

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103937786 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 23

(21) 申请号 201410088219. 1

(22) 申请日 2014. 03. 12

(71) 申请人 福建农林大学

地址 350002 福建省福州市仓山区建新镇金山学区

(72) 发明人 张立武 祁建民 徐建堂 陶爱芬
林荔辉 方平平 林培清 吴建梅

(74) 专利代理机构 福州元创专利商标代理有限公司 35100

代理人 蔡学俊

(51) Int. Cl.

C12N 15/11 (2006. 01)

C12Q 1/68 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书8页
序列表27页 附图1页

(54) 发明名称

黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记

(57) 摘要

本发明涉及一种分子标记技术,具体涉及一种黄麻表达序列标签微卫星 DNA 分子标记。其步骤包括,开发新的微卫星位点,扩增微卫星位点的引物序列以及微卫星位点多态性分析。本发明的特征是,从 GenBank 公共数据库中下载黄麻表达序列标签,分离鉴定黄麻 66 个新的微卫星标记,筛选其中多态性丰富的 10 个微卫星标记 CcSSR008、CcSSR013、CcSSR016、CcSSR024、CcSSR029、CcSSR040、CoSSR049、CoSSR050、CoSSR052 和 CoSSR053。本发明提供了 66 个黄麻的新的微卫星位点及扩增这 66 个微卫星位点的引物序列和扩增方法,可应用于黄麻属不同种间的遗传多样性分析,遗传连锁图谱构建以及分子标记辅助育种等研究。

1. 黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记,其特征在于:所述黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045、CoSSR046-CoSSR066,各编号所对应的黄麻微卫星 DNA 标记的引物序列为 SEQ ID NO. 1-132 所示。

2. 根据权利要求 1 所述的黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记,其特征在于:所述的黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045、CoSSR046-CoSSR066,其对应的表达序列标签 GenBank ID 为 112136062,112136096,112136110,112136120,112136121,112136129,194395676,194395679,194395680,194395697,194395700,194395710,194395722,194395729,194395733,194395738,194395740,194395754,194395756,194395782,194395791,194395793,194395795,194395797,194395807,194395858,194395868,194395881,222876067,222876073,222876092,222876097,222876103,222876143,260098990,260099036,260099099,365732691,365732703,365732731,375150553,375150558,375150561,375150562,375150586,311146658,311157368,311157371,150174518,1112000549,1112000555,1112000578,1112000581,1112000583,1112000590,1112000595,1112000596,1112000618,1112008416,1112008423,1112008466,1112008468,1112008500,1112008512,1112000586,1112000637。

3. 根据权利要求 1 所述的黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记,其特征在于:所述黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045 为圆果种黄麻 EST-SSR,CoSSR046-CoSSR066 为长果种黄麻 EST-SSR。

黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记

技术领域

[0001] 本发明涉及一种分子标记技术,具体涉及一种黄麻表达序列标签微卫星 DNA 分子标记。

背景技术

[0002] 微卫星(又称为简单重复序列, SSR)是由 1-6 个核苷酸组成的短序列串联重复多次而组成的一段 DNA ;其中,最常见的是二核苷酸和三核苷酸重复单元,如 (CT)_n, (AT)_n, (ACC)_n、(CGA)_n 和 (AGA)_n。由于微卫星侧翼序列相对保守,根据其侧翼序列设计引物,可用 PCR 扩增出微卫星位点的序列。由于微卫星中重复单元的重复次数不同,因而扩增出的微卫星序列的长度呈现多态性。微卫星序列广泛存在于真核生物基因组中,而且随机分布,具有多态性较高,重复性和稳定性好等特点,是十分有效的分子标记,被广泛应用于遗传图谱构建、基因定位、遗传关系分析、品种鉴定等领域。如用微卫星标记分析黄麻的起源演化关系 (Kundu 等,2013, Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 22 : 372-381)、用微卫星 DNA 标记进行猪品种分类的专利申请“适于猪品种分类的猪微卫星 DNA 标记”(公开号 CN1370834A)。

[0003] 黄麻是椴树科 (Tiliaceae) 黄麻属 (*Corchorus*) 一年生草本植物,是重要韧皮纤维作物。在世界上黄麻产量与种植面积仅次于棉花,主要在亚洲 (印度、孟加拉、中国和泰国) 和拉丁美洲种植。生产上栽培的有长果种 (*Corchorus olitorius* L.) 和圆果种 (*Corchorus capsularis* L.), 染色体数均为 $2n=2X=14$ 。黄麻纤维细软、强力大、吸湿性好、散水快,可纺性好,用途十分广阔。

[0004] 至今在黄麻基因组中已找到的近 1000 个微卫星标记,与此同时,黄麻微卫星 DNA 在基因定位和遗传多样性分析中的应用也迅速铺开,有关黄麻微卫星标记的专利争夺正逐步展开。但是,我国黄麻微卫星的研究仍十分有限,仅极少数实验室开始了有关工作。鉴于黄麻微卫星数目多,还有大量的未被发现,且它们具有重要的理论和应用价值,特别是 GenBank 公共数据库中还可能存在大量的微卫星位点。因此,在我国开展黄麻的微卫星的分离、鉴定和应用研究,开发具有我国知识产权的微卫星标记显得十分迫切和必要。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于:分离和鉴定黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记,建立黄麻微卫星 DNA 的技术体系并利用这些分子标记进行黄麻遗传多样性分析。

[0006] 本发明实现的技术方案:

所述黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045、CoSSR046-CoSSR066,所对应的黄麻微卫星 DNA 标记引物序列为 SEQ ID NO. 1-132 所示。

[0007] 所述黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045 为圆果种黄麻 EST-SSR, CoSSR046-CoSSR066 为长果种黄麻 EST-SSR。

[0008] 所述的黄麻微卫星 DNA 标记编号 CcSSR001-CcSSR045、CoSSR046-CoSSR066,

其对应的表达序列标签 GenBank ID 为 112136062, 112136096, 112136110, 112136120, 112136121, 112136129, 194395676, 194395679, 194395680, 194395697, 194395700, 194395710, 194395722, 194395729, 194395733, 194395738, 194395740, 194395754, 194395756, 194395782, 194395791, 194395793, 194395795, 194395797, 194395807, 194395858, 194395868, 194395881, 222876067, 222876073, 222876092, 222876097, 222876103, 222876143, 260098990, 260099036, 260099099, 365732691, 365732703, 365732731, 375150553, 375150558, 375150561, 375150562, 375150586, 311146658, 311157368, 311157371, 150174518, 1112000549, 1112000555, 1112000578, 1112000581, 1112000583, 1112000590, 1112000595, 1112000596, 1112000618, 1112008416, 1112008423, 1112008466, 1112008468, 1112008500, 1112008512, 1112000586, 1112000637。

[0009] 从 GenBank 公共数据库中下载黄麻表达序列标签, 利用 SSRPrimer 软件对其进行 SSR 位点查找, 利用 Primer 3.0 软件设计 SSR 引物, 利用这些 SSR 引物对黄麻属 2 个种 6 个不同类型材料, 即长果近缘野生种黄麻、长果野生种黄麻、长果栽培种黄麻、圆果栽培种黄麻和圆果野生种黄麻, 进行扩增。通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳研究这些 SSR 引物的 PCR 扩增特点。得到 66 个微卫星标记, 确定了 10 个多态性丰富的微卫星标记 CcSSR008、CcSSR013、CcSSR016、CcSSR024、CcSSR029、CcSSR040、CoSSR049、CoSSR050、CoSSR052 和 CoSSR053。

[0010] 本发明的具体步骤是:

(1) 黄麻表达序列标签 SSR 引物开发: 从 GenBank 公共数据库 (<http://misuse.ncbi.nih.gov/>) 中下载黄麻表达序列标签 EST (expressed sequence tags) 838 条。利用网上的 SSRPrimer 工具 (<http://hornbill.cspp.latrobe.edu.au/ssrdiscovery.html>) 搜索这些序列所包含的 SSR。其筛选 SSR 的标准如下: 二核苷酸重复次数 >6 次, 三核苷酸重复次数 >4 次, 四核苷酸重复次数 >3 次, 五核苷酸重复次数 >2 次。利用 Primer3 软件对其进行 SSR 位点查找, 并设计 66 了对引物。其中编号为 CcSSR001-CcSSR045 为圆果种黄麻 EST-SSR, CoSSR046-CoSSR066 为长果种黄麻 EST-SSR, 如表 1 所示。

[0011] 表 1 黄麻 EST-SSR 的引物编号及来源

引物编号 Primer No.	GenBank ID	左引物 Left Primer(5'-3')	右引物 Right Primer(5'-3')
Cc5SR001	112136062	SEQ ID NO.1: TGAAAGGAGCCGCCATAGATCTCC	SEQ ID NO.2: GGATCTTTCGAGCTCTGGAGTCTCC
Cc5SR002	112136066	SEQ ID NO.3: TGCCCAAGCCCTCAGAGCCAA	SEQ ID NO.4: ACAGAACATGCATCCACTCATATGGAC
Cc5SR003	112136110	SEQ ID NO.5: GCGCCCAAGCTTCACCTCAGC	SEQ ID NO.6: TGCTCTCAGCCCTTCGATTCCA
Cc5SR004	112136130	SEQ ID NO.7: TCAGGCGCCGGAATTTGTGC	SEQ ID NO.8: CACGGGCGCTATGGACGGGA
Cc5SR005	112136121	SEQ ID NO.9: GCGCCGAGGAGGAGGTGGAG	SEQ ID NO.10: TCAGGCGCCGGAATTTGTGC
Cc5SR006	112136129	SEQ ID NO.11: CCCACTCTTCTTGAAGTCCAAGTCCA	SEQ ID NO.12: TGTCTCCAAGCAAGGTGGCA
Cc5SR007	194395676	SEQ ID NO.13: TCCGCAGCAACCCACCAAC	SEQ ID NO.14: ACACAAGGAGCAAGAGCTAACAACA
Cc5SR008	194395679	SEQ ID NO.15: CCACACCCATGAGCAACTCCCC	SEQ ID NO.16: CCACACAATATTTACCAGGGGGCA
Cc5SR009	194395680	SEQ ID NO.17: GCTCTCTTCTCTTAAGAGACCACA	SEQ ID NO.18: ACATGCTTGGTTGGTTCTTTCTTTCT
Cc5SR010	194395687	SEQ ID NO.19: TGTCGACACCCCTTTTGAAGCA	SEQ ID NO.20: CGACCATCCACACTGCACCCC
Cc5SR011	194395700	SEQ ID NO.21: CCGCCGCTTCTTACCATCTCTCC	SEQ ID NO.22: TCCCGCGGAGGAAACCTGA
Cc5SR012	194395710	SEQ ID NO.23: CGACCGCGCCCTCGAAAGTG	SEQ ID NO.24: GCCACCACTCTTCTCTCTCTCC
Cc5SR013	194395722	SEQ ID NO.25: CCCAGTCGATGAACCGTGTGGC	SEQ ID NO.26: TGGATCTGCTGTACATGAACCCA
Cc5SR014	194395739	SEQ ID NO.27: TGCCACCGGTGAATCTCTTTGGA	SEQ ID NO.28: CCGCTGGGATCTCTCTCTCTCTCC
Cc5SR015	194395733	SEQ ID NO.29: GCTTTGTGATTGTTTCAAAAGGTGGCT	SEQ ID NO.30: AGGCATTAGGCTTGTAGAGAAACCA
Cc5SR016	194395738	SEQ ID NO.31: GGGCAACCAAAACCAATGAGAAC	SEQ ID NO.32: AGCCTTCAAGTGTCTCAAGCAAT
Cc5SR017	194395740	SEQ ID NO.33: TCGATGTCATAAGAGGCGGTGCC	SEQ ID NO.34: ATGAACCTGCTGAACAACAACCCAAA
Cc5SR018	194395754	SEQ ID NO.35: AGTGGCAATGCAAGTGACGCT	SEQ ID NO.36: GCGCCATGATCAGACGGCTCT
Cc5SR019	194395756	SEQ ID NO.37: CCACCAACCAACCAACCAAC	SEQ ID NO.38: GCGCTGCTCTGAGCCCTCC
Cc5SR020	194395782	SEQ ID NO.39: GGGTTCAAGTCCGTTCTGGAGCTTT	SEQ ID NO.40: CGTCGGAATAGGTTTTGATTGACGG
Cc5SR021	194395791	SEQ ID NO.41: GGGGGTGATTTTAAAGGTTTGAAGTA	SEQ ID NO.42: GCTTCCCAAGGGTGACGCC
Cc5SR022	194395793	SEQ ID NO.43: TCGAAGTCTTACGCTTCCACCT	SEQ ID NO.44: GACGTCGTCTGCCGAGCCCT
Cc5SR023	194395795	SEQ ID NO.45: GGACAACCTCTCATGTTCCACGCA	SEQ ID NO.46: AAGCCCCCGAGCCGGTTTTCG
Cc5SR024	194395797	SEQ ID NO.47: GGGGATTACGATGCCCGCA	SEQ ID NO.48: CACCACCCACCAACCCACAA
Cc5SR025	194395807	SEQ ID NO.49: TGCCAGCTCTAAGGACAGGTTCA	SEQ ID NO.50: AGCAAGTTCTAAGTTCCCAAGTTGGTT
Cc5SR026	194395858	SEQ ID NO.51: GGGCACGCTTTGCGCTGTCT	SEQ ID NO.52: ACCAATCCACCAAGCTTCAAGTCC
Cc5SR027	194395868	SEQ ID NO.53: ACAAGCCGTGATGCGGAAAT	SEQ ID NO.54: TGAGGCTTCAAAACAGGAGGCT
Cc5SR028	194395881	SEQ ID NO.55: TGTCGTCCAAGCAAGGTGGCA	SEQ ID NO.56: CCGACTCTTCTTGAAGTCCAGCTCCA
Cc5SR029	222876067	SEQ ID NO.57: CCAGAGCAACTGCTTCTGAAAGCG	SEQ ID NO.58: CGGATTGTATAAAGTGCAGGCGCA
Cc5SR030	222876073	SEQ ID NO.59: GCGCCCAAGCAGCTCGAAGA	SEQ ID NO.60: ACTGAGGAGCGCGAGCTTGA
Cc5SR031	222876082	SEQ ID NO.61: GGCACACCCATGAGCAAGTCCC	SEQ ID NO.62: CCAGGGGGATGCAATTTTTCAATCA
Cc5SR032	222876097	SEQ ID NO.63: AGGACCGGATTGTTCCACGCA	SEQ ID NO.64: TGTGAGCTTCTCTCTCAAGCTCT
Cc5SR033	222876103	SEQ ID NO.65: GCTCGGGGCGGACTCGTTAC	SEQ ID NO.66: GCGCCCTGCGCTCCCAATT
Cc5SR034	222876143	SEQ ID NO.67: GCGGAGCTCCAAGTGGCAA	SEQ ID NO.68: GCGCGCGCGCTTGTGTGTTT
Cc5SR035	260096990	SEQ ID NO.69: GCGCGGCGAGGTACTAGGCT	SEQ ID NO.70: AGCACTCTTTCTCTCTGAGCTCT
Cc5SR036	260096994	SEQ ID NO.71: CCGCCCGGCGAGGTACTACT	SEQ ID NO.72: TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
Cc5SR037	260096999	SEQ ID NO.73: TGCTCTGCTTCTCTTTTCAAGGC	SEQ ID NO.74: GCAGGTACTAGACCCGCCGA
Cc5SR038	265732691	SEQ ID NO.75: GCGCCACTGATTTCTCGGAGC	SEQ ID NO.76: TGCTGATTTCCCAAGGCTCG
Cc5SR039	265732703	SEQ ID NO.77: TGCTAAGCTCTCTCTCTCTCTCT	SEQ ID NO.78: ACAAGCAGCAAGCTTGGCACT
Cc5SR040	265732731	SEQ ID NO.79: TGCCACAGGGAATTGCAACCA	SEQ ID NO.80: TCGAGTGGGAAAGTCACTTGGACA
Cc5SR041	275150553	SEQ ID NO.81: TCAACACCATCCATCCATCCATCCA	SEQ ID NO.82: GGTTCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
Cc5SR042	275150558	SEQ ID NO.83: GCGCCATGCTTTTACCATTTTCCC	SEQ ID NO.84: TCTTTTCAAGGATGCGAGCACT
Cc5SR043	275150561	SEQ ID NO.85: TCTCAGCACACAAGTTCACACAC	SEQ ID NO.86: CAAGCATAAATTGCAACGACACCTCA
Cc5SR044	275150563	SEQ ID NO.87: GCGCCACTGATTTCTCGGAGCA	SEQ ID NO.88: TCTGCTCTGCTGAGGATGAGC
Cc5SR045	275150586	SEQ ID NO.89: AGCTCCATACCCGACCCCT	SEQ ID NO.90: GCATCGGTTTGGGCGGAGCA
Cc5SR046	311146656	SEQ ID NO.91: GCGCAAGCTCGTTCAAGCCG	SEQ ID NO.92: AGCAGCAGCAGCAGCTCCAC
Cc5SR047	311187368	SEQ ID NO.93: CGCGCTCCGCTTTCATCACA	SEQ ID NO.94: CCGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
Cc5SR048	311187371	SEQ ID NO.95: GGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG	SEQ ID NO.96: AGGACATCTCAAAAGTCTCATCA
Cc5SR049	150174518	SEQ ID NO.97: GGCACAGGGAACATCAACCA	SEQ ID NO.98: AAAGGAGCCGCCATAGATCTCCA
Cc5SR050	1112006549	SEQ ID NO.99: TGGTCCCATAGCCACCAAG	SEQ ID NO.100: ATGTGAACCTAGGCGGCGGG
Cc5SR051	1112006559	SEQ ID NO.101: TCGTCTCAGCCCTTCCATCCA	SEQ ID NO.102: CCGCGCGGGAATTCGACAA
Cc5SR052	1112006578	SEQ ID NO.103: ACTGGCTGCTAGACTACCAACGTA	SEQ ID NO.104: TACGCCCTGAGCATCCCT

CcSSR053	1112000551	SEQ ID NO.105: TTGCCAGGCCAGCATGGAGC	SEQ ID NO.106: GTGCCATTACGGCCGGGG
CcSSR054	1112000553	SEQ ID NO.107: CACCACCAGCAGCGACGGAA	SEQ ID NO.108: GGCCTGTGTCTTCTCTGTG
CcSSR055	1112000590	SEQ ID NO.109: TTGCCCGACCCGATGACGA	SEQ ID NO.110: CATTACGGCCGGGGCGAAG
CcSSR056	1112000595	SEQ ID NO.111: CCATTACGGCCGGGGCGAAG	SEQ ID NO.112: ATGGGAGTCCCTTTTCGCA
CcSSR057	1112000596	SEQ ID NO.113: CCTCTCCTGAGTCTCTCTGGGC	SEQ ID NO.114: TGTCAAGCATCTGTGTCAAGTTGT
CcSSR058	1112000618	SEQ ID NO.115: ATGGCGGTGACATTGGTCCAC	SEQ ID NO.116: AAGGATGGGGAAGAGAGAAAGTAGGGC
CcSSR059	1112000616	SEQ ID NO.117: CGTACAGTCATCTCTGCTTGTGT	SEQ ID NO.118: CACCCAGACCGTTGGCACA
CcSSR060	1112000623	SEQ ID NO.119: GAGTGGCCATTACGGCCGGG	SEQ ID NO.120: AGTTTGAGCCGGCCCTGTCA
CcSSR061	1112000646	SEQ ID NO.121: ACGAGGAAGGGCCAAGTGG	SEQ ID NO.122: CGGCCGGGGGATCTCTCCTT
CcSSR062	1112000648	SEQ ID NO.123: AGCAGAGCCATCTCAGTATCGA	SEQ ID NO.124: ACGGCCGGGCACAAACATAGT
CcSSR063	1112000650	SEQ ID NO.125: GCGGCCAAGGACACGTGGAA	SEQ ID NO.126: GAGTGGCCATTACGGCCGGG
CcSSR064	11120006512	SEQ ID NO.127: TGTGTGTGTCAAGACAAAGGTATGC	SEQ ID NO.128: TTGTGCTGGCTATGCCCCCT
CcSSR065	1112000656	SEQ ID NO.129: TCCCTCAGCCACCACGGCG	SEQ ID NO.130: ACGGGTCAAGCCATTCCAACCA
CcSSR066	1112000657	SEQ ID NO.131: GCGAAAAGTCCACCAAAGCCGC	SEQ ID NO.132: GAGTGGCCATTACGGCCGGG

(2) 不同黄麻品种的基因组 DNA 提取 :采用 CTAB 法提取黄麻属 2 个种 6 个不同类型材料基因组 DNA,这 6 个材料包括长果近缘野生种黄麻、长果野生种黄麻、长果栽培种黄麻、圆果栽培种黄麻和圆果野生种黄麻(表 2)。

[0012] 表 2 供试黄麻种质资源的品种名称及来源

代号 Code	名称 Name	原产地 Origin	类型 Type
1	黄麻 179 Jute 179	中国福建 Fujian, China	圆果栽培种黄麻 Cultivated <i>C. capsularis</i>
2	爱店野黄麻 Aidianyehuangma	中国广西 Guangxi, China	圆果野生种黄麻 Wild <i>C. capsularis</i>
3	琼粤青 Qiongyueqing	中国湖南 Hunan, China	圆果栽培种黄麻 Cultivated <i>C. capsularis</i>
4	甜麻 Tianma	中国云南 Yunnan, China	长果近缘野生种黄麻 Relative Wild <i>C.</i>
5	宽叶长果 Kuanyechangguo	中国湖南 Hunan, China	长果栽培种黄麻 Cultivated <i>C. olitorius</i>
6	马里野生长果 Mali Yeshengchangguo	马里 Mali	长果野生种黄麻 Wild <i>C. olitorius</i>

(3) SSR 的 PCR 反应及电泳 :PCR 反应体积 10 μ L,反应体系组成为 50 ng $\cdot$ μ L⁻¹ DNA 2.0 μ L,10 μ mol $\cdot$ μ L⁻¹ 引物 0.5 μ L,0.5 U *Taq* 酶 0.1 μ L,10 mmol $\cdot$ L⁻¹ dNTPs 0.2 μ L,10 $\times$ PCR buffer 1 μ L,50 mmol $\cdot$ L⁻¹ Mg²⁺ 0.8 μ L, dd H₂O 5.4 μ L。PCR 反应程序为 :94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min ;94 $^{\circ}$ C 变性 30 sec, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 sec, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 sec, 共 10 个循环,每个循环退火温度降低 0.5 $^{\circ}$ C;94 $^{\circ}$ C 变性 30 sec,55 $^{\circ}$ C 退火 30 sec,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 sec,共 35 个循环 ;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,10 $^{\circ}$ C 保存 10 min。*Taq* 酶、dNTP 等试剂购自上海生工生物技术有限公司,电泳方法为 1.5% 琼脂糖凝胶电泳。

[0013] (5) SSR 的多态性和扩增效率分析 :利用上述 66 对 SSR 引物对上述黄麻 6 个不同类型材料进行扩增。SSR 的多态性和扩增效率如表 3 和图 1 所示。64 对引物 (97.0%) 得到强且清晰的 PCR 产物,42 对引物 (63.6%) 至少在 2 个材料间存在遗传差异,表现出多态性。其中,10 对引物在这 6 个材料中表现出种间和种内多态性,如 :CcSSR008、CcSSR013、CcSSR016、CcSSR024、CcSSR029、CcSSR040、CoSSR049、CoSSR050、CoSSR052 和 CoSSR053 等。这些引物表现出丰富的多态性。

附图说明

[0014] 图 1 SSR 标记 (CoSSR050- CoSSR053) 对黄麻 6 个不同类型材料扩增结果的电泳

图,其中 1: 黄麻 179 ;2: 爱店野生黄麻 ;3: 甜麻 ;4: 宽叶长果 ;5: 琼粤青 ;6: 马里野生长果 ;M: DL2000。

[0015] 图 2 黄麻遗传多样性分析。

具体实施方式

[0016] 下面通过实施例对本发明作进一步的说明,其目的仅在于更好理解本发明的内容而非限制本发明的保护范围。

[0017] 实施例 1:开发了 66 个适用于黄麻遗传多样性分析的新微卫星标记。这 66 个微卫星标记编号分别为 :CcSSR001-CcSSR045 (圆果种黄麻 EST-SSR),CoSSR046-CoSSR066 (长果种黄麻 EST-SSR),如表 1 所示。

[0018] 实施例 2:确定出 10 个多态性丰富的微卫星标记 CcSSR008、CcSSR013、CcSSR016、CcSSR024、CcSSR029、CcSSR040、CoSSR049、CoSSR050、CoSSR052 和 CoSSR053。如表 3 和图 1 所示。

[0019] 表 3 黄麻 EST-SSR 的多态性和扩增效率

标记名称 Marker name	GenBank ID	重复单元 Repeat	片段大小 Product size (bp)	左引物 退火温度 Left primer Tm	右引物 退火温度 Right primer Tm	扩增产物 Amplification	多态性 Polymorphism	条带数 No. of bands	带型 Scorability
CcSSR001	112136062	(AAAAG) ₁₄	244	58.1	59.9	Yes	Yes	2	A
CcSSR002	112136096	(ATGC) ₄	155	60.1	57.2	Yes	Yes	2	A
CcSSR003	112136110	(TTG) ₅	174	60.0	57.7	Yes	No	1	A
CcSSR004	112136120	(CAAG) ₈	181	60.2	60.0	Yes	Yes	1	A
CcSSR005	112136121	(CTG) ₈	131	60.0	60.2	Yes	No	1	A
CcSSR006	112136129	(TCT) ₆	185	59.7	59.9	Yes	Yes	1	A
CcSSR007	194395676	(ATG) ₆	235	59.8	58.6	Yes	Yes	1	A
CcSSR008	194395679	(CAT) ₆	250	59.4	59.0	Yes	Yes	3	A
CcSSR009	194395680	(CAT) ₆	250	57.9	57.3	Yes	Yes	1	A
CcSSR010	194395697	(GAT) ₅	155	58.4	59.7	Yes	Yes	1	C
CcSSR011	194395700	(TCA) ₇	241	59.3	59.5	Yes	Yes	2	B
CcSSR012	194395710	(GCG) ₆	250	60.7	59.4	Yes	Yes	2	B
CcSSR013	194395722	(GAGG) ₁₀	178	60.3	59.4	Yes	No	1	A
CcSSR014	194395729	(TA) ₈	202	59.9	59.5	Yes	Yes	2	B
CcSSR015	194395735	(TTCT) ₅	203	57.3	57.8	Yes	Yes	2	A
CcSSR016	194395738	(AAAT) ₃	220	59.2	59.4	Yes	No	1	A
CcSSR017	194395740	(AATT) ₁	155	58.8	57.1	Yes	No	1	A
CcSSR018	194395753	(AGA) ₆	199	59.0	58.4	Yes	No	1	A
CcSSR019	194395756	(CCG) ₅	163	59.8	60.0	Yes	Yes	2	A
CcSSR020	194395782	(CTT) ₆	189	58.1	57.8	Yes	Yes	2	A
CcSSR021	194395791	(GA) ₆	216	57.6	60.0	Yes	No	1	A
CcSSR022	194395793	(CT) ₈	244	58.3	60.3	Yes	No	1	A
CcSSR023	194395795	(GT) ₈	250	59.2	59.6	Yes	No	1	A
CcSSR024	194395797	(GTG) ₅	195	59.0	59.8	Yes	Yes	2	A
CcSSR025	194395807	(AATT) ₃	207	57.4	57.0	Yes	Yes	2	A
CcSSR026	194395858	(AAG) ₄	176	60.0	59.1	Yes	Yes	2	A
CcSSR027	194395868	(CT) ₈	243	59.6	58.3	Yes	Yes	1	A

CeSSR028	194395381	(AGA)6	185	59.9	59.7	Yes	No	1	A
CeSSR029	222876067	(GAA)4	250	58.8	57.7	Yes	Yes	2	A
CeSSR030	222876073	(AAG)4	178	60.0	59.9	Yes	Yes	2	A
CeSSR031	222876092	(CAT)6	241	60.0	59.1	Yes	Yes	2	A
CeSSR032	222876097	(GAT)9	167	58.4	57.1	Yes	No	1	B
CeSSR033	222876103	(GGC)9	239	59.6	60.0	Yes	No	1	A
CeSSR034	222876143	(AAG)3	214	60.2	59.9	Yes	No	1	A
CeSSR035	260098990	(TGGT)3	213	59.7	57.6	Yes	Yes	2	A
CeSSR036	260099036	(GAT)6	174	60.0	57.2	Yes	Yes	2	A
CeSSR037	260099099	(CAT)4	185	59.9	57.7	Yes	No	1	A
CeSSR038	365732691	(CCT)4	214	59.3	57.3	Yes	Yes	3	A
CeSSR039	365732703	(TCT)9	242	57.7	59.8	Yes	Yes	2	A
CeSSR040	365732731	(CAA)4	222	59.2	57.4	Yes	Yes	2	A
CeSSR041	375150553	(ACAT)5	114	57.7	59.2	Yes	No	1	A
CeSSR042	375150558	(CT)6	178	59.0	58.8	Yes	Yes	3	A
CeSSR043	375150561	(CAA)6	200	58.1	57.0	Yes	Yes	2	B
CeSSR044	375150562	(CCT)4	249	60.1	58.3	Yes	Yes	2	B
CeSSR045	375150586	(TGC)4	189	60.0	60.0	Yes	Yes	2	B
CeSSR046	311146658	(TGG)9	160	59.8	60.0	Yes	No	1	B
CeSSR047	311157368	(TGG)9	165	59.8	58.8	Yes	No	1	B
CeSSR048	311157371	(GCT)6	152	59.5	57.6	Yes	No	1	B
CeSSR049	150174518	(TCTTT)3	202	57.0	57.4	Yes	Yes	2	B
CeSSR050	1112000549	(CCT)5	243	59.6	58.9	Yes	Yes	1	A
CeSSR051	1112000553	(AAC)5	212	57.7	60.1	Yes	Yes	2	A
CeSSR052	1112000578	(CAT)6	220	57.2	60.0	Yes	Yes	2	A
CeSSR053	1112000581	(TGGT)3	219	60.0	60.1	Yes	Yes	2	B
CeSSR054	1112000583	(GAA)5	178	59.6	60.0	Yes	Yes	2	A
CeSSR055	1112000590	(TGG)5	215	60.3	60.2	Yes	Yes	2	B
CeSSR056	1112000595	(ATAAA)4	113	60.2	57.2	Yes	No	1	B
CeSSR057	1112000596	(TCTCA)5	224	59.7	58.9	Yes	Yes	2	A
CeSSR058	1112000618	(TAATA)4	150	57.4	59.3	Yes	Yes	2	A
CeSSR059	1112008416	(TCA)6	233	57.4	59.2	Yes	No	1	A
CeSSR060	1112008423	(GATG)3	153	59.8	59.3	Yes	No	1	A
CeSSR061	1112008466	(TCT)5	166	59.3	59.8	Yes	No	1	A
CeSSR062	1112008468	(TA)7	250	57.3	58.7	Yes	Yes	2	A
CeSSR063	1112008500	(TTTC)3	228	59.9	59.8	No	No	No	No
CeSSR064	1112008512	(AT)8	300	58.9	58.0	Yes	Yes	2	A
CeSSR065	1112008586	(CAG)6	229	60.9	58.3	Yes	Yes	2	A
CeSSR066	1112008637	(TTC)4	103	59.7	59.8	No	No	No	No

ABCD 表示电泳带型清晰等级。

[0020] 实施例 3:利用上述开发的微卫星标记分析黄麻属的遗传多样性分析。供试材料为来自 11 个国家和地区的黄麻长果近缘野生种黄麻、长果野生种黄麻、长果栽培种黄麻、圆果栽培种黄麻和圆果野生种黄麻共 48 份(表 4)。利用 NTsys 软件对 48 份供试黄麻材料进行遗传相似系数计算。其中计算方法是非加权聚类分析(UPGMA),读带采取 0、1 方式,0 表示无带,1 表示有带。聚类分析结果显示,这 10 个微卫星标记能很好地用于黄麻的遗传多样性分析。聚类分析结果如图 2 所示,将 48 份黄麻材料划分为两大类,一类为圆果种,一类为长果种。

[0021] 表 4 供试黄麻种质资源的品种名称及来源

代号 Code	名称 Name	原产地 Origins	类型 Types
1	黄麻179	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
2	爱店野黄麻 Aidian Yehuangma	中国广西 Guangxi, China	野生圆果种黄麻 Wild capsularis
3	琼粤香 Qiongyueqiang	中国湖南 Hunan, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
4	Roxa	印度 India	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
5	紫金黄麻 Ziji Huangma	中国广东 Guangdong, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
6	紫苏黄麻 Zisu Huangma	中国广东 Guangdong, China	野生圆果种黄麻 Wild capsularis
7	孟引1号 Mengyin No.1	孟加拉国 Bangladesh	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
8	D-154	印度 India	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
9	海南野生圆果 Haman Yesheng Yuanguo	中国海南 Hainan, China	野生圆果种黄麻 Wild capsularis
10	海南琼山 Haman Qiongshan	中国海南 Hainan, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
11	JG555	中国湖南 Hunan, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
12	YA 024	泰国 Thailand	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
13	梅峰2号 Meifeng No.2	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
14	粤圆5号 Yueyuan No.5	中国广东 Guangdong, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
15	JRC-212	印度 India	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
16	BL106Co	肯尼亚 Kenya	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
17	板八黄麻 Banba Huangma	中国广西 Guangxi, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
18	云野 1-1 Yunye 1-1	中国云南 Yunnan, China	野生长果种黄麻 Wild capsularis
19	卢溪圆果 Lubu Yuanguo	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
20	Y126Co	泰国 Thailand	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
21	选46 Xuan 46	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
22	JRC-13	印度 India	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
23	UO20号	中国广西 Guangxi, China	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
24	洋梧齿圆果 Yangguchu Yuanguo	中国广西 Guangxi, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
25	807元引马里 807Yuanin Mali	马里 Mali	野生长果黄麻 Cultivated
26	B-Z 2-2	中国广西 Guangxi, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
27	JRC-675	印度 India	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
28	凤祥5号 Minma No.5	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
29	新选1号 Xinxuan No.1	中国广东 Guangdong, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
30	梅峰4号 Meifeng No.4	中国福建 Fujian, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
31	JG109	中国湖南 Hunan, China	栽培圆果种黄麻 Cultivated capsularis
32	NY150-61	中国广西 Guangxi, China	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
33	圆麻 Tumma	中国云南 Yunnan, China	近缘野生种黄麻 Relative wild species
34	宽叶长果 Kuanye Changguo	中国湖南 Hunan, China	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
35	马里野生长果 Mali Yesheng Changguo	马里 Mali	野生长果种黄麻 Wild elitorius C.elitorius
36	郁南长果 Yunan Changguo	中国广东 Guangdong, China	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
37	翠绿 Culi	印度 India	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
38	巴长4号 Bachang No.4	巴基斯坦 Pakistan	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
39	巴麻71 Bama No.71	巴基斯坦 Pakistan	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius
40	英边香麻 Dianbian Xiangma	越南 Vietnam	栽培长果种黄麻 Cultivated elitorius

41	日本长果 Japanese okitornis	日本 Japan	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
42	古巴长果 Cuba Changna	古巴 Cuba	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
43	西贡长果 Xigong Changna	越南 Viet Nam	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
44	印度墨球子 India Molun	印度 India	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
45	JRC 351	尼泊尔 Nepal	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
46	JRC 364	尼泊尔 Nepal	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
47	SM1034	肯尼亚 Kenya	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis
48	0-1	孟加拉国 Bangladesh	栽培长果种黄麻 Cultivated okitornis

本发明的积极效果如下：

(1) 分离并鉴定了 66 个黄麻的微卫星标记，经在国际基因数据库中检索，证明为新的微卫星 DNA 标记。

[0022] (2) 经将上述微卫星标记用于黄麻多态性分析，发现 64 对引物 (97.0%) 得到强且清晰的 PCR 产物，42 对引物 (63.6%) 至少在 2 个材料间存在遗传差异，表现出多态性。其中，10 对引物在这 6 个材料中表现出种间和种内多态性，如：CcSSR008、CcSSR013、CcSSR016、CcSSR024、CcSSR029、CcSSR040、CoSSR049、CoSSR050、CoSSR052 和 CoSSR053 等。这些引物表现出丰富的多态性。多态性分析和扩增效率结果如表 3 和图 1 所示。

[0023] (3) 经将上述微卫星标记用于黄麻属的遗传多样性分析，证明这 66 个微卫星标记适用于黄麻遗传多样性研究，聚类分析结果如图 2 所示。

序列表

SEQUENCE LISTING

<110> 福建农林大学

<120> 黄麻表达序列标签微卫星 DNA 标记

<130> 132

<160> 132

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 1

tgaaaggagc cgccatagat ctcc

24

<210> 2

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 2

ggatcttttcg agctctggag tctgc

25

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 3

tgcccagccc tcagagccaa

20

<210> 4

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 4

acagaacatg catccactca tatggac

27

<210> 5

<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	5	
gcccccaagc ttcacctcag c		21
<210>	6	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	6	
tggtttctcag cccttccatt cca		23
<210>	7	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	7	
tcaggcgccg gagtttgtgc		20
<210>	8	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	8	
cacggggcta tggacgggga		20
<210>	9	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	9	
ggccggagga ggaggtggag		20
<210>	10	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	10	
tcaggcgccg gagtttgtgc		20
<210>	11	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 11	
cccactcttc ttgagtcag ctcca	25
<210> 12	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 12	
tgtcgtccaa gcaaggtggc a	21
<210> 13	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 13	
tccgcagcaa cccaccaa	20
<210> 14	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 14	
acacaaggga gcaagagcta acaaca	26
<210> 15	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 15	
ccacacccat gagcaactcc cc	22
<210> 16	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 16	
cccacacaat attttaccag ggggca	26
<210> 17	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 17	
ggctgcttcc tcttagagac caca	24

<210> 18	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 18	
acatggccttg gttggttctt tctttct	27
<210> 19	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 19	
tgtegcacacc ccttttggag ca	22
<210> 20	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 20	
cgaccatcca cactgcaccc c	21
<210> 21	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 21	
ccgccggttt cttaccatcc tcc	23
<210> 22	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 22	
tcccggcgga ggaaacctga	20
<210> 23	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 23	
cgaccgcgcc ctcgaaagtg	20
<210> 24	
<211> 21	
<212> DNA	

<213>	人工序列	
<400>	24	
	gccaccaccg tttcctcctc c	21
<210>	25	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	25	
	cccagtcgat gaaccgtggt ggc	23
<210>	26	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	26	
	tggatcctgc ctgtacatga accca	25
<210>	27	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	27	
	tggcaccggt gatcctcttt gga	23
<210>	28	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	28	
	cccctgggga tctcttcttc ctcc	25
<210>	29	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	29	
	gctttgtgat tgtttcaaag gtggct	26
<210>	30	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 30	
aggcattagg ccttgtagag aaacca	26
<210> 31	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 31	
ggggcaacca aaccaaata gaagc	25
<210> 32	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 32	
agcggtcagc ttgttcagcg agt	23
<210> 33	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 33	
tcgatgtcat aaggagccgt gcc	23
<210> 34	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 34	
atgaactccc tgaacaacaa cccaaa	26
<210> 35	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 35	
agtggcaatg caggtgacgg t	21
<210> 36	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 36	
gccccatgat cagacggctc t	21

<210>	37	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	37	
ccaccaccac	caccaccage	20
<210>	38	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	38	
ggcctgcttc	tgagccctgc	20
<210>	39	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	39	
gggttcagtc	cgttctggac tctt	24
<210>	40	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	40	
cgtcggaaat	ggtttttgat tgacgg	26
<210>	41	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	41	
gggggtgatt	tttagggttt gagtga	26
<210>	42	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	42	
gccttcccaa	gggtgacgcc	20
<210>	43	

<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	43	
tcgaagtctt acgcttgcca cct		23
<210>	44	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	44	
gacgtcgtcg tccggaccct		20
<210>	45	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	45	
ggacaactct catgttccca cgca		24
<210>	46	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	46	
aagccccga ccggttttcg		20
<210>	47	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	47	
ggggattacc gatgccgca		20
<210>	48	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	48	
caccacccac caccgcacaa		20
<210>	49	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 49	
tgccagctct aaggacaggt tca	23
<210> 50	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 50	
agcaagttct aagttcccaa gttggtt	27
<210> 51	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 51	
gggcacgctt tcgcctgtct	20
<210> 52	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 52	
accaatccac ccagcttcaa agtcc	25
<210> 53	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 53	
acagccgtgc atggcgaagt	20
<210> 54	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 54	
tgaggcttgc aaacaggagg gt	22
<210> 55	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 55	
tgtcgtccaa gcaaggtggc a	21
<210> 56	

<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	56	
cccactcttc ttgagtcag ctcca		25
<210>	57	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	57	
ccagagcaac tgcttctgaa agcg		24
<210>	58	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	58	
ccgattgtat aaagtgaag gccga		25
<210>	59	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	59	
gccggcaagc agctgaaga		20
<210>	60	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	60	
actggaggac ggcgagcttg a		21
<210>	61	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	61	
gccacacca tgagcaactc cc		22
<210>	62	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 62	
ccagggggca tgcaaatttt tcaatca	27
<210> 63	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 63	
aggaccggat tgttccacgc a	21
<210> 64	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 64	
tgctgagctt ctcctcagct ct	22
<210> 65	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 65	
gctcggggcc gactcgttac	20
<210> 66	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 66	
gcccctgccg ctcccaattt	20
<210> 67	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 67	
gccgagctcc aacgtggcaa	20
<210> 68	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 68	
ggcggcggcg ttgttgtttt	20
<210> 69	

<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	69	
gcccgggcag	gtactagggt	20
<210>	70	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	70	
agcactcctt	tcttctcgtg acct	24
<210>	71	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	71	
ccgcccgggc	aggtactact	20
<210>	72	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	72	
tctctctctc	cttctctccc tt	22
<210>	73	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	73	
tgtctcgcct	tgcttttcag ggc	23
<210>	74	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	74	
gcaggtacta	gacccgccga	20

<210>	75	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	75	
	ggcccaactga ttctcccgac g	21
<210>	76	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	76	
	tgctgatttc gccagggtcg	20
<210>	77	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	77	
	tgctaagcct ctcttctgtt ctgct	25
<210>	78	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	78	
	acaaagcagc aagctgggca ct	22
<210>	79	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<400> 79	
tggcacaggg aattgcaacc ca	22
<210> 80	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 80	
tcgagtggga agtgacttgg aca	23
<210> 81	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 81	
tcaacaccat ccatccatcc atcca	25
<210> 82	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 82	
ggttttctctt ctcttgtttg cccaggt	27
<210> 83	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	

<400> 83
gccccatgct ttcaccattt tccc 24

<210> 84
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 84
tgctttgcaa ggatgggacg act 23

<210> 85
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 85
tctcagcaca caagttegca cac 23

<210> 86
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 86
caagcataaa ttgcaacgac acctga 26

<210> 87
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 87	
ggcccactga ttctcccgac ga	22
<210> 88	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 88	
tctgcctccg tcgaagatga gc	22
<210> 89	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 89	
agctcgcata cccgaccgt	20
<210> 90	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 90	
gcatcggttt ggggcggaca	20
<210> 91	
<211> 20	
<212> DNA	

<213> 人工序列

<400> 91

gcgcaagctc gttcaagccg

20

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 92

agcagcagca gcagctccac

20

<210> 93

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 93

ccgcgtccgc cttcatcaca

20

<210> 94

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 94

cctctctctc ttccttagct ggagca

26

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 95

ggtggtggtg gtggtggtgg

20

<210> 96

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 96

agggacattc caaagtcctc atcatca

27

<210> 97

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 97

ggcacgaggg aacatcaacc a

21

<210> 98

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 98

aaaggagccg ccatagatct cca

23

<210> 99

<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 99
tggtgccccca tagccaccag a

21

<210> 100
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 100
atgtgaacct aggcggcgagg

20

<210> 101
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 101
tcgtttctcag cccttccatt cca

23

<210> 102
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 102
cggccggggg attcgacaac

20

<210> 103
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 103
actggctgct agactaccaa cgta

24

<210> 104
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 104
tacgcccctg cagcatecct

20

<210> 105
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 105
ttgccaggcc agcatggagc

20

<210> 106
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 106
gtggccatta cggccgggg

19

<210> 107
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 107
caccaccagc agcgacggaa

20

<210> 108
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 108
ggcgctgggtg cttcctctgg

20

<210> 109
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 109
ttgcccgacc ccgatgacga

20

<210> 110
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 110
cattacggcc gggggcgaag

20

<210> 111
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 111
ccattacggc cggggcgaag

20

<210> 112
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 112
atgggagtgc cgttttcgca

20

<210> 113
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 113
cctctcctga gtcctgtctg ggc

23

<210> 114
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 114
tgtcagcaga tcctgttgca gttgt

25

<210> 115
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 115
atggcgggtga cattggtcca c

21

<210> 116
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 116
aaggatgggg aagagagaaa gtagggc

27

<210> 117
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 117
cgtacagtca tctctgcttg cttgt

25

<210> 118
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 118
caccccagac cgttggcaca

20

<210> 119

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 119

gagtggccat tacggccggg

20

<210> 120

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 120

agtttgagcc ggcgctgtca

20

<210> 121

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 121

acgaggaagg gccaaagtgcg

20

<210> 122

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 122

cggccggggg atctctcctt

20

<210> 123

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 123

agcagagcca tctcagtcac gga

23

<210> 124

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 124

acggccgggc acaacatagt

20

<210> 125

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 125

ggcggcaagg acacgtggaa

20

<210> 126

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 126

gagtggccat tacggccggg

20

<210> 127

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 127

tgttggtggt caggacaagg tatgc 25

<210> 128

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 128

ttgtgctggc tatgccccct 20

<210> 129

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 129

tcctctcagc caccacggcg 20

<210> 130

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 130

acgggtcagc cattccaacc a 21

<210> 131

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 131

gcgaaaagtc caccaaagcc gc 22

<210> 132

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 132

gagtggccat tacggccggg

20

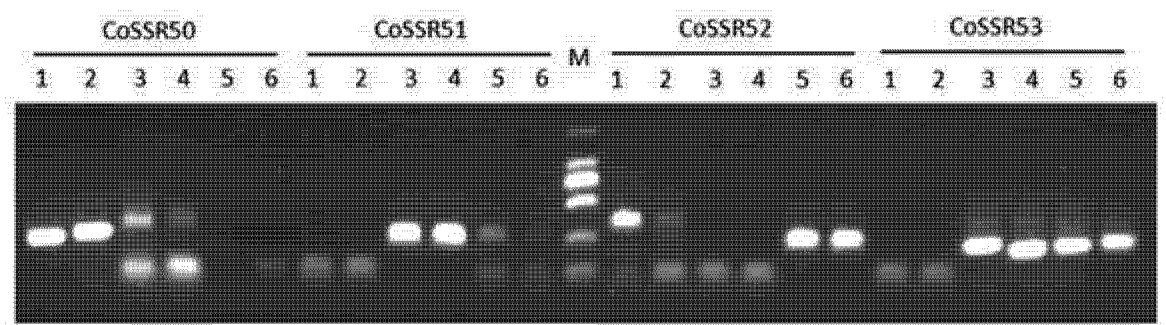


图 1

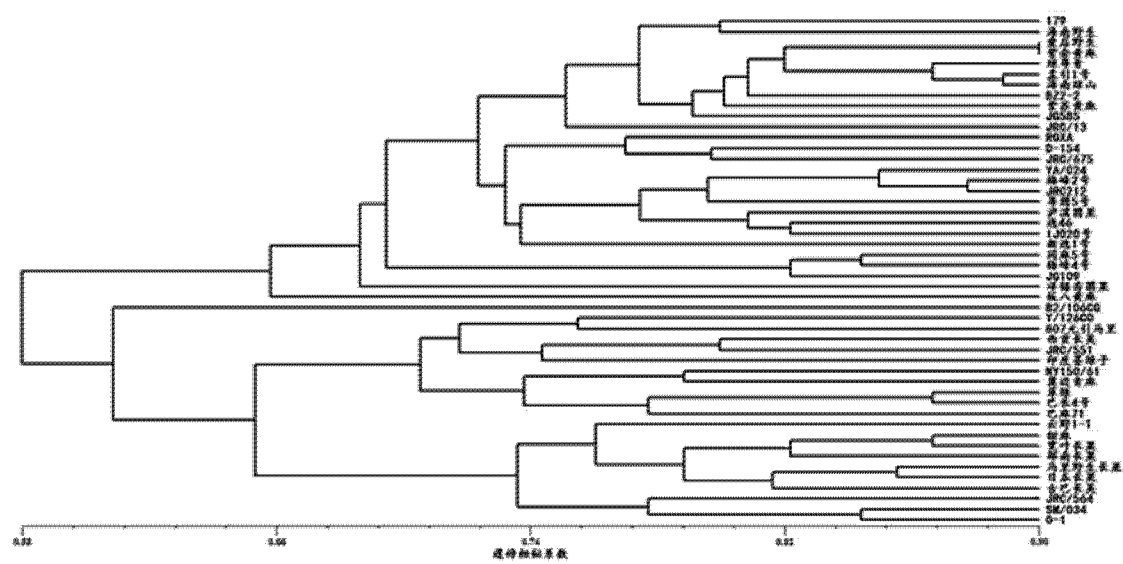


图 2