071] (1) 以鸡DNA为模板进行PCR扩增, 10 μ l反应体系中包含以下溶液或试剂:

	10×PCR reaction buffer	1.0μl
	dNTP Mixture(各 2.5mM)	0.8μl
	引物 1(10μM)	0.2μl
[0072]	引物 2(10μM)	0.2μl
	EX-Taq(5U/μl)	0.1μl
	去离子水	6.7μl
	基因组 DNA (50ng/μl)	1.0μl

[0073] (2) 将上述溶液混合并按以下条件进行PCR反应。

[0074] 94℃变性5min;94℃30sec,55℃30sec,72℃30sec,30个循环;72℃延伸10min。

[0075] (3) 反应结束后,取PCR反应液(5~10μl)进行琼脂糖凝胶电泳,检测PCR产物。

[0076] 3. PCR-RFLP酶切反应及电泳

[0077] 在0.2ml EP管中配制以下反应液并混合均匀

	内切酶:	0.2U
	Buffer:	1×
[0078]	PCR Prod:	2.0 μg
	ddH2O 至	6.8 μl

[0079] 37℃反应3小时,3%琼脂糖凝胶检测酶切结果并进行基因分型。

[0080] 实施例3统计模型建立

[0081] 根据群体的特点,构建如下线性模型:

$$[0082] Y = \mu + G + F + D(F) + BW7 + e \text{ ①}$$

$$[0083] Y = \mu + G + S + G \times S + F + D(F) + BW7 + e \text{ ②}$$

[0084] Y为性状观察值, μ 为群体均值,G为基因型固定效应,S为性别固定效应,F为家系的随机效应,D(F)为家系内母鸡的随机效应,BW7作为协方差变量,e为剩余值。模型①用于分别在东北农业大学高、低脂系肉鸡双向品系第19和20世代群体中分析位点多态性与腹脂等性状的相关性;模型②用于AA肉鸡随机群体中分析位点多态性与腹脂等性状的相关性。使用统计软件JMP 7.0(SAS Institute,2000)检验群体基因型与性状间的相关程度,并估计性状的最小二乘均值。

[0085] 实施例4鸡PCSK1基因的多态性与肉鸡腹脂双向选择系以及AA肉鸡随机群体腹部脂肪量的相关性分析

[0086] 利用本发明的引物(PC1-CY-F、PC1-CY-R)对东北农业大学选育的肉鸡高、低脂双向选择系第十九世代542只公鸡、第二十世代685只公鸡和AA肉鸡随机群体348只鸡的基因组DNA进行PCR扩增,然后针对位点c.1880C>T进行PCR-RFLP分析。在两个群体中每个SNP位点共检测到3种基因型。对于位点c.1880C>T,酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为347bp时,将其命名为TT基因型;酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带大小为383bp时,将其命名为CC基因型;该位点杂合的个体酶切产物琼脂糖凝胶电泳条带为两条,大小分别为347bp和383bp,将其命名为CT基因型(如图1所示)。

[0087] 以东北农业大学选育的肉鸡高、低脂双向选择系第十九、二十世代鸡只为材料,分析位点c.1880C>T在两系间的等位基因分布情况。结果显示,位点c.1880C>T的等位基因在两系间的分布情况都存在极显著差异($P<0.01$) (表1)。

[0088] 表1SNP位点c.1880C>T在第十九、二十世代群体中等位基因频率

群体	系别	个体数	基因型频率			等位基因频率		χ^2
			CC	CT	TT	C	T	
G19	低脂系	280	0.975 (273)	0.025 (7)	0 (0)	0.987	0.013	805.114
	高脂系	253	0.051 (13)	0.154 (39)	0.795 (201)	0.128	0.872	($p<0.001$)
G20	低脂系	359	1 (359)	0 (0)	0 (0)	1	0	1176.170
	高脂系	328	0.006 (2)	0.149 (49)	0.845 (277)	0.081	0.919	($p<0.001$)

[0090] 以AA肉鸡随机群体为材料,分析位点c.1880C>T在两系间的等位基因分布情况,并选取腹脂率极端的两尾个体(根据腹脂率选择两尾各15%的极端个体,分成低腹脂率和高腹脂率两组)进行等位基因频率的差异分析。结果显示,位点c.1880C>T的等位基因频率在腹脂率极端的两尾个体间存在极显著差异($P<0.01$) (表2)。

[0091] 表2SNP位点c.1880C>T在AA肉鸡随机群体中腹脂率极端的两尾个体间等位基因频率的差异分析

位点	腹脂率	基因型频率 (个体数)			等位基因频率		χ^2
		CC	CT	TT	C	T	
c.1880C>T	低腹脂率	0.196 (9)	0.674 (31)	0.13 (6)	0.533	0.467	19.73946
	高腹脂率	0.761 (35)	0.152 (7)	0.087 (4)	0.837	0.163	($P<0.01$)

[0093] 以肉鸡高、低脂双向选择系第十九、二十世代群体和AA肉鸡随机群体为材料,计算位点c.1880C>T对两个群体肉鸡腹部脂肪量性状的影响,结果显示,位点c.1880C>T对腹脂率、腹脂重两种性状的影响达极显著水平 ($p<0.01$) (表3)

[0094] 表3位点c.1880C>T对两个群体肉鸡腹部脂肪量性状的影响 (P值)

	G19	G20	AA
腹脂率	<0.0001**	<0.0001**	0.0002**
腹脂重	<0.0001**	<0.0001**	0.0001**

[0096] 注:** $p<0.01$

[0097] 虽然本发明已以较佳的实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可以做各种改动和修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 东北农业大学
- [0003] <120> 一种预示和鉴定鸡腹部脂肪量的分子标记方法及应用
- [0004] <130> 1
- [0005] <160> 3
- [0006] <170> PatentIn version 3.5
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 31
- [0009] <212> DNA
- [0010] <213> c.1880C>T 位点上游引物 PC1-CY-F
- [0011] <400> 1
- [0012] taaatcccac cttctgataa gttctgtccc t 31
- [0013] <210> 2
- [0014] <211> 34
- [0015] <212> DNA
- [0016] <213> c.1880C>T 位点下游引物 PC1-CY-R
- [0017] <400> 2
- [0018] gcacaaagaa aagcattaat gagacactac ctgt 34
- [0019] <210> 3
- [0020] <211> 383
- [0021] <212> DNA
- [0022] <213> 多态性分析位点序列
- [0023] <400> 3
- [0024] TAAATCCCAC CTTCTGATAA GTTCTGTCCC TAATGTGTCA GTCTTTTGGG GCTTACAAAT 60
- [0025] CATGGTCTAA ATTTATATAT TGACAGAGTC ATTTTTTATT TTAGTGAATT CTCACTGCTT 120
- [0026] TGTGATCAAA TATCCTCTAT TTATTCCTCT TACATTCTGA GAACCTATGC TATTGCTGTC 180
- [0027] TTGTCCTTTA GTCCAAAAGA ATACAAAATG AAGGAAGGAT TGTAAACTGG AAATTGATTT 240
- [0028] TGCATGGCAC TGATACCCAG CCTGAACATA TGAAACAACC ACGTGTATAC ACATCTTACA 300
- [0029] ATGCTGTGCA AAATGACAGA AGAGGAGTGG AGAAGATGAC AGACCTTGCA GAGGTAGTGT 360
- [0030] CTCATTAATG CTTTTCTTTG TGC 383



图1