



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107299151 B

(45)授权公告日 2020.06.09

(21)申请号 201710751127.0

C12N 15/11(2006.01)

(22)申请日 2017.08.28

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107299151 A

CN 1193357 A,1998.09.16,
CN 101643784 A,2010.02.10,
CN 1230226 A,1999.09.29,

(43)申请公布日 2017.10.27

郑天清等.水稻功能基因组育种数据库
(RFGB):3K水稻SNP与InDel子数据库.《科学通
报》.2015,第60卷(第4期),第367-371页.

(73)专利权人 华中农业大学
地址 430070 湖北省武汉市洪山区狮子山
街特1号华中农业大学

Hua Liang Liu et,al.Identification
and evaluation of ν -3 fatty acid
desaturase genes for hyperfortifying α -
linolenic acid in transgenic rice seed.
《Journal of Experimental Botany》.2012,第
63卷(第8期),

(72)发明人 余四斌 孙文强 夏雨 张丽婷
袁志阳

审查员 蒋红云

(74)专利代理机构 北京路浩知识产权代理有限
公司 11002

代理人 王文君 黄爽

权利要求书1页 说明书6页
序列表1页 附图1页

(51)Int.Cl.

C12Q 1/6895(2018.01)

(54)发明名称

用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记,并基于PCR技术开发出一对用于稻米亚麻酸品质基因分型的引物(SEQ ID NO: 1-2),所述稻米亚麻酸品质基因为OsFAD3。利用本发明提供的基因标记及其引物能够快速检测水稻材料中影响水稻亚麻酸含量的基因OsFAD3中等位变异,操作简单,成本低。利用本发明的DNA分子标记可以区分不同亚麻酸含量的水稻基因型,检测结果准确可靠;本发明方法能够有效地利用基因OsFAD3功能标记开展分子标记辅助育种,对稻米亚麻酸品质进行遗传改良。

1. 稻米亚油酸/亚麻酸品质基因分型的方法,其特征在于,包括以下步骤:

- 1) 提取待测水稻样品的DNA;
- 2) 以DNA为模板,利用引物OSFA3F和OSFA3R进行PCR扩增;
- 3) 分析PCR扩增产物;

引物OSFA3F和OSFA3R的序列如下:

OSFA3F: 5'-GGCGGAAAGGGAGAAGAG-3'

OSFA3R: 5'-TAGGGACATAGCAAAGCAAAGG-3'。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤2)中PCR反应体系为:DNA模板100ng, 10×PCR buffer 2ul, 2mM dNTP混合液2ul, 10uM引物OSFA3F和OSFA3R各0.3ul, rTaq DNA聚合酶0.1ul, ddH₂O补至20ul;

PCR扩增程序设置为:94℃预变性4分钟;94℃变性30秒,55℃退火30秒,72℃延伸30秒,循环32次;72℃延伸7分钟,结束反应。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,步骤3)中PCR扩增产物在4%聚丙烯酰胺凝胶中电泳检测,若电泳结果出现一条大小为182bp的特征条带,则待测水稻的稻米亚麻酸含量高,而亚油酸/亚麻酸含量比值较低;若电泳结果出现一条大小为190bp的特征条带,则待测水稻的稻米亚麻酸含量低,而亚油酸/亚麻酸含量比值较高;若电泳结果出现上述两条特征条带,则待测水稻为杂合型。

4. 用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记在改良水稻品种亚油酸/亚麻酸品质中的应用;所述DNA分子标记位于水稻OsFAD3基因的5' UTR区域,其核苷酸序列如下:5'-AGGAAGGA-3';

由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚麻酸的含量显著低于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米;由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚油酸与亚麻酸含量的比值显著高于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米。

5. 用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记在鉴别或选育亚油酸/亚麻酸高品质水稻品种中的应用;

所述DNA分子标记位于水稻OsFAD3基因的5' UTR区域,其核苷酸序列如下:5'-AGGAAGGA-3';

由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚麻酸的含量显著低于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米;由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚油酸与亚麻酸含量的比值显著高于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米。

6. 用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记在亚油酸/亚麻酸品质水稻分子标记辅助育种中的应用;

所述DNA分子标记位于水稻OsFAD3基因的5' UTR区域,其核苷酸序列如下:5'-AGGAAGGA-3';

由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚麻酸的含量显著低于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米;由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚油酸与亚麻酸含量的比值显著高于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米。

用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及分子遗传育种技术领域,具体地说,涉及一种用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记及其应用。

背景技术

[0002] α -亚麻酸是人体必需的脂肪酸之一,在维持脂蛋白平衡、降血脂、调节胆固醇代谢、降血压、抗血栓、预防癌变等方面具有重要作用,是一种备受青睐的保健品(石苗茜,2014;Kim et al.,2014)。

[0003] α -亚麻酸在人体内可以转化为二十碳五烯酸(EPA),再经过 β -氧化作用转换成二十二碳六烯酸(DHA)。而EPA和DHA参与降低血小板聚集、抑制血管收缩和血栓形成。多项有关心脏保护的饮食添加 α -亚麻酸试验结果表明, α -亚麻酸作为一种营养元素对心血管疾病有较好的预防作用(Gladine et al.,2013;Nozue et al.,2013;De Goede et al.,2013)。

[0004] 人体由于缺乏 ω -3脂肪酸脱氢酶(FAD),无法将亚油酸转换成 α -亚麻酸,因此必须通过饮食补充 α -亚麻酸(Yadav et al.,1993)。研究表明,一类 ω -3脂肪酸脱氢酶(FAD3)参与植物亚油酸与亚麻酸的转换,影响亚麻酸的合成。拟南芥FAD3突变体的种子中亚麻酸含量显著下降(James and Dooner,1990;Lemieux et al.,1990),而过量表达FAD3或组织特异表达FAD3蛋白能够显著提高亚麻酸的含量(Damude et al.,2006;Eckert et al.,2006;Puttick et al.,2009)。

[0005] 水稻是重要的粮食作物,世界上半以上的人口以稻米为主粮。稻米中含有多种对人体有益的脂肪酸,但 α -亚麻酸含量较低,因此,提高稻米中 α -亚麻酸的含量对促进以稻米为主食的人群的身体健康具有重大意义。研究表明,水稻OsFAD3基因具有 ω -3脂肪酸脱氢酶的活性,在烟草根系中表达OsFAD3,能够显著提高根系中的 α -亚麻酸含量(Kodama et al.,1997)。水稻具有丰富的种质资源,不同稻米种 α -亚麻酸的含量变异广泛,受环境影响很大。目前由于其含量测定需要用特殊仪器如液相色谱等检测技术,成本较高,不易操作,因此,育种利用和改良稻米中 α -亚麻酸含量,难度较大。本发明根据水稻OsFAD3基因的特定的序列变异开发基因标记,鉴定OsFAD3不同基因型与稻米 α -亚麻酸含量的关系,应用开发的基因标记开展分子标记辅助选择提高水稻 α -亚麻酸的含量。

发明内容

[0006] 本发明的目的是开发一种能够鉴别稻米亚油酸/亚麻酸品质的功能性分子标记,并应用于水稻育种材料的筛选、鉴定,增加育种改良过程检测稻米 α -亚麻酸的准确性,提高选择效率。

[0007] 为了实现本发明目的,本发明用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记,所述DNA分子标记位于水稻OsFAD3基因(MSU登录号为Loc_0s11g01340)的5'UTR区域,其核苷酸序列如下:5'-AGGAAGGA-3'。

[0008] 由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚麻酸的含量显著低于

缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米;由含有上述DNA分子标记的水稻植株结实所产生的稻米中亚油酸与亚麻酸含量的比值显著高于缺失上述DNA分子标记的水稻植株所产稻米。

[0009] 本发明还提供用于扩增含有上述DNA分子标记的核酸片段的 PCR引物对,包括:

[0010] OSFA3F:5'-GGCGGAAAGGGAGAAGAG-3'(SEQ ID NO:1)

[0011] OSFA3R:5'-TAGGGACATAGCAAAGCAAAGG-3'(SEQ ID NO:2)

[0012] 本发明还提供含有所述引物对的用于检测上述DNA分子标记的试剂盒。

[0013] 本发明还提供所述引物对或试剂盒在稻米亚油酸/亚麻酸品质基因分型中的应用。包括以下步骤:

[0014] 1) 提取待测水稻样品的DNA;

[0015] 2) 以DNA为模板,利用引物OSFA3F和OSFA3R进行PCR扩增;

[0016] 3) 分析PCR扩增产物。

[0017] PCR反应体系为:DNA模板100ng,10×PCR buffer 2ul,2mM dNTP混合液2ul,10uM引物OSFA3F和OSFA3R各0.3ul,rTaq DNA聚合酶0.1ul,ddH₂O补至20ul。

[0018] PCR扩增程序设置为:94℃预变性4分钟;94℃变性30秒,55℃退火30秒,72℃延伸30秒,循环32次;72℃延伸7分钟,结束反应。

[0019] PCR扩增产物在4%聚丙烯酰胺凝胶中电泳检测,若电泳结果出现一条大小为182bp的特征条带,则待测水稻的稻米亚麻酸含量较高,而亚油酸/亚麻酸含量比值较低;若电泳结果出现一条大小为190bp的特征条带,则待测水稻的稻米亚麻酸含量较低,而亚油酸/亚麻酸含量比值较高;若电泳结果出现上述两条特征条带,则待测水稻为杂合型。

[0020] 本发明还提供所述DNA分子标记在改良水稻品种亚油酸/亚麻酸品质中的应用。

[0021] 本发明还提供所述DNA分子标记在鉴别或选育亚油酸/亚麻酸高品质水稻品种中的应用。

[0022] 本发明进一步提供所述DNA分子标记在水稻分子标记辅助育种中的应用。

[0023] 与现有技术相比,本发明具有以下优点:

[0024] 本发明首次发现一种用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记,并基于PCR技术开发出一对用于稻米亚麻酸品质基因分型的引物,所述稻米亚麻酸品质基因为OsFAD3。利用本发明提供的基因标记及其引物能够快速检测水稻材料中影响水稻亚麻酸含量的基因OsFAD3中等位变异,操作简单,成本低。利用本发明的DNA分子标记可以区分不同亚麻酸含量的水稻基因型,检测结果准确可靠;本发明方法能够有效地利用基因OsFAD3功能标记开展分子标记辅助育种,对稻米亚麻酸品质进行遗传改良。

附图说明

[0025] 图1为本发明实施例2中标记OSFA3在水稻亲本中的多态性,也即用基因标记OSFA3检测不同水稻品种OsFAD3基因等位形式的胶图;其中,从左至右依次为珍汕97,明恢63,日本晴,9311,ACC9(非洲栽培稻),ACC10(普通野生稻),中花11,KASALATH,CYPRESS,红米,品系233,早熟香黑。

具体实施方式

[0026] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。若未特别指明,实施例均按照常规实验条件,如Sambrook等分子克隆实验手册(Sambrook J&Russell DW, Molecular Cloning:a Laboratory Manual,2001),或按照制造厂商说明书建议的条件。

[0027] 实施例1稻米亚麻酸品质基因标记的开发

[0028] 1.根据文献

[0029] Kodama H,Akagi H,Kusumi K,Fujimura T,Iba K.(1997). Structure, chromosomal location and expression of a rice gene encoding the microsomal ω -3 fatty acid desaturase.Plant Molecular Biology,33: 493-502的报道,水稻OsFAD3基因(对应MSU的基因编号为 Loc_0s11g01340)编码的蛋白具有脂肪酸脱氢酶的活性,能够催化亚油酸转换为亚麻酸。在网站ricevarmap(<http://ricevarmap.ncpgr.cn>)和 RIGW(http://rice.hzau.edu.cn/cgi-bin/gb2/gbrowse_syn)中对重测序种质的OsFAD3的基因序列进行比对,发现在OsFAD3基因的5' UTR区域存在一个8bp (AGGAAGGA)的插入缺失变异。

[0030] 2.从MSU网站(<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)下载OsFAD3的基因序列,截取以该8bp插入缺失变异为中心的上下游400bp的序列,利用软件primer premier5设计引物,用以扩增包括该8bp插入缺失位点的片段,设计的基因标记命名为OSFA3,相应引物序列分别为 OSFA3F:5'-GGCGGAAAGGGAGAAGAG-3'和OSFA3R:5'-TAGGGACATAGCAAAGCAAAGG-3'。引物由上海生工生物公司合成。

[0031] 实施例2基因标记OSFA3的检测方法以及在水稻亲本中的多态性

[0032] 1、提取待测水稻样品包括水稻常规稻品种、普通野生稻及非洲栽培稻的DNA

[0033] 2、利用设计的基因标记OSFA3,对样品DNA进行PCR扩增,检测基因标记OSFA3的多态性。

[0034] PCR反应体系:总体积20ul包括:DNA模板100ng,2ul 10X PCR buffer,2ul 2mM dNTP混合液,10uM的引物OSFA3F和OSFA3R各0.3 ul,0.1ul rTaq DNA聚合酶。在PCR热循环仪上进行PCR反应。PCR扩增程序设置为:94℃先预变性4分钟,然后94℃变性30秒,55℃退火30秒,72℃延伸30秒,循环32次,最后72℃延伸7分钟结束反应。

[0035] PCR产物在4%的聚丙烯酰胺凝胶中电泳40分钟(电泳参数:电压:2000V,电流:200mA,功率:90W),用硝酸银和氢氧化钠溶液进行显影和定影。在灯箱前照相,读取带型。得到图1所列的结果(图1)。从图1可见,基因OsFAD3在不同水稻品种间具有多态性,基因标记OSFA3扩增成功,带型清晰,多态性明显、扩增片段大小适中(200bp),说明开发的标记可成功检测不同品种的基因变异。

[0036] 电泳结果出现一条大小为182bp (SEQ ID NO:3)的特征条带,相应待测水稻的稻米亚麻酸含量较高,而亚油酸/亚麻酸含量比值较低;电泳结果出现一条大小为190bp (SEQ ID NO:4)的特征条带,相应待测水稻的稻米亚麻酸含量较低,而亚油酸/亚麻酸含量比值较高;若电泳结果出现上述两条特征条带,则待测水稻为杂合型。

[0037] 实施例3基因标记OSFA3在育种群体中的亚麻酸品质选择的应用

[0038] 为了评价利用标记OSFA3进行分子标记辅助选择稻米亚麻酸品质的效果,对构建的一个粳稻日本晴(NIP)与籼稻珍汕97(ZS97)杂交的育种分离群体作标记OSFA3分析,选择稻米亚油酸/亚麻酸含量较高的基因型。所述应用包括以下步骤:

[0039] 1、提取107株单株的DNA。

[0040] 2、利用标记OSFA3检测OsFAD3基因的基因型，与亲本ZS97基因型一致记为11（扩增产物大小182bp），与NIP基因型一致则记为22（扩增产物大小190bp），同时含有ZS97和NIP基因型的记为杂合12。107个单株中标记OSFA3的基因型表现为11、22、12基因型分离。

[0041] 收获107个单株的种子，利用气相色谱-质谱联用仪测定成熟种胚中的亚油酸、亚麻酸含量。方差分析结果表明（表1），3种基因型之间亚油酸含量没有差异，而亚麻酸含量以及亚油酸与亚麻酸的比值均有显著差异。多重比较显示，11与12基因型之间的亚麻酸含量以及亚油酸与亚麻酸含量的比值没有显著差异，而22基因型与12基因型之间的亚麻酸含量以及亚油酸与亚麻酸含量的比值的差异显著。因此，利用基因标记OSFA3可以很好的区分育种群体中具有不同亚麻酸品质的基因型，能够对亚麻酸含量高以及亚油酸与亚麻酸含量比值低的单株进行有效的选择。

[0042] 表1分离群体OsFAD3基因型与亚麻酸含量分析

	基因型	样本	亚油酸 (mg/g)	亚麻酸 (mg/g)	亚油酸: 亚麻酸
[0043]	11	19	56.61	2.21 A	25.60 B
	22	32	58.32	1.94 B	30.22 A
	12	56	58.62	2.22 A	26.49 B
	显著性		0.70	0.001	0.000

[0044] 注：表1中大写字母A、B表示Duncan测验0.01差异显著水平。

[0045] 实施例4标记OSFA3鉴别水稻自然种质材料的亚麻酸含量高低的的应用

[0046] 应用基因标记OSFA3对水稻自然种质的亚麻酸含量以及亚油酸与亚麻酸含量比值等鉴定。

[0047] 1. 选取了52份种质材料，利用基因标记OSFA3分析这52份水稻种质材料中OsFAD3的基因型，同时利用气相色谱-质谱联用仪测定成熟种胚中的亚油酸和亚麻酸含量。

[0048] 2. 标记OSFA3将52份种质材料中分为两组，一组与ZS97的基因型一致，记为11，另一组与NIP的基因型一致，记为22。对两组种质材料的亚麻酸等含量进行分析结果显示（表2），两类基因型间亚油酸含量差异不显著，亚麻酸含量以及亚油酸与亚麻酸含量的比值差异显著，表明基因标记OSFA3在水稻自然种质群体中对亚麻酸含量也能进行有效的鉴定。

[0049] 表2自然种质群体中OsFAD3基因型与亚麻酸含量分析

	基因型	样本	亚油酸 (mg/g)	亚麻酸 (mg/g)	亚油酸: 亚麻酸
[0050]	11	22	87.07	3.97	22.81
	22	30	92.83	3.26	29.26
	显著性		0.25	7.27E-03	1.47E-04

[0051] 本发明中所用的脂肪酸含量测定方法参考文献(Garg et al., 2016) 所述，具体如下：

[0052] (1) 选取成熟种子100粒，用糙米机（型号：JLGL-45）去掉种子颖壳得到糙米，再用解剖刀将糙米分为种子胚与胚乳，用液氮将胚与胚乳组织分别磨成粉；

[0053] (2) 称取50mg粉末放置于10ml带盖玻璃管中，加入100u1脂肪酸内标（0.04g油酸内

标C17:0溶于100ml氯仿)和3ml脂肪酸提取液1(100ml甲醇:10ml饱和盐酸:10ml氯仿),盖紧瓶盖置于90℃水浴锅中水浴60min;

[0054] (3)冷却到室温,加入1ml双蒸水和2ml脂肪酸提取液2(400 ml己烷:100ml氯仿),震荡30sec;

[0055] (4)将混合液放于离心机(JS-5.3)中,设置转数为2000r/min,离心时长10min;

[0056] (5)吸取上清有机试剂,经0.2um过滤膜过滤,置于1.5ml进样瓶中。-20℃保存,待上机使用;

[0057] (6)取1ml样品按顺序摆放于气相色谱-质谱联用仪(Gas Chromatograph-Mass Spectrometer-computer,GC-MS)(色谱柱:SH Stabil wax DA),分流比设置为1:10,柱箱初始温度设置为170℃,保持1min,然后以3℃/min速率升温到230℃,保持3min;

[0058] (7)利用GC-MS再解析软件(GC-MS分析系统)对出现的峰进行筛库检索,选择所需目的峰进行手动积分,并导出分析结果。

[0059] 本发明具有以下优点:

[0060] 1.本发明提供的方法操作简单、迅速、成本低,一般生物学实验室都可以实施。

[0061] 2.利用本发明提供的基因标记在不同水稻材料中都能够准确区分OsFAD3基因的不同等位形式,确定不同基因型之间亚麻酸的含量差异,检测结果准确可靠。

[0062] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之做一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。

[0063] 参考文献

[0064] 石苗茜. α -亚麻酸改善高血压胰岛素抵抗大鼠血管内皮细胞损伤的作用和机制研究.[博士学位论文].第四军医大学,2014

[0065] Kim K,Nam Y,Kim H,Hayes A, Lee B. (2014). α -Linolenic acid: nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. Food Chem. Toxicol. 70:163-178.

[0066] Gladine C,Combe N,Vaysse C, et al. (2013). Optimized rapeseed oil enriched with healthy micronutrients: a relevant nutritional approach to prevent cardiovascular diseases. Results of the Optim'Oils randomized intervention trial. J. Nutr. Biochem. 24:544-549.

[0067] Nozue T,Yamamoto S,Tohyama S, et al. (2013). Effects of statins on serum n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acid ratios in patients with coronary artery disease. J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther. 18:320-326.

[0068] De Goede J,Verschuren W,Boer J,Kromhout D,Geleijnse J. (2013). N-6 and n-3 fatty acid cholesteryl esters in relation to incident stroke in a Dutch adult population: a nested case-control study. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 23: 737-743.

[0069] Yadav N,Wierzbicki A,Aegerter M, et al. (1993). Cloning of higher plant x-3 fatty acid desaturases. Plant Physiol. 103:467-476.

[0070] James DW,Dooner HK. 1990. Isolation of EMS-induced mutants in

Arabidopsis altered in seed fatty acid composition. *Theor. Appl. Genet.* 80:241-245.

[0071] Lemieux B, Miquel M, Somerville C, Browse J. 1990. Mutants of Arabidopsis with alterations in seed lipid fatty acid composition. *Theor. Appl. Genet.* 80: 234-240.

[0072] Damude H, Zhang H, Farrall L, Ripp K, Tomb J, Hollerbach D, Yadav N. (2006). Identification of bifunctional D12/x-3 fatty acid desaturases for improving the ratio of x-3 to x-6 fatty acid in microbes and plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103:9446-9451.

[0073] Eckert H, LaVallee B, Schweiger B, Kinney A, Cahoon E, Clemente T. (2006). Co-expression of the borage D6 desaturase and the Arabidopsis D15 desaturase results in high accumulation of stearidonic acid in the seeds of transgenic soybean. *Planta* 224:1050-1057.

[0074] Puttick D, Dauk M, Lozinsky S, Smith M. 2009. Overexpression of a FAD3 desaturase increases synthesis of a polymethylene-interrupted dienoic fatty acid in seeds of Arabidopsis thaliana L. *Lipids* 44:753-757.

[0075] Kodama H, Akagi H, Kusumi K, Fujimura T, Iba K. (1997). Structure, chromosomal location and expression of a rice gene encoding the microsomal ω -3 fatty acid desaturase. *Plant Mol. Biol.* 33:493-502

[0076] Sambrook J & Russell DW, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 2001

[0077] Garg S, Rizhsky L, Jin H, Yu X, Jing F, Yandeu-Nelson M, Nikolau B. (2016). Microbial production of bi-functional molecules by diversification of the fatty acid pathway. *Metab. Eng.* 35:9-20.

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 华中农业大学
- [0003] <120> 用于鉴别稻米脂肪酸品质的DNA分子标记及其应用
- [0004] <130> KHP171115421.3
- [0005] <160> 4
- [0006] <170> SIP0SequenceListing 1.0
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 18
- [0009] <212> DNA
- [0010] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0011] <400> 1
- [0012] ggcggaaagg gagaagag 18
- [0013] <210> 2
- [0014] <211> 22
- [0015] <212> DNA
- [0016] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0017] <400> 2
- [0018] tagggacata gcaaagcaaa gg 22
- [0019] <210> 3
- [0020] <211> 182
- [0021] <212> DNA
- [0022] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0023] <400> 3
- [0024] ggcggaaagg gagaagagac aagaaagaga aatttaaggg gaggtgtttg gtttgtgcct 60
- [0025] acgaacgcga atgcgatgga tgggccgcaa cgcaaacca aaccaaccc aggaaggaag 120
- [0026] gaaaccaagc tcctcctcct gtgttgtgtg cggcctgccc cctttgcttt gctatgtccc 180
- [0027] ta 182
- [0028] <210> 4
- [0029] <211> 190
- [0030] <212> DNA
- [0031] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0032] <400> 4
- [0033] ggcggaaagg gagaagagac aagaaagaga aatttgaggg gaggtgtttg gtttgtgcct 60
- [0034] gcgaacgcga atgcgatgga tgggccgcaa cgcaaacca aaccaaccc aggaaggaag 120
- [0035] gaaggaagga aagcaagctc ctctcctgt gctgtgtgcg gcctgcccc tttgctttgc 180
- [0036] tatgtcccta 190

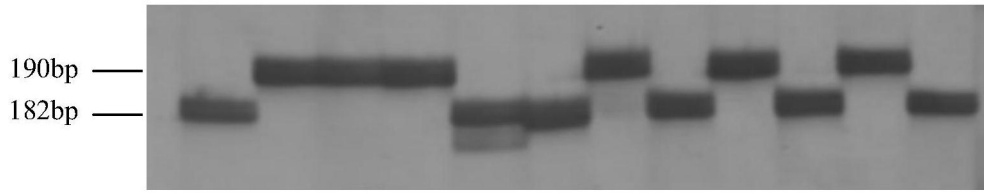


图1