



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103907529 B

(45) 授权公告日 2016.05.11

(21) 申请号 201310700355.7

(22) 申请日 2013.12.18

(73) 专利权人 中国科学院南海海洋研究所
地址 510301 广东省广州市新港西路 164 号

(72) 发明人 张跃环 喻子牛 肖述 张扬

(74) 专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限公司 44001

代理人 刘明星

(51) Int. Cl.

A01K 67/033(2006.01)

A01K 61/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 101077063 A, 2007.11.28,

CN 101642064 A, 2010.02.10,

US 4834024 A, 1989.05.30,

JP 特开平 10-150879 A, 1998.06.09,

Paul D. Rawson. Cross-Breeding

for Improved Growth and Disease

Resistance in the Eastern Oyster. 《NRAC

Publication》. 2010, 第 1-6 页.

张跃环等. 香港巨牡蛎和长牡蛎幼虫及稚贝的表型性状. 《生态学报》. 2012, 第 32 卷 (第 4 期), 第 1105-1114 页.

闫喜武等. 菲律宾蛤仔奶牛蛤品系两个世代的杂交与近交效应. 《水产科学》. 2011, 第 35 卷 (第 5 期), 第 682-691 页, 尤其是第 1.2 节.

张跃环. 香港巨牡蛎与长牡蛎的种间杂交效应及遗传改良研究. 《中国海洋大学博士学位论文》. 2013, 第 1-211 页, 尤其是摘要, 第 2.1.6 节, 第 6.1.1.1-6.1.1.2 节, 表 6-1, 第 62 页第 2 段, 第 9 页第 2 段.

霍忠明等. 香港巨牡蛎与近江牡蛎杂交及回交子代早期生长发育比较. 《水产学报》. 2013, 第 37 卷 (第 8 期), 第 1155-1161 页.

审查员 王涛

权利要求书1页 说明书5页

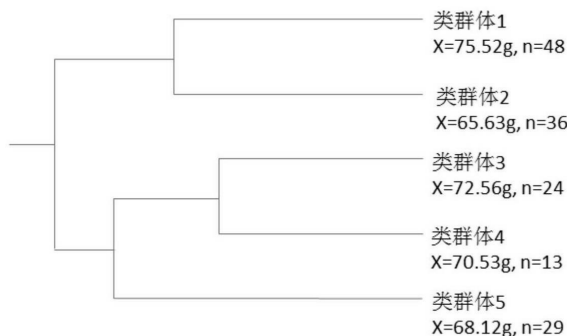
序列表17页 附图1页

(54) 发明名称

一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法

(57) 摘要

本发明公开了一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法。(a) 利用牡蛎远缘杂种回交中具有明显生长优势的回交组合为材料, 以双亲及回交子一代 BC1F1_c 为对照, 按照 10-15% 比例, 以鲜重为指标, 上选回交子一代 BC1F1, 获得表型性状上选群体 BC1F1_p; (b) 对步骤 (a) 已选出的表型性状上选群体 BC1F1_p 进行分子标记筛选, 从中筛选基因型相对一致、鲜重最大的 3-5% 部分个体作为繁殖群体进行培育, 得到双优型群体 BC1F1_c; (c) 利用步骤 (b) 中已经选出的双优型群体 BC1F1_c 作为亲本, 进行自繁, 以双亲及回交 F1 自繁子二代 BC1F2_c 对照, 获得具有显著回交优势的自繁子二代 BC1F2_c; (d) 重复步骤 (c), 进行双优型子代连续自繁, 直到生长性状稳定遗传为止, 从而固定牡蛎回交子代的生长优势。



1. 一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法,其特征在于,包括以下步骤:

(a) 远缘杂种回交子代筛选:利用牡蛎远缘杂种回交中具有明显生长优势的回交组合为材料,以双亲及回交子一代BC1F1_c为对照,按照10-15%比例,以鲜重为指标,筛选回交子一代BC1F1,获得表型性状筛选群体BC1F1_P;

(b) 分子标记筛选:对步骤(a)已选出的表型性状筛选群体BC1F1_P进行分子标记筛选,从中筛选基因型相对一致、鲜重最大的3-5%部分个体作为繁殖群体进行培育,得到双优型群体BC1F1_G;

(c) 双优型群体自繁:利用步骤(b)中已经选出的双优型群体BC1F1_G作为亲本,进行自繁,以双亲及回交F1自繁子二代BC1F2_c对照,获得具有显著回交优势的自繁子二代BC1F2_G;

(d) 双优型子代纯化:重复步骤(c),进行双优型子代BC1F2_G连续自繁,直到生长性状稳定遗传为止,从而固定牡蛎回交子代的生长优势。

2. 根据权利要求1所述的育种方法,其特征在于,所述的牡蛎远缘杂种其雄性亲本和雌性亲本分别为巨蛎属牡蛎中的任意两个物种。

3. 根据权利要求2所述的育种方法,其特征在于,所述的牡蛎远缘杂种其雄性亲本和雌性亲本分别为长牡蛎与香港牡蛎。

4. 根据权利要求1所述的育种方法,其特征在于,所述的牡蛎远缘杂种回交子代来自于巨蛎属牡蛎远缘杂种与其亲本再次杂交所产生的子代。

5. 根据权利要求1所述的育种方法,其特征在于,所述的分子标记为SSR或SNP。

一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法

技术领域:

[0001] 本发明属于海洋农业技术中的牡蛎遗传育种领域,具体涉及一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法。

背景技术:

[0002] 远缘回交(Distant backcross),是指利用可育的杂种F1与亲本种间的轮回杂交,是杂交育种中一种重要的遗传改良手段(张天真,2005)。它可以有效的打破目标基因与不利基因连锁,增加重组频率,提高异源种质渐渗,控制超亲分离,增强杂种育性,从而创造优良重组类型。目前,远缘回交多见于作物育种中,大多会获得比较理想的遗传改良效果(盖钧镒,2006,尤其在作物上的应用比较广泛,如马铃薯(Vallejos& Tanksley,1983)、水稻(Causse et al.,1994)、番茄(Bernacchi& Tanksley,1997)、亚麻(Li et al.,2004)等。

[0003] 对于水产动物而言,远缘回交主要集中在鱼类育种上,如鲤鲫(楼允东,1999;刘少军,2010)、鲫鲂(覃钦博,2010;宋灿等,2012)、罗非鱼(Bezault et al.,2012)、牙鲆等(Sui et al.,2011),这些研究均获得明显的遗传改良效果。此外,学者们开展了几种海胆的种间杂交,并且利用可育杂种与亲本种进行了种间回交受精实验,发现杂种与亲本种间具有良好的配子亲和性(常亚青等,2004;Rahman& Uehara,2002;Ding et al.,2007)。由于大部分贝类种间的天然杂交不易发生,且杂种大多难于培养,所以,远缘回交报道较少(Gaffney& Allen,1993;Allen et al.,1993)。学者们发现了天然回交的贻贝(Toro et al.,2002;Comesana et al.,1999;Brannock& Hilbish,2010)和鲍鱼(Brown,1995;柯才焕等,2000;Ahmed et al.,2008;Luo et al.,2010),并且研究了他们的遗传渐渗机制。

[0004] 至于牡蛎,Camara et al.,(2008)利用1个长牡蛎(*Crassostrea gigas*)与熊本牡蛎(*C. sikamea*)自然杂种的雌性个体与其雄性双亲的回交受精实验,但该研究至D形幼虫就终止了。申请人发现,香港牡蛎(*C. hongkongensis*)与长牡蛎可以杂交,而且存在单向受精,即香港牡蛎的卵子可以与长牡蛎精子受精,反之不能受精;而且在适宜的环境条件下可以培育出大量的种间杂交稚贝(张跃环等,2012)。杂种不具有生长优势,而且高度不育,尤其是雄性个体大部分以精母细胞形式存在,仅有少量个体的精母细胞可以转化为精子。在此基础上,利用少量可育的杂种配子与双亲进行回交,结果发现杂种与双亲间具有较高受精率,不存在生殖障碍,而且回交子代表现出回交优势(张跃环,2012)。

发明内容:

[0005] 本发明的目的是克服传统牡蛎育种周期长,效果显著性差等缺陷,提供一种能够缩短育种年限,有效固定牡蛎远缘杂种回交生长优势的育种方法。

[0006] 本发明的固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0007] (a)远缘杂种回交子代上选:利用牡蛎远缘杂种回交中具有明显生长优势的回交组合为材料,以双亲及回交子一代BC1F1c为对照,按照10-15%比例,以鲜重为指标,上选回交子一代BC1F1,获得表型性状上选群体BC1F1p;

[0008] (b)分子标记筛选:对步骤(a)已选出的表型性状上选群体BC1F1_P进行分子标记筛选,从中筛选基因型相对一致、鲜重最大的3-5%部分个体作为繁殖群体进行培育,得到双优型群体BC1F1_G;该群体具有表型性状好、基因型相对一致等优点(BC1F1_G双优型群体)

[0009] (c)双优型群体自繁:利用步骤(b)中已经选出的双优型群体BC1F1_G作为亲本,进行自繁,以双亲及回交F1自繁子二代BC1F2_C对照,获得具有显著回交优势的自繁子二代BC1F2_G;

[0010] (d)双优型子代纯化:重复步骤(c),进行双优型子代连续自繁,直到生长性状稳定遗传为止,从而固定牡蛎回交子代的生长优势。

[0011] 通过以上步骤,经过2~3代的双优型子代优化,可以纯化异源导入的控制快速生长的相关基因。由于结合了分子标记筛选,明显的缩短了育种年限,并最终使得显著生长优势这一表型性状得到稳定表达。

[0012] 所述的牡蛎远缘杂种其雄性亲本和雌性亲本优选分别为巨蛎属中任意两个物种。

[0013] 所述的牡蛎远缘回交子代优选来自于巨蛎属牡蛎远缘杂种与其亲本再次杂交所产生的子代。

[0014] 所述的牡蛎远缘杂种其雄性亲本和雌性亲本优选分别为长牡蛎与香港牡蛎。

[0015] 所述的分子标记可以为SSR、SNP等。

[0016] 本发明不同于闫喜武等(2008)申请的发明名称:一种是由于用于贝类快速生长的选择方法,专利号为:200810011755.6的国家发明专利,因为该方法主要是在种内进行表型性状的连续选择,而本发明是在种间回交基础上,进行表型筛选,结合分子手段,纯化异种来源的生长性状相关的基因型,从而固定种间回交优势。本发明是以回交子一代BC1F1为材料,通过上选,结合分子标记筛选种,固定远缘杂种回交优势。其核心创新点是:通过结合分子标记筛选方法,有效固定、获得可以稳定遗传的回交优势。

[0017] 本发明结合分子辅助育种,导入了异种有利基因,明显缩短了育种年限和养殖周期,有效的固定了回交生长优势。克服了传统牡蛎育种周期长,效果显著性差等缺陷,具有高效、简便的优点,为牡蛎种质遗传改良及新品种培育奠定了坚实的理论与实践基础。

附图说明:

[0018] 图1是本发明的技术路线图(实线部分为本发明核心内容,虚线部分为基础工作);

[0019] 图2是表型上选组的UPGMA聚类图(X表示平均鲜重,n表示类群数量)

具体实施方式

[0020] 以下实施例是对本发明的进一步说明,而不是对本发明的限制。

[0021] 实施例1

[0022] 第一步、远缘杂种回交子代上选:首先,利用香港牡蛎(HH,雌性)与长牡蛎(GG、雄性)远缘杂种回交中具有显著生长优势的雄性回交组合(G/Hg:长牡蛎雌与杂种雄性回交)子代为材料,以双亲及回交组BC1F1_C为对照,按照15%比例,以鲜重为指标,上选回交子一代BC1F1,获得表型性状上选群体BC1F1_P(表1,图1)。从表1中,可以看出,尚未经过筛选的回交自繁子二代BC1F1_C比长牡蛎、香港牡蛎重量分别提高13.8%、34.0%;表型上选组BC1F1_P分别提高29.2%、52.0%。

[0023] 表1、360日龄亲本的一次选择

[0024]

	类别	平均鲜重 (g)	个数	选择比例
对照组	长牡蛎	54.78	1000	—
	香港牡蛎	46.53	1000	—
	BC1F1 _C	62.35	1000	—
表型上选组	BC1F1 _P	70.72	150	15%
基因型上选组	BC1F1 _G	75.25	48	4.8%

[0025] 第二步、分子标记筛选:利用40对SSR对种间通用标记引物,以第一步已选出的表型性状上选群体BC1F1_P中150个个体为研究对象,参照马海涛(香港巨牡蛎微卫星标记开发及遗传连锁图谱构建[D],广州,中国科学院南海海洋研究所,2012)开发的40对牡蛎种间通用SSR引物(表2),通过POPGENE1.31和SPSS16软件对其标记结果进行UPGMA聚类统计分析,发现所有子代可以划分为5大类群,从中筛选基因型相对一致、平均鲜重最大的类群1,共48个个体作为基因型上选组(繁殖群体)BC1F1_G进行培育,得到双优型群体,该群体具有表型性状好、基因型相对一致等优点(表1,图2)。如表1所示,基因型上选组BC1F1_G(双优型群体)比长牡蛎、香港牡蛎重量分别提高37.4%、61.7%。

[0026] 表2香港牡蛎与长牡蛎的种间通用SSR引物

[0027]

编号	引物名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
1	Ch401	TCATCACCATTACCACCA	CATCATCTCAGGGAAGTCG
2	Ch404	AGCGACGAGAGGAGGAGTTA	ACATCGGCGAAGCAAAGGT
3	Ch406	GGTAAACCCAATCAGGGAAAC	GTGGGATATTGTGAAGACTCG
4	Ch407	GTCGTTCGTCCCTCTTTACTTA	GGCGAAGACCCGTCATTT
5	Ch409	CGACTGGTGGGAGTTTCTGAC	GCCGCTTCTATCTCCTTTGC
6	Ch410	TTCTTCCCAAGGACCATCA	TTCTGATATGTCGTCAAACC
7	Ch411	CCGCCAGTGCATCCTCA	CCAGCAGGGCTTTAGACG
8	Ch412	TAAGCCAACCACGACCAC	ACGCACCACTGCTTCATT
9	Ch413	CACCCAGAACTTGACGAGA	CACCGCCACCACCATTAT
10	Ch416	GTTCAAATTGAGGGGAGT	TTTTCATCTGGCTCTGTG
11	Ch417	GTGAGTGCGGTGGTTTCT	CTACCTTCTGTGCTGGATGA
12	Ch419	ATGAAGCCCAATTACCAC	TCTCCCATGACAGAGGAT

[0028]

13	Ch420	GAGGGGTGTTGAACTGGA	CGGTGACACTTGTTTTCC
14	Ch425	CAGACGACCAACGCCTCA	CCGCCAACTCCTCTACAA
15	Ch426	ACGGGGGTGTGTATGTCTC	ACTGGTAGGTGGTGTTTTGAT
16	Ch428	CGTACAAAAGAAGGTCACAG	TCACAAACCGCATACAAACA

17	Ch429	GAATTATTTAGCTGTTGCCC	CTCCTTCTTTCACACCCTTG
18	Ch430	AAGGAGACCCTGAACAAAG	TCCACCTCACCAACCGTAA
19	Ch431	GAGTCTCAGTCCAGTGACAATG	GAGACATAGCGAGCCTTTTTTC
20	Ch432	ATGACCTGACCCTTCACTCCT	AAGCTACATTCCGTAACCTA
21	Ch433	GAGTGTGCTCAACCAAATAC	GGGATCTTGAGATTCCCTTAG
22	Ch610	TGCCCAATCACAGGACAT	ACATGCAACTACAACCCC
23	Ch615	AAGCATGATGGAGGAGCT	ATGTTGGTGACGGTGAAG
24	Ch620	TAAACAGGTGGGTGGAGA	AGCAGGTGATACGGAAAT
25	Ch625	ACTGCGTGCAATAAAACC	GTCTCCTTGTCACTCCTCA
26	Ch626	GTCACTGGAGTCCATGCT	AGTTCCGTCAACACCTTT
27	Ch632	AGTCCATTGAAGTGACCTA	TTTCAGTATCAGCCAAGC
28	Ch633	GTCATCTTAATCCCTGCT	ACCCCACTCTAGACAATA
29	Ch635	ATGGTTTAGGCGGATTTG	CAGGAAGGTAGGGTTTGC
30	Ch656	CACATGTATCCCTAGTAGA	CGAGGTGTCAACATCTAT
31	Ch659	GAATGATGGCCTTTGTGC	GGGGTTAACGATGGAAA

[0029]

32	Ch663	GTAGTTAGAGCCAATCTGTCC	GGTTTAGGATTCAATGGAGGAA
33	Ch670	AGAAAAGGCGAAGTAATGC	CACCATCTGTCATCATCA
34	Ch674	CATCTACTGTGGCTGTTT	GGATGATGACCATGATGA
35	Ch676	TGCTGTTGGGTAGACATGGA	TGCAGTCGAGGTGTCAACAT
36	Ch680	ATGACACATACGGAGCGTTG	TGAGAAAACACGACGGACAAG
37	Ch681	CGTGGCATATTTCTTAGC	TCACCATCATCATCAGCA
38	Ch698	CGCTTGGTGGAAATCAGTA	TTGTCTTCAGCCTTTGGA
39	Ch699	CGTCATTGTCATCATCGTCA	ACAAAGAAGACGCTGGTGGT
40	Ch706	GACAGGGGATACTAAAGC	GACCCTTAGATTCACTCC

[0030] 第三步、双优型群体自繁：翌年，以双亲及回交子代自繁为对照，利用第二步已经选出的双优型群体BC1F1_G进行自繁，以双亲及回交F1自繁子二代BC1F2_C对照，获得具有快速生长优势的回交自繁子二代(BC1F2_G)。从表3中，可以看出，尚未经过筛选的回交自繁子二代BC1F2_C比长牡蛎、香港牡蛎重量分别提高21.9%、44.2%；表型上选组BC1F2_P分别提高44.7%、71.1%；基因型上选组BC1F2_G(双优型群体)分别提高61.7%、91.2%。由此可见，传统选择育种结合分子辅助育种，可以有效的提高选择效率，加快育种进程。重复以上步骤，进行双优型子代BC1F2_G连续自繁2-3代，可以获得稳定遗传的生长性状，达到固定牡蛎快速生长优势的目的。

[0031] 表3、360日龄亲本的二次选择

[0032]

类别	平均鲜重 (g)	个数	选择比例
----	----------	----	------

[0033]

	长牡蛎	53.89	1000	—
对照组	香港牡蛎	45.58	1000	—
	BC1F2 _C	65.71	1000	—
表型上选组	BC1F2 _P	77.98	120	12%
基因型上选组	BC1F2 _G	87.16	50	5%

序列表

- <110>中国科学院南海海洋研究所
- <120>一种固定牡蛎远缘杂种回交优势的育种方法
- <160>80
- <210>1
- <211>18
- <212>DNA
- <213>人工序列
- <400>1
- TCATCACCAT TACCACCA 18
- <210>2
- <211>19
- <212>DNA
- <213>人工序列
- <400>2
- [0001] CATCATCTCA GGGAAGTCG 19
- <210>3
- <211>20
- <212>DNA
- <213>人工序列
- <400>3
- AGCGACGAGA GGAGGAGTTA 20
- <210>4
- <211>19
- <212>DNA
- <213>人工序列
- <400>4
- ACATCGGCGA AGCAAAGGT 19
- <210>5
- <211>21

<212>DNA
<213>人工序列
<400>5
GGTAAACCCA ATCAGGGAAA C 21
<210>6
<211>21
<212>DNA
<213>人工序列
<400>6
GTGGGATATT GTGAAGACTC G 21
<210>7
<211>22
<212>DNA
<213>人工序列
<400>7
[0002] GTCGTTGTC CCTCTTACT TA 22
<210>8
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>8
GGCGAAGACC CGTCATTT 18
<210>9
<211>21
<212>DNA
<213>人工序列
<400>9
CGACTGGTGG GAGTTTCTGA C 21
<210>10
<211>20

<212>DNA
<213>人工序列
<400>10
GCCGCTTCTA TCTCCTTGC 20
<210>11
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>11
TTCTTCCCAA GGACCATCA 19
<210>12
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>12
[0003] TTCTGATATG TCGTCAAACC 20
<210>13
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>13
CCGCCAGTGT CATCCTCA 18
<210>14
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>14
CCAGCAGGGC TTAGACG 18
<210>15
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>15
TAAGCCAACC ACGACCAC 18
<210>16
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>16
ACGCACCACT GCTTCATT 18
<210>17
<211>24
<212>DNA
<213>人工序列
<400>17
[0004] CACCCAGA AACTTGAC GAGA 24
<210>18
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>18
CACCGCCACC ACCATTAT 18
<210>19
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>19
GTTCAAATTG AGGGGAGT 19
<210>20
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>20
TTTTCATCTG GCTCTGTG 18
<210>21
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>21
GTGAGTGCGG TGGTTTCT 18
<210>22
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>22
[0005] CTACCTTCTGTGCTGGATGA 20
<210>23
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>23
ATGAAGCCCA ATTACCAC 18
<210>24
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>24
TCTCCCATGA CAGAGGAT 18
<210>25
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>25
GAGGGGTGTT GAACTGGA 18
<210>26
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>26
CGGTGACACT TGTTTTCC 18
<210>27
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>27
[0006] CAGACGACCA ACGCCTCA 18
<210>28
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>28
CCGCCAACTC CTCTACAA 18
<210>29
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>29
ACGGGGGTGT GTATGTCTC 19
<210>30
<211>21

<212>DNA
<213>人工序列
<400>30
ACTGGTAGGT GGTGTTTGA T 21
<210>31
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>31
CGTACAAAAG AAGGCACAG 20
<210>32
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>32
[0007] TCACAAACCG CATAAAACA 20
<210>33
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>33
GAATTATTTA GCTGTTGCC 20
<210>34
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>34
CTCCTTCTTT CACACCCTG 20
<210>35
<211>19

<212>DNA
<213>人工序列
<400>35
AAGGAGACCC TGAACAAAG 19
<210>36
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>36
TCCACCTCAC CAACCGTAA 19
<210>37
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>37
[0008] GAGTCTCAGT CCAAGTGACAA TG22
<210>38
<211>21
<212>DNA
<213>人工序列
<400>38
GAGACATAGC GAGCCTTTTT C 21
<210>39
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>39
ATGACCTGAC CTCACCTCCT 20
<210>40
<211>20

<212>DNA
<213>人工序列
<400>40
AAGCTACATT CCGTAACCTA 20
<210>41
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>41
GAGTGTGCTC AACCAAATAC 20
<210>42
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>42
[0009] GGGATCTTGA GATTCCTTAG 20
<210>43
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>43
TGCCCAATCA CAGGACAT 18
<210>44
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>44
ACATGCAACT ACAACCCC 18
<210>45
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>45
AAGCATGATG GAGGAGCT 18
<210>46
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>46
ATGTTGGTGA CGGTGAAG 18
<210>47
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>47
[0010] TAAACAGGTG GGTGGAGA 18
<210>48
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>48
AGCAGGTGAT ACGGAAAT 18
<210>49
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>49
ACTGCGTGCA ATAAAACC 18
<210>50
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>50
GTCTCCTTGT CATCCTCA 18
<210>51
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>51
GTCACTGGAG TCCATGCT 18
<210>52
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>52
[0011] AGTTCCGTCA ACACCTTT 18
<210>53
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>53
AGTTCATTG AAGTGACCTA 20
<210>54
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>54
TTTCAGTATC AGCCAAGC 18
<210>55
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>55
GTCATCTTAA TCCCTGCT 18
<210>56
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>56
ACCCCACTCT AGACAATA 18
<210>57
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>57
[0012] ATGGTTTAGG CCGATTG 18
<210>58
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>58
CAGGAAGGTA GGGTTTGC 18
<210>59
<211>19
<212>DNA
<213>人工序列
<400>59
CACATGTATC CCTAGTAGA 19
<210>60
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>60
CGAGGTGTCA ACATCTAT 18
<210>61
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>61
GAATGATGGC CTTGTGC 18
<210>62
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>62
[0013] GGGTTTAAC GATGAAA 18
<210>63
<211>21
<212>DNA
<213>人工序列
<400>63
GTAGTTAGAG CCAATCTGTC C 21
<210>64
<211>22
<212>DNA
<213>人工序列
<400>64
GGTTTAGGAT TCAATGGAGG AA 22
<210>65
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>65
AGAAAGGCGA AGTAATGC 18
<210>66
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>66
CACCATCTGT CATCATCA 18
<210>67
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>67
[0014] CATCTACTGT GGCTGTTT 18
<210>68
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>68
GGATGATGAC CATGATGA 18
<210>69
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>69
TGCTGTTGGG TAGACATGGA 20
<210>70
<211>20

<212>DNA
<213>人工序列
<400>70
TGCAGTCGAG GTGTCAACAT 20
<210>71
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>71
ATGACACATA CGGAGCGTTG 20
<210>72
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>72
[0015] TGAGAAACAC GACGGACAAG 20
<210>73
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>73
CGTGGCATAT TTCTTAGC 18
<210>74
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>74
TCACCATCAT CATCAGCA 18
<210>75
<211>18

<212>DNA
<213>人工序列
<400>75
CGCTTGGTGG AATCAGTA 18
<210>76
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>76
TTGTCTTCAG CCTTTGGA 18
<210>77
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>77
[0016] CGTCATTGTC ATCATCGTCA 20
<210>78
<211>20
<212>DNA
<213>人工序列
<400>78
ACAAAGAAGA CGCTGGTGGT 20
<210>79
<211>18
<212>DNA
<213>人工序列
<400>79
GACAGGGGAT ACTAAAGC 18
<210>80
<211>18

<212>DNA

[0017]

<213>人工序列

<400>80

GACCCTTAGA TTCACTCC 18

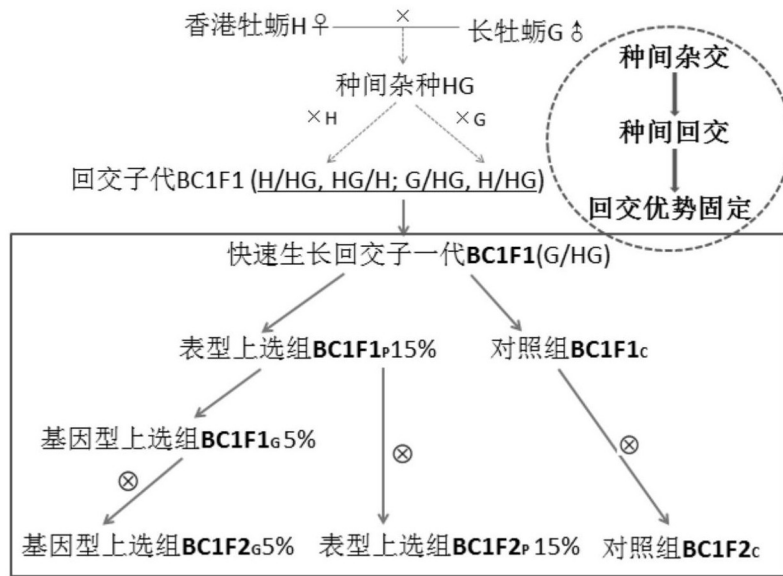


图1

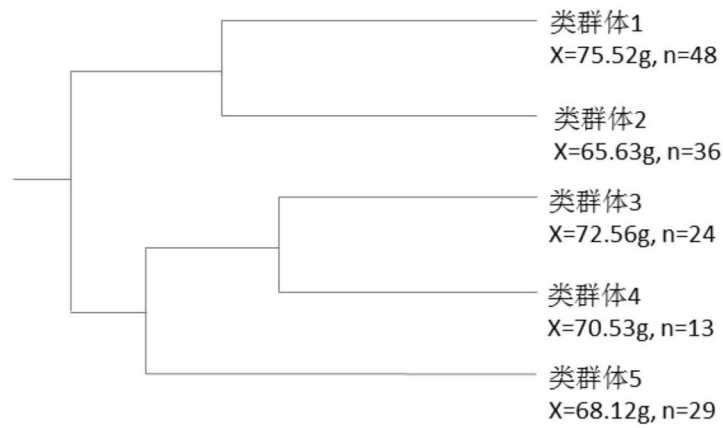


图2