



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113046349 B

(45) 授权公告日 2021.11.16

(21) 申请号 202011564137.1

C12Q 1/6895 (2018.01)

(22) 申请日 2020.12.25

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 109628628 A, 2019.04.16

申请公布号 CN 113046349 A

审查员 黄炎

(43) 申请公布日 2021.06.29

(73) 专利权人 华智生物技术有限公司

地址 410000 湖南省长沙市芙蓉区合平路  
618号

(72) 发明人 彭佩 李文博 吴云天 唐顺学

肖金华 田冰川

(74) 专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有

限公司 44205

代理人 肖云

(51) Int. Cl.

C12N 15/11 (2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

序列表3页 附图4页

(54) 发明名称

一种检测水稻Wx基因的SNP分子标记组合及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种检测水稻Wx基因的SNP分子标记组合,含有4个分子标记,分别为Wx01、K\_060585、K\_060586和K\_060591;其中Wx01的多态性为G/T、K\_060585的多态性为A/C、K\_060586的多态性为T/C、K\_060591的多态性为C/A。利用本发明提供的分子标记,可高效检测Wx基因,能用于Wx基因的不同单倍型及辅助选择育种,可以加快育种效率,降低育种成本,缩短选育周期,亦可进行有目的的多基因聚合,提高育种效率,带来巨大的社会效益。该标记应用KASP技术原理进行基因分型,不需要酶切、电泳及测序等,操作简便,利于高通量快速检测。

1. 一组引物,其特征在于,所述引物用于扩增SNP分子标记,所述SNP分子标记由以下四个分子标记:Wx01、K\_060585、K\_060586和K\_060591组成;其中Wx01的多态性为G/T、K\_060585的多态性为A/C、K\_060586的多态性为T/C、K\_060591的多态性为C/A;所述Wx01的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1765760位碱基;所述K\_060585的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768006位碱基;所述K\_060586的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768998位碱基;所述K\_060591的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1767032位碱基。

2. 根据权利要求1所述的引物,其特征在于,

用于扩增Wx01的引物序列为:

特异性引物:

Primer X:5' -CAGGAAGAACATCTGCAAGG-3' (SEQ ID NO.1);

Primer Y:5' -TCAGGAAGAACATCTGCAAGT-3' (SEQ ID NO.2);

通用引物:

Primer C:5' -TCTGAATAAGAGGGGAAACAA-3' (SEQ ID NO.3);

用于扩增K\_060585的引物序列为:

特异性引物:

Primer X:5' -GAGATCAATTRTAACTCACCAT-3' (SEQ ID NO.4);

Primer Y:5' -AGATCAATTRTAACTCACCAG-3' (SEQ ID NO.5);

通用引物:

Primer C:5' -ACCTCAACAACAACCCATAC-3' (SEQ ID NO.6);

用于扩增K\_060586的引物序列为:

特异性引物:

Primer X:5' -CTGGAGGAACAGAAGGGCT-3' (SEQ ID NO.7);

Primer Y:5' -CTGGAGGAACAGAAGGGCC-3' (SEQ ID NO.8);

通用引物:

Primer C:5' -TCCTGCATGAGCTCCGGGAT-3' (SEQ ID NO.9);

用于扩增K\_060591的引物序列为:

特异性引物:

Primer X:5' -TTCCAGGGCCTCAAGCCCC-3' (SEQ ID NO.10);

Primer Y:5' -GTTCCAGGGCCTCAAGCCCA-3' (SEQ ID NO.11);

通用引物:

Primer C:5' -TCGTCACGCTGAGCGACGTC-3' (SEQ ID NO.12)。

3. 根据权利要求2所述的引物,其特征在于,所述特异性引物分别连接不同的荧光接头序列。

4. 一种试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包含权利要求1~3任一项所述引物。

5. SNP分子标记在辅助鉴定水稻Wx基因型和/或辅助育种中的应用,其特征在于,所述SNP分子标记由以下四个分子标记:Wx01、K\_060585、K\_060586和K\_060591组成;其中Wx01的多态性为G/T、K\_060585的多态性为A/C、K\_060586的多态性为T/C、K\_060591的多态性为C/A;所述Wx01的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1765760位碱基;所述K\_060585的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768006位碱基;所述K\_060586的SNP位点位于水稻第6号染色体

上第1768998位碱基;所述K\_060591的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1767032位碱基。

6. 权利要求1~3任一项所述引物或权利要求4所述试剂盒在检测水稻W<sub>x</sub>基因型和/或辅助育种中的应用。

7. 一种检测W<sub>x</sub>基因型的方法,其特征在于,包括如下步骤:

S1:采用权利要求1~3任一项所述引物或权利要求4所述试剂盒对水稻样品基因组进行KASP反应检测;其中,两条特异性引物分别连接不同的荧光接头序列;

S2:若只检测到引物Primer Y所连荧光接头序列对应的荧光信号,则判断水稻样品为Y型等位基因型;若只检测到引物Primer X所连荧光接头序列对应的荧光信号,则判断水稻样品为X型等位基因型;若同时检测到两种荧光,则判断水稻样品为杂合基因型,组合4个标记的分型情况,根据组合的单倍型判断测试的水稻样品中W<sub>x</sub>基因的类型。

8. SNP分子标记在改良稻米品质中的应用,其特征在于,所述SNP分子标记由以下四个分子标记:W<sub>x</sub>01、K\_060585、K\_060586和K\_060591组成;其中W<sub>x</sub>01的多态性为G/T、K\_060585的多态性为A/C、K\_060586的多态性为T/C、K\_060591的多态性为C/A;所述W<sub>x</sub>01的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1765760位碱基;所述K\_060585的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768006位碱基;所述K\_060586的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768998位碱基;所述K\_060591的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1767032位碱基。

9. 权利要求1~3任一项所述引物或权利要求4所述试剂盒在改良稻米品质中的应用。

## 一种检测水稻W<sub>x</sub>基因的SNP分子标记组合及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于分子生物学及作物育种技术领域,具体涉及一种检测水稻W<sub>x</sub>基因的SNP分子标记组合及其应用。

### 背景技术

[0002] 直链淀粉含量是影响稻米品质的关键因素,水稻W<sub>x</sub>基因编码颗粒淀粉合成酶(granule-bound starch synthase,GBSS),是控制直链淀粉合成的主效基因,直接影响水稻胚乳和花粉中直链淀粉的含量(Amylose Content,AC)。非糯性基因(W<sub>x</sub>)对糯性基因(wx)表现为不完全显性,存在较为明显的剂量效应。在非糯品种中,W<sub>x</sub>基因分化为W<sub>x</sub><sup>a</sup>和W<sub>x</sub><sup>b</sup>两种等位基因,其中,野生稻全为W<sub>x</sub><sup>a</sup>,籼稻以W<sub>x</sub><sup>a</sup>为主,直链淀粉含量较高;粳稻基本为W<sub>x</sub><sup>b</sup>,直链淀粉含量较低。除了常见的这3中等位类型,W<sub>x</sub>基因位点还有W<sub>x</sub><sup>op</sup>、W<sub>x</sub><sup>mp</sup>、W<sub>x</sub><sup>in</sup>、W<sub>x</sub><sup>HH</sup>、W<sub>x</sub><sup>IV</sup>等多种等位类型,对应着不同的直链淀粉含量表型。

[0003] 在水稻育种中常运用不同的W<sub>x</sub>单倍型的亲本配组来改良稻米品质,在这个过程中检测W<sub>x</sub>单倍型就成为至关重要的环节。传统的水稻育种是通过鉴定表型进行选择,耗时长,且易受环境条件的限制,鉴定结果容易造成误差,选择效率较低。利用W<sub>x</sub>基因分子标记辅助选择,可以加快育种效率,可以降低育种成本,缩短选育周期,亦可进行有目的的多基因聚合,提高育种效率,带来巨大的社会经济利益。文献中公布的分子标记大多为SSR、Indel和CAPS标记,需要进行凝胶电泳检测,检测过程使用的核酸染料等试剂对环境及人体有危害,且自动化程度低检测通量小,另外有时会出现非特异扩增的情况,导致检测结果无法准备判断,很大程度上限制了检测效率。

### 发明内容

[0004] 本发明的第一个目的在于,提供一种分子标记。

[0005] 本发明的第二个目的在于,提供一组特异性引物。

[0006] 本发明的第三个目的在于,提供一种试剂盒。

[0007] 本发明的第四个目的在于,提供上述分子标记在辅助鉴定水稻W<sub>x</sub>基因型和/或辅助育种中的应用。

[0008] 本发明的第五个目的在于,提供上述引物在检测水稻W<sub>x</sub>基因型和/或辅助育种中的应用。

[0009] 本发明的第六个目的在于,提供一种检测W<sub>x</sub>基因型的方法。

[0010] 本发明的第七个目的在于,提供上述分子标记或引物或试剂盒在改良稻米品质中的应用。

[0011] 本发明的第八个目的在于,提供上述分子标记组合或引物组合或试剂盒在培育W<sub>x</sub>单倍型水稻中的应用。

[0012] 本发明所采取的技术方案是:

[0013] 本发明的第一个方面,提供一种SNP分子标记,包括以下四个分子标记的一个或多

个:Wx01、K\_060585、K\_060586和K\_060591;其中Wx01的多态性为G/T、K\_060585的多态性为A/C、K\_060586的多态性为T/C、K\_060591的多态性为C/A。

[0014] 根据本发明第一方面所述的SNP分子标记,所述Wx01的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1765760位碱基;所述K\_060585的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768006位碱基;所述K\_060586的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1768998位碱基;所述K\_060591的SNP位点位于水稻第6号染色体上第1767032位碱基。

[0015] 本发明的第二个方面,提供一组引物,所述引物用于扩增本发明第一方面所述SNP分子标记。

[0016] 根据本发明第二个方面,

[0017] 用于扩增Wx01的引物序列为:

[0018] 特异性引物:

[0019] Primer X:5' -CAGGAAGAACATCTGCAAGG-3' (SEQ ID NO.1);

[0020] Primer Y:5' -TCAGGAAGAACATCTGCAAGT-3' (SEQ ID NO.2);

[0021] 通用引物:

[0022] Primer C:5' -TCTGAATAAGAGGGGAAACAA-3' (SEQ ID NO.3);

[0023] 用于扩增K\_060585的引物序列为:

[0024] 特异性引物:

[0025] Primer X:5' -GAGATCAATTRTAACTCACCAT-3' (SEQ ID NO.4);

[0026] Primer Y:5' -AGATCAATTRTAACTCACCAG-3' (SEQ ID NO.5);

[0027] 通用引物:

[0028] Primer C:5' -ACCTCAACAACAACCCATAC-3' (SEQ ID NO.6);

[0029] 用于扩增K\_060586的引物序列为:

[0030] 特异性引物:

[0031] Primer X:5' -CTGGAGGAACAGAAGGGCT-3' (SEQ ID NO.7);

[0032] Primer Y:5' -CTGGAGGAACAGAAGGGCC-3' (SEQ ID NO.8);

[0033] 通用引物:

[0034] Primer C:5' -TCCTGCATGAGCTCCGGGAT-3' (SEQ ID NO.9);

[0035] 用于扩增K\_060591的引物序列为:

[0036] 特异性引物:

[0037] Primer X:5' -TTCCAGGGCCTCAAGCCCC-3' (SEQ ID NO.10);

[0038] Primer Y:5' -GTTCCAGGGCCTCAAGCCCA-3' (SEQ ID NO.11);

[0039] 通用引物:

[0040] Primer C:5' -TCGTCACGCTGAGCGACGTC-3' (SEQ ID NO.12)。

[0041] 优选地,所述特异性引物分别连接不同的荧光接头序列。

[0042] 进一步地,所述荧光接头序列为FAM和HEX荧光接头序列。

[0043] 进一步地,所述FAM和HEX荧光接头序列分别连接在两条特异性引物的5'端。

[0044] 本发明的第三个方面,提供一种试剂盒,所述试剂盒包含本发明第二个方面所述引物组合。

[0045] 本发明的第四个方面,提供本发明第一个方面所述分子标记组合在辅助鉴定水稻

W<sub>x</sub>基因型和/或辅助育种中的应用。

[0046] 本发明的第五个方面,提供本发明第二个方面所述引物组合或本发明第三个方面所述试剂盒在检测水稻W<sub>x</sub>基因型和/或辅助育种中的应用。

[0047] 具体地,利用引物或试剂盒可以检测W<sub>x</sub>基因型,可以加快育种效率,降低育种成本,缩短选育周期,亦可进行有目的的多基因聚合,提高育种效率,进而辅助育种。

[0048] 本发明的第六个方面,提供一种检测W<sub>x</sub>基因型的方法,包括如下步骤:

[0049] S1:采用本发明第二个方面所述引物或本发明第三个方面所述试剂盒对水稻样品基因组进行KASP反应检测;其中,两条特异性引物分别连接不同的荧光接头序列;

[0050] S2:若只检测到引物Primer Y所连荧光接头序列对应的荧光信号,则判断水稻样品为Y型等位基因型;若只检测到引物Primer X所连荧光接头序列对应的荧光信号,则判断水稻样品为X型等位基因型;若同时检测到两种荧光,则判断水稻样品为杂合基因型,组合4个标记的分型情况,根据组合的单倍型判断测试的水稻样品中W<sub>x</sub>基因的类型。

[0051] 进一步地,判断待测水稻为杂合基因型,组合4个标记的基因型结果,根据单倍型判断样品的W<sub>x</sub>类型,如W<sub>x</sub>-K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到TAAC单倍型,则样品为w<sub>x</sub>型,如W<sub>x</sub>-K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCAC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>a</sup>型,如W<sub>x</sub>-K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCAT单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>HH</sup>型,如W<sub>x</sub>-K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCCC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>in</sup>型,如W<sub>x</sub>-K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到TCAC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>b</sup>型。

[0052] 本发明的第七个方面,提供本发明第一个方面所述分子标记组合或本发明第二个方面所述引物组合或本发明第三个方面所述试剂盒在改良稻米品质中的应用。

[0053] 具体地,可以通过分子标记组合辅助检测或引物组合或试剂盒检测W<sub>x</sub>基因型,进而获得W<sub>x</sub>单倍型,运用不同的W<sub>x</sub>单倍型的亲本配组来改良稻米品质。

[0054] 本发明的第八个方面,提供本发明第一个方面所述分子标记组合或本发明第二个方面所述引物组合或本发明第三个方面所述试剂盒在培育不同W<sub>x</sub>单倍型水稻中的应用。

[0055] 本发明的有益效果是:

[0056] 本发明提供一种能用于自动化仪器的高效检测W<sub>x</sub>基因的SNP分子标记,能用于W<sub>x</sub>基因的不同单倍型及辅助选择育种。通过鉴定基因型进行选择,所需时间短,且鉴定结果准确,选择效率较低,准确检测W<sub>x</sub>单倍型,进一步方便亲本配组来改良稻米品质。利用W<sub>x</sub>基因分子标记辅助选择,可以加快育种效率,降低育种成本,缩短选育周期,亦可进行有目的的多基因聚合,提高育种效率,带来巨大的社会效益。该标记应用KASP技术原理进行基因分型,不需要酶切、电泳及测序等,操作简便,利于高通量快速检测。

## 附图说明

[0057] 图1为SNP分子标记的开发流程图。

[0058] 图2为W<sub>x</sub>01分子标记的分型图。

[0059] 图3为K\_060591分子标记的分型图。

[0060] 图4为K\_060586分子标记的分型图。

[0061] 图5为K\_060585分子标记的分型图。

## 具体实施方式

[0062] 下面将结合实施例对本发明的优选实施方式进行详细说明。需要理解的是以下实施例的给出仅是为了起到说明的目的,并不是用于对本发明的范围进行限制。本领域的技术人员在不背离本发明的宗旨和精神的情况下,可以对本发明进行各种修改和替换。下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0063] 实施例1 W<sub>x</sub>基因的SNP分子标记的开发

[0064] 前期研究表明W<sub>x</sub>具有多种等位形式,根据文章发表序列找到不同单倍型对应的SNP,根据文献信息确定W<sub>x</sub>位置在水稻6号染色体的1766194-1770656区间,参考日本晴基因组(MSU7.0)位置,提取变异的SNP位点的侧翼序列。针对这些候选SNP标记,,利用基于KASP反应原理及材料的单碱基差异设计的标记能高通量的对水稻材料进行W<sub>x</sub>基因检测,挑选出能区分不同材料类型及扩增效果好的的SNP标记4个标记W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060586和K\_060585,组合区分W<sub>x</sub>基因的不同单倍型。上述SNP分子标记开发流程图见图1。

[0065] 并利用在线引物设计网站BatchPrimer3 (<http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3/>) 对其进行引物设计。每组标记有三条引物,在其中两条特异性引物5'端分别连接FAM和HEX荧光接头序列。引物委托Invitrogen公司合成。每个标记由三条引物组成,两条特异性引物5'端分别连接LGC公司KASP反应试剂特定的荧光接头序列,一条通用引物。具体引物信息如表1所示。

[0066] 如果样品PCR产物只检测到引物PrimerX对应荧光信号,则检测位点为X型等位基因型;若只检测到引物PrimerY对应荧光信号,则检测位点为Y型等位基因型,;若同时检测到两种荧光信号则检测位点,判断待测水稻为杂合基因型,组合4个标记的基因型结果,根据单倍型判断样品的W<sub>x</sub>类型,如W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到TAAC单倍型,则样品为w<sub>x</sub>型,如W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCAC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>a</sup>型,如W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCAT单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>HH</sup>型,如W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到GCCC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>in</sup>型,如W<sub>x</sub>、K\_060591、K\_060585和K\_060586检测到TCAC单倍型,则样品为W<sub>x</sub><sup>b</sup>型。

[0067] 表1 W<sub>x</sub>的标记信息

分析标记	等位基因 X	等位基因 Y	MSU7.0 定位	PrimerX	PrimerY	PrimerC
Wx01	G	T	Chr6:1765760	5'-CAGGAA GAACATCTG CAAGG-3'	5'-TCAGGA AGAACATCT GCAAGT-3'	5'-TCTGAA TAAGAGGGG AAACAA-3'
[0068] K_060591	C	A	Chr6:1767032	5'-TTCCAG GGCCTCAAG CCCC-3'	5'-GTTCCA GGGCCTCAA GCCCA-3'	5'-TCGTCA CGCTGAGCG ACGTC-3'
K_060585	A	C	Chr6:1768006	5'-GAGATC AATRTAAC TCACCAT-3'	5'-AGATCA ATRTAAC TCACCAG-3'	5'-ACCTCA ACAACAACC CATAC-3'
K_060586	T	C	Chr6:1768998	5'-CTGGAG GAACAGAAG GGCT-3'	5'-CTGGAG GAACAGAAG GGCC-3'	5'-TCCTGC ATGAGCTCC GGGAT-3'

[0069] 实施例2 SNP分子标记的KASP反应的检测

[0070] 1. 针对本发明所述的分子标记组合设计引物组合, 利用KASP反应可高通量的对水稻品种中是否含有Wx基因进行检测, 采用实施例1设计的引物组合。

[0071] 2. 采用简化CTAB法, 从水稻叶片中提取基因组DNA。

[0072] 3. KASP反应测试

[0073] KASP反应测试在LGC SNPline基因分型平台上进行。在微孔反应板中加入20ng DNA样品, 烘干后加入KASP反应混合液, 反应体系见表2。PCR扩增在水浴热循环仪中完成, Touchdown PCR反应条件为: 94℃预变性15分钟; 第一步扩增反应, 94℃变性20秒, 65℃~57℃退火并延伸60秒, 10个循环, 每个循环退火及延伸的温度降低0.8℃; 第二步扩增反应, 94℃变性20秒, 57℃退火并延伸60秒, 32个循环。反应完成后利用扫描仪Pherastar对KASP反应产物进行荧光数据读取, 荧光扫描的结果会自动转化成图形。本实施例中使用的LGC SNPline基因分型平台与其配套试剂耗材均购于英国LGC公司。

[0074] 表2 KASP检测的反应体系

	终浓度 (μM)	体积 (μl)
100μM Primer C	0.42	0.0125
100μM Primer X	0.17	0.0050
100μM Primer Y	0.17	0.0050
2x KASP Master Mix	1x	1.4792
超纯水		1.4983
总体积		3

[0076] 实施例3 SNP分子标记的自然群体验证

[0077] 用标记96份水稻品种进行KASP反应验证, 其中Wx01分子标记的分型图见图2, K\_060591分子标记的分型图见图3, K\_060586分子标记的分型图见图4, K\_060585分子标记的分型图见图5, 结果统计见表3, 除了分型不明确的材料, 84份水稻被分为W<sub>x</sub>、W<sub>x</sub><sup>a</sup>、W<sub>x</sub><sup>H<sup>h</sup></sup>、W<sub>x</sub><sup>in</sup>和W<sub>x</sub><sup>b</sup>五种单倍型, 其中最多的为W<sub>x</sub><sup>b</sup>类型, 粳稻材料都为这个类型, 与前人的研究结果相符合,



也说明了实施例1中的分子标记组合可以准确的检测W<sub>x</sub>基因型。

[0078] 表3 W<sub>x</sub>的标记分型数据

数量	代表材料	Intron1	Exon2	Exon6	Exon10	单倍型	推测表型	类型
		W <sub>x</sub> 01	K_060591	K_060585	K_060586			
1	北海 PL4	T	A	A	C	TAAC	Glu (2.15-2.23%)	w <sub>x</sub>
7	Cho-Ko- KoKu、Tetep	G	C	A	C	GCAC	HighII (25.8126.19%)	W <sub>x</sub> <sup>a</sup>
14	谷梅 4 号	G	C	A	T	GCAT	HighI (24.47-24.98%)	W <sub>x</sub> <sup>HH</sup>
3	IR64	G	C	C	C	GCCC	Intermediate (21.93-23.57%)	W <sub>x</sub> <sup>in</sup>
58	五丰 B、日 本晴	T	C	A	C	TCAC	Low (12.25-15.75%)	W <sub>x</sub> <sup>b</sup>

[0080] 以上实施例仅为介绍本发明的优选案例,对于本领域技术人员来说,在不背离本发明精神的范围内所进行的任何显而易见的变化和改进,都应被视为本发明的一部分。

- [0001] SEQUENCE LISTING
- [0002] <110> 华智生物技术有限公司
- [0003] <120> 一种检测水稻Wx基因的SNP分子标记组合及其应用
- [0004] <130>
- [0005] <160> 12
- [0006] <170> PatentIn version 3.5
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 20
- [0009] <212> DNA
- [0010] <213> 人工序列
- [0011] <400> 1
- [0012] caggaagaac atctgcaagg 20
- [0013] <210> 2
- [0014] <211> 21
- [0015] <212> DNA
- [0016] <213> 人工序列
- [0017] <400> 2
- [0018] tcaggaagaa catctgcaag t 21
- [0019] <210> 3
- [0020] <211> 21
- [0021] <212> DNA
- [0022] <213> 人工序列
- [0023] <400> 3
- [0024] tctgaataag aggggaaaca a 21
- [0025] <210> 4
- [0026] <211> 22
- [0027] <212> DNA
- [0028] <213> 人工序列
- [0029] <400> 4
- [0030] gagatcaatt rtaactcacc at 22
- [0031] <210> 5
- [0032] <211> 21
- [0033] <212> DNA
- [0034] <213> 人工序列
- [0035] <400> 5
- [0036] agatcaattr taactcacca g 21
- [0037] <210> 6
- [0038] <211> 20

- [0039] <212> DNA  
[0040] <213> 人工序列  
[0041] <400> 6  
[0042] acctcaacaa caaccatac 20  
[0043] <210> 7  
[0044] <211> 19  
[0045] <212> DNA  
[0046] <213> 人工序列  
[0047] <400> 7  
[0048] ctggaggaac agaagggt 19  
[0049] <210> 8  
[0050] <211> 19  
[0051] <212> DNA  
[0052] <213> 人工序列  
[0053] <400> 8  
[0054] ctggaggaac agaagggcc 19  
[0055] <210> 9  
[0056] <211> 20  
[0057] <212> DNA  
[0058] <213> 人工序列  
[0059] <400> 9  
[0060] tcctgcatga gctccgggat 20  
[0061] <210> 10  
[0062] <211> 19  
[0063] <212> DNA  
[0064] <213> 人工序列  
[0065] <400> 10  
[0066] ttccagggcc tcaagcccc 19  
[0067] <210> 11  
[0068] <211> 20  
[0069] <212> DNA  
[0070] <213> 人工序列  
[0071] <400> 11  
[0072] gttccagggc ctcaagccca 20  
[0073] <210> 12  
[0074] <211> 20  
[0075] <212> DNA  
[0076] <213> 人工序列  
[0077] <400> 12

[0078] tcgtcacgct gagcgacgtc 20

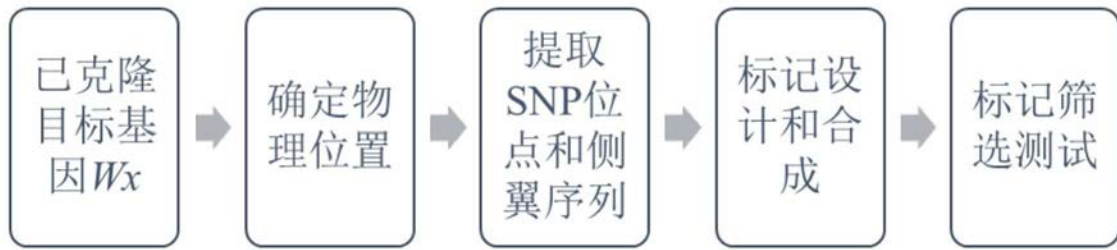


图1

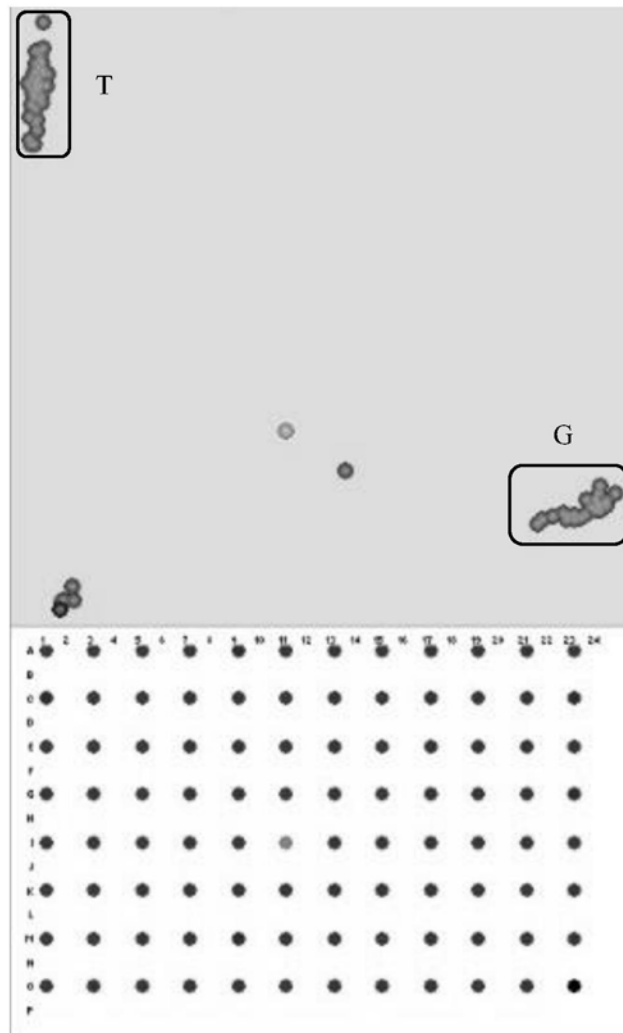


图2

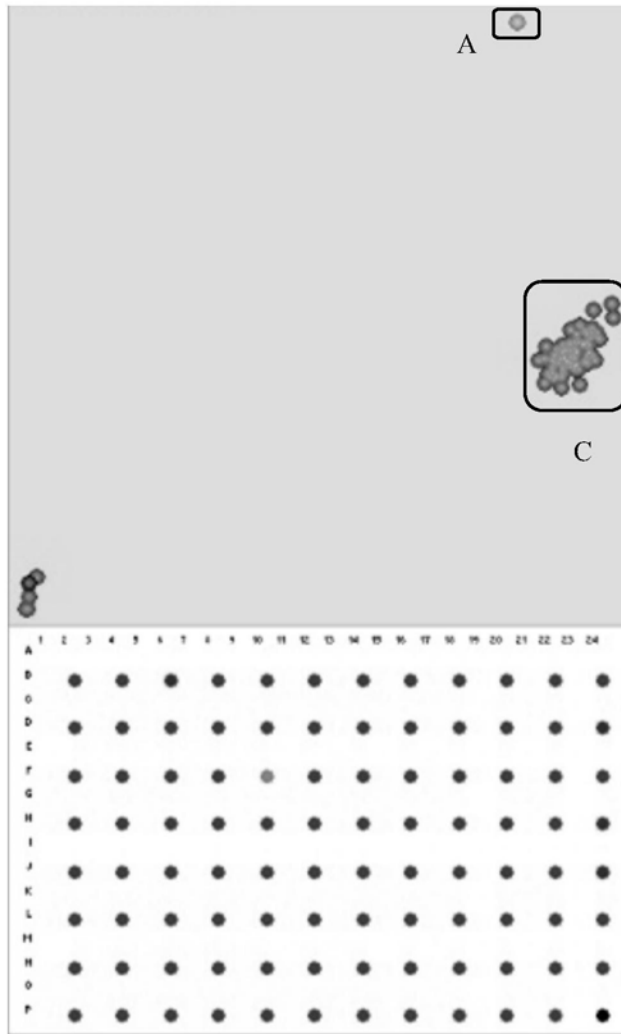


图3

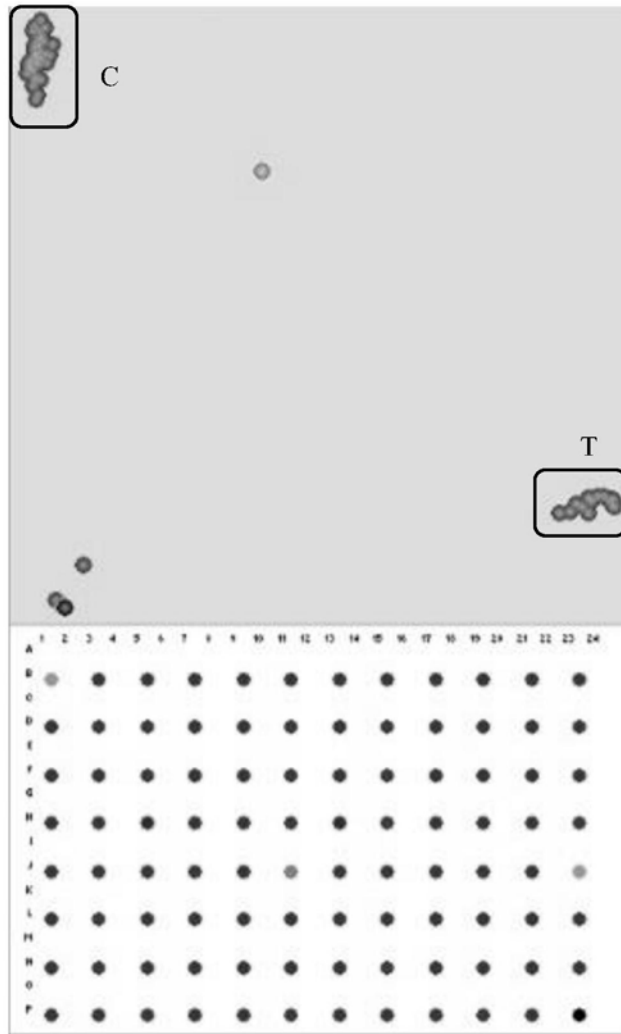


图4

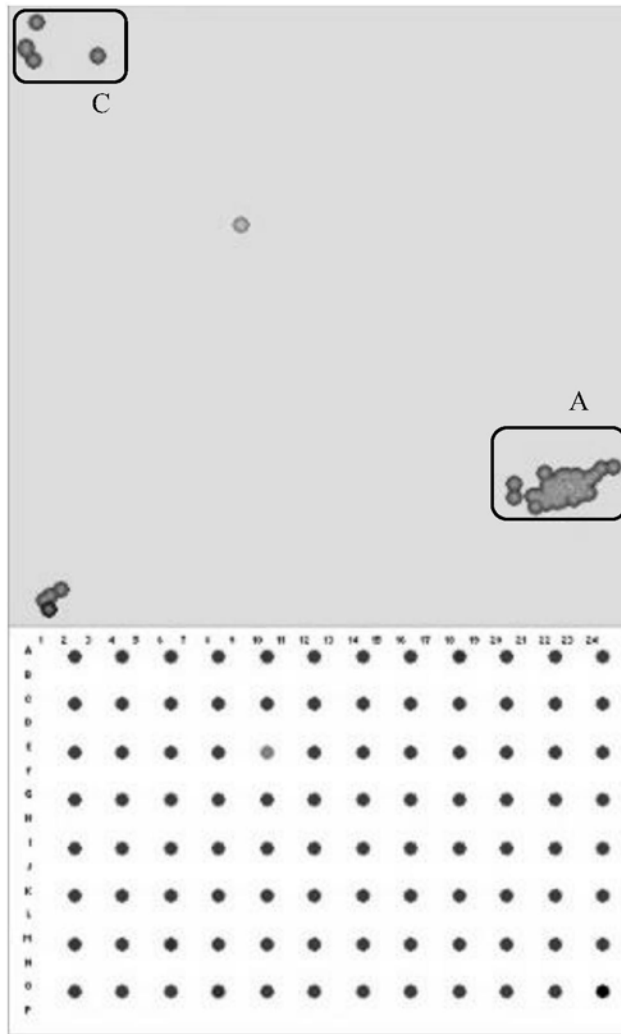


图5