(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 112996384 B
(45)授权公告日 2023.11.28

(21)申请号 201980061262.X

(22)申请日 2019.07.19

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112996384 A

(43)申请公布日 2021.06.18

(30)优先权数据
62/701,278 2018.07.20 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.18

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/042543 2019.07.19

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/018877 EN 2020.01.23

(73)专利权人 水产养殖技术中心有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 X·C·劳斯 J·T·布坎南

(74)专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司 11283
专利代理师 刘伊南 刘依云

(51)Int.Cl.
C12N 15/00(2006.01)
A01K 67/027(2006.01)
A01K 67/033(2006.01)
C07K 14/47(2006.01)

(56)对比文件
CN 104204209 A,2014.12.10
US 2014261212 A1,2014.09.18
US 2013312127 A1,2013.11.21
CN 102695798 A,2012.09.26
US 2012304323 A1,2012.11.29
Xiangyan Dai et al.Tdrd12 Is Essential for Germ Cell Development and Maintenance in Zebrafish.《International Journal of Molecular Sciences》.2017,第18卷第1127页. (续)

审查员 郭玉莹

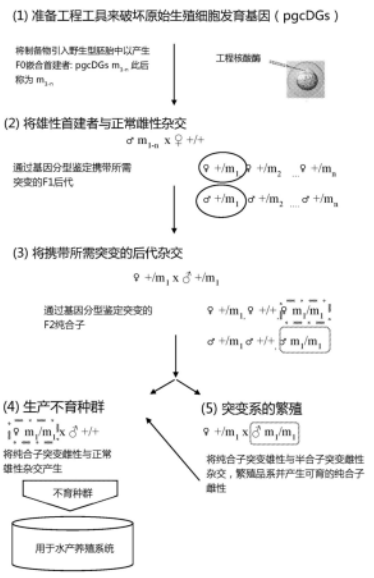
权利要求书3页 说明书108页 附图30页

(54)发明名称

一种产生不育后代的方法

(57)摘要

本发明提供了一种产生不育鱼类、甲壳动物或软体动物的方法。该方法包括繁殖(i)可育的半合子突变的雌鱼、甲壳类动物或软体动物与(ii)可育的半合子突变的雄鱼、甲壳类动物或软体动物,通过基因型选择选择纯合子的雌性祖先,并繁殖纯合子雌性祖先以产生不育的鱼、甲壳类动物或软体动物。这种突变破坏了原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应,且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。本发明还提供了培育用于生产不育淡水和海水生物的淡水和海水亲鱼的方法,以及亲鱼本身。



CN 112996384 B

[转续页]

[接上页]

(56)对比文件

Adrijana Škugor et al.Conserved Mechanisms for Germ Cell-Specific Localization of nanos3 Transcripts in Teleost Species with Aquaculture Significance.《Mar Biotechnol》.2013,第16卷第256-264页.

Zhang jiang et al.MiR-202-5p is a novel germ plasm-specific microRNA in zebrafish.《Scientific Reports》.2017,第7卷第1-7页.

Sophie E.Wiszniak et al.HuB (elavl2) mRNA Is Restricted to the Germ Cells by Post-Transcriptional Mechanisms including Stabilisation of the Message by DAZL.《PLOS ONE》.2011,第6卷(第6期),摘要.

DUMSTREI, K. et al.Signaling pathways controlling primordial germ cell migration in zebrafish.《Journal of cell science》.2004,第117卷(第20期),第4787-4795页.

HONG, N. et al.Dnd Is a Critical Specifier of Primordial Germ Cells in the Medaka Fish.《Stem Cell Report》.2016,第6卷(第3期),第411-421页.

BLASER, H. et al.Migration of Migration of Zebrafish Primordial Germ Cells:A Role for Myosin Contraction and Cytoplasmic Flow.《Developmental Cell》.2006,第11卷(第5期),613-627.

1.一种产生不育鱼、甲壳动物或软体动物的方法,包括以下步骤:

繁殖(i)可育的杂合子突变的雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物,以及(ii)可育的杂合子突变的雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物,

通过基因型选择选择纯合子的雌性后代,以及

培育纯合子的雌性后代以产生不育的鱼类、甲壳类动物或软体动物;

其中所述突变破坏原始生殖细胞PGC发育基因的母体效应,

其中干扰PGC发育基因的母体效应的突变不损害纯合后代的生存能力、性别决定、生育能力或其组合,并且其中,所述突变包含:

PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控基因突变;

编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因突变;

与遗传物质的运输或形成有关的基因突变;

与生殖细胞特化、维持或迁移有关的基因突变;或

其结合。

2.根据权利要求1所述的方法,其中编码参与所述PGC发育基因的转录后调控的RNA结合蛋白的基因为:Hnrnpab、Elavl1、Ptbp1a、Igf2bp3、Tia1、TIAR、

Rbpms42、Rbpms24、KHSRP或DHX9。

3.根据权利要求1所述的方法,其中所述参与遗传物质运输或形成的基因编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。

4.根据权利要求3所述的方法,其中该含多都铎结构域之蛋白质为Tdrd6a。

5.根据权利要求3所述的方法,其中该衔接蛋白为hook2。

6.根据权利要求1所述的方法,其中涉及生殖细胞特化、维持或迁移之基因为表达非编码RNA之基因。

7.根据权利要求6所述的方法,其中所述非编码RNA为miR202-5p。

8.根据权利要求1所述的方法,其中顺式作用的5'或3'UTR调节序列中的所述突变破坏所述PGC发育基因的母体活性,并且在发育的后期阶段不破坏所述PGC发育基因的功能。

9.根据权利要求8所述的方法,其中所述PGC发育基因为nanos3、dnd1、ElavI2或piwi样基因。

10.一种培育可育纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物以产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物的方法,包括以下步骤:

用野生雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物、杂合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物繁殖可育的纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物以产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物,

其中所述突变破坏原始生殖细胞PGC发育基因的母体效应,并且

其中干扰PGC发育基因的母体效应的突变不损害纯合后代的生存能力、性别决定、生育能力或其组合,并且其中,所述突变包含:

PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变;

编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因突变;

与遗传物质的运输或形成有关的基因突变;

与生殖细胞特化、维持或迁移有关的基因突变;或

其结合。

11.根据权利要求10所述的方法，其中编码参与所述PGC发育基因的转录后调控的RNA结合蛋白的基因为:Hnrnpab、Elavl1、Ptbp1a、Igf2bp3、Tia1、TIAR、Rbpms42、Rbpms24、KHSRP或DHX9。

12.根据权利要求10所述的方法，其中所述参与遗传物质运输或形成的基因编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。

13.根据权利要求12所述的方法，其中该含多都铎结构域之蛋白质为Tdrd6a。

14.根据权利要求12所述的方法，其中该衔接蛋白为hook2。

15.根据权利要求10所述的方法，其中涉及生殖细胞特化、维持或迁移之基因为表达非编码RNA之基因。

16.根据权利要求15所述的方法，其中所述非编码RNA为miR202-5p。

17.根据权利要求10所述的方法，其中顺式作用的5'或3'UTR调节序列中的所述突变破坏所述PGC发育基因的母体活性，并且在发育的后期阶段不破坏所述PGC发育基因的功能。

18.根据权利要求17所述的方法，其中所述PGC发育基因为nanos3、dnd1或piwi样基因。

19.一种制造可育纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物的方法，其产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物，包括以下步骤：

繁殖(i)可育的杂合子突变的雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物，以及(ii)可育的杂合子突变的雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合子突变的雄性鱼类、雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物，以及

通过基因型选择选择纯合子的雌性后代，

其中所述突变破坏原始生殖细胞PGC发育基因的母体效应，并且

其中干扰PGC发育基因的母体效应的突变不损害纯合后代的生存能力、性别决定、生育能力或其组合，并且其中，所述突变包含：

PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变；

编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因突变；

与遗传物质的运输或形成有关的基因突变；

与生殖细胞特化、维持或迁移有关的基因突变;或

其结合。

20.根据权利要求19所述的方法，其中编码参与PGC发育基因之转录后调控之RNA结合蛋白之基因为:Hnrnpab、Elavl1、Ptbp1a、Igf2bp3、Tia1、TIAR、Rbpms42、

Rbpms24、KHSRP或DHX9。

21.根据权利要求19所述的方法，其中所述参与遗传物质运输或形成的基因编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。

22.根据权利要求21所述的方法，其中该多都铎结构域包含蛋白质为Tdrd6a。

23.根据权利要求21所述的方法，其中所述衔接蛋白为hook2。

24.根据权利要求19所述的方法，其中涉及生殖细胞特化、维持或迁移之基因为表达非编码RNA之基因。

25.根据权利要求24所述的方法，其中所述非编码RNA为miR202-5p。

26.根据权利要求19所述的方法，其中顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的所述突变破

坏所述PGC发育基因的母体活性，并且在发育的后期阶段不破坏所述PGC发育基因的功能。

27.根据权利要求26所述的方法，其中所述PGC发育基因为nanos3、dnd1、Elavl2或piwi样基因。

一种产生不育后代的方法

技术领域

[0001] 本发明普遍涉及对淡水和海水生物进行绝育的方法。

背景技术

[0002] 以下段落并不承认其中讨论的任何内容是过往技术或本领域技术人员的知识的一部分。

[0003] 面对野生渔业产量的下降，全球粮食供应将不得不更多地依赖养殖业，以满足日益增长的公众对海产品的需求。与动物养殖不同，在水产养殖中，许多物种在生产过程中性成熟，导致数十亿美元的生产力损失和产品质量下降。此外，养殖鱼类可以逃逸，并对水生生态系统产生负面影响。因此，水产养殖业应首选养殖水生物种的绝育。

[0004] 鱼类绝育的一种方法是诱导三倍体。三倍体诱导是生产不育鱼类最常用和研究最多的方法。一般来说，三倍体鱼是通过对受精卵施加温度或压力冲击，迫使第二极体结合，产生具有三个染色体组(3N)的细胞而产生的。三倍体鱼不能发育正常的性腺，因为额外的染色体组会干扰减数分裂。对于工业规模，对成批鱼卵可靠地施加压力或温度冲击的过程是复杂的，而且成本高昂。物理处理诱导三倍体的另一种方法是遗传诱导三倍体，它是四倍体与二倍体杂交的结果。然而，由于胚胎存活率低和生长缓慢，四倍体鱼很难繁殖。在一些例子中，三倍体雄性产生一些正常的单倍体精子细胞，从而使雄性授精鱼卵，尽管其效率降低。此外，在一些物种中，负性表现特征与三倍体表型有关，包括降低发育和对疾病的敏感性。

[0005] 另一种对鱼进行绝育的方法是激素处理。然而，在许多情况下，包括密集的长期处理，这些过程没有理想的不育效果，并且/或与鱼类生长死亡率的下降有关。此外，涉及合成类固醇的处理可能导致更高的死亡率。

[0006] 另一种使鱼类绝育的方法是暂时沉寂控制生殖系发育的基因，包括将反义修饰的寡核苷酸微注射到单个卵子中，以清除原始生殖细胞。然而，单独微注射卵子在商业规模上是不可行的。

[0007] 另一种使鱼类绝育的方法是使用转基因技术，其中包括整合一个转基因的步骤，该转基因会导致生殖细胞死亡或干扰其迁移模式，导致其在发育中的胚胎中被切除。然而，转基因除了沉寂外，还受到位置效应的影响。因此，此类方法在被认为可用于商业用途之前，必须经过扩展的监管审查程序。

[0008] 另一种使鱼绝育的方法是用膜渗透性反义寡核苷酸或小分子抑制剂进行卵浴处理，这需要体外受精。然而，在水硬化过程或早期胚胎发育过程中处理卵子可能会产生机械、热和/或化学应力，这可能会对卵子和/或胚胎的生存能力产生负面影响。此外，未配备卵浴设备的孵化场将增加生产成本。

[0009] 在生产不育鱼类、甲壳类动物或软体动物方面的改进是可取的。

发明内容

[0010] 以下的介绍旨在向读者介绍本规范,但不定义任何发明。一项或多项发明可存在于下文或本文件其他部分所述的方法组成部分或方法步骤的组合或子组合中。发明人不会仅由于在权利要求书中不描述此类其他发明而放弃或公开否认其对本规范中公开的任何一项或多项发明的权利。

[0011] 前述的一种或多种淡水和海水生物绝育的方法可能会导致:(1)绝育效果不足,例如,对卵子和/或发育中的胚胎施加机械、热和/或化学应力;(2)运行成本增加,例如,在养殖业时间中实施大量改变,不能跨多个物种转移,增加生产时间,增加不育生物的百分比,降低发育和增加对疾病的敏感性,增加不育生物的死亡率,或以上情况的结合;(3)基因通过培养的非本地物种流向野生种群和新的栖息地;(4)绝育效率不足,例如,通过微量注射无效地去除原始生殖细胞;或(5)以上情况的结合。

[0012] 本发明提供了通过破坏其原始生殖细胞发育但不损害其到达成体阶段的能力来生产不育淡水和海水生物的方法。本发明可包括以下一个或多个实用例:(1)通过例如利用自然交配过程而不是体外受精来提高绝育的效率;(2)通过例如减少商业规模的昂贵设备或处理来降低操作成本,可在多个物种间转移,减少饲料,减少生产时间,增加达到性成熟的有机体的百分比,增加性成熟有机体的物理尺寸,或以上情况的组合;(3)减少培养的非本地物种的基因流向野生种群和新栖息地;(4)通过例如减少性腺发育的能量损失来提高养殖效能;(5)通过例如减少或避免位置效应和沉寂和/或b)导致产生不育后代的发生来提高绝育效率;或(6)与一种或多种先前提出的用于淡水和海水生物绝育的方法相比,以上情况的组合。

[0013] 本发明还讨论了培育用于生产不育淡水和海水生物的亲鱼淡水和海水生物的方法,以及亲鱼本身。

[0014] 本发明提供一种产生不育鱼、甲壳动物或软体动物的方法。该方法包括以下步骤:繁殖(i)可育的半合子突变的雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物和(ii)可育的半合子突变的雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物,通过基因型选择选择纯合子的雌性前体,并且繁殖纯合子雌性前体以产生不育的鱼类、甲壳类动物或软体动物软体动物。突变可能破坏原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应,并且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0015] 突变可包括:PGC发育基因的顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变;编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因中的突变;参与运输或形成种质的基因中的突变;参与生殖细胞突指定、维持或迁移有关的基因突变;或其组合。

[0016] 编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因可能包括:Hnrnpab,Elavl1,Ptbp1a,Igf2bp3,Tia1,TIAR,Rbpms42,Rbpms24,KHSRP或DHX9。参与种质运输或形成的基因可编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。含有多都铎结构域的蛋白质可能是Tdrd6。衔接蛋白可能是hook2。生殖细胞分化、维持或迁移的基因可能是表达非编码RNA的基因。非编码RNA可能是miR202-5p。

[0017] 顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变可能破坏PGC发育基因的母体活性,并且在发育后期不会破坏PGC发育基因的功能。PGC发育基因可以是nanos3、dnd1或piwi样基因。

[0018] 本发明还提供了一种可育的纯合突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物,用于生

产不育鱼类、甲壳类动物或软体动物。这种突变破坏了原始生殖细胞(PGC)发育基因的转录后调控，从而降低了PGC发育基因的母体效应，并且不会损害该基因的体细胞功能。

[0019] 突变可包括：PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变；编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因中的突变；参与运输或形成种质的基因中的突变；生殖细胞突变与生殖细胞的指定、维持或迁移有关的基因突变；或其组合。编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因可为：Hnrnpab,Elavl1,Ptbp1a,Igf2bp3,Tia1,TIAR,Rbpms42,Rbpms24,KHSRP或DHX9。参与种质运输或形成的基因可编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。含有多都铎结构域的蛋白质可能是Tdrd6。衔接蛋白可能是hook2。生殖细胞分化、维持或迁移的基因可能是表达非编码RNA的基因。非编码RNA可能是miR202-5p。顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变可能破坏PGC发育基因的母体活性，并且在发育后期不会破坏PGC发育基因的功能。PGC发育基因可以是nanos3、dnd1或piwi样基因。

[0020] 本发明还提供了一种培育可育纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物以产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物的方法。该方法包括以下步骤：用野生型雄性鱼类、甲壳纲动物或软体动物、半合子突变雄性鱼类、甲壳纲动物或软体动物或纯合子突变雄性鱼类、甲壳纲动物或软体动物培育可育纯合子突变雌性鱼类、甲壳纲动物或软体动物，以产生不育鱼类、甲壳纲动物或软体动物。突变可能破坏原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应，并且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0021] 突变可包括：PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变；编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因中的突变；参与运输或形成种质的基因中的突变；生殖细胞突变与生殖细胞的指定、维持或迁移有关的基因突变；或其组合。编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因可以是：Hnrnpab,Elavl1,Ptbp1a,Igf2bp3,Tia1,TIAR,Rbpms42,Rbpms24,KHSRP或DHX9。参与种质运输或形成的基因可编码含有多都铎结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。含有多都铎结构域的蛋白质可能是Tdrd6。衔接蛋白可能是hook2。生殖细胞分化、维持或迁移的基因可能是表达非编码RNA的基因。非编码RNA可能是miR202-5p。

[0022] 顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变可能破坏PGC发育基因的母体活性，并且在发育后期不会破坏PGC发育基因的功能。PGC发育基因可以是nanos3、dnd1或piwi样基因。

[0023] 本发明还提供了一种培育可产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物的可育纯合子突变雌性鱼、甲壳类动物或软体动物的方法。所述方法步骤包括：繁殖(i)可育的半合子突变的雌鱼、甲壳类动物或软体动物和(ii)可育的半合子突变的雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合子突变的雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物，并通过基因型选择选择纯合子的雌性祖先。突变可能破坏原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应，并且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0024] 突变可包括：PGC发育基因顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变；编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因中的突变；参与运输或形成种质的基因中的突变；生殖细胞突变与生殖细胞的指定、维持或迁移有关的基因突变；或其组合。编码参与PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因可能是：Hnrnpab,Elavl1,Ptbp1a,Igf2bp3,Tia1,TIAR,Rbpms42,Rbpms24,KHSRP或DHX9。参与种质运输或形成的基因可编码含有多都

锌结构域的蛋白质、驱动蛋白样蛋白质或衔接蛋白。含有多都锌结构域的蛋白质可能是Tdrd6。衔接蛋白可能是hook2。生殖细胞分化、维持或迁移的基因可能是表达非编码RNA的基因。非编码RNA可能是miR202-5p。

[0025] 顺式作用的5'或3'UTR调控序列中的突变可能破坏PGC发育基因的母体活性，并且在发育后期不会破坏PGC发育基因的功能。PGC发育基因可以是nanos3、dnd1或piwi样基因。

[0026] 本发明的其他方面和特征对于本领域的普通技术人员将在结合附图查看以下具体示例的描述后变得显而易见。

附图说明

[0027] 现在将参考附图仅以示例的方式描述当前公开的方法和生物体的示例。

[0028] 图1是示出产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物并繁殖突变系的方法示例的流程图。

[0029] 图2A和B是说明本文所述的诱变策略的概述的流程图，该流程用于识别影响PGC发育和所选突变等位基因的进一步繁殖的母体效应突变体。

[0030] 图3的A至D是罗非鱼F0代不同生长阶段的照片，包括双等位基因敲除。

[0031] 图4的A和B是罗非鱼多基因打靶后的照片。

[0032] 图5的A至C是在原始生殖细胞中表达绿色荧光蛋白(GFP)的稳定转基因罗非鱼系的表示和照片。Zpc5:eGFP:tnos 3'UTR结构:罗非鱼Zpc5启动子是卵母细胞特异性启动子，在第一次减数分裂前的卵子发生过程中活跃。因此，来自杂合子转基因雌性的所有胚胎(图5之B)都继承了基因eGFP:tnos 3'UTR mRNA，通过顺式作用RNA要素在其3'UTR(罗非鱼纳米3'UTR)中的作用，定位并在PGC中专一表达(图5之C)。

[0033] 图6是向DNA序列引入定制核苷酸改变的过程的图示。mHDR＝微同源定向修复;HA＝同源臂。剪刀符号代表预期被切割的目标部位。该方法用于编辑图35所示的dnd1 3'UTR中的保守基序。

[0034] 图7是说明F0突变体识别和选择策略的图示和图。突变等位基因通过荧光PCR和基因特异性引物进行鉴定，目的是扩增靶位点周围的区域(120-300bp)。对于荧光PCR，在反应中加入基因特异性引物和两个带有荧光团6-FAM或NED的正向寡核苷酸。使用野生型DNA的对照反应来确认每个基因座上是否存在单峰扩增。结果扩增子通过毛细管电泳(CE)和添加的LIZ标记的大小标准来确定精确到碱基对分辨率(Retrogen)的扩增子大小。原始跟踪文件在峰值扫描软件(ThermoFisher)上进行分析。相对于野生型峰对照的峰大小决定突变的性质(插入或缺失)和长度。峰的数目表示镶嵌程度。我们选择了携带最少突变等位基因(最好2-4峰)的F0镶嵌首建者。

[0035] 图8显示的是熔融曲线图，该图允许可视化杂合子、纯合子突变体和野生型样品的基因型。绘制了荧光负变化与温度(-dF/dT)的关系曲线。每个轨迹代表一个样本。本例中野生型等位基因的熔化温度为～81℃(野生型峰)，纯合突变产物的熔化温度(纯合缺失峰)为～79℃。剩余轨迹表示杂合子。

[0036] 图9的A和B是nanos3 3'UTR基因座突变的图示。图9A是nanos3基因的示意图。外显子1显示为阴影框;翻译起始和终止位点分别为ATG和TAA。图9B是野生型参考序列和来自nanos3 3'UTR突变罗非鱼不同后代的7个种系突变等位基因的序列。删除和插入分别用破

折号和突出显示的大写字母表示。

[0037] 图10是F3纯合KIF5B$^{\Delta 1/\Delta 1}$突变体中颅面和尾部畸形的照片。箭头表示骨骼畸形。

[0038] 图11的A至D是图解说明来自TIAR、KSHRP、TIA1、DHX9、Igf2bp3、Elavl1、Elavl2、Cxcr4a、Ptbp1a、Hnrnpab、Rbm24、Rbm42、TDRD6、Hook2、miR-202-5p突变F0雌性的母性效应不育表型的图表和照片。图11的A和B显示了F0突变雌性4天龄胚胎(≥12个胚胎)中PGC的平均数量。与野生型对照雌性胚胎后代比较,差异显著(p≤0.01)。竖条显示标准偏差。图11C代表雌性转基因系Tg(Zpc5:EGFP:nos3'UTR)的4个dpf罗非鱼胚胎后代,显示正常PGC计数。GFP(+)生殖细胞(n=40)纵向聚集在肠道前部。图11D表示F0 Tg(Zpc5:EGFP:nos3 3'UTR)雌性系后代的躯干区域,其携带靶向基因突变,并且在4dpf处显示不同的PGC计数(从n=1到15)。箭头显示绿色荧光蛋白(+)细胞(绿色)。

[0039] 图12的A至H是说明F0突变体雌性后代的母性效应不育表型的照片和图表。图12A显示了F0携带nos3 3'UTR突变雌性(右侧)4个月大的罗非鱼雄性后代(4个月大)与年龄匹配的对照精巢相比的腹腔和萎缩精巢(箭头所示)。图12的B和C表示F0 nos3 3'UTR突变雌性的F1雄性后代的平均性腺体指数(n=15/组)。显示平均值±标准差。图12D显示了F0 nos3 3'UTR突变雌性的6个月大的F1后代的解剖透明精巢。图12E显示了来自携带TIA1突变的F0雌性的F1后代的解剖性腺。PGC计数低(<5PGC/胚胎)的子代在6个月龄时精巢透明,卵巢萎缩,而PGC计数高(>15PGC/胚胎)的F1子代生殖腺成熟。图12F代表PGC计数高或低的F1子代的平均性腺体指数。图12G显示了F1雌性后代的腹腔,这些后代来自携带RBMS42突变的F0雌性(右侧)或雄性(左侧)。箭头指向卵巢,白色箭头指向萎缩的弦状卵巢。图12H显示了携带Ptbp1a突变的F0雌性(下侧)或F0雄性(上侧)罗非鱼雌性后代的腹腔。

[0040] 图13的A到C是在KIF5Ba基因座上选择的核酸酶诱导的缺失的图解。图13A是KIF5B基因的示意图。外显子(E1-25)显示为阴影框;5'和3'非翻译区域显示为开放框。图13B是野生型参考序列(序列号(SEQ ID NO):88),其中来自KIF5B F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:89)的序列显示1nt缺失(序列中的一个破折号)。据预测,这种移码会产生一种截短的蛋白质,其终止于氨基酸110而不是962。图13C是WT(序列号:90)和突变KIF5B等位基因(序列号:91)的预测蛋白质序列,其中前110个氨基酸与野生型TIAR蛋白质的相同。

[0041] 图14的A到C是在TIAR基因座上选择的突变等位基因的图解。图14A是TIAR基因的示意图。外显子(E1-12)显示为阴影框,5'和3'非翻译区显示为开放框;翻译起始和终止位点分别为ATG和TAA。图14B是具有来自TIAR F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:93)的野生型参考序列(序列号:92)。这一11nt插入被预测会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸119而不是382位。图14C是WT(序列号:94)和突变型TIAR等位基因(序列号:95)的预测蛋白质序列,其中前118个氨基酸与野生型TIAR蛋白质的相同,具有一个以下错误编码的氨基酸。改变的氨基酸被突出显示。

[0042] 图15的A至C是KHSRP基因座上所选突变等位基因的图解。图15A是罗非鱼KHSRP基因的示意图。外显子(E1-22)显示为阴影框,翻译起始和终止位点分别为ATG和TGA。箭头指向目标外显子。图15B显示了来自KHSRP F0突变体罗非鱼后代的野生型参考(序列号:96)和所选突变体等位基因(序列号:97)。缺失用破折号表示。这些连续的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸410而不是695位。图15C是WT(序列号:98)和截短突变体KHSRP蛋

白质(序列号:99)的预测蛋白质序列,其中前387个氨基酸与野生型KSHRP蛋白质的氨基酸相同,并且以下23个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0043] 图16的A至C是DHX9基因座上所选突变的图示。图16A是罗非鱼DHX9基因的示意图。外显子(E1-26)显示为阴影框;5'和3'未翻译区域显示为阴影框。箭头指向目标外显子。图16面板B是野生型参考序列(序列号:100)和来自DHX9 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:101)的序列。7个核苷酸缺失的位置用破折号表示。这种移码突变被预测会产生一个截短的蛋白质,其终止于氨基酸82而不是1286。图16C显示了WT(序列号:102)和截短突变体DHX9蛋白质(序列号:103)的预测蛋白质序列,其中前81个氨基酸与野生型DHX9蛋白质的氨基酸相同,并且以下氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0044] 图17的A到C是在TIA1基因座上选择的突变的图示。图17A是罗非鱼Tia1基因的示意图。外显子(E1-12)显示为阴影框,5'和3'非翻译区显示为开放框;翻译起始和终止位点分别为ATG和TAA。图17B显示来自Tia1 F0突变罗非鱼后代的野生型参考序列(序列号:104)和所选种系突变等位基因(序列号:105)的序列。序列中的破折号表示10个核苷酸的缺失。序列中的这种移码预计会产生一个截短的蛋白质,其终止于氨基酸27而不是387位。图17C是WT(序列号:106)和截短突变体TIA1蛋白质的预测蛋白质序列,其中前15个氨基酸与野生型TIA1蛋白质(序列号:107)的氨基酸相同,并且以下12个氨基酸是错误编码的。改变的氨基酸被突出显示。

[0045] 图18的A至C是Igf2pb3基因座上所选突变的图示。图18A是罗非鱼Igf2pb3基因的示意图。外显子(E1-15)显示为阴影框。箭头指向目标外显子。图18B是野生型参考序列(序列号:108)和来自Igf2bp3 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:109)的序列。插入的核苷酸用粗体字和下划线表示。据预测,这种移码会产生一种截短的蛋白质,其终止于氨基酸206而不是589位。图18C是预测的WT(序列号:110)和截断突变蛋白(序列号:111)的蛋白质序列,其中前173个氨基酸与野生型Igfpbp3蛋白质的氨基酸相同,并且以下33个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0046] 图19的A至C是Elavl1基因座上所选突变的图示。图19A是罗非鱼Elavl1基因的示意图。外显子(E1-7)显示为阴影框;5'和3'未翻译区域显示为开放框。箭头指向目标外显子。图19B是野生型参考序列(序列号:112)和来自Elavl1 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:113)的序列。3kb的缺失用破折号表示。据预测,这种移码会产生一种截短的蛋白质,终止于氨基酸105而不是359位。图19C是预测的WT(序列号:114)和截断突变蛋白(序列号:115)的蛋白质序列,其中前45个氨基酸与野生型Elavl1蛋白质的氨基酸相同,并且以下60个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0047] 图20的A至C是Elavl2基因座上所选突变的图示。图20A是罗非鱼Elavl2基因的示意图。外显子(E1-7)显示为阴影框。箭头指向目标外显子。图20B是野生型参考序列(序列号:116)和来自Elavl2 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:117)的序列。8个核苷酸的缺失用破折号表示。据预测,这种移码会产生一种截短的蛋白质,其终止于氨基酸40而不是372位。图20C是预测的WT(序列号:118)和截断突变蛋白(序列号:119)的蛋白质序列,其中前12个氨基酸与野生型Elavl2蛋白质的氨基酸相同,并且以下28个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0048] 图21的A至C是Cxcr4a基因座上所选突变的图示。图21面板A是罗非鱼Cxcr4a基因

的示意图。外显子(E1-2)显示为阴影框;5'和3'未翻译区域显示为开放框。箭头指向目标外显子。图21B是野生型参考序列(序列号:120),具有来自Cxcr4aF0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:121)。8个核苷酸的缺失用破折号表示。据预测,这种移码会产生一种截短的蛋白质,其终止于氨基酸26而不是372位。图21C是WT(序列号:122)和截短突变蛋白(序列号:123)的预测蛋白质序列,其中前169个氨基酸与野生型CXCR4a蛋白质的氨基酸相同,并且以下8个氨基酸是错误编码的。改变的氨基酸被突出显示。

[0049] 图22的A到C是Ptbp1a基因座上所选突变的图示。图22A是罗非鱼Ptbp1a基因的示意图。外显子(E1-16)显示为阴影框。5'和3'未翻译区域显示为开放框。箭头指向目标外显子。图22B是野生型参考序列(序列号:124),其中包含来自Ptbp1a F0突变罗非鱼的所选种系突变等位基因序列(序列号:125和126)。13个核苷酸和1.5kb的缺失用破折号表示。据预测,这些移码突变会产生截短的蛋白质,终止于氨基酸80和346,而不是538位。图22C是WT(序列号:127)和截断突变蛋白(序列号:128和129)的预测蛋白质序列,其中前71和72个氨基酸与野生型Ptbp1a蛋白质的氨基酸相同,并且以下9和274个氨基酸是错误编码的。改变的氨基酸被突出显示。

[0050] 图23的A至C是nos3基因座上所选突变的图解。图23面板A是罗非鱼nos3基因的示意图。外显子(E1)显示为阴影框。箭头指向外显子1中的靶基因座。图23B是野生型参考序列(序列号:130),其具有来自nos3 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:131)。用破折号表示的5个核苷酸的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸145而不是219位。图23C是预测的WT(序列号:132)和截短突变蛋白(序列号:133)的蛋白质序列,其中前140个氨基酸与野生型NANOS3蛋白质的氨基酸相同,并且以下5个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0051] 图24的A至C是dnd1基因座上所选突变的图示。图24A是罗非鱼dnd1基因的示意图。外显子(E1-E6)显示为阴影框。5'和3'未翻译区域显示为开放框。箭头指向外显子6中的目标位点。图24B是野生型参考序列(序列号:134),其具有来自dnd1F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:135)。用破折号表示的5个核苷酸的缺失预计会产生一个延长的蛋白质,其终止于氨基酸324而不是320位。图24C是预测的WT(序列号:136)和截断突变蛋白(序列号:137)的蛋白质序列,其中前316个氨基酸与野生型DND1蛋白质的氨基酸相同,并且以下8个氨基酸是错误编码的。改变的氨基酸被突出显示。

[0052] 图25的A至C是在Hnrnpab的编码区中选择的突变的图示。图25A是罗非鱼Hnrnpab基因的示意图。外显子(E1-E7)显示为阴影框。箭头指向目标基因座。图25B是野生型参考序列(序列号:138),其具有来自Hnrnpab F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:139)。用破折号表示的8个核苷酸的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸29而不是332位。图25C是预测的WT(序列号:140)和截断突变蛋白(序列号:141)的蛋白质序列,其中前27个氨基酸与野生型Hnrnpab蛋白质的氨基酸相同,并且以下2个氨基酸是错误编码的。改变的氨基酸被突出显示。

[0053] 图26的A至C是在Hermes(Rbms)基因座上选择的突变的图示。图26A是罗非鱼Hermes基因的示意图。外显子(E1-E6)显示为阴影框。箭头指向目标基因座。图26B是野生型参考序列(序列号:142),其具有来自Hermes F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:143)。粗体字和下划线所示的16个核苷酸插入预计会产生一个截短的蛋白

质,终止于氨基酸61而不是174位。图26C是WT(序列号:144)和截断突变蛋白(序列号:145)的预测蛋白质序列,其中前52个氨基酸与野生型Hermes蛋白的氨基酸相同,并且以下9个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0054] 图27的A至C是RBM24基因座上所选突变的图示。图27A是罗非鱼RBM24基因的示意图。外显子(E1-E4)显示为阴影框。箭头指向目标基因座。图27B是野生型参考序列(序列号:146),具有来自RBM42 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:147)。用破折号表示的7个核苷酸的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸54而不是235位。图27C是WT(序列号:148)和截断突变蛋白(序列号:149)的预测蛋白质序列,其中前42个氨基酸与野生型RBM24蛋白质的氨基酸相同,并且以下12个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0055] 图28的A至C是在RBM42基因座上选择的突变的图示。图28A是罗非鱼RBM42基因的示意图。外显子(E1-E11)显示为阴影框。箭头指向目标基因座。图28B是野生型参考序列(序列号:150),具有来自RBM42 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:151)。用破折号表示的7个核苷酸缺失预计将产生终止于氨基酸178而不是408位的截短蛋白质。图28C是WT(序列号:152)和截断突变蛋白(序列号:153)的预测蛋白质序列,其中前158个氨基酸与野生型RBM42蛋白质的氨基酸相同,并且以下20个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0056] 图29的A至C是TDRD6基因座上所选突变的图示。图29A是罗非鱼TDRD6基因的示意图。外显子(E1-E2)显示为阴影框。箭头指向目标基因座。图29B是野生型参考序列(序列号:154),其具有来自TDRD6 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因的序列(序列号:155)。用破折号表示的10个核苷酸的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸43而不是1630位。图29C是WT(序列号:156)和截短突变蛋白(序列号:157)的预测蛋白质序列,其中前31个氨基酸与野生型TDRD6蛋白质的氨基酸相同,并且以下12个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0057] 图30的A至C是Hook2基因座上选择的突变的图示。图30A是罗非鱼Hook2基因的示意图。外显子(E1-E22)显示为阴影框。5'和3'未翻译区域显示为开放框。箭头指向目标基因座。图30B是野生型参考序列(序列号:158)和来自Hook2 F0突变罗非鱼后代的所选种系突变等位基因(序列号:159)的序列。用破折号表示的2个核苷酸的缺失预计会产生一个截短的蛋白质,终止于氨基酸158而不是708位。图30C是WT(序列号:160)和截断突变蛋白(序列号:161)的预测蛋白质序列,其中前102个氨基酸与野生型Hook2蛋白的氨基酸相同,并且以下56个氨基酸被错误编码。改变的氨基酸被突出显示。

[0058] 图31的A至C是miR-202基因座处所选突变的图示。图31A显示了forna(力定向RNA)RNA可视化工具(Kerpedjiev,Hammer等人著,2015年)预测的miR-202前罗非鱼(Oreochromis niloticus)的二级结构。箭头指向两个成熟miR-202的第一个和最后一个核苷酸的位置。图31B显示了野生型(序列号:162)和所选突变体(序列号:163到165)的核苷酸序列比对,缺失由覆盖miR-202-5p区域的虚线表示。miR-202-5p序列加下划线一次,miR-202-3p序列加下划线两次。miR-202-5p的种子序列显示在点框中。图31C显示来自forna RNA可视化工具的前miR-202突变等位基因(miR-202$^{\Delta 7/+}$,miR-202$^{\Delta 8/+}$)的二级结构。箭头表示两个成熟miR-202的第一个和最后一个核苷酸。

[0059] 图32的A至C是显示不同硬骨鱼nos3 3'UTR的模因分析结果的图示。图32A显示了不同硬骨鱼类(牙鲆(Paralichthys olivaceus)(序列号:166)、斑点叉尾鲴(Ictalurus punctatus)(序列号:170)、虹鳟(Oncorhynchus mykiss)(序列号:171)、斑马鱼(Danio rerio)(序列号:168)、尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus)(序列号:169)、美达卡(Oryzias latipes)(序列号:172)、鲤鱼(Cyprinus carpio)(序列号:167)、河豚(tetraodon)(序列号:173)nos3基因3'UTR中保守基序分布的模因方块图。3'UTR按比例绘制。保守基序1(17-nt长)和2(40-nt长)分别用黑色和灰色框表示。图32B显示了17个nt长标志的序列,显示了模因工具识别的顶部保守基序。字母的高度决定了出现在图案中某个位置的概率。一级序列以块格式排列,显示序列名称、链(+)、序列号、起始核苷酸位置和P值位点(按位置P值排序的位点)。图32C显示了40个nt长的标志序列,显示了模因工具识别的顶部保守基序。字母的高度决定了出现在图案中某个位置的概率。以块格式显示序列名称、链(+)起始核苷酸位置和P值位点(按位置P值排序的位点)的一级序列比对。

[0060] 图33的A和B是罗非鱼nos3 3'UTR保守的19nt基序1中选择的核酸酶诱导的缺失的图示。图33A是野生型参考序列(序列号:169),具有来自nos3 3'UTR F0突变罗非鱼后代的两个选择的种系突变等位基因(分别为8nt和32nt长缺失,序列号:188和189)的序列。用破折号表示的缺失可以部分或完全去除由模因识别的17nt长的保守基序1(如图32所示)。miR-430推测的靶序列GCACUU(Giraldez,Mishima等人著,2006年)显示在点框中。图33B显示了forna RNA可视化工具预测的保守基序1的二级结构(Kerpedjiev,Hammer等人著,2015年)。箭头指向基序1的第一个和最后一个核苷酸。

[0061] 图34的A至C是显示各种硬骨鱼dnd1 3'UTR的模因分析结果的图示。图34A显示了从鱼类到青蛙(大西洋鲑鱼(Salmo salar)(序列号174)、大西洋鳕鱼(Gadus morhua)(序列号175)、虹鳟(Oncorhynchus mykiss)(序列号176)、尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus)(序列号:177)、河豚(takifugu rubripes)(序列号:178)、斑马鱼(Danio rerio)(序列号:179)、海峡鲴(Ictalurus punctatus)(序列号:180)、非洲爪蟾(Xenopus tropicalis)(序列号:181))。3'UTR按比例绘制。保守基序1和2分别用黑色和灰色框表示。图34B和C显示了与模因工具识别的两个顶部保守基序相对应的19nt和46nt长标志的序列。字母的高度决定了出现在图案中某个位置的概率。一级序列以块格式排列,显示序列名称、链(+)起始核苷酸位置和P值位点(按位置P值排序的位点)。

[0062] 图35的A和B是罗非鱼dnd1 3'UTR保守的19nt基序1中所选核酸酶诱导的核苷酸替换的图示。图35A是野生型参考序列(序列号:177),其中保守的dnd119nt-基序1序列在黑框中突出显示,其预测的最小自由能(MFE)二级结构来自forna RNA可视化工具(Kerpedjiev,Hammer等人著,2015年)。miR-23d假定靶序列AGTGATT(MIMAT0043480)(Eshel,Shirak等人著,2014年)显示在点框中。图35B是用最保守的基序1核苷酸(序列号:190)替换等位基因替换(图6中描述的方法)后编辑的序列。RNAfold网络服务器不能预测编辑的dnd1基序1的二级结构(forna RNA可视化工具(Kerpedjiev,Hammer等人著,2015年))。

[0063] 图36的A至C是显示不同硬骨鱼Elavl2 3'UTR的模因分析结果的图示。图36A显示了模因方块图,显示了从鱼类到青蛙(斑马鱼(Danio rerio)(序列号:184)、鲴鱼(Ictalurus punctatus)(序列号:185)、尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus)(序列号:183)、梅达卡(Oryzias latipes)(序列号:186)、大西洋鲑鱼(Salmo salar)(序列号:182),

非洲爪蟾(热带爪蟾)(序列号:187))等不同物种的Elavl2基因3'UTR中保守基序的分布。3'UTR是按精确的比例绘制的。保守基序1和2分别用黑色和灰色框表示。图36的B和C显示了由模因工具识别的30nt长的保守基序1和2的标志序列。字母的高度决定了出现在图案中某个位置的概率。块格式的主要序列比对显示:序列名称、链(+)、序列号、起始核苷酸位置和P值位点(按位置P值排序的位点)。

[0064] 图37的A和B是说明对来自TIAR、KSHRP、TIA1、DHX9、Igf2bp3、Elavl1、Elavl2、Cxcr4a、Ptbp1a、Hnrnpab、Rbm24、Rbm42、TDRD6、Hook2、miR-202-5p突变F1雌性后代的PGC数量进行统计分析的图表。各列显示了F0突变雌性个体4天龄胚胎(≥12个胚胎)中PGC的平均数量。除KHSRP和Elavl1外,其余各组与野生型对照雌性后代相比,差异极显著($p \leq 0.01$)。竖条显示标准偏差。

[0065] 图38的A和B是图解和照片,显示了所选罗非鱼dnd1突变体的世代、基因型和相关表型。图38A:在细胞分裂阶段之前,通过将针对dnd1编码序列的工程核酸酶显微注射到罗非鱼胚胎的胚盘中产生Dnd突变体。其中一只雄性首建者与一只野生型雌性交配,并在F1代产生杂合突变体。这些F1突变体$Dnd^{\Delta 5/+}$的交配产生F2代,其中约25%为纯合突变体(dnd敲除$Dnd^{\Delta 5/\Delta 5}$)雄性,缺乏生殖细胞(通过解剖性腺分析证实)。图38B:1年龄(411克)dnd-敲除$Dnd^{\Delta 5/\Delta 5}$中雄性性腺的形态,显示具有正常大小精巢的半透明精巢解剖结构。

[0066] 图39的A和B是图解和照片,显示了所选罗非鱼nos3突变体的世代、基因型和相关表型。图39A:Nos3突变体是通过在细胞分裂阶段之前将针对Nos3编码序列的工程核酸酶显微注射到罗非鱼胚胎的胚盘中产生的。其中一只雄性首建者与一只野生型雌性交配,并在F1代产生杂合突变体。这些F1突变体$nos3^{\Delta 5/+}$的交配产生F2代,其中约25%是两性纯合突变体(nos3敲除$nos3^{\Delta 5/\Delta 5}$),雌性缺乏生殖细胞(通过解剖性腺分析证实)。图39B:与半合子同胞$nos3^{\Delta 5/+}$相比,nos3-敲除$nos3^{\Delta 5/\Delta 5}$中雄性性腺的形态显示出弦状卵巢。

[0067] 图40的A和B是图解和照片,显示了所选罗非鱼Elavl2突变的世代、基因型和相关表型。图40A:在细胞分裂阶段之前,通过将针对Elavl2编码序列的工程核酸酶显微注射到罗非鱼胚胎的胚盘中产生Elavl2突变体。其中一只雄性首建者与一只野生型雌性交配,并在F1代产生杂合突变体。这些F1突变体$Elavl2^{\Delta 8/+}$的交配产生F2代,其中约25%是两性纯合突变体(Elavl2敲除$Elavl2^{\Delta 8/\Delta 8}$),雌性缺乏生殖细胞(通过解剖性腺的分析证实)。图40B:与半合子同胞$Elavl2^{\Delta 8/+}$相比,Elavl2基因敲除$Elavl2^{\Delta 8/\Delta 8}$中雄性性腺的形态显示出弦状卵巢。

[0068] 图41的A至D是示出dnd1到β-珠蛋白3'UTR交换实验的图示和照片。图41A是靶向整合β-珠蛋白3'UTR后罗非鱼dnd1基因的示意图。使用引物(箭头)确认β-珠蛋白3'UTR盒整合到罗非鱼基因组中。图41B是来自不同处理鱼的gDNA PCR产物的凝胶电泳。泳道1、3-5、7和9-14中的497bp特异性PCR扩增子表明成功整合了dnd1(死端1)开放阅读框下游的β-珠蛋白3'UTR。图41C组显示了罗非鱼这种整合纯合物($DND1^{bglo\ 3'UTR/bglo3'UTR}$)腹膜腔内的半透明精巢。图41D是表明$DND1^{bglo3'UTR/bglo3'UTR}$罗非鱼的精巢中不存在vasa特异性RT PCR扩增子的凝胶。

[0069] 图42的A和B是显示nos3 3'UTR纯合雌性(nos3 3'UT $R^{\Delta 32/\Delta 32}$)后代的母性效应不育表型的照片和图表。图42A显示了6个月龄的后代的性腺解剖图,其雄性和雌性具有完全(透明的精巢和弦状卵巢)到部分不育表型。图42B:nos3 3'UT $R^{\Delta 32/\Delta 32}$雌性4日龄胚胎后代

中PGC数量的统计分析。平均PGC数(≥12胚/柱)比对照组减少93％。

[0070] 图43的A和B是显示TIAR纯合子突变雌性(TIAR-/-)后代的母性效应不育表型的照片和图表。图43A显示了6个月龄的雄性(左侧图像显示为腹膜腔)和雌性(右侧图像显示为腹膜腔)具有严重不育表型的子代的解剖性腺。图43B:TIAR突变体雌性6个月龄后代性腺体指数的统计分析。平均PGC数(≥12胚/柱)比对照组减少93％。

[0071] 图44的A至C是显示两组分系统(上位性)中母体效应突变相互作用性质的图。利用加性假设上位性,双KO系中上位性的缺失被认为是单KO效应的总和。我们用以下公式测量单个KO的总期望值:TPA＝LA1+(1-LA1)x LA2,其中LA1是KO#1引起的PGC消融水平,LA2是KO#2引起的PGC消融水平。我们计算的总PGC消融水平与测量的消融水平相差几个百分点,表明没有上位性。计算的LA与测量的LA显示在每个图表下方的括号中。

[0072] 图45是说明对来自TIAR、KSHRP、TIA1、DHX9、Elavl1、Cxcr4a和nos3 3'UTR纯合子突变F2雌性后代的PGC数量的统计分析的图表。各列显示了F0突变雌性个体4天龄胚胎(≥12个胚胎)中PGC的平均数量。各试验组与野生型对照雌性后代相比,差异极显著(p≤0.01)。竖条显示标准偏差。

具体实施方式

[0073] 一般而言,本发明提供一种产生不育鱼类、甲壳动物或软体动物的方法。该方法包括繁殖(i)可育的半合子突变的雌鱼、甲壳类动物或软体动物,使用的是(ii)可育的半合子突变的雄鱼、甲壳类动物或软体动物,通过基因型选择选择纯合子的雌性祖先,并繁殖纯合子雌性祖先以产生不育的鱼、甲壳类动物或软体动物。这种突变破坏了原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应,且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0074] 本发明还提供了一种培育可育纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物以产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物的方法。该方法包括用野生型雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物、半合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物培育可育的纯合子突变雌性鱼类、甲壳类动物或软体动物以产生不育鱼类、甲壳类动物或软体动物。这种突变破坏了原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应,且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0075] 本发明进一步提供了一种培育产生不育鱼类、甲壳动物或软体动物的可育纯合子突变雌性鱼、甲壳动物或软体动物的方法。该方法包括繁殖(i)可育的半合子突变的雌鱼、甲壳类动物或软体动物和(ii)可育的半合子突变的雄鱼、甲壳类动物或软体动物,或纯合子突变的雄鱼、雄鱼、甲壳类动物或软体动物,并通过基因型选择选择纯合子的雌性祖先。这种突变破坏了原始生殖细胞(PGC)发育基因的母体效应,且不会损害纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。

[0076] 在本发明的上下文中,鱼类是指任何没有四肢和手指的有鳃有骨动物。鱼类的例子包括鲤鱼、罗非鱼、鲑鱼、鳟鱼和鲶鱼。在本发明的上下文中,甲壳动物是指任何节肢动物分类单元。甲壳类动物的例子包括螃蟹、龙虾、小龙虾和虾。在本发明的上下文中,软体动物是指具有软的未分割身体的任何无脊椎动物,通常被封闭在钙质壳中。软体动物的例子包括蛤蜊、扇贝、牡蛎、章鱼、鱿鱼和石鳖。半合子鱼类、甲壳类动物或软体动物是指任何二倍

体的鱼、甲壳类动物或软体动物，其携带一个含有突变的染色体副本，但匹配的染色体没有突变。纯合子鱼类、甲壳类动物或软体动物是指任何携带两份含有突变的染色体的二倍体鱼类、甲壳类动物或软体动物。

[0077] 不育鱼类、甲壳动物或软体动物是指与野生型鱼类、甲壳动物或软体动物相比，通过繁殖或杂交产生后代的能力减弱的任何鱼类、甲壳动物或软体动物；例如，不育鱼类、甲壳动物或软体动物可能具有降低了约50％、约75％、约90％、约95％的后代，或者100％产生后代的可能性。相比之下，可育的鱼类、甲壳动物或软体动物是指任何具有通过繁殖或杂交产生后代能力的鱼类、甲壳动物或软体动物。繁殖和杂交是指雄性物种和雌性物种交配产生后代的过程。

[0078] 母体效应是指由于母体向卵母细胞提供RNA、蛋白质或其组合，生物体的表型预期来自其母体的基因型的情况。破坏PGC发育基因的母体效应是指损害或废除在卵母细胞中母体表达的一个或多个基因的功能，以及在PGC发育、维持、迁移或其组合中的功能。在卵母细胞中母性表达的一个或多个基因的组合以及在PGC发育、维持、迁移或其组合中的功能的破坏，并不损害或废除与生存能力、性别决定、生育能力有关的一个或多个基因的合子功能，或携带所述损伤或废除基因功能的纯合祖细胞的组合。值得注意的是，在卵母细胞中母性表达的一个或多个基因的组合以及在PGC发育、维持、迁移或其组合中的功能的破坏可能损害或废除不涉及生存能力、性别决定、生育能力的一个或多个基因的合子功能，或纯合祖细胞的组合，例如，参与免疫、代谢、应激或疾病反应的祖细胞。破坏在卵母细胞中母性表达的一个或多个基因的组合，并在PGC的发育、维持、迁移或其组合中发挥功能，会破坏配子的形成，并可能导致不育和性未成熟的有机体。

[0079] 种质基因已经过敲除实验，导致其失活。然而，在一些种质基因被敲除后，没有观察到预期的表型和/或检测到多效性表型，从而导致：1)发育成缺陷鱼，不能繁殖产生不育后代；或2)发育成不能产生存活后代的鱼。然而，其他种质基因被敲除，导致一个纯合突变体卵巢、精巢或两者发育受损，因此无法繁殖产生不育后代。发明人已经发现，通过引入一个或多个影响PGC功能的特定突变而不损害或废除突变生物体发育成性成熟成鱼的能力，即不损害其生存能力、性别决定、生育能力或其组合，允许产生一种可以用来产生不育后代的亲鱼。重要的是，一个或多个特异性突变破坏了PGC形成的母体功能，使得纯合子突变雌性的后代正常，但生殖细胞耗尽。

[0080] 破坏PGC发育基因母性效应功能的突变，是指直接或间接损害或消除PGC发育基因母性效应功能的任何基因突变。直接或间接影响基因功能是指：(1)突变一个或多个PGC发育基因的编码序列；(2)突变对一个或多个PGC发育基因的转录或转录后调控至少有一定控制的非编码序列；(3)突变参与一个或多个PGC发育基因转录后调控的另一基因的编码序列；(4)突变参与种质的运送、形成或组合的另一基因的编码序列，例如一个或多个PGC发育基因的基因产物；(5)突变参与生殖细胞规范、维持、迁移或其组合的另一基因的编码序列；(6)突变参与一个或多个PGC发育基因表观遗传调控的另一基因的编码序列；或(7)其组合，从而破坏或消除PGC发育基因的功能。基因功能是指基因本身的直接功能和基因表达过程中产生的分子的功能，如RNA和蛋白质的功能。损伤基因功能是指与基因的野生型对应物的功能相比，基因功能的数量减少约10％、约25％、约50％、约75％、约90％或约95％。废除基因功能，或功能丧失，是指与基因野生型对应物的功能相比，基因功能量减少100％。如本文

所用,“野生型”通常指母体效应功能未被破坏的生物体。“野生型对应物”一般指同龄、同种等的正常生物。

[0081] 突变可以是有利害关系的的核苷酸序列的任何类型的改变,例如,核苷酸插入、核苷酸缺失、核苷酸替换。一个或多个PGC发育基因的编码序列中的优选突变是引起移码突变的核苷酸插入或核苷酸缺失,其可导致非功能性蛋白质的产生。

[0082] 突变一个或多个PGC发育基因的编码序列是指对编码序列的任何类型的突变:(1)损害或消除参与PGC发育、维持、迁移或其组合的PGC发育基因的母体效应功能;(2)不损害或消除生存能力,携带所述突变的纯合祖细胞的性别决定、生育能力或其组合。原始生殖细胞发育基因的编码序列的突变的例子包括Tia1、TIAR、KHSRP、DHX9、Elavl1、Igf2bp3、Ptbp1a、TDRD6、Hook2和Hnrnpab的编码序列的突变。发明人发现,突变某些PGC基因的编码序列,损害或消除参与PGC发育、维持、迁移或其组合的PGC发育基因的母体效应功能,也损害或消除生存能力、性别决定、生育能力,或携带所述突变的纯合祖细胞的组合,例如Hnrnph1、Hermes、Elavl2、KIF5B。

[0083] 令人惊讶的是,发明人发现突变:(1)在一个或多个PGC发育基因的转录或转录后调控中至少具有某种控制的非编码序列;(2)突变参与PGC发育基因转录后调控的另一个基因的编码序列;(3)突变另一个与生殖细胞运送、形成或组合有关的基因的编码序列;(4)突变另一个与生殖细胞规格、维持、迁移或组合有关的基因的编码序列;(5)突变其组合,可避免损害或废除携带所述突变的纯合祖细胞的活力、性别决定、生育能力或其组合。参见示例10-13和16-18。

[0084] 突变至少对一个或多个PGC发育基因的转录或转录后调控具有某种控制的非编码序列是指非编码区的任何类型的突变,其:(1)损害或消除参与PGC发育、维持和发育的PGC发育基因的母体效应功能,迁移或其组合;以及(2)不损害或废除携带所述突变的纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。突变一个或多个PGC发育基因的非编码序列的实例包括:(1)一个或多个PGC发育基因的一个或多个顺式作用的5'UTR调控序列;(2)一个或多个PGC发育基因的一个或多个顺式作用的3'UTR调控序列的突变;(4)一个或多个PGC发育基因的启动子;或(4)其组合。顺式作用的5'UTR调控序列的实例是nanos3、dnd1和piwi样基因(例如ziwi)的5'UTR调控序列。顺式作用的3'UTR调控序列的实例为nanos3、dnd1和piwi样基因的3'UTR调控序列。

[0085] 突变参与一个或多个PGC发育基因转录后调控的另一个基因的编码序列是指除一个或多个PGC发育基因之外的任何类型的基因突变,其:(1)损害或消除参与PGC发育的PGC发育基因的母体效应功能,维持、迁移或其组合;以及(2)不损害或废除携带所述突变的纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。突变参与一个或多个PGC发育基因转录后调控的另一个基因的编码序列的示例是突变编码参与一个或多个PGC发育基因转录后调控的RNA结合蛋白的基因和突变编码参与一个或多个PGC发育基因转录后调控的microRNA的基因一个或多个PGC发育基因的转录后调控。参与一个或多个PGC发育基因的转录后调控的RNA结合蛋白的实例为Hnrnpab、Elavl1、Ptbp1a、Igf2bp3、Tia1、TIAR、Rbpm42、Rbpm24、KHSRP和DHX9。

[0086] 突变另一个参与种质的运送、形成或组合的基因的编码序列,是指除一个或多个PGC发育基因外的任何类型的基因突变:(1)损害或消除参与PGC发育、维持的PGC发育基因

的母体效应功能,迁移或其组合;以及(2)不损害或废除携带所述突变的纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。突变参与所述种质的运送、形成或组合,所述另一个基因的编码序列的实例是编码含有多都铎结构域的蛋白质、类驱动蛋白或衔接蛋白的一个或多个基因。含有多都铎结构域的蛋白质的实例为Tdrd6。衔接蛋白的实例为hook2。

[0087] 突变参与生殖细胞规格、维持、迁移或其组合的另一基因的编码序列是指除一个或多个PGC发育基因之外的任何类型的基因突变,其:(1)损害或消除参与PGC发育的PGC发育基因的母体效应功能,维持、迁移或其组合;以及(2)不损害或废除携带所述突变的纯合子祖细胞的生存能力、性别决定、生育能力或其组合。突变另一个基因的编码序列的一个例子是突变表达非编码RNA的基因,该基因涉及生殖细胞的规格、维持、迁移或组合。非编码RNA的实例为miR202-5p。

[0088] 图1示出了根据本发明的一个示例,该示例说明了如何维持或使用亲鱼来生产不育鱼类、甲壳类动物或软体动物。在步骤1中,将破坏一个或多个PGC发育基因的母体功能的一个或多个基因突变引入鱼类、甲壳类动物或软体动物的野生型胚胎中,以创建图1中由“$pgcDGsm_{1-n}$”表示的F0镶嵌首建者。本领域技术人员已知的直接操纵生物体中一个或多个基因的任何生物技术可用于产生F0镶嵌首建者。F0镶嵌首建者可能是可育的,因为制造PGC所需的生物材料是由一个母体提供的,其基因组并未携带一个或多个突变。

[0089] 在步骤2中,雄性F0镶嵌首建者与野生型雌性杂交产生F1后代。考虑到一个或多个PGC发育基因是由野生型母体提供的,后代可能是可育的。由于雄性F0镶嵌首建者在不同的细胞中携带不同类型的突变等位基因,则对后代进行筛选以定位携带所需突变的后代,其在图1中用“m1”指定。本领域技术人员已知的识别生物体中一个或多个基因突变的任何生物技术可用于筛选子代,例如,基因型选择。F0雄性镶嵌首建者也可与携带任何母体效应基因或母体效应基因组合的不超过一个突变等位基因的雌性杂交。例如,这种杂交可以用来加速双淘汰系的产生。

[0090] 在步骤3中,步骤2中的半合子突变雄性F1和半合子突变雌性F1被鉴定为携带相同的相关突变,并杂交产生F2子代。考虑到半合子突变的雌性F1携带一个突变基因的野生型拷贝,后代可能是可育的。识别出一只F2纯合子突变雌性,其可用作纯合子亲鱼,由图1中的网纹轮廓确定。

[0091] 在步骤4中,将F2纯合子突变雌性亲鱼与野生型雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物杂交以产生不育的F3子代,其可被称为不育种子库。或者,将F2纯合子突变雌性亲鱼与半合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合子突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物野生型雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物杂交以产生F3不育子代。后代的不育性源于F2母体的纯合突变,F2母体没有携带突变基因的野生型拷贝。更可取地,将F2纯合突变雌性亲鱼与野生型雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物杂交以产生F3后代,其不育是因为将F2纯合突变雌性亲鱼与半合突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物或纯合突变雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物,或野生型雄性鱼类、甲壳类动物或软体动物杂交可能产生50%或100%的突变纯合子F3后代。如果突变基因的多效性功能超出了其在PGC发育中的作用,F3子代可能会因代谢和免疫等替代功能受损。

[0092] 在步骤5中,识别图1中的实心轮廓指定F2纯合突变雄性,并与已识别的F2半合突变雌性杂交以产生F3子代。考虑到半合子突变雌性F2携带一个突变基因的野生型拷贝,该

F3后代是可育的。在第步骤4中，可识别纯合子突变雌性并将其用作亲鱼。一个F3半合子雄性和一个F3半合子雌性可被确定为半合子亲鱼，其可按步骤3杂交。

[0093] 图2A和B是说明本文所述的诱变策略的概述的流程图，所述诱变策略用于识别影响PGC发育和所选突变等位基因的进一步繁殖的母体效应突变体。图2A是图示本文中用于在所选基因的期望位置诱导得失位的基因编辑技术的流程图。处理后的胚胎来自一个表达绿色荧光蛋白:nos3 3'UTR来自卵母细胞特异性启动子。“m”是指任何种系突变，数字表明镶嵌F0中可能存在不同的得失位。在荧光显微镜下对F0雌体与WT雄体杂交的后代和F0雄体与转基因GFP雌体杂交的后代进行4dpf和GFP-PGCs评分并记录。比较每个F0杂交至少12个后代的平均PGC计数。选择并繁殖导致F0雌性后代PGC计数减少和F0雄性后代PGC计数正常的突变。图2B是说明对体细胞和种系发育均有效的突变的传播的流程图。将携带同一基因突变等位基因的F1鱼进行杂交，产生F2鱼。四分之一的F2被认为成为基因突变等位基因的纯合子。突变不影响发育，性别决定和生育能力，并产生纯合突变可育雌体。如果该突变仅仅破坏了PGC形成的母体功能，那么这些F2纯合雌性与任何遗传背景的雄性杂交的后代均应显示PGC消融表型。

[0094] 实施例

[0095] 实施例1-利用基因编辑工具诱导罗非鱼F0代双等位基因敲除

[0096] 我们独立地靶向两个与色素沉着有关的基因，即编码酪氨酸酶(tyr)[1]和线粒体内膜蛋白MpV17(MpV17)[2]。我们发现50％和46％的注射胚胎在tyr和mpv17基因座上分别显示出高度突变(图3)。细胞功能等位基因的丧失自主地导致胚胎体(图3B)和视网膜色素上皮(图3C)中的无色素细胞团，产生从黑色素完全丧失到部分丧失和虹膜色素沉着的胚胎表型，易于与野生型表型相鉴别(图3A)。胚胎显示完全缺乏色素沉着(10-30％的处理鱼)被提高到3个月龄，所有缺乏野生型tyr和mpv17序列。这些鱼显示透明和白化表型(图3D)，表明功能研究可以在F0罗非鱼中进行。

[0097] 实施例2-罗非鱼的多基因靶向

[0098] 我们测试了罗非鱼基因组中多个基因座是否可以同时靶向，以及在一个基因座上测定的诱变效率是否可以预测其他基因座的突变。为了验证我们的假设，我们将tyr和Dead-end1(dnd1)作为共同靶点。Dnd1是一种PGC特异性RNA结合蛋白(RBP)，可维持生殖细胞的命运和迁移能力[3]。注射程序化核酸酶后，我们发现两个基因靶点tyr和dnd1的突变高度相关。大约95％的abino(tyr;参见图4A中的成体表型)突变体也在dnd1位点携带突变，证明了色素沉着缺陷作为选择标记的适用性(图4)。在进一步分析10条白化鱼的性腺后，6条为半透明的无生殖细胞精巢(图4B)。vasa是一种在野生型精巢中强烈表达的生殖细胞特异性标记，在dnd1突变型精巢中明显未检测到表达。这一结果表明合子dnd1的表达对生殖细胞的维持是必要的，母系贡献的dnd1 mRNA a和/或蛋白不能挽救该基因的合子缺失。

[0099] 实施例3-F0突变体的产生

[0100] 从基因组数据库和软件基序发现算法搜索[4-7]中，已在硅片中鉴定出nos-3和dnd1 3'UTR中所选基因和顺式作用元素的罗非鱼直系同源物。为了提高相关的基因产生空突变的频率，我们同时靶向2个独立的外显子。除了相关的基因外，我们还将一个色素沉着基因作为突变选择标记。所有突变体都是在含有ZPC5:eGFP:nos 3'UTR结构的罗非鱼品系中产生的(图5)，靶向nos3 3'UTR的除外。根据我们之前的工作，我们预计注射200个胚胎将

产生20-60个完全色素沉着缺陷的胚胎。其中5个胚胎通过PCR片段分析进行了基因组修饰的定量分析[8]。此外，我们只培育了若干批在一个或两个细胞阶段产生突变的胚胎，即通过片段分析检测每个靶基因座的2个或4个突变等位基因。

[0101] 实施例4-实施例3中各组突变体的表型分析

[0102] 对选择的F0突变体进行形态畸形、发育迟缓和性别分化的筛选。如果突变鱼发育正常，则在4个月龄和6个月龄时，通过与ZPC5:eGFP:tnos 3'UTR罗非鱼杂交，分别评估3条雄鱼和3条雌鱼的可育性。对每个杂交组合，30个F1后代进行基因分型，另外20个进行荧光显微镜分析。由于这些鱼系在PGs中选择性地表达GFP，当所有PGC都迁移到生殖嵴时，标记的PGC可以在4dpf计数。用非配对t检验对F1代的PGC总数进行统计比较。如果基因工程突变的功能符合假设，我们预计F0雌鱼的F1胚胎具有减少或缺失的GFP-PGC计数。同样，如果突变确实是母体效应特异性的，我们期望F0雄鱼产生具有正常PGC计数的F1后代(～35+/-5PGC/胚胎)(见图2A)。

[0103] 实施例5-从实施例4中生成F1和F2系

[0104] 为了选择F1半合子(与不同遗传背景的WT鱼异交)和F2纯合子系，我们对跨越靶区的扩增子使用QPCR熔融分析(MA)(图8)。由于每个杂合病变产生一个特征性的熔融曲线，所以有可能重组和繁殖带有相同插入缺失标记的F1后代。为了充分鉴定上述插入缺失标记，我们对F1个体的PCR产物进行了测序。通过减去WT序列，可以从杂合序列中提取突变体读取。

[0105] 实施例6-从实施例5的分子、细胞和形态水平确认不育性

[0106] 对于每个RBP和3'UTR靶点，从F2纯合子突变雄鱼和雌鱼与野生型亲鱼(n＝30/组)杂交产生F3胚胎，并饲养至2-3个月龄。对10条幼鱼的性腺进行了解剖，并利用生殖细胞特异性基因vasa对RNA/cDNA进行了QPCR筛选[9]。每个样本的Q-PCR进行三次，vasa表达水平标准化为一组寄主管家基因[57](β-actin和ef1α)。我们预期vasa在不育鱼中不表达。在5个月龄时，我们期望不育的雄性有半透明的精巢，而不育的雌性会产生一个类似弦的卵巢。另一部分被解剖的性腺被固定在布因溶液中(n＝10/组)，脱水并用石蜡浸润进行切片。由于完全没有生殖细胞，不育性显见。

[0107] 实施例7-对不育群体的生产性状和生长速率进行量化

[0108] 为了为这些试验产生3个半同胞组，将使用已建立的孵化程序分别培育3个WT雄性与3个F2纯合子突变雌性(不育组)和3个WT雌性(可育组)杂交的胚胎。在1个月龄时，罗非鱼子代(n＝100/组)将称重，贴上鱼坑标签，并在保持在27℃的循环培养系统中的3x300公升的缸中放在一起。所有鱼将使用购买的商用生长饲料每天喂养两次，直至饱足。每条鱼将在24周内每4周进行一次单独称重和测量。在实验结束时，将鱼杀死，进行性别鉴定，采用非配对t检验对平均总鱼长、体重、鱼产量和生长曲线进行统计比较。

[0109] 实施例8-材料和方法

[0110] 核酸酶的产生及其策略:为了在特定的基因组位点产生DNA双链断裂(DSB)，我们使用了工程化核酸酶。在大多数应用中，单个DSB在缺乏修复模板的情况下产生，导致非同源末端连接(NHEJ)修复途径的激活。在一定比例的案例中，NHEJ可能是一种不完善的修复过程，在靶点部位产生插入或缺失。插入缺失标记的引入可在基因编码区内产生移码或其调控区的改变，分别破坏基因翻译或其时空调控。为了提高相关基因产生空突变的频率，我

们同时靶向2个独立的外显子,靶向nos 3'UTR和miR202的除外。除了相关的基因外,我们还将一个色素沉着基因作为突变选择标记。

[0111] 在一些实施例中,为了向DNA序列引入定制核苷酸改变,使用两个靶位点来切出要修饰的区域。这一策略需要一个供体载体,其中包含所需突变的双链DNA,其两侧有两个靶位点以外的DNA同源臂靶向区。这种策略激活微同源定向修复(mHDR)。最终结果是供体载体中包含的DNA序列被整合到原生基因座中(图6)。

[0112] 利用DNA净化浓缩器-5柱(Zymo研究机构)对工程化核酸酶的模板DNA进行线性化和纯化。一微克线性化模板用于使用mMESSAGE mMACHINE T3试剂盒(英杰生命)合成封端RNA,使用Qiaquick柱(德国凯杰)纯化,并在-80°下储存在最终浓度为800ng/μl的核糖核酸酶游离水中。

[0113] 胚胎注射:所有动物饲养程序均按照IACUC批准的CAT动物法案CAT-003执行。所有注射均在含有ZPC5:eGFP:tnos 3'UTR结构或野生型罗非鱼中进行。将约10nL总体积的含有程序化核酸酶的溶液共同注射到单细胞期胚胎的细胞质中。注射200个胚胎通常产生10-60个完全色素沉着缺陷(白化表型)的胚胎。在注射后的第10-12天,监测胚胎/幼鱼存活情况。

[0114] 首建者的选择:选择的白化F0突变体进行形态畸形、发育迟缓和性别分化的筛选。如果突变鱼发育正常,则在4个月龄和6个月龄时,通过与ZPC5:eGFP:tnos3'UTR罗非鱼杂交分别评估3条雄鱼和3条雌鱼的可育性。用荧光显微镜对每个杂交组合的20个F1后代进行了分析。由于这些株系在PGC中选择性地表达GFP,当所有PGC都完成迁移到生殖嵴时,标记的PGC在4dpf计数(参见实施例9)。然后用非配对t检验对F1代的平均PGC总数进行统计比较。如果基因工程突变的功能符合假设,我们预计从F0雌鱼产生的F1胚胎具有减少或缺失的GFP-PGC计数。同样,如果突变确实是母体效应特异性的,我们期望F0雄鱼产生具有正常PGC计数的F1后代(~35+/-5PGC/胚胎)。

[0115] 对于具有母体效应特异性PGC减少的突变系,通过荧光PCR片段分析对3-5条F0雄鱼进行基因组修饰的定量分析(基因特异性基因分型引物见表1和表2)。我们选择在一个或两个细胞阶段产生突变的雄鱼(通过片段分析检测每个靶基因座的2或4个突变等位基因)(图7)。

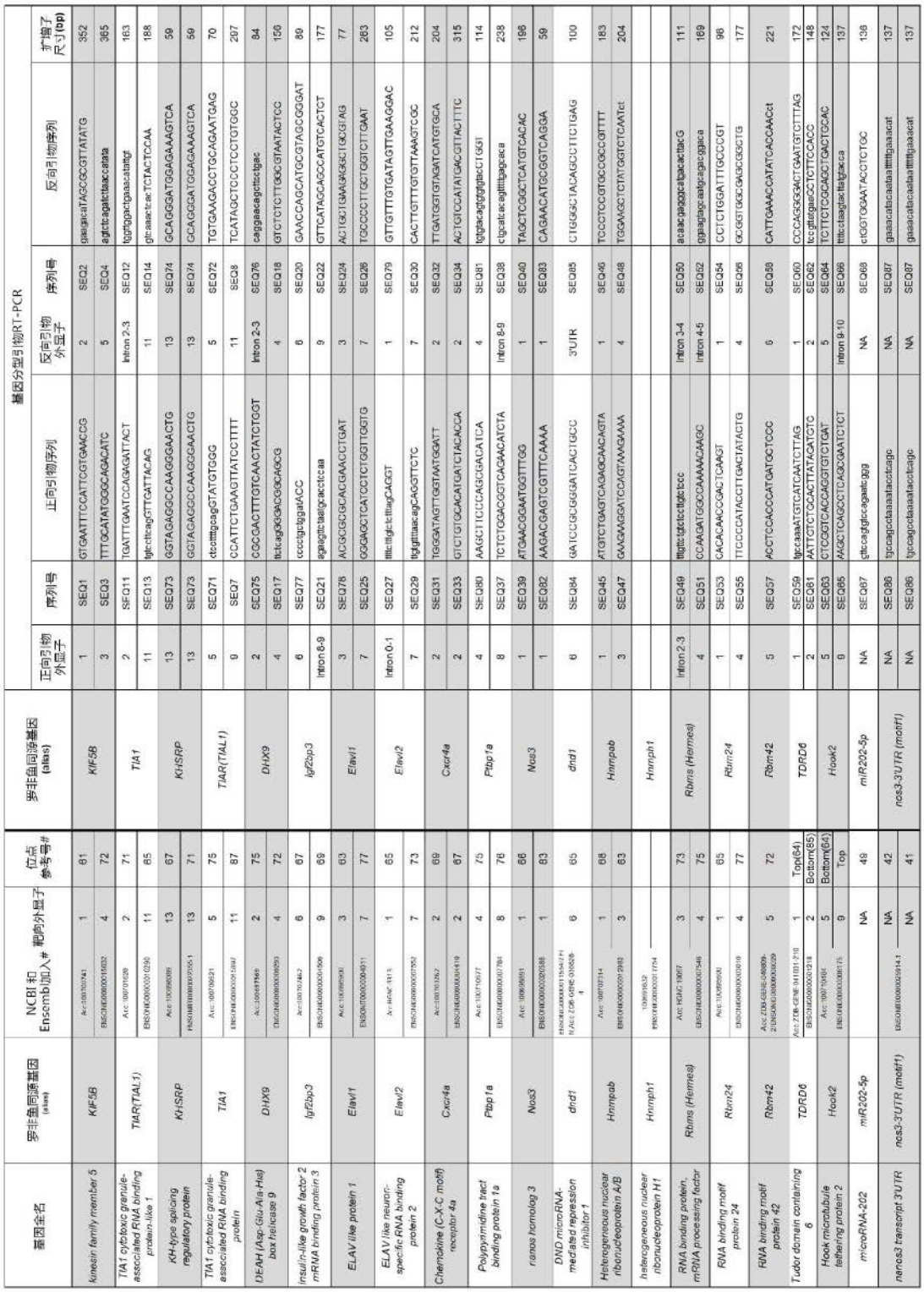
[0116] 表1:引物

[0117]

基因全名	罗非鱼同源基因(alias)	NCBI 和 Ensembl加入#	靶向外显子	位点参考号#	基因分型引物						
					正向引物外显子	序列号	标记	正向引物	反向引物外显子	序列号	反向引物	扩增子尺寸(bp)
kinesin family member 5	*Kif5B*	Acc:LG6700743 ENSONIG00000001032	1 4	61 72	1 3	SEQ1 SEQ3	NED FAM	GTGAATTTCCATTCGTGAAGCGG TTTGCATATGGGCAGACATC	2 5	SEQ2 SEQ4	gaagacaTAGCGCGTTATATG agtctcagatctaccatata	352 365
TIA1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein-like 1	*TIAR(TIAL1)*	Acc:LG0701920 ENSONIG00000010200	2 11	71 65	2 11	SEQ11 SEQ13	FAM NED	TGATTTGAATCCAGAGATTACT tgtcctcagGTTGATTACAG	Intron 2-3 11	SEQ12 SEQ14	tggttgactgaaacatatat gtcaaactcacTCTACTCCAA	163 188
KH-type splicing regulatory protein	*KHSRP*	Acc:LG0688888 ENSONIT00000022265.1	13 13	67 71	13 13	SEQ9 SEQ9	NED NED	tcttcacagGGTCCACCG tcttcacagGGTCCACCG	13 13	SEQ10 SEQ10	TGACGAGATATCTCCACAAATGC TGACGAGATATCTCCACAAATGC	207 207
TIA1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein	*TIA1*	Acc:LG0708621 ENSONIG00000015667	5 11	75 87	Intron 4-5 9	SEQ5 SEQ7	NED FAM	tatatttcatttgtgtgagattgta CCATTCTGAAGTTATCCTTTT	Intron 5-6 11	SEQ6 SEQ8	tgacacatttggtctgagacttttc TCATAGCTCCCCTCCTGTGGC	317 297
DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box helicase 9	*DHX9*	Acc:LG0697569 ENSONIG00000000293	2 4	75 72	2 4	SEQ15 SEQ17	NED FAM	GGCTTCAACTACATTGGGATGGG ttctcagGGGACGGCAGCG	3 4	SEQ16 SEQ18	GGGAAGGTTTTCCAAAGCCAGCAT GTCTCTCTTGGCGTAATACTCC	299 156
insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3	*Igf2bc3*	Acc:LG0702442 ENSONIG00000000456	6 9	67 69	6 Intron 8-9	SEQ19 SEQ21	NED FAM	GGCAATGGCAAGAGCTGAATGGAT agaagttctaatgcacctccaa	6 9	SEQ20 SEQ22	GAACCAGCATGCGTAGCGGGAT GTTCATAGCAGCCATGTCACTCT	203 177
ELAV like protein 1	*Elavl1*	Acc:LG0693900 ENSONIT00000004011	3 7	63 77	3 7	SEQ23 SEQ25	NED FAM	CGCTAAAGGAGGCTGCTGGAAATg GGGAGCTCATCCTCTGGTTGGTG	3 7	SEQ24 SEQ26	ACTGCTGAAGAGGCTGCGTAG TGCCCCTTGCTGGTCTTGAAT	247 263
ELAV like neuron-specific RNA binding protein 2	*Elavl2*	Acc:H2AC3333 ENSONIG00000007850	1 7	65 73	Intron 0-1 7	SEQ27 SEQ29	FAM NED	tttttcttgtctcttagCAGGT ttgtgtttaacagCAGGTTCTC	1 7	SEQ28 SEQ30	GTTTTACTGTCCTCTACGC CACTTGTTTGTGTTAAAGTCGC	149 212
Chemokine (C-X-C motif) receptor 4a	*Cxcr4a*	Acc:LG0703523 ENSONIG00000004410	2 2	69 67	2 2	SEQ31 SEQ33	FAM NED	TGGGATAGTTGGTAATGGATT GTCTGTGGACATGATCTACACCA	2 2	SEQ32 SEQ34	TTGATGGTGTAGATCATGTGCA ACTGTCCATATGACGTTACTTTC	204 315
Polypyrimidine tract binding protein 1a	*Ptbp1a*	Acc:LG0710677 ENSONIG00000007784	4 8	75 76	4 8	SEQ35 SEQ37	NED FAM	CCAATGGCAACGACAGCAAAAG TCTCTGACGGTCAGAACATCTA	4 Intron 8-9	SEQ36 SEQ38	tgtgtacagtgtggtaaCCTGGT ctgcatcacagtttgagacca	191 238
nanos homolog 3	*Nos3*	Acc:LG0688881 ENSONIG00000002588	1 1	66 83	1 1	SEQ39 SEQ41	NED FAM	ATGAACGGAATGGTTTGG CCCGCGAATGTGCACTAACGAG	1 1	SEQ40 SEQ42	TAGCTGGGCTCATGTCACAC TCTTGGTTCTTCAGCCAGTGGGA	196 256
DND microRNA-mediated repression inhibitor 1	*dnd1*	ENSDARG00000111554.2(Th NA:cc.2[DD-GENE-030025-4	6	65	5	SEQ43	NED	TTTCCCAATTCCTCCACCCAAG	3'UTR	SEQ44	GTGAAACAGAACTGCAGGACG	335
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	*Hnrnpab*	Acc:LG0705314 ENSONIG00000012862	1 3	68 83	1 3	SEQ45 SEQ47	NED FAM	ATGTCTGAGTCAGAGCAACAGTA GAAGAAAGGATCCAGTAAAGAAAA	1 4	SEQ46 SEQ48	TCCCTCCGTGCCGCCGTTTT TGAAAGCTCTATGGTCTCAATct	183 204
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1	*Hnrnph1*	100991932 ENSONIG00000017754										
RNA binding protein, mRNA processing factor	*Rbms (Hermes)*	Acc:H2AC19667 ENSONIG00000007346	3 4	73 75	Intron 2-3 4	SEQ49 SEQ51	NED FAM	ttgtctcgtctcctgtctccc CCAAGATGGGCCAAAACAAGC	Intron 3-4 Intron 4-5	SEQ50 SEQ52	acaacagaggcatgacacttccG gtgaagtagcaatggcagcgaca	111 169
RNA binding motif protein 24	*Rbm24*	Acc:LG0694600 ENSONIG00000003010	1 4	65 77	1 4	SEQ53 SEQ55	NED FAM	CACACAACCGACTCAAGT TTCCCCATACCTTGACTATACTG	Intron 1-2 4	SEQ54 SEQ56	ttactctgtccagctgacctgg GCGGTGGCGAGCGCGACTG	159 177
RNA binding motif protein 42	*Rbm42*	Acc:ZDB-GENE-040426-2[ENSDARG00000000029	5	72	5	SEQ57	NED	ACCTCCACGCATGATGCTCGCC	6	SEQ58	CATTGAAAGCATATCACCAACct	221
Tudor domain containing 6	*TDRD6*	Acc:ZDB-GENE-041105-214 ENSONIG00000001216	1 2	Top(64) Bottom(65)	1 2	SEQ59 SEQ61	FAM NED	tgtccaaaATGTCATCCAATCTTAG AATTGTCTGCACTTATAGATGTTC	1 2	SEQ60 SEQ62	CCCAGGGGGAGTGAATGTCTTTAG tccgttatgaaGCTCTTCCAACC	172 148
Hook microtubule tethering protein 2	*Hook2*	Acc:LG0709484 ENSONIG00000008975	5 9	Bottom(64) Top	5 9	SEQ63 SEQ65	FAM NED	CTCGGTCACGCAGTGTTCTGAT AAGCTCAGCCTCAGCGAATCTCT	5 Intron 9-10	SEQ64 SEQ66	TCTTCTCGCAGTGACTGGCAC tttccaagatcactaagtacca	124 137
microRNA-202	*miR202-5p*		NA	49	NA	SEQ67	FAM	gttccagtgtccagaatcgcg	NA	SEQ68	ctGGTGGAATACCCTCTGC	136
nanos3 transcript 3'UTR	*nos3-3'UTR (motif1)*	ENSOMIT00000026914.1	NA NA	42 41	NA NA	SEQ69 SEQ69	FAM FAM	CTCCGTGTACGCCAAGTCCAGA CTCCGTGTACGCCAAGTCCAGA	NA NA	SEQ70 SEQ70	gacagtgttatcatcctcaatg gacagtgttatcatcctcaatg	436 436

[0118] 表2:引物

[0119]



基因全名	罗非鱼同源基因(alias)	NCBI和Ensembl加入#	靶向外显子	位点参考号#	罗非鱼同源基因(alias)	基因分型引物RT-PCR					
						正向引物外显子	序列号	正向引物序列	反向引物外显子	序列号	反向引物序列	扩增子尺寸(bp)
kinesin family member 5	KIF5B	Acc:100703741	1	61	KIF5B	1	SEQ1	GTGAATTTCCATTCGTGAACCG	2	SEQ2	gaagacaTAGCGCGTTATATG	352
		ENSONIG00000015032	4	72		3	SEQ3	TTTGCATATGGGCAGACATC	5	SEQ4	agtctcagatctaaccatata	365
TIA1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein-like 1	TIAR(TIAL1)	Acc:100710828	2	71	TIA1	2	SEQ11	TGATTTGAATCCAGAGATTACT	Intron 2-3	SEQ12	tggtggactgaaacatatttgt	163
		ENSONIG00000012026	11	65		11	SEQ13	tgtcttcagGTTCATTACAG	11	SEQ14	gtcaaactcaaTCTACTCCAA	188
KH-type splicing regulatory protein	KHSRP	Acc:100698089	13	67	KHSRP	13	SEQ73	GGTAGAGGCCAAGGGAACTG	13	SEQ74	GCAGGGATGGAGAAAAGTCA	59
		ENSONIG00000009551	13	71		13	SEQ73	GGTAGAGGCCAAGGGAACTG	13	SEQ74	GCAGGGATGGAGAAAAGTCA	59
TIA1 cytotoxic granule-associated RNA binding protein	TIA1	Acc:100710521	5	75	TIAR(TIAL1)	5	SEQ71	ctccttgcagGTATGTGGG	5	SEQ72	TGTGAAAGACCTGCAGAATGAG	70
		ENSONIG00000015197	11	87		9	SEQ7	CCATTCTGAAGTTATCCTTTT	11	SEQ8	TCATAGGTCCCTCCTGTGGC	207
DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box helicase 9	DHX9	Acc:100697569	2	75	DHX9	2	SEQ75	CGCGAGTTTGTCAACTATCTGGT	Intron 2-3	SEQ76	caggaaacagcttcctgac	84
		ENSONIG00000009893	4	72		4	SEQ17	ttctcagGGGAGCGGCAGCG	4	SEQ18	GTCTCTCTTGGCGTAATACTCC	156
insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3	Igf2bp3	Acc:100703462	6	67	Igf2bp3	6	SEQ77	ccccgctggatACC	6	SEQ20	GAACCAGCATGCGTAGCGGGAT	89
		ENSONIG00000001009	9	69		Intron 8-9	SEQ21	agaagttctaatgcaccttcaa	9	SEQ22	GTTCATAGCACGCCATGTCACTCT	177
ELAV like protein 1	Elavl1	Acc:100697568	3	63	Elavl1	3	SEQ78	ACGCGCGCAGCAGAACCTGAT	3	SEQ24	ACTGCTGAAGAGGCTGCGTAG	77
		ENSONIG00000004911	7	77		7	SEQ25	GGGAGCTCATCGTCTGGTTGGTG	7	SEQ26	TGCCCCTTCGTTGGTGTTGAAT	263
ELAV like neuron-specific RNA binding protein 2	Elavl2	Acc:100703462	1	65	Elavl2	Intron 0-1	SEQ27	tttcttgtgtcttaagCAGGT	1	SEQ79	GTTGTTTGTGATAGTTGAAGGAC	105
		ENSONIG00000007002	7	73		7	SEQ29	ttgtgtttaacagCAGGTTCTC	7	SEQ30	CACTTGTTTGTGTTAAAGTCGC	212
Chemokine (C-X-C motif) receptor 4a	Cxcr4a	Acc:100703262	2	69	Cxcr4a	2	SEQ31	TGGGATAGTTGGTAATGGATT	2	SEQ32	TTGATGGTGTTGATCATGTGCA	204
		ENSONIG00000004419	2	67		2	SEQ33	GTCTGTGCAGATGATCTACACCA	2	SEQ34	ACTGTCCATATGACGTTACTTTC	315
Polypyrimidine tract binding protein 1a	Ptbp1a	Acc:100710577	4	75	Ptbp1a	4	SEQ80	AAGGCTTCCCAGGCGACATCA	4	SEQ81	tgtgtcagtgtgtgtacCTGGT	114
		ENSONIG00000001784	8	78		8	SEQ37	TCTCTGCACGGTCAGAACATCTA	Intron 8-9	SEQ38	ctgcatcacagtttttgagcaca	238
ranos homolog 3	Nos3	Acc:100698891	1	66	Nos3	1	SEQ39	ATGAACGGAATGGTTTGG	1	SEQ40	TAGCTCGGCTCATGTCACAC	196
		ENSONIG00000020588	1	83		1	SEQ82	AAGACGAGTCGTTTCAAAA	1	SEQ83	CAGAACATGCGGTCAGGA	59
DND microRNA-mediated repression inhibitor 1	dnd1	ENSONIG00000019154 (Ref Acc:ZDB-GENE-030505-4)	6	65	dnd1	6	SEQ84	GAATCCGCGCGGAATCACTGCC	3'UTR	SEQ85	CTGGGGCTACACAGCCTCTGTGAG	100
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1	Hnrnph1	100691632 ENSONIG00000017704			Hnrnph1							
RNA binding protein, mRNA processing factor	Rbms (Hermes)	Acc:NSAC:13007	3	73	Rbms (Hermes)	Intron 2-3	SEQ49	tttgctctgctcctgtctccttcc	Intron 3-4	SEQ50	acaaacgaggccatgacacttacG	111
		ENSONIG00000001548	4	75		4	SEQ51	CCAAGATGGCCCAAAAACAAGC	Intron 4-5	SEQ52	ggtgaggcaatgcaggacgaca	169
RNA binding motif protein 24	Rbm24	Acc:100698558	1	65	Rbm24	1	SEQ53	CACACAACCGACTCAAGGT	1	SEQ54	CCTCTGTGGATTTGCCCCGT	96
		ENSONIG00000003019	4	77		4	SEQ55	TTCCCCATACGTTGACTATACTG	4	SEQ56	GCGGTGGCGAGGCGGCTG	177
RNA binding motif protein 42	Rbm42	Acc:ZDB-GENE-040809-2, ENSONIG00000000629	5	72	Rbm42	5	SEQ57	AGCTCCACCCATGATGCTCCCC	6	SEQ58	CATTGAAACCATATCACCAACCt	221
Tudor domain containing 6	TDRD6	Acc:ZDB-GENE-041001-218	1	Top(64)	TDRD6	1	SEQ59	tgccaaaATGTCATCAATCTTAG	1	SEQ60	CCCAGGGGACTGAATGTCTTTAG	172
		ENSONIG00000021218	2	Bottom(85)		2	SEQ81	AATTCTCTCCACTTATCAGATCTC	2	SEQ62	tccgttgtgaccTCTTCCACC	148
Hook microtubule tethering protein 2	Hook2	Acc:100710691	5	Bottom(64)	Hook2	5	SEQ63	CTCGGTCACCAGGTGTCTGAT	5	SEQ64	TCTTGTCTGCCAGCTGACTGCAC	124
		ENSONIG00000008175	9	Top		9	SEQ65	AAGCTCTAGCCTCCAGCCGAATCTCT	Intron 9-10	SEQ66	tttccctagtactttatgtacca	137
microRNA-202	miR202-5p		NA	49	miR202-5p	NA	SEQ67	gttccagtgtccagaatcggg	NA	SEQ68	cTCGTCGGAATACCTCTGC	136
nanos3 transcript 3'UTR	nos3-3'UTR (motif1)	ENSONIG00000029141	NA	42	nos3-3'UTR (motif1)	NA	SEQ86	tgccagccttaaaatacctcagc	NA	SEQ87	gaaaacatacaatatttttgaaacat	137
			NA	41		NA	SEQ86	tgccagccttaaaatacctcagc	NA	SEQ87	gaaaacatacaatatttttgaaacat	137

[0120] 实施例9-早期胚胎PGC数量的测定

[0121] 在转基因株系中,Tg(Zpc5:eGFP:tnos 3'UTR)罗非鱼Zpc5启动子是卵母细胞特异性启动子,在第一次减数分裂前的卵子发生过程中活跃。因此,来自杂合子或纯合子转基因雌性的所有胚胎都继承了eGFP:tnos 3'UTR mRNA,通过其3'UTR(罗非鱼nos3 3'UTR)中顺式作用RNA元素的作用,定位并在PGC中专一表达。胚胎(受精后4天)经过量的甲基磺酸三钙(MS-222,200-300mg/l)安乐死,延长浸泡至少10分钟。备料用4g/L碳酸氢钠缓冲至pH 7(碳

酸氢钠与MS-222的比例为2:1)。将胚胎移到PBS玻璃表面,去除卵黄。在显微镜玻片和盖玻片之间挤压去卵黄的胚胎,并在配备成像照相机的荧光显微镜下进行分析。

[0122] F1基因分型:选定的雄性首建者与携带ZPC5:eGFP:tnos 3'UTR结构的雌性罗非鱼杂交。将其F1后代饲养到2月龄,浸泡在200mg/L MS-222(三卡因)中麻醉,并用塑料勺转移到干净的表面。它们的鳍用剃须刀片夹好,放在孔中(带盖的96孔板上)。夹住鳍的鱼然后放置在单独的罐中,同时用荧光PCR法对鱼鳍DNA进行分析。简言之,向每个孔中添加60μl含有9.4%Chelex和0.625mg/ml蛋白酶K的溶液,用于在55℃培养箱中过夜组织消化和gDNA提取。然后对板进行涡流和离心。然后用超净水将gDNA提取液稀释10倍,以去除混合物中的PCR抑制剂。通常,我们分析了80条幼鱼/首建者,以选择并培养了若干批每批大约20条携带相同大小突变的幼鱼。

[0123] 荧光PCR(见图7):PCR反应使用3.8μL水、0.2μL鳍DNA和5μL PCR主混合物(德国凯杰Multiplex PCR)以及1μL由以下三种引物组成的引物混合物:带有荧光标记的标记尾部引物(6-FAM,NED),带前尾的扩增子特异性正向引物(5′-TGTAAAACGACGGCCAGT-3′和5′-TAGGAGTGCAGCAAGCAT-3′),扩增子特异性反向引物(基因特异性引物列于表1和表2)。PCR条件如下:在95℃下变性15分钟,然后进行30个扩增周期(94℃ 30秒,57℃ 45秒,72℃ 45秒),然后进行8个扩增周期(94℃ 30秒,53℃ 45秒,72℃ 45秒),最后在72℃下延长10分钟,并在4℃下无限期保持。

[0124] 一至二微升1:10稀释的扩增子通过毛细管电泳(CE)进行分离,并添加LIZ标记的大小标准,以确定精确到碱基对分辨率的扩增子大小(Retrogen公司,圣地亚哥)。原始跟踪文件在峰值扫描软件(ThermoFisher)上进行分析。相对于野生型峰对照的峰大小决定突变的性质(插入或缺失)和长度。峰的数目表示镶嵌程度。我们选择了携带最少突变等位基因(2-4峰最佳)的F0镶嵌首建者。

[0125] 等位基因大小用于计算观察到的插入缺失突变。除了靶向基因的非编码序列中的突变外,通过测序选择不是3bp倍数的突变并因此预测为移码突变的突变进行进一步确认。优先选择大小大于8bp但小于30bp的突变,以便于通过QPCR熔融分析对后代进行基因分型。为了序列确认,将所选插入缺失标记的PCR产物进一步提交测序。PCR的测序层析显示两次同时读取表明存在插入缺失。缺失或插入的开始通常在读取的序列发散时开始。然后仔细分析双序列以检测独特的核苷酸读取。然后对照一系列通过逐步将野生型序列转移到自身而产生的人工单一读取模式对独特的核苷酸读取模式进行分析。

[0126] 实施例10-突变鱼类胚胎存活率、发育畸形和成年雌雄同体的分析

[0127] 对单基因杂合子突变体鱼两两交配产生的胚胎进行了体视显微镜(明亮光线和荧光灯)下的肉眼可见畸形分析。成批后代成长为成鱼(3-6月龄)。用Chelex树脂对来自成年鱼的鳍夹进行处理以提取DNA,并通过熔融分析进行基因分型:实施例10-F2和通过熔融分析的下一代基因分型(见下文)

[0128] 实时qPCR得以实施,使用ROTOR-GENE RG-3000实时PCR系统(Corbett研究机构)。使用1μL基因组DNA(gDNA)模板(稀释至5-20ng/μL),总体积为10μL,含有0.15μM浓度的正向和反向引物以及5μL QPCR 2x主混合物(Apex生物研究公司产品)。表1和表2中列出了所使用的qPCR引物(表2中的基因分型RT-PCR引物)。采用40个周期(95℃下15秒,60℃下60秒)进行qPCR,然后进行熔融曲线分析,以确认分析的特异性(67℃至97℃)。在这种方法中,包括

相关区域的短PCR扩增子(约120-200bp)是从gDNA样品产生的,经过温度依赖性分离(熔化曲线)。当诱导的插入缺失存在于半合子gDNA中时,会形成异源双链以及不同的纯双链分子。通过熔体剖面图可以检测到多种形式的双相分子的存在,显示双相熔融是作为单个物种还是作为多个物种。通常,熔融曲线和熔融温度的对称性取决于dsDNA序列及其长度的均一性。因此,纯合子和野生型(WT)表现出对称的熔融曲线,可通过不同的熔融温度来区分。熔融分析是通过与参照DNA样品(来自对照组野生型DNA)进行比较,并用相同的主混合反应平行扩增。简言之,熔体轮廓的变化区分了纯合、半合和WT-gDNA产生的扩增子(见图8)。

[0129] 基因分型数据用于分析存活的纯合子敲除鱼与纯合子WT和杂合子鱼的孟德尔比率。在无生活力选择的无效假设下,后代基因型应符合预期的孟德尔比1:2:1。使用拟合优度卡方统计分析检验纯合基因敲除的预期数量(25%)的偏差。

[0130] 性别比测定:后代(n=40/组)在3-4月龄时进行性别鉴定。雄性和雌性是根据其性别特异性的泌尿生殖突起进行视觉识别的。

[0131] 性腺的形态和细胞分析:通过比较性腺的整体形态来评价不育性。将纯合子母子代(n=20/杂交)的性腺结构与年龄匹配(3月龄)的父子代(可育对照)进行比较。为了分析性腺的细胞结构,我们将性腺固定在布因溶液中48小时。在乙醇脱水和甲苯清除后,用石蜡浸润、包埋和切片。每一切片都由两位评论员盲读。由于小管腔完全没有精子,雄性不育显见。雌性的不育表现为性腺退化为弦状结构,组织切片显示没有卵母细胞。

[0132] 分子水平上的不育性确认:从解剖的性腺(来自每个父系和母系)中提取总RNA,并筛选相应的cDNA以定量表达生殖细胞特异性基因(罗非鱼vasa加入号AB03246766)和性腺特异性支持体细胞(罗非鱼Sox 9a和罗非鱼cyp19a1a,分别用于雄性和雌性性腺)。将Q-PCRs分三次进行,并根据寄主管家基因(罗非鱼b-actin)对表达水平进行标准化。相对拷贝估计数是使用既定的程序生成的。我们预期在不育鱼中没有vasa的表达,但是相对于野生型精巢,sox9a的表达正常。

[0133] 实施例11-与所选基因和调控序列突变相关的F0表型

[0134] 为了测试所选基因的编码序列或调控序列是否对PGC的发育至关重要,我们利用有或没有供体DNA的可编程核酸酶产生了罗非鱼突变体。为了提高Nanos3(nos3)、Dead end-1(dnd1)、TIAR、Tia1、KHSRP、DHX9、Elavl1、Elavl2、Igf2bp3、Rbm42、Rbms(Hermes)、Rbm24、Hnrnph1、Hnrmpab、Tdrd6、Hook2、Ptbp1a、KIF5B、Cxcr4a基因产生空突变的频率,我们同时靶向每个基因的两个独立外显子。为了最大限度地减少功能缺失突变的发生,我们优先选择编码区前半部分的靶点。除了相关的基因外,我们还将一个色素沉着基因作为突变选择标记(图3)。此外,为了测试dnd1的3'UTR是否为其合子功能所必需的,我们对dnd1编码序列下游的β-珠蛋白3'UTR进行了靶向整合。进一步地,我们靶向nos3 3'UTR和dnd1 3'UTR中的进化保守基序,我们假设这些基序参与了卵母细胞和早期胚胎中相应mRNA的时空调控(图9)。这些基序是基于i)它们在同源mRNAs的3′UTR上的联合存在ii)它们与假定的miRNA结合序列的并置以及iii)二级结构分析(参见实例17中的细节)来确定和优先选择的。我们还靶向了一种定位于发育中胚胎PGC的miRNA(miRNA202-5p)(张,刘等人著,2017年)。

[0135] 对F0处理的胚胎的存活率和畸形率进行了分析,并与未注射的对照组进行了比较。我们发现Rbms和Hnrnph1 F0处理的胚胎存活率低,没有白化鱼恢复,这表明这些基因在

胚胎形态发生中起着重要作用。同样，经KIF5B处理的胚胎存活率也很低。然而，我们成功地恢复并繁殖了一个表现出严重形态畸形的F0 KIF5B突变株。

[0136] 在其余17个靶基因的任何其他基因突变鱼中，我们没有观察到实验组和对照组在生存能力或明显的发育异常方面的显著差异。对于每个实验组，至少选择20条白化鱼进行繁殖。除nos3(88％雄性，n＝42)、dnd1(83％雄性，n＝41)、Tia1(80％雄性，n＝20)和Elavl1(90％雄性，n＝20)外，所有F0突变实验组在5个月龄时的性别比均正常(见表3)。此外，我们还发现nos3和dnd1的编码序列被破坏，导致30％

[0137] (n＝3/10)的nos3 F0雌性和60％(n＝4/10)的dnd1 F0雄性发育成无性生殖体的成鱼。在这些鱼中，成熟期的剥离程序没有产生配子。在进一步分析它们的性腺后，我们在F0nos3突变的雌性中发现了线状卵母细胞游离卵巢，在F0 dnd突变的雄性中发现了半透明的无精子精巢(图4)。vasa是一种在野生型精巢和卵巢中强烈表达的生殖细胞特异性标记物，在这些鱼类的性腺(nos3和dnd1 F0性腺)中明显未检测到表达。有趣的是，dnd1编码序列下游β-珠蛋白3'UTR的成功双等位基因整合导致雄性不育。

[0138]

基因名	蛋白质家族与预期细胞功能	F0 胚胎突变表型	F0 成体性别分化与可育性	F0 母体效应不育性（%PGC消融）*	F1 半合子选择突变
Hermes (Rbms)	RNA 结合/定位	致死因子	NA	NA	+/I16
KIF5B	运动蛋白/微管转运	致死因子(腹侧化)	NA	NA	+/Δ1
Hnrnph1	RNA 结合/定位	致死因子	NA	NA	NA
TIAR	RNA 结合/定位	ND	N	是	+/I11

[0139]

				(>65%)	
KHSRP	KH 结构域核酸结合蛋白	ND	N	**是 (>70%)**	+/Δ17
DHX9	依赖 ATP 的核酸解旋	ND	N	**是 (>70%)**	+/Δ7
Elavl1	RNA 结合/定位	ND	90% 雄性	**是 (>81%)**	+/Δ3kb
Elavl2 (HuB)	RNA 结合/定位	ND	N	**是 (>60%)**	+/Δ8
TIA1	RNA 结合/定位	ND	80% 雄性	**是 (>70%)**	+/Δ10
Igf2bp3	RNA 结合/定位	ND	N	**是 (>55%)**	+/I2
Ptbp1a	RNA 结合/定位	ND	N	**是 (>60%)**	+/Δ13, +/Δ1.5kb
Tdrd6	与 GP 组织蛋白 BB 相互作用	ND	N	**是 (>55%)**	+/Δ10
Hook2	微管结合	ND	N	**是 (>85%)**	+/Δ2
Rbm24	RNA 结合/定位	ND	N	**是 (>80%)**	+/Δ7
Rbm42	RNA 结合/定位	ND	N	**是 (>80%)**	+/Δ7
Hnrnpab	RNA 结合/定位	ND	N	**是 >65%**	+/Δ8
Nanos3	RNA 结合/翻译调节因子	ND	90%雄性 雌性不育	NA (雌性不育)	+/Δ5
Dnd1	RNA 结合/定位	ND	不育	NA (无雌性)	+/Δ5
Cxcr4	内胚层细胞异常	ND	N	**是 (>20%)**	+/Δ8

[0140]

miR202-5p		ND	N	**是 (>65%)**	+/Δ7, +/Δ8, +/Δ19
Nos3 3'UTR Del32/Del8	抗 miR-430 降解的可能基序	ND	90% 雄性	NA (不存在 GFP 标记)	+/Δ32, +/ Δ8
Dnd1 3'UTR AR	抗 miR-23 降解的可能基序	ND	N		

[0141] 表3:靶基因和相关表型。呈现每个基因选择的突变等位基因。ND:未检测到,NA:不适用,N:正常,*测量的PGC消融最低水平

[0142] 接下来,我们研究了突变的母体效应,以确定其是否改变了PGC的发育途径。为此,将各实验组2～4只同胞F0雌性罗非鱼与野生型雄性罗非鱼交配,并对其胚胎后代进行荧光显微镜下的PGC计数分析。根据靶向基因的不同,PGC消融的平均水平在20％到85％之间(图11和表3)。每个实验组中不同的F0雌鱼产生的胚胎具有不同的PGC消融水平,这可能是由于靶位点序列结果的嵌合体。相反,所有F0突变雄性与雌性Tg(Zpc5:eGFP:nanos 3'UTR)杂交产生的胚胎PGC计数正常(平均35-42PGC/胚胎)。

[0143] 为了确定携带nos3 3'UTR突变的F0雌性是否产生PGC计数减少的胚胎,我们分析了这些子代在4月龄和6月龄时的性腺(由于该实验组的F0雌性不携带GFP转基因,PGC计数是不可能的)。令人惊讶的是,我们观察到一种强烈的母性不孕效应,其特征是性腺体指数降低,精巢半透明,卵巢呈弦状(图12A至D)。因此,虽然nos3编码序列的突变导致雌性不育,但nos3 3'UTR保守基序1中的离散突变并不损害卵母细胞发育。相反,这种突变似乎只破坏了突变雌性胚胎后代中nos3 mRNA的翻译后调节。突变对PGC发育的母体效应在下一代中得到证实,并在下面的实施例16中进一步讨论。

[0144] 我们进一步分析了携带TIA1、Rbms42和Ptbp1a突变的F0雌性后代中PGC缺失性腺的发育情况。我们比较了PGC计数低和PGC计数高的个体,发现PGC减少水平和性腺大小减少之间存在正相关(图12的E至F)。我们观察了母源性不孕表型,包括透明的精巢和萎缩的线状卵巢(图12-E-H)。

[0145] 总之,我们的结果确定了几个基因的功能丧失或错误表达导致母体效应PGC缺失和相关的不育表型。

[0146] 实施例12-F1代和F2代表型的验证

[0147] 由于F0突变体罗非鱼在靶向DNA双链断裂位点具有不可预测的多个序列结果,并且剩余的野生型或框内插入缺失标记序列能够掩盖表型的程度未知,因此我们进行了额外的表型表征。此外,非靶向核酸酶活性可能与表型有关。因此,我们有选择地繁殖预期的突变,以确保假定的脱靶突变从后代中分离和消除。最终,当在F2纯合子世代动物的每个细胞中发现相同的突变时,可以测量完整的表型。相应地,对于每个实验组,我们将选择的具有种系传递突变的首建者雄性与雌性Tg(Zpc5:eGFP:nanos 3'UTR)进行远系繁殖产生F1鱼类杂合子,用于移码突变、插入或精确编辑靶基因。

[0148] 表3和图13-31、33和35总结了所选突变等位基因的详细信息，包括插入缺失标记的大小和预测的cDNA和蛋白质变化。nos3(图33)和dnd1(图35)的3'UTR区域突变选择性地去除了(缺失)或替换了(等位基因替换)假定的调控基序。最后，选择miRNA-202突变以完全或部分去除miR-202-5p种子序列(图31)。

[0149] 携带这些突变的杂合子罗非鱼看起来很健康，并分化成两性均可生育的成年鱼。在这些性成熟的F1代中缺乏生殖表型并不意外，因为在所选突变体的所有细胞中存在每个靶基因的野生型等位基因。

[0150] 鉴于靶向基因在PGC发育中的明显关键作用，我们进一步测试了其是否代表剂量依赖性机制。为此，我们研究了降低母体功能性mRNA/蛋白的剂量是否会减少PGCs的数量。确实，在半合子突变雌性的卵母细胞中，两个等位基因都有表达，但功能蛋白只有一个编码。因此，如果靶基因以剂量依赖性的方式工作，我们应该期望从半合子雌性与野生型雄性杂交的后代显示PGC数量的减少。我们发现KHSRP(KSHRP$^{\Delta 17/+}$)和ElavL1(ElavL1$^{\Delta 3k/+}$)的半合子突变体产生了PGC计数正常的胚胎后代(图36)。相反，我们在TIAR$^{i11/+}$,TIA1$^{\Delta 10/+}$,DHX9$^{\Delta 7/+}$,Igf2pb3$^{\Delta 2/+}$,Elavl2$^{\Delta 8/+}$,Ptpb1a$^{\Delta 1.5k/+}$,Hnrnpab$^{\Delta 8/+}$,Rbm24$^{\Delta 7/+}$,TDRD6$^{\Delta 10/+}$和miR202-5p$^{\Delta 7/+}$miR202-5p$^{\Delta 8/+}$以及nos3 3'UTR基序1$^{\Delta 32/+}$和nos3 3'UTR基序1$^{\Delta 8/+}$(a减少40-50％)的后代中测量出了显著的PGC减少，揭示强烈的基因剂量敏感性(图37)。

[0151] 为了进一步研究突变在早期发育过程中合子效应的可能性，我们对半合子突变雌性与半合子突变雄性杂交的胚胎后代的生存能力进行了评分。我们预计大约25％的胚胎后代是突变等位基因的纯合。

[0152] 在白光立体显微镜下，我们测量到来自KIF5B家族的约25％的幼鱼出现了严重的颅面畸形，身体弯曲，尾巴弯曲(图10)。对这些畸形幼鱼进行基因分型，发现其携带KIF5B$^{\Delta 1/\Delta 1}$等位基因。F2纯合子KIF5B$^{\Delta 1/\Delta 1}$突变体的死亡率在受精后7天达到95％，所有纯合子突变体KIF5B在30天龄时死亡。我们没有观察到所有其他靶向基因存在明显的形态学体细胞缺陷，在存活的和解剖上无法区分的同胞后代中，约25％的纯合子突变被鉴定出来。

[0153] 为了进一步了解这些基因在发育后期可能的功能，我们将每一组胚胎培养至成年，并分析了纯合子、半合子和野生型同胞后代的性别比、生育能力和性腺形态。

[0154] 与F0代观察到的表型一致，合子nos3和dnd1 mRNA的缺失导致不育表型。我们发现nos3基因敲除(nos3$^{\Delta 5/\Delta 5}$)发育为两性鱼类。我们发现nos3$^{\Delta 5/\Delta 5}$雌性具有类似于弦的卵巢(图39)。此外，nos3缺陷雄性的精巢部分透明，而在野生型和半合子突变型中为粉红色不透明。在6月龄时，来自nos3$^{\Delta 5/\Delta 5}$雄性的精子浓度显著降低；然而，我们发现精子形态、运动能力或功能没有缺陷。因此，nos3$^{\Delta 5/\Delta 5}$雄性表现出延迟成熟，但仍可育。

[0155] 我们只饲养了dnd1 KO罗非鱼(dnd1)，并全部发育成雄性(n＝17)。这些雄鱼显示出半透明的精巢，并且为无性生殖体，通过对其精巢的细胞和分子分析证实了这一点(图38)。

[0156] 我们进一步表明，RNA结合蛋白Elavl2是雄性和雌性配子发生的基础，因为功能缺失突变导致两性配子完全消失，这是通过对其性腺的形态学和分子分析得出的证据(图40)。

[0157] 实施例13-具有母性不育表型的单纯合KO基因

[0158] 对于所有其他靶向基因，我们在预期孟德尔频率下恢复了所有预期基因型，成年

后没有明显的表型。为了测量母性效应不育表型的全部强度，我们将纯合子突变雌性与野生型雄性杂交，并分析胚胎后代。我们观察到以下等位基因TIAR、KHSRP、TIA1、DHX9、Elavl1、Cxcr4的纯合雌性后代的PGC显著减少(图45)。将突变雌性的PGC缺失后代培养至成年，分析其性腺的大小和变化。我们发现萎缩的卵巢具有弦状结构，以及透明的生殖细胞缺失的精巢与胚胎中严重的PGC缺失相一致。相反，F2突变雄性的后代发育出正常大小的性腺。例如，我们测量出了TIAR1纯合子突变雌性产生的后代的平均性腺体指数比对照组(纯合子突变雄性的后代)低10-20倍(图43)。与nos3编码序列的空突变相比，位于nos3 3'UTR的基序1序列的缺失并没有导致雌性不育，这表明该基序不是维持卵原干细胞所必需的。然而，重要的是，这些雌性产生的胚胎有严重的PGC消融(图41和44)。其余基因的母体效应表型仍在研究中。单基因失活导致的不完全PGC消融表型提示这些基因参与了具有显著遗传冗余的复杂通路。

[0159] 实施例14-剖析PGC形成的遗传结构

[0160] 为了更好地理解PGC发育的遗传结构和确定参与这些过程的基因的功能顺序，我们建立了双突变系，并比较了单基因或双基因功能缺失表型后代中PGC的数量。进一步地，为了确定现有的突变是否控制nos3的转录后调控，我们研究了在卵母细胞特异性启动子(MSC转基因系)的控制下，表达促凋亡基因bax融合到nos3 3'UTR的转基因罗非鱼系中的单个突变的影响。我们之前已经证实，MSC雌性细胞通过这些细胞中BAX的异位母体表达产生缺乏PGC的胚胎(Lauth和BUCHANAN，2016年)。

[0161] 我们在携带MSC-khrsp$^{\Delta 16/\Delta 16}$，MSC-DHX9$^{\Delta 7/\Delta 7}$，MSC-TIAR$^{\iota 11/\iota 11}$的罗非鱼品系中仅发现了加性PGC效应(无上位性)，表明这些基因不与nos3'UTR相互作用(图44)。事实上，MSC的设计是为了利用卵母细胞自身的细胞机制来驱动胚胎子代的PGC的bax:nos3 3'UTR表达。如果靶基因参与nos3 3'UTR的转录后调控，促凋亡蛋白Bax的表达将不局限于PGC，从而限制MSC-PGCs的消融能力。我们认为DHX9、TIAL和KHSRP既不直接也不间接参与nos3的定位。

[0162] 实施例15-罗非鱼种质中不限制PGC发育的多效性表型基因

[0163] 我们的诱变筛选发现了新的种质基因，这些基因在罗非鱼中的失活阻止了可育雌性的发育。我们发现Hnrnph1和Rbms的失活导致胚胎致死。我们的结果进一步与早期发现一致，即缺乏Kif5Ba的胚胎表现出中等到严重的腹侧化表型(Campbell，Heim等人著，2015年)。

[0164] 我们的研究结果表明，nos3在罗非鱼中的合子功能是维持卵原干细胞所必需的，nos3$^{\Delta 5/\Delta 5}$突变雌性在成熟时发育出类似于弦的无性生殖体卵巢，而突变雄性则保持可育性(图39)。值得注意的是，我们的nos3突变罗非鱼雌性没有性别回复到雄性表型。在这方面，我们的结果与李等人(李，杨等人著，2014年)的结果不一致，表明罗非鱼中存在生殖细胞独立的性别决定机制。

[0165] 我们的结果证实了先前在大西洋鲑鱼中的研究结果，该研究表明合子dnd1表达是生殖细胞持续维持所必需的，母系贡献的dnd1 mRNA和/或蛋白质不能拯救该基因的合子功能(Wargelius，Leininger等人著，2016年)。

[0166] 我们在ElavL2中产生了功能缺失突变，该突变编码一种蛋白质，与果蝇elav基因(胚胎致死、异常视觉系统)的产物有显著的相似性，缺失该基因会导致多种结构缺陷和胚胎致死。在早期胚胎发育过程中，发现Elavl2在斑马鱼大脑以及PGC中大量表达(Thisse和

Thisse 2004年著,Mickoleit,Banisch等人2011年著)。因此,我们惊讶地看到,罗非鱼ElavL2$^{\Delta 8/\Delta 8}$纯合子突变体是完全可行的,发育成不育的雄性和雌性(图40)。因此,与nos3、dnd1、vasa和piwi样基因一样,Elavl2也显示出必要的合子功能,以确保成年生殖细胞的维持。

[0167] 实施例16-参与PGC形成的新型RNA结合蛋白

[0168] 有点令人惊讶的是,我们成功地鉴定出了功能缺失突变导致PGC发育严重缺陷的基因,这些基因在成年后没有其他明显的表型,这表明它们不是生存能力或生育能力所必需的。在这里,我们首次描述了由TIA1、TIAR、KHSRP、Rbm24、Rbm42、DHX9、Igf2pb3、Hnrnph1和ElavL1功能缺失突变引起生殖细胞是由母体遗传指定的任何动物物种的缺陷(例如所有鱼类、许多昆虫和青蛙物种)。这些基因突变母体的胚胎平均减少了60%到88%的PGC数量。在某些(但并非所有)母体突变基因型中,这种减少与这种数量性状的方差增加相关。方差的增加可能表明缓冲剂在稳定控制生殖细胞数量的基因调控网络中的作用。缺乏TIAL1的小鼠表现出部分胚胎致死性和生殖细胞成熟缺陷(Beck等人,1998年),这意味着TIA1蛋白在脊椎动物发育的重要方面起调节作用。我们还描述了罗非鱼中由Hook2、Tdrd6、dnd1和KIF5B失活引起的第一个缺陷。

[0169] 实施例17-3'UTR调控基序的鉴定与功能分析

[0170] 为了解决与生殖细胞维持所需的必需蛋白质的多效性功能相关的问题,我们研究了在不影响合子活性的情况下选择性地去激活母体基因功能的可能性。我们专门研究了罗非鱼nos3和dnd1的3'UTR功能,它们分别是胚胎和成鱼形成和维持生殖系所必需的。鉴于Elavl2可能参与PGC的形成(Mickoleit,Banisch等人著,2011年),以及其对成年生殖系维持的要求(我们的研究),我们进一步将Elavl2 3'UTR纳入我们的分析。

[0171] 为了探讨罗非鱼dnd1 3'UTR在维持成体生殖细胞中的作用,我们用罗非鱼β-珠蛋白基因的3'UTR进行了3'UTR交换实验。细胞质β-珠蛋白基因的表达通常被认为是组成性的,并且在所有细胞类型中普遍存在,并且预计缺乏PGC表达所必需的顺式作用基序(Herpin,Nakamura等人著,2009年)。我们发现β-珠蛋白3'UTR不能作为维持dnd1合子功能的替代3'UTR,提示合子中dnd1的活性需要特定的转录后调控。

[0172] RNA在种质中的定位是由3'UTR特异性的顺式调控元件介导的,这些元件对合子功能的要求尚未测试。为了首先定位候选调控元件,我们将不同物种的nos3、dnd1和Elavl2转录本的3'UTR序列输入到基于web的软件基序发现算法中。尽管在多重序列比对中序列相似性很低,并且长度有3-9倍的变化,但我们成功地在这些同源基因的3'UTR中鉴定了不同的保守基序。nos3 3'UTR序列分析的结果揭示了两个保守的基序,其中一个存在于所有分析的nos3 3'UTR序列中(图32)。dnd1 3'UTR分析的结果是一组两个预测的结合基序,发现在所有硬骨鱼类以及爪蟾的不同位置(图34)。最后,对Elavl23'UTR的分析确定了2个基序,其中一个基序出现在所有受检物种的3'UTR的相同位置(图35A和B)。第二个Elavl2基序(Elavl2基序2)在大西洋鲑鱼、青鳉和尼罗罗非鱼中保存完好(图36C)。由于RNA调控元件通常包含二级结构背景下松散定义的一级序列的组合(Keene和Tenenbaum 2002年著),我们使用RNA折叠算法对这些区域进行了计算研究(Kerpedjiev,Hammer等人著,2015年)。在不同的基序中,nos3基序1和dnd1基序1是由几个分析RNA序列和折叠预测相似性的程序共同识别的。这些基序的序列比对、基序标识(每个位置核苷酸相对频率的图形表示)和预测的

二级结构如图32和33所示。

[0173] 为了进一步评估这些区域的合理性，我们对miR-430、miR-23和miR-101的种子靶点进行了相应配对扫描。miR430是早期斑马鱼胚胎中含量最丰富的miR，已知可抑制体细胞中的nos3和tdrd7 mRNAs(Mishima，Giraldez等人著，2006年)。在许多硬骨鱼类的未受精卵和早期胚胎中检测到这些保守的miRNA家族(Ramachandra，Salem等人著，2008年)，这表明了一个重要的保守作用，可能调控着种质RNA。我们在罗非鱼dnd1 3'UTR中发现了两个假定的oni-miR-23位点，在罗非鱼nos3 3'UTR中发现了一个miR-430和一个miR-101位点，位于罗非鱼nos3和dnd1 3'UTR保守的预测结合基序1和2附近。我们的分析并不希望受到理论的束缚，而是提出了一种机制，即保守的顺式作用基序和反式作用RNA结合因子形成mRNA-蛋白质复合物(MRNP)。这些相互作用可能以种质特异的方式防止miRNA降解。综上所述，在6个结合基序中，dnd1-1和nos3-1被优先用于本研究的进一步研究。

[0174] 正如之前的假设并与nos3功能缺失突变相反，我们发现nos3-3'UTR基序-1的破坏并不损害基因的合子功能。我们观察到基序1缺陷的雌性发育出功能性卵巢。重要的是，我们证实了该基序是该基因母体功能所必需的。我们观察到基序1缺陷的雌性产生PGC缺失的胚胎，这些胚胎发育成性发育迟缓和/或无性生殖的成体(图41B和A)。在广泛的生物体内，这种18-mer和其他基序在直系同源基因的3'-UTR中的出现可以解释3'UTR在从鱼类到青蛙的低等脊椎动物中的功能互换性。

[0175] 我们提出类似的方法可用于预测RNA结合蛋白的结合基序靶点，并预期这种系统性鉴定将确定有价值的修饰靶点，以实现调控PGC形成的额外母体基因的解除调控。

[0176] 我们推测其他保守的3'UTR调控序列的失活不会导致多效性表型损害纯合子突变雌性的存活、性别决定或生育能力。顺式作用元件的保守性使得这些序列特别具有吸引力，可作为在不同水产养殖鱼类中获得相同母体效应表型的靶点。

[0177] 实施例18-miR-202-5p靶向修饰分析

[0178] 我们首次进一步描述了miR-202-5p失活对PGC发育的影响。这个miR202在进化上是保守的，有两个成熟的转录本，miR-202-5p和miR-202-3p，其中miR-202-5p代表斑马鱼(Vaz，Wee等人2015年著)、海青鳉(Presslauer，Bizuayehu等人2017年著)、虹鳟(Juanchich，Le Cam等人2013年著)、罗非鱼(肖，钟等人2014年著)，大西洋大比目鱼(Bizuayehu，Babiak等人2012年著)和热带爪蟾(Armisen，Gilchrist等人2009年著)卵黄发生后期卵巢中的优势臂。最近有报道称，青鳉的miR-202失活(miR-202-3p和miR-202-5p的联合缺失)导致不育雌性缺卵或亚可育雌性产出异常和不能存活的卵量减少。生殖表型反映卵泡发育受损(Gay，Bugeon等人著，2018年)。值得注意的是，我们的F0和F1 miR-202突变雌性产生了可存活的PGC缺失后代。

[0179] 参考文献

[0180] (1)Carlson，D.F.，S.C.Fahrenkrug和X.Lauth，《动物性成熟的控制》，2013年，谷歌专利。

[0181] (2)Koga，A.等人著《在酪氨酸酶基因中插入一个新的转座因子是导致青鱼(oryziaslatipes)白化突变的原因》。《分子遗传学和普通遗传学》，1995年，249(4):第400-405页。

[0182] (3)Krauss，J.等人著，《透明蛋白是一种影响斑马鱼条纹形成的基因，编码虹膜载

体存活所需的线粒体蛋白Mpv17》《开放生物学》,2013年,2(7):第703-710页。

[0183] (4)Slanchev,K.等人著《对死端定位和活性的控制——对该蛋白拮抗miRNA功能的意义》,《发育机制》,2009年,126(3):第270-277页。

[0184] (5)Kedde,M.等人著《RNA结合蛋白Dnd1抑制MicroRNA进入靶mRNA.》,《细胞》,2007年,131(7):第1273-1286页。

[0185] (6)Li,M.等人著《牙鲆nanos3′UTR中的保守元件负责生殖细胞中RNA的选择性保留》,《比较生物化学与生理学B辑:生物化学与分子生物学》,2016年,198:第66-72页。

[0186] (7)Škugor,A.等人著《硬骨鱼类生殖细胞特异性定位nanos3转录物的保守机制及其水产养殖意义》,《海洋生物科技》,2014年,16(3):第256-264页。

[0187] (8)Oka,K.等人著《用通用荧光PCR对38个插入/缺失多态性进行基因分型,以供人类鉴定》,《分子和细胞探针》,2014年,28(1):第13-18页。

[0188] (9)Raz,E.著《vasa样基因在生殖细胞发育中的作用及调控》,《基因组生物学》,2000年,1(3):第1017.1-1017.6页。

[0189] (10)Armisen,J.等人著(2009年)《热带爪蟾中大量动态表达的miRNAs、piRNAs和其他较小RNA》,《基因组研究》19(10):1766-1775。

[0190] (11)Bizuayehu,T.T.等人著(2012年)《大西洋比目鱼(Hippoglossus Hippoglossus)脑和性腺中的性别偏向性miRNA表达》,《性发育》6(5):257-266。

[0191] (12)Campbell,P.D.等人著(2015年)《驱动蛋白-1与巴基球相互作用形成生殖细胞,是斑马鱼体轴的模式所必需的》,《发育》142(17):2996-3008。

[0192] (13)Eshel,O.等人著(2014年)《尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus)早期胚胎发育中雄性特异性amh重复、性差异表达基因和microRNAs的鉴定》,《BMC基因学》15(1):774。

[0193] (14)Gay,S.等人著(2018年)《MiR-202通过调节青鳉卵子发生来控制雌性生殖力》,《公共科学图书馆:遗传学》14(9):e1007593。

[0194] (15)Giraldez,A.J.等人著(2006年)《斑马鱼MiR-430促进母体mRNAs的去烯基化和清除》,《科学杂志》312(5770):75-79。

[0195] (16)Herpin,A.等人著(2009年)《一个高度保守的顺式调控基序在性腺发育过程中指导Dmrt1转录物的差异性腺同步表达》,《核酸研究》37(5):1510-1520。

[0196] (17)Juanchich,A.等人著(2013年)《鱼类卵巢发育过程中差异表达miRNAs及其潜在靶点的鉴定》,《繁殖生物学》88(5):128,121-111。

[0197] (18)Keene,J.D.和S.A.Tenenbaum著(2002年)《真核mRNPs可能代表转录后操纵子》,《分子细胞》9(6):1161-1167。

[0198] (19)Kerpedjiev,P.等人著(2015年)《Forna(力定向RNA):简单有效的RNA二级结构图》,《生物信息学》31(20):3377-3379。

[0199] (20)Koga,A.等人著(1995年)《在酪氨酸酶基因中插入一个新的转座因子是导致青鱼(oryziaslatipes)白化突变的原因》,《分子遗传学和普通遗传学》249(4):400-405。

[0200] (21)Krauss,J.等人著(2013年)《透明蛋白是一种影响斑马鱼条纹形成的基因,编码虹膜载体存活所需的线粒体蛋白Mpv17》《公开生物学》2(7):703-710。

[0201] (22)Lauth,X.和J.T.B.T.BUCHANAN著(2016年)《动物母体诱导不育性》,谷歌专

利。

[0202] (23)Li,M.等人著(2014年)《CRISPR/Cas9基因打靶罗非鱼的研究》,《遗传学杂志》197(2):591-599。

[0203] (24)Mickoleit,M.等人著(2011年)《miR430和死端蛋白对中枢mRNA稳定性和翻译的调控促进斑马鱼原始生殖细胞优先表达》,《发育动力学》240(3):695-703。

[0204] (25)Mishima,Y.等人著(2006年)《斑马鱼miR-430对体细胞和生殖细胞生殖系mRNA的差异调控》,《当代生物学》16(21):2135-2142。

[0205] (26)Presslauer,C.等人著(2017年)《斑马鱼性腺发育过程中miRNA转录组的动态变化》,《科学报告》7:43850。

[0206] (27)Ramachandra,R.K.等人著(2008年)《虹鳟(Oncorhynchus mykiss)microRNA的克隆与鉴定及其在早期胚胎发育中的表达》,《BMC发育生物学》8(1):41。

[0207] (28)Thisse,B.和C.Thisse著(2004年)《快速释放克隆:高通量表达分析》,《ZFIN直接数据提交》2004年。

[0208] (29)Vaz,C.等人著(2015年)《小RNA的深度测序有助于斑马鱼组织和性相关小RNA的发现》,《BMC基因学》16(1):950。

[0209] (30)Wargelius,A.等人著(2016年)《Dnd基因敲除对大西洋鲑鱼生殖细胞的清除和生殖细胞非依赖性分化的研究》,《科学报告》6:21284。

[0210] (31)Weidinger,G.等人著(2003年)《死端是斑马鱼原始生殖细胞迁移和存活所必需的一种新的脊椎动物种质成分》,《当代生物学》13(16):1429-1434。

[0211] (32)Xiao,J.等人著(2014年)《尼罗罗非鱼(Oreochromis niloticus)卵巢和精巢microRNA的solexa测序鉴定与界定》,《公共科学图书馆:综合》9(1):

[0212] e86821。

[0213] (33)Zhang,J.等人著(2017年)《MiR-202-5p是斑马鱼中一种新的种质特异性microRNA》,《科学报告》7(1):7055。

[0214] 序列列表

[0215] 序列号1

[0216] 长度:40

[0217] 类型:DNA

[0218] 生物体:人工序列

[0219] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0220] 序列:1

[0221] TAGGAGTGCAGCAAGCATGTGAATTTCCATTCGTGAACCG

[0222] 序列号2

[0223] 长度:21

[0224] 类型:DNA

[0225] 生物体:人工序列

[0226] 其他信息:人工序列描述:引物

[0227] 序列:2

[0228] gaagacaTAGCGCGTTATATG

[0229] 序列号3

[0230] 长度:38

[0231] 类型:DNA

[0232] 生物体:人工序列

[0233] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0234] 序列:3

[0235] TGTAAAACGACGGCCAGTTTTGCATATGGGCAGACATC

[0236] 序列号4

[0237] 长度:22

[0238] 类型:DNA

[0239] 生物体:人工序列

[0240] 其他信息:人工序列描述:引物

[0241] 序列:4

[0242] agtctcagatcttaaccatata

[0243] 序列号5

[0244] 长度:42

[0245] 类型:DNA

[0246] 生物体:人工序列

[0247] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0248] 序列:5

[0249] TAGGAGTGCAGCAAGCATtataattcattgttgtgggttgta

[0250] 序列号6

[0251] 长度:22

[0252] 类型:DNA

[0253] 生物体:人工序列

[0254] 其他信息:人工序列描述:引物

[0255] 序列:6

[0256] Tgacacattggctgagactttc

[0257] 序列号7

[0258] 长度:39

[0259] 类型:DNA

[0260] 生物体:人工序列

[0261] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0262] 序列:7

[0263] TGTAAAACGACGGCCAGTCCATTCTGAAGTTATCCTTTT

[0264] 序列号8

[0265] 长度:20

[0266] 类型:DNA

[0267] 生物体:人工序列

[0268] 其他信息:人工序列描述:引物

[0269] 序列:8

[0270] TCATAGCTCCCTCCTGTGGC

[0271] 序列号9

[0272] 长度:37

[0273] 类型:DNA

[0274] 生物体:人工序列

[0275] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0276] 序列:9

[0277] TAGGAGTGCAGCAAGCATctctttcacagGGTCCACCG

[0278] 序列号10

[0279] 长度:23

[0280] 类型:DNA

[0281] 生物体:人工序列

[0282] 其他信息:人工序列描述:引物

[0283] 序列:10

[0284] TGACGAGATATCTCCACAAATGC

[0285] 序列号11

[0286] 长度:40

[0287] 类型:DNA

[0288] 生物体:人工序列

[0289] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0290] 序列:11

[0291] TGTAAAACGACGGCCAGTTGATTTGAATCCAGAGATTACT

[0292] 序列号12

[0293] 长度:22

[0294] 类型:DNA

[0295] 生物体:人工序列

[0296] 其他信息:人工序列描述:引物

[0297] 序列:12

[0298] tggttggactgaaacatattgt

[0299] 序列号13

[0300] 长度:39

[0301] 类型:DNA

[0302] 生物体:人工序列

[0303] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0304] 序列:13

[0305] TAGGAGTGCAGCAAGCATtgtccttcagGTTGATTACAG

[0306] 序列号14

[0307] 长度:21

[0308] 类型:DNA

[0309] 生物体:人工序列

[0310] 其他信息:人工序列描述:引物

[0311] 序列:14

[0312] gtcaaactcacTCTACTCCAA

[0313] 序列号15

[0314] 长度:41

[0315] 类型:DNA

[0316] 生物体:人工序列

[0317] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0318] 序列:15

[0319] TAGGAGTGCAGCAAGCATGGCTTCAACTACATTGGGATGGG

[0320] 序列号16

[0321] 长度:22

[0322] 类型:DNA

[0323] 生物体:人工序列

[0324] 其他信息:人工序列描述:引物

[0325] 序列:16

[0326] GGGAGGTTTCCAAAGCCAGCAT

[0327] 序列号17

[0328] 长度:37

[0329] 类型:DNA

[0330] 生物体:人工序列

[0331] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0332] 序列:17

[0333] TGTAAAACGACGGCCAGTttctcagGGGACGGCAGCG

[0334] 序列号18

[0335] 长度:22

[0336] 类型:DNA

[0337] 生物体:人工序列

[0338] 其他信息:人工序列描述:引物

[0339] 序列:18

[0340] GTCTCTCTTGGCGTAATACTCC

[0341] 序列号19

[0342] 长度:41

[0343] 类型:DNA

[0344] 生物体:人工序列

[0345] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0346] 序列:19

[0347] TAGGAGTGCAGCAAGCATGGCAATGGAGAAGCTGAATGGAT

[0348] 序列号20

[0349] 长度:22

[0350] 类型:DNA

[0351] 生物体:人工序列

[0352] 其他信息:人工序列描述:引物

[0353] 序列:20

[0354] GAACCAGCATGCGTAGCGGGAT

[0355] 序列号21

[0356] 长度:40

[0357] 类型:DNA

[0358] 生物体:人工序列

[0359] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0360] 序列:21

[0361] TGTAAAACGACGGCCAGTagaagttctaatgcacctccaa

[0362] 序列号22

[0363] 长度:23

[0364] 类型:DNA

[0365] 生物体:人工序列

[0366] 其他信息:人工序列描述:引物

[0367] 序列:22

[0368] GTTCATAGCAGCCATGTCACTCT

[0369] 序列号23

[0370] 长度:41

[0371] 类型:DNA

[0372] 生物体:人工序列

[0373] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0374] 序列:23

[0375] TAGGAGTGCAGCAAGCATCGCTAAAGGAGCTGCTGGAAATg

[0376] 序列号24

[0377] 长度:21

[0378] 类型:DNA

[0379] 生物体:人工序列

[0380] 其他信息:人工序列描述:引物

[0381] 序列:24

[0382] ACTGCTGAAGAGGCTGCGTAG

[0383] 序列号25

[0384] 长度:41

[0385] 类型:DNA

[0386] 生物体:人工序列

[0387] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0388] 序列:25

[0389] TGTAAAACGACGGCCAGTGGGAGCTCATCCTCTGGTTGGTG

[0390] 序列号26

[0391] 长度:21

[0392] 类型:DNA

[0393] 生物体:人工序列

[0394] 其他信息:人工序列描述:引物

[0395] 序列:26

[0396] TGCCCCTTGCTGGTCTTGAAT

[0397] 序列号27

[0398] 长度:41

[0399] 类型:DNA

[0400] 生物体:人工序列

[0401] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0402] 序列:27

[0403] TGTAAAACGACGGCCAGTttttctttgtctctttagCAGGT

[0404] 序列号28

[0405] 长度:19

[0406] 类型:DNA

[0407] 生物体:人工序列

[0408] 其他信息:人工序列描述:引物

[0409] 序列:28

[0410] GTTTTACTGTCCTCTACGC

[0411] 序列号29

[0412] 长度:41

[0413] 类型:DNA

[0414] 生物体:人工序列

[0415] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0416] 序列:29

[0417] TAGGAGTGCAGCAAGCATttgtgttttaacagCAGGTTCTC

[0418] 序列号30

[0419] 长度:22

[0420] 类型:DNA

[0421] 生物体:人工序列

[0422] 其他信息:人工序列描述:引物

[0423] 序列:30

[0424] CACTTGTTTGTGTTAAAGTCGC

[0425] 序列号31

[0426] 长度:39

[0427] 类型:DNA

[0428] 生物体:人工序列

[0429] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0430] 序列:31

[0431] TGTAAAACGACGGCCAGTTGGGATAGTTGGTAATGGATT

[0432] 序列号32

[0433] 长度:22

[0434] 类型:DNA

[0435] 生物体:人工序列

[0436] 其他信息:人工序列描述:引物

[0437] 序列:32

[0438] TTGATGGTGTAGATCATGTGCA

[0439] 序列号33

[0440] 长度:41

[0441] 类型:DNA生物体:人工序列

[0442] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0443] 序列:33

[0444] TAGGAGTGCAGCAAGCATGTCTGTGCACATGATCTACACCA

[0445] 序列号34

[0446] 长度:23

[0447] 类型:DNA

[0448] 生物体:人工序列

[0449] 其他信息:人工序列描述:引物

[0450] 序列:34

[0451] ACTGTCCATATGACGTTACTTTC

[0452] 序列号35

[0453] 长度:41

[0454] 类型:DNA

[0455] 生物体:人工序列

[0456] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0457] 序列:35

[0458] TAGGAGTGCAGCAAGCATCCAATGGCAACGACAGCAAAAAG

[0459] 序列号36

[0460] 长度:23

[0461] 类型:DNA

[0462] 生物体:人工序列

[0463] 其他信息:人工序列描述:引物

[0464] 序列:36

[0465] tgtgtacagtgtgtgtacCTGGT

[0466] 序列号37

[0467] 长度:41

[0468] 类型:DNA

[0469] 生物体:人工序列

[0470] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0471] 序列:37

[0472] TGTAAAACGACGGCCAGTTCTCTGGACGGTCAGAACATCTA

[0473] 序列号38

[0474] 长度:23

[0475] 类型:DNA

[0476] 生物体:人工序列

[0477] 其他信息:人工序列描述:引物

[0478] 序列:38

[0479] ctgcatcacagtttttgagcaca

[0480] 序列号39

[0481] 长度:36

[0482] 类型:DNA

[0483] 生物体:人工序列

[0484] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0485] 序列:39

[0486] TAGGAGTGCAGCAAGCATATGAACGGAATGGTTTGG

[0487] 序列号40

[0488] 长度:20

[0489] 类型:DNA

[0490] 生物体:人工序列

[0491] 其他信息:人工序列描述:引物

[0492] 序列:40

[0493] TAGCTCGGCTCATGTCACAC

[0494] 序列号41

[0495] 长度:40

[0496] 类型:DNA

[0497] 生物体:人工序列

[0498] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0499] 序列:41

[0500] TGTAAAACGACGGCCAGTCCCGCGAATGTGCACTAACGAG

[0501] 序列号42

[0502] 长度:23

[0503] 类型:DNA

[0504] 生物体:人工序列

[0505] 其他信息:人工序列描述:引物

[0506] 序列:42

[0507] TCTTGGTTCTTCAGCCAGTGGGA

[0508] 序列号43

[0509] 长度:40

[0510] 类型:DNA

[0511] 生物体:人工序列

[0512] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0513] 序列:43

[0514] TAGGAGTGCAGCAAGCATTTTCCCAATTCCTCCACCCAAG

[0515] 序列号44

[0516] 长度:21

[0517] 类型:DNA

[0518] 生物体:人工序列

[0519] 其他信息:人工序列描述:引物

[0520] 序列:44

[0521] GTGAAACAGAACTGCAGGACG

[0522] 序列号45

[0523] 长度:41

[0524] 类型:DNA

[0525] 生物体:人工序列

[0526] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0527] 序列:45

[0528] TAGGAGTGCAGCAAGCATATGTCTGAGTCAGAGCAACAGTA

[0529] 序列号46

[0530] 长度:20

[0531] 类型:DNA

[0532] 生物体:人工序列

[0533] 其他信息:人工序列描述:引物

[0534] 序列:46

[0535] TCCCTCCGTGCCGCCGTTTT

[0536] 序列号47

[0537] 长度:41

[0538] 类型:DNA

[0539] 生物体:人工序列

[0540] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0541] 序列:47

[0542] TGTAAAACGACGGCCAGTGAAGAAGGATCCAGTAAAGAAAA

[0543] 序列号48

[0544] 长度:23

[0545] 类型:DNA

[0546] 生物体:人工序列

[0547] 其他信息:人工序列描述:引物

[0548] 序列:48

[0549] TGGAAGCTCTATGGTCTCAATct

[0550] 序列号49

[0551] 长度:41

[0552] 类型:DNA

[0553] 生物体:人工序列

[0554] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0555] 序列:49

[0556] TAGGAGTGCAGCAAGCATtttgttctgtctccttgtctccc

[0557] 序列号50

[0558] 长度:23

[0559] 类型:DNA

[0560] 生物体:人工序列

[0561] 其他信息:人工序列描述:引物

[0562] 序列:50

[0563] acaacgagggcatgacacttacG

[0564] 序列号51

[0565] 长度:39

[0566] 类型:DNA

[0567] 生物体:人工序列

[0568] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0569] 序列:51

[0570] TGTAAAACGACGGCCAGTCCAAGATGGCCAAAAACAAGC

[0571] 序列号52

[0572] 长度:23

[0573] 类型:DNA

[0574] 生物体:人工序列

[0575] 其他信息:人工序列描述:引物

[0576] 序列:52

[0577] ggaagtagcaatgcagacggaca

[0578] 序列号53

[0579] 长度:36

[0580] 类型:DNA

[0581] 生物体:人工序列

[0582] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0583] 序列:53

[0584] TAGGAGTGCAGCAAGCATCACACAACCGACTCAAGT

[0585] 序列号54

[0586] 长度:21

[0587] 类型:DNA

[0588] 生物体:人工序列

[0589] 其他信息:人工序列描述:引物

[0590] 序列:54

[0591] Tttactcgtccagctgaccgg

[0592] 序列号55

[0593] 长度:41

[0594] 类型:DNA

[0595] 生物体:人工序列

[0596] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0597] 序列:55

[0598] TGTAAAACGACGGCCAGTTTCCCCATACCTTGACTATACTG

[0599] 序列号56

[0600] 长度:17

[0601] 类型:DNA

[0602] 生物体:人工序列

[0603] 其他信息:人工序列描述:引物

[0604] 序列:56

[0605] GCGGTGGCGAGCGGCTG

[0606] 序列号57

[0607] 长度:39

[0608] 类型:DNA

[0609] 生物体:人工序列

[0610] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0611] 序列:57

[0612] TAGGAGTGCAGCAAGCATACCTCCACCCATGATGCTCCC

[0613] 序列号58

[0614] 长度:23

[0615] 类型:DNA

[0616] 生物体:人工序列

[0617] 其他信息:人工序列描述:引物

[0618] 序列:58

[0619] CATTGAAACCATATCACCAACct

[0620] 序列号59

[0621] 长度:41

[0622] 类型:DNA

[0623] 生物体:人工序列

[0624] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0625] 序列:59

[0626] TGTAAAACGACGGCCAGTtgccaaaATGTCATCAATCTTAG

[0627] 序列号60

[0628] 长度:23

[0629] 类型:DNA

[0630] 生物体:人工序列

[0631] 其他信息:人工序列描述:引物

[0632] 序列:60

[0633] CCCAGGGGACTGAATGTCTTTAG

[0634] 序列号61

[0635] 长度:41

[0636] 类型:DNA

[0637] 生物体:人工序列

[0638] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0639] 序列:61

[0640] TAGGAGTGCAGCAAGCATAATTGTCTGCACTTATAGATGTC

[0641] 序列号62

[0642] 长度:22

[0643] 类型:DNA

[0644] 生物体:人工序列

[0645] 其他信息:人工序列描述:引物

[0646] 序列:62

[0647] tccgttatgaaGCTCTTCCACC

[0648] 序列号63

[0649] 长度:39

[0650] 类型:DNA

[0651] 生物体:人工序列

[0652] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0653] 序列:63

[0654] TGTAAAACGACGGCCAGTCTCGGTCACCAGGTGTCTGAT

[0655] 序列号64

[0656] 长度:21

[0657] 类型:DNA

[0658] 生物体:人工序列

[0659] 其他信息:人工序列描述:引物

[0660] 序列:64

[0661] TCTTCTCGCAGCTGACTGCAC

[0662] 序列号65

[0663] 长度:41

[0664] 类型:DNA

[0665] 生物体:人工序列

[0666] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(NED)

[0667] 序列:65

[0668] TAGGAGTGCAGCAAGCATAAGCTCAGCCTCAGCGAATCTCT

[0669] 序列号66

[0670] 长度:23

[0671] 类型:DNA

[0672] 生物体:人工序列

[0673] 其他信息:人工序列描述:引物

[0674] 序列:66

[0675] ttttcctaagtacttatgtacca

[0676] 序列号67

[0677] 长度:39

[0678] 类型:DNA

[0679] 生物体:人工序列

[0680] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0681] 序列:67

[0682] TGTAAAACGACGGCCAGTgttccagtgtccagaatcggg

[0683] 序列号68

[0684] 长度:18

[0685] 类型:DNA

[0686] 生物体:人工序列

[0687] 其他信息:人工序列描述:引物

[0688] 序列:68

[0689] ctGGTGGAATACCTCTGC

[0690] 序列号69

[0691] 长度:40

[0692] 类型:DNA

[0693] 生物体:人工序列

[0694] 其他信息:人工序列描述:前尾引物(FAM)

[0695] 序列:69

[0696] TGTAAAACGACGGCCAGTCTCCGTGTACGCCAAGTCCAGA

[0697] 序列号70

[0698] 长度:23

[0699] 类型:DNA

[0700] 生物体:人工序列

[0701] 其他信息:人工序列描述:引物

[0702] 序列:70

[0703] Gacagtgttataatccttcaatg

[0704] 序列号71

[0705] 长度:21

[0706] 类型:DNA

[0707] 生物体:人工序列

[0708] 其他信息:人工序列描述:引物

[0709] 序列:71

[0710] ctccttttgcagGTATGTGGG

[0711] 序列号72

[0712] 长度:21

[0713] 类型:DNA

[0714] 生物体:人工序列

[0715] 其他信息:人工序列描述:引物

[0716] 序列:72

[0717] TGTGAAGACCTGCAGAATGAG

[0718] 序列号73

[0719] 长度:20

[0720] 类型:DNA

[0721] 生物体:人工序列

[0722] 其他信息:人工序列描述:引物

[0723] 序列:73

[0724] GGTAGAGGCCAAGGGAACTG

[0725] 序列号74

[0726] 长度:19

[0727] 类型:DNA

[0728] 生物体:人工序列

[0729] 其他信息:人工序列描述:引物

[0730] 序列:74

[0731] GCAGGGATGGAGAAAGTCA

[0732] 序列号75

[0733] 长度:23

[0734] 类型:DNA

[0735] 生物体:人工序列

[0736] 其他信息:人工序列描述:引物

[0737] 序列:75

[0738] CGCGACTTTGTCAACTATCTGGT

[0739] 序列号76

[0740] 长度:18

[0741] 类型:DNA

[0742] 生物体:人工序列

[0743] 其他信息:人工序列描述:引物

[0744] 序列:76

[0745] Caggaacagcttcctgac

[0746] 序列号77

[0747] 长度:15

[0748] 类型:DNA

[0749] 生物体:人工序列

[0750] 其他信息:人工序列描述:引物

[0751] 序列:77

[0752] cccctgctggatACC

[0753] 序列号78

[0754] 长度:19

[0755] 类型:DNA

[0756] 生物体:人工序列

[0757] 其他信息:人工序列描述:引物

[0758] 序列:78

[0759] ACGCGCGCACGAACCTGAT

[0760] 序列号80

[0761] 长度:19

[0762] 类型:DNA

[0763] 生物体:人工序列

[0764] 其他信息:人工序列描述:引物

[0765] 序列:80

[0766] AAGCTTCCCAGCGACATCA

[0767] 序列号81

[0768] 长度:23

[0769] 类型:DNA

[0770] 生物体:人工序列

[0771] 其他信息:人工序列描述:引物

[0772] 序列:81

[0773] tgtgtacagtgtgtgtacCTGGT

[0774] 序列号82

[0775] 长度:19

[0776] 类型:DNA

[0777] 生物体:人工序列

[0778] 其他信息:人工序列描述:引物

[0779] 序列:82

[0780] AAGACGAGTCGTTTCAAAA

[0781] 序列号83

[0782] 长度:18

[0783] 类型:DNA

[0784] 生物体:人工序列

[0785] 其他信息:人工序列描述:引物

[0786] 序列:83

[0787] CAGAACATGCGGTCAGGA

[0788] 序列号84

[0789] 长度:19

[0790] 类型:DNA

[0791] 生物体:人工序列

[0792] 其他信息:人工序列描述:引物

[0793] 序列:84

[0794] GATCCGCGGGATCACTGCC

[0795] 序列号85

[0796] 长度:20

[0797] 类型:DNA

[0798] 生物体:人工序列

[0799] 其他信息:人工序列描述:引物

[0800] 序列:85

[0801] CTGGGCTACAGCCTTCTGAG

[0802] 序列号86

[0803] 长度:22

[0804] 类型:DNA

[0805] 生物体:人工序列

[0806] 其他信息:人工序列描述:引物

[0807] 序列:86

[0808] tgccagcctaaaatacctcagc

[0809] 序列号87

[0810] 长度:27

[0811] 类型:DNA

[0812] 生物体:人工序列

[0813] 其他信息:人工序列描述:引物

[0814] 序列:87

[0815] Gaaacatacaataatttttgaaacat

[0816] 序列号88和90(野生型KIF5B)

[0817] 长度:6289bp和962aa

[0818] 类型:cDNA(序列号:88)和蛋白(序列号:90)

[0819] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 TACTTTGGGCAGCTGCTGTGAGTTTTTGTGTGCATTTGCTGATTAATGGAGATTTCATTA     60
     ............................................................
  61 CAGAAAAACAGTAAGGAGGGGAGCGCCTGCCGGGGTGACGTCATTGTGATCCACATCCAC    120
     ............................................................
 121 GGTAGCAGGAGGGGTGAGGTGGCCAGCCGCTGATCCACCGGTATCATGGCTTCCTAACAG    180
     ............................................................
 181 GACGGGGGGAAGTGACTGAGTGGAAAAACAAGGATTTTTGTTGAATGTCCAACTGATCAT    240
     ............................................................
 241 CGCCCTTTCTAGAACTTGAGATTGGGACAGAGGGGCTCGGCCTCCCTTTTCGCCTCTCAC    300
     ............................................................
 301 GGCCGCCCCTGAGATCCAGTATATACTTTAATTCTTCTCGTGAATTTCCATTCGTGAACC    360
     ............................................................
 361 GTGGAAGATGGCCGACCCGGCGGAGTGCACCATCAAAGTGATGTGCCGTTTTAGGCCCCT    420
     .......-M--A--D--P--A--E--C--T--I--K--V--M--C--R--F--R--P--L     18

[0820] 421 GAACAGCTCCGAAGTGACCAGGGGCGACAAGTACATTCCCAAGTTTCAAGGGGAAGATAC    480
      18 --N--S--S--E--V--T--R--G--D--K--Y--I--P--K--F--Q--G--E--D--T     38

 481 CTGCATTATCGGGGGTAAACCTTACATGTTTGACAGAGTGTTTCAGTCAAATACAACACA    540
  38 --C--I--I--G--G--K--P--Y--M--F--D--R--V--F--Q--S--N--T--T--Q     58

 541 AGAACAAGTGTACAACGCCTGTGCCCAAAAGATTGTAAAAGATGTTCTCGAGGGTTATAA    600
  58 --E--Q--V--Y--N--A--C--A--Q--K--I--V--K--D--V--L--E--G--Y--N     78

 601 TGGGACAATTTTTGCATATGGGCAGACATCATCTGGTAAAACACACACCATGGAGGGGAA    660
  78 --G--T--I--F--A--Y--G--Q--T--S--S--G--K--T--H--T--M--E--G--N     98

 661 TCTCCATGACACAGATTCAATGGGAATCATCCCCAGGATAGTGCAAGACATCTTCAACTA    720
  98 --L--H--D--T--D--S--M--G--I--I--P--R--I--V--Q--D--I--F--N--Y    118

 721 CATCTATTCCATGGACGAAAACCTGGAGTTTCATATCAAAGTTTCATATTTTGAAATCTA    780
```

```
 118 --I--Y--S--M--D--E--N--L--E--F--H--I--K--V--S--Y--F--E--I--Y   138

 781 CTTAGACAAGATCCGGGACCTTTTGGACGTGTCAAAGACCAATTTGTCAGTGCATGAAGA   840
 138 --L--D--K--I--R--D--L--L--D--V--S--K--T--N--L--S--V--H--E--D   158

 841 CAAAAACAGAGTACCTTATGTCAAGGGCTGCACTGAGAGATTTGTCTGCAGCCCAGATGA   900
 158 --K--N--R--V--P--Y--V--K--G--C--T--E--R--F--V--C--S--P--D--E   178

 901 GGTCATGGATACAATTGATGAAGGCAAAGCTAACAGACATGTAGCAGTTACAAACATGAA   960
 178 --V--M--D--T--I--D--E--G--K--A--N--R--H--V--A--V--T--N--M--N   198

 961 CGAGCACAGCTCCAGGAGTCACAGTATCTTCCTGATCAACGTTAAACAGGAGAATACTCA  1020
 198 --E--H--S--S--R--S--H--S--I--F--L--I--N--V--K--Q--E--N--T--Q   218

1021 AACAGAGCAGAAGCTCAGTGGAAAACTCTACCTGGTAGATCTGGCTGGTAGTGAAAAGGT  1080
 218 --T--E--Q--K--L--S--G--K--L--Y--L--V--D--L--A--G--S--E--K--V   238

1081 CAGTAAAACAGGTGCCGAGGGAGCAGTGCTGGATGAAGCCAAGAACATAAACAAGTCCCT  1140
 238 --S--K--T--G--A--E--G--A--V--L--D--E--A--K--N--I--N--K--S--L   258

1141 GTCATCCCTGGGAAATGTCATCTCTGCGTTGGCTGAAGGAACGGCCTACATCCCTTACCG  1200
 258 --S--S--L--G--N--V--I--S--A--L--A--E--G--T--A--Y--I--P--Y--R   278

[0821]
1201 AGACAGCAAGATGACCCGTATCCTGCAGGACTCGCTGGGCGGTAACTGTCGAACCACCAT  1260
 278 --D--S--K--M--T--R--I--L--Q--D--S--L--G--G--N--C--R--T--T--I   298

1261 TGTCATCTGCTGCTCACCTTCCTCCTTTAATGAGGCTGAAACCAAATCCACCCTAATGTT  1320
 298 --V--I--C--C--S--P--S--S--F--N--E--A--E--T--K--S--T--L--M--F   318

1321 CGGGCAGAGAGCAAAGACCATCAAGAACACAGTGACAGTGAACATTGAGCTGACAGCAGA  1380
 318 --G--Q--R--A--K--T--I--K--N--T--V--T--V--N--I--E--L--T--A--E   338

1381 GCAGTGGAAGCAGAAGTATGAGCGAGAGAAGGAGAAGAACAAGACCCTGAGGAATACCAT  1440
 338 --Q--W--K--Q--K--Y--E--R--E--K--E--K--N--K--T--L--R--N--T--I   358

1441 CACGTGGTTGGAGAATGAGCTGAACCGCTGGAGAAATGGTGAGAGCGTGCCAGTGGAGGA  1500
 358 --T--W--L--E--N--E--L--N--R--W--R--N--G--E--S--V--P--V--E--E   378

1501 GCAGTTTGATAAGGAGAAAGCCAACGCCGAGGTGCTGGCCCTGGATAATATTATAAACGA  1560
 378 --Q--F--D--K--E--K--A--N--A--E--V--L--A--L--D--N--I--I--N--D   398

1561 CAAGGCGGCCTCGACACCCAACGTGCCCGGCGTTCGCCTCACTGACGTGGAGAAGGACAA  1620
 398 --K--A--A--S--T--P--N--V--P--G--V--R--L--T--D--V--E--K--D--K   418

1621 GTGTGAAGCAGAGCTGGCCAAACTCTATAAACAGCTGGATGATAAGGATGAGGAAATCAA  1680
 418 --C--E--A--E--L--A--K--L--Y--K--Q--L--D--D--K--D--E--E--I--N   438

1681 CCAGCAGAGCCAGCTGGCTGAGAAGCTGAAACAGCAGATGCTGGACCAGGAGGAGCTTCT  1740
```

```
 438 --Q--Q--S--Q--L--A--E--K--L--K--Q--Q--M--L--D--Q--E--E--L--L   458

1741 AGCCTCTTCCCGCCGTGATCACGAGAACCTCCAGGCAGAGCTGAACCGCCTCCAGGCTGA  1800
 458 --A--S--S--R--R--D--H--E--N--L--Q--A--E--L--N--R--L--Q--A--E   478

1801 AAACGAAGCCTCAAAGGAGGAGGTGAAGGAGGTGCTGCAGGCCCTGGAAGAGCTGGCTGT  1860
 478 --N--E--A--S--K--E--E--V--K--E--V--L--Q--A--L--E--E--L--A--V   498

1861 CAATTATGACCAGAAGAGCCAAGAGGTGGAGGATAAAACCAAGGAGTTTGAGGCCATCAG  1920
 498 --N--Y--D--Q--K--S--Q--E--V--E--D--K--T--K--E--F--E--A--I--S   518

1921 TGAGGAGCTCAGCCAGAAATCGTCCATCCTGTCATCTCTGGACTCGGAGCTTCAGAAGCT  1980
 518 --E--E--L--S--Q--K--S--S--I--L--S--S--L--D--S--E--L--Q--K--L   538

1981 GAAGGAGATGTCCAACCACCAGAAGAAGAGGGTGACTGAAATGATGTCATCACTGCTTAA  2040
 538 --K--E--M--S--N--H--Q--K--K--R--V--T--E--M--M--S--S--L--L--K   558

2041 AGACCTAGCTGAGATTGGCATCGCTGTAGGCAGCAATGACATTAAGCAACACGACGGTGG  2100
 558 --D--L--A--E--I--G--I--A--V--G--S--N--D--I--K--Q--H--D--G--G   578

2101 CAGCGGTCTGATTGACGAGGAGTTTACAGTGGCCCGTCTGTACATCAGCAAGATGAAGTC  2160
 578 --S--G--L--I--D--E--E--F--T--V--A--R--L--Y--I--S--K--M--K--S   598

[0822]
2161 AGAAGTGAAGACGATGGTGAAACGCTGCAAGCAGCTAGAGGGAACCCAGGCAGAAAGCAA  2220
 598 --E--V--K--T--M--V--K--R--C--K--Q--L--E--G--T--Q--A--E--S--N   618

2221 CAAGAAGATGGATGAGAACGAGAAGGAACTGGCCGCCTGCCAGCTACGCATCTCCCAGCA  2280
 618 --K--K--M--D--E--N--E--K--E--L--A--A--C--Q--L--R--I--S--Q--H   638

2281 CGAGGCTAAAATCAAGTCCTTGACTGAGTACCTGCAAAATGTAGAGCAGAAGAAGAGGCA  2340
 638 --E--A--K--I--K--S--L--T--E--Y--L--Q--N--V--E--Q--K--K--R--Q   658

2341 GTTGGAGGAAAATGTGGACGCTCTCAATGAGGAACTTGTCAAGATCAGTGCTCAAGAGAA  2400
 658 --L--E--E--N--V--D--A--L--N--E--E--L--V--K--I--S--A--Q--E--K   678

2401 AGTCCATGCTATGGAGAAAGAGAACGAGATCCAGACTGCCAATGAAGTCAAGGAAGCAGT  2460
 678 --V--H--A--M--E--K--E--N--E--I--Q--T--A--N--E--V--K--E--A--V   698

2461 GGAGAAGCAGATCCACTCCCATCGTGAAGCTCATCAGAAACAGATCAGCAGCCTGAGAGA  2520
 698 --E--K--Q--I--H--S--H--R--E--A--H--Q--K--Q--I--S--S--L--R--D   718

2521 TGAGCTGGACAACAAGGAGAAGCTCATCACCGAGCTGCAGGATCTGAATCAGAAGATCAT  2580
 718 --E--L--D--N--K--E--K--L--I--T--E--L--Q--D--L--N--Q--K--I--M   738

2581 GCTGGAGCAGGAGAGGCTCAGAGTGGAGCATGAGAAGCTTAAATCCACCGATCAGGAGAA  2640
 738 --L--E--Q--E--R--L--R--V--E--H--E--K--L--K--S--T--D--Q--E--K   758

2641 GAGCCGCAAGCTGCACGAGCTCACGGTGATGCAGGACAGGAGGGAGCAGGCCAGACAGGA  2700
```

```
 758 --S--R--K--L--H--E--L--T--V--M--Q--D--R--R--E--Q--A--R--Q--D   778

2701 CCTGAAGGGTCTGGAAGAGACAGTGGCTAAAGAGCTGCAGACTCTGCACAACCTGAGGAA  2760
 778 --L--K--G--L--E--E--T--V--A--K--E--L--Q--T--L--H--N--L--R--K   798

2761 ACTCTTTGTCCAGGACCTGGCCACCCGAGTGAAAAAGAGCGCTGAGATGGACTCGGATGA  2820
 798 --L--F--V--Q--D--L--A--T--R--V--K--K--S--A--E--M--D--S--D--D   818

2821 CACAGGTGGGAGTGCAGCTCAGAAACAGAAAATTTCCTTTCTTGAGAACAATCTTGAACA  2880
 818 --T--G--G--S--A--A--Q--K--Q--K--I--S--F--L--E--N--N--L--E--Q   838

2881 GCTCACCAAGGTTCACAAACAGCTGGTGCGTGATAATGCAGACCTGCGCTGTGAGCTTCC  2940
 838 --L--T--K--V--H--K--Q--L--V--R--D--N--A--D--L--R--C--E--L--P   858

2941 TAAACTGGAAAAGCGTCTTCGAGCTACGGCTGAGCGGGTCAAGGCCTTGGAGTCTGCTTT  3000
 858 --K--L--E--K--R--L--R--A--T--A--E--R--V--K--A--L--E--S--A--L   878

3001 GAAGGAAGCCAAGGAGAACGCCGCCCGCGATCGCAAGCGCTACCAGCAGGAAGTGGACCG  3060
 878 --K--E--A--K--E--N--A--A--R--D--R--K--R--Y--Q--Q--E--V--D--R   898

3061 CATCAAAGAGGCCGTCAGAGCCAAGAACATGGCCAGGAGGGGACATTCAGCCCAGATTGC  3120
 898 --I--K--E--A--V--R--A--K--N--M--A--R--R--G--H--S--A--Q--I--A   918

3121 CAAACCCATCAGGCCTGGGCAGCAGCCAGTAGCATCCCCCACCCACCCCAACATTAACCG  3180
 918 --K--P--I--R--P--G--Q--Q--P--V--A--S--P--T--H--P--N--I--N--R   938

3181 CAGTGGAGGAGGCTTCTACCAGAACAGCCAGACGGTGTCCATCAGAGGGGGCAGCAGCAA  3240
 938 --S--G--G--G--F--Y--Q--N--S--Q--T--V--S--I--R--G--G--S--S--K   958

3241 GCCTGACAAGAACTGAAGAGCAGCAGAACAGAAGGACGACACCACAGAAGAAGCCAATAT  3300
 958 --P--D--K--N--*-.....................................          962

3301 CACCCCCCGCCCACCCCGACAACCTGTCATTCCATTACAGCGAACAGACTCCTCGTCGCT  3360
      ............................................................
3361 GCTTTGGAACCACGAAGGAGTTTCTGAAATATAAATATATATATATAAATATTCCCAGCT  3420
      ............................................................
3421 TGTACAGCTCCAGCCCCCCCACCACCACACCTCCACCTACCCACCTCCCTCTCCCCCGAA  3480
      ............................................................
3481 GTTCTAATCATGACTCATCTCTTTTTCTCTTACTGGATATAATAAAAGAAAGAAGACAAC  3540
      ............................................................
3541 CGTTTTAATTTACAAAAAGCCAAGATAATATTCTTATTCAGGCAACCAAACGCAGTCTTG  3600
      ............................................................
3601 GGCGCAGCCTCGGCGAGCGAAACCGCAACGCGACTCGAATGTGTAGCTTCGGGTTTGTTG  3660
      ............................................................
3661 ATTTTGTTTAGTTTTTTTTCTTTTTCGTTTTGCACAGTCTGTCGTCATCTGTCGTGCGAG  3720
      ............................................................
3721 TAGTTCTGCACTGTGCCAAGCTGAATGTAACGGTCGAAAGATCCAAAAAATTCATAGAAA  3780
      ............................................................
3781 TAAACACCTAATATTAAAAAAGACCAAAAAAAACGAAGAGGAGACCCTACAGTGAGAAAC  3840
      ............................................................
3841 AGCTTGACCCTATAAAGCTAACCTCTGTACAGTTCATTGTTATTATTATTATAATTATTA  3900
      ............................................................
3901 TTATTATTATTATCATTGGCTGTTAACCACACTTTTCTCTGGGTAGATTTTACATGCTTC  3960
```

[0823]

```
                                                            .
3961 TTTAAGGGAAATACAAAAAAAGTACAAAAAAATGTTTTGAATTGACTAGATGGCGTCGAG   4020
                                                            .
4021 CACTACTGTTCTGTCTGATCTTGTTGTACAGTTGTAAAATTGGCACTACTGCACACGTTT   4080
                                                            .
4081 CCCCGGAGAGACGAGGCTAAACACAAGGATTAAAATAAAGCCAAGAAGACGTGCGACAGT   4140
                                                            .
4141 GTACCGTAGGTGTATTTACCTAAATACCTGTGGAGGCCAACTGTTTTTAATATTAAGTTA   4200
                                                            .
4201 AAAAAAACTATACTCGTTAATGGTGGCTTCATGAGAAGGATGCAAAGAATGTAGAATGAA   4260
                                                            .
4261 GGGAAAAGAGGAGGAGGATCCGGTTAAGACAACAGACTTCCACCTTTAAGCATAGCCTAT   4320
                                                            .
4321 GCTACGTAGCTAAATGTACTGTTTTTACTTCTCTCGGTGGTTAATAATGACGTGTTAATG   4380
                                                            .
4381 GAAGCTGTTTAATATCTCTCTGCACATTGGAGCACATAGATTGCAAGTGTATAGATGGAA   4440
                                                            .
4441 ATAGCACACGATGCTCGTCCTGTCCTCGCTGGGTCCCTGTCGGTAACTCGTCTCCTTTCA   4500
                                                            .
4501 CTCGCGTATTCAGGACCCGTTCTTTTTTTGGTTCTTGTTTCTAGTTTGACTGTTGAATCC   4560
                                                            .
4561 CTGCAGTGTCATGTTTTCTTTTTCAAGGGTGCCTCGCTTCTTCAGTCTTCCCTCCCCACA   4620
                                                            .
4621 CCTTATAGATTAAAAGACCTGTAACTGTATGCGCCCCCTTTCAGTTGTAAATTTGCAGAG   4680
                                                            .
4681 TGTCATGCTGGGTTTTATGTACTGTATCTCTTTCTTTGTTCCATAGATGGTGTAGATTTC   4740
                                                            .
4741 TATTTCAAAGTGGGGGGTAACACCGGGCGGGTGGAGTGGGATCGTTCAGTTGATGAGTTA   4800
                                                            .
4801 GACCTTCGCCACTGATCAGCCAGTCAGGGAGAGCGGGGTCTATAATTGCACAATGATCTT   4860
                                                            .
4861 CTGTCATCATCTGGAAGAAGGGTTTATTTAACTAAATCTAACCAGGGGTGTAGATTTTTT   4920
                                                            .
4921 GTGTTTTTGTTCTTTGTTGTTTTTTTAGTGGGTTTTTTTAAATTGTTATTAATTTCCCAT   4980
                                                            .
4981 CACATCTTTATTTTAACCCTGTGAAGCCCCACTGCATTTGGCAAAGAGCTTGTTGTGATT   5040
                                                            .
5041 GTAACCCCAGCATGAGAACACTAACATCTTGTGCAAGTGCAATATACTGTAAAATACACT   5100
                                                            .
5101 GTATATCAGTCGGCCGGCAGGTGTGATCAGGGTGTGGTTGTACCTGCCCACTCCTCCTTT   5160
                                                            .
5161 TTGTGTTGCATTTTGTTTCACTGGTGTCAAGTCCTCGGTGTGTGTTTTCTTTCTTTGATC   5220
                                                            .
5221 ACTCTTTCTGAAAAGCTGAGACATGTTGCAGATCTTTTTGTTTAGTTTAGTTTTATATAA   5280
                                                            .
5281 ACGTCATATTCTATATCAAATCTACTGCAGCTGCTGTAATGGAAAGTTAACAAAAGTGCA   5340
                                                            .
5341 CAGATTGTATAAAAAATCACATATGACCCAAAGTTTTGAGTTTGAAGCTTTTTAGGAAGA   5400
                                                            .
5401 CTGGTCAAAGAAACTTCTACTGAAAAAGGATACGTTTTGAGACTGGTGGGACGAATGTAG   5460
                                                            .
5461 CTGGAAAACAAAAGGAGGGGAAATGATTTTGGCTAAAACCTGTTATCTCCATACAGGAAA   5520
                                                            .
5521 GCTGGGTGTAAAATAGCACTTCTTTAGCTGCACTCAGATAAAAACACTCCACATGTGGCT   5580
                                                            .
5581 GTTTTTGAGTGGAGGAGGGGAAGAAAAGTTTTTGACAACCGCTTGTTGTCGCTGAAGTGT   5640
                                                            .
5641 ATTCAGTTGTAATAATTACACTCTGCAAGATGCAGGGAGGAGTAGCTCCCTCGCATCTAT   5700
                                                            .
5701 GACAGGACAGTGTTTGGTGTCTTATCGAGACGGTTTATACCCTCTGTGTAACCTTCTAGA   5760
                                                            .
5761 TTTAGCTGAGACATTGCAGCGTGGACCTCAAAATGTTCATCCTTTGACCTCCCACCAAAA   5820
                                                            .
5821 CTGGATACGAAATGGGGAATAAATACAGCAAAAAGATAAATACTTGTTTACCTAAATTAA   5880
```

[0824]

```
          ..........                                                  
5881 ATTTTGCATTAATTCTAAATTAAAAGTGTAGCCACTTTTTTTTATTACTGTGTAATAGTT   5940
          ..........                                                  
5941 GGTCAGTTTTTAAAAGGACAGTTTTGGGGCTCCATCAGTGGACAAGGTACTGGATCATTC   6000
          ..........                                                  
6001 CTGGAGAACTGGGGCACAAATGGCTGGGCTCTGATATGGACGGAGACGGGACGTTAATGA   6060
          ..........                                                  
6061 GATCACAGTTTTGGATTGACTGCATGATGTAAATGTATGTGTGATTAAATAATTATGAGG   6120
          ..........                                                  
6121 AAAAAAAACTGTCCCCTCTGTGTTCTGTCATTTGACTCTTGTGAATGTGGAGATGGGTTT   6180
          ..........                                                  
6181 CACAGGGCTGTTTCTGTTTTACGTACATACACTGGTCGACAGTTTTTCTTTTTTCGGTTT   6240
          ..........                                                  
6241 GGGGCTTCACTCTGAGAACTCATTTGGAATTGGAGAAGGGGTCTTCTTT              6289
          .........................................
```

[0825]

[0826] 序列号89和91(KIF5B突变等位基因-1nt缺失)

[0827] 长度:6289bp(-1bp)和110aa

[0828] 类型:cDNA(序列号:89)和蛋白(序列号:91)

[0829] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 TACTTTGGGCAGCTGCTGTGAGTTTTTGTGTGCATTTGCTGATTAATGGAGATTTCATTA     60
          ..........                                                  
  61 CAGAAAAACAGTAAGGAGGGGAGCGCCTGCCGGGGTGACGTCATTGTGATCCACATCCAC    120
          ..........                                                  
 121 GGTAGCAGGAGGGGTGAGGTGGCCAGCCGCTGATCCACCGGTATCATGGCTTCCTAACAG    180
          ..........                                                  
 181 GACGGGGGGAAGTGACTGAGTGGAAAAACAAGGATTTTTGTTGAATGTCCAACTGATCAT    240
          ..........                                                  
 241 CGCCCTTTCTAGAACTTGAGATTGGGACAGAGGGGCTCGGCCTCCCTTTTCGCCTCTCAC    300
          ..........                                                  
 301 GGCCGCCCCTGAGATCCAGTATATACTTTAATTCTTCTCGTGAATTTCCATTCGTGAACC    360
          ..........                                                  
 361 GTGGAAGATGGCCGACCCGGCGGAGTGCACCATCAAAGTGATGTGCCGTTTTAGGCCCCT    420
      .......-M--A--D--P--A--E--C--T--I--K--V--M--C--R--F--R--P--L     18

421 GAACAGCTCCGAAGTGACCAGGGGCGACAAGTACATTCCCAAGTTTCAAGGGGAAGATAC    480
 18 --N--S--S--E--V--T--R--G--D--K--Y--I--P--K--F--Q--G--E--D--T     38

481 CTGCATTATCGGGGGTAAACCTTACATGTTTGACAGAGTGTTTCAGTCAAATACAACACA    540
 38 --C--I--I--G--G--K--P--Y--M--F--D--R--V--F--Q--S--N--T--T--Q     58

541 AGAACAAGTGTACAACGCCTGTGCCCAAAAGATTGTAAAAGATGTTCTCGAGGGTTATAA    600
 58 --E--Q--V--Y--N--A--C--A--Q--K--I--V--K--D--V--L--E--G--Y--N     78

601 TGGGACAATTTTTGCATATGGGCAGACATCATCTGGTAAAACACACACCATGGAGGGGAA    660
 78 --G--T--I--F--A--Y--G--Q--T--S--S--G--K--T--H--T--M--E--G--N     98

661 TCTCCATGACACAGATTCAATGGGAATCATCCCCAGATAGTGCAAGACATCTTCAACTAG    720
 98 --L--H--D--T--D--S--M--G--I--I--P--R--*                        110
```

[0830]

[0831] 序列号92和94(野生型TIAR)

[0832] 长度:2520bp和382aa

[0833] 类型:cDNA(序列号:92)和蛋白(序列号:94)

[0834] 生物体:尼罗罗非鱼

```
          1 GGAAATTTCTTCACAGTGACATCTGAGCTCAGATTCGAGAAAGGTCCTGGTGGTTCGCGC     60
            ............................................................
         61 CACTGCCTTGAGCCGTCAAATCTCGGCATTGAAAACAAGCGTACCTTTGCATTGCATTTC    120
            ............................................................
        121 AAAATAAGAGTTTCGTATGCAGCTTCCTTTTCCAAAATTAATAAAATAAGTACACATTAG    180
            ............................................................
        181 GTTTGCTCTTTCGGCTTTTTACAGTTAATTTTTTAAAAATGGTGTCATTCAGAAGTAACG    240
            ............................................................
        241 GTCTTTAAGAAATTTTCAATTTTTTACTATTAAGAACGCAAAAAGCCTTTTATTACTTCA    300
            ............................................................
        301 ACCTTATGTGACGGGTCTCTTCCTGCACACGCACGTACGTACTCTGGACTCTCACAGTGT    360
            ............................................................
        361 GACGTATGCTCTGGCGCCCGGTTAGCTAGCTTCTAAGCTAGTTAGCTAGTTGTGGTTTCT    420
            ............................................................
        421 AATTGCCAGTTAATACCAGCTATAACTAGCTAGTAAGTGGCGTTTTCTTCCCTGGTTACT    480
            ............................................................
        481 GTCAGCATCGACTATGGACGACGAAACCCACCCCAGAACCCTGTATGTGGGAAACCTCTC    540
            ..............-M--D--D--E--T--H--P--R--T--L--Y--V--G--N--L--S     16

        541 CAGGGATGTAACAGAAATTCTGATCCTGCAGCTCTTCACCCAGATAGGACCATGCAAAAG    600
         16 --R--D--V--T--E--I--L--I--L--Q--L--F--T--Q--I--G--P--C--K--S     36

        601 CTGTAAAATGATCACAGAGCACACGAGCAATGATCCCTATTGCTTTGTGGAGTTCTTTGA    660
         36 --C--K--M--I--T--E--H--T--S--N--D--P--Y--C--F--V--E--F--F--E     56

        661 ACACAGAGATGCTGCTGCAGCCCTTGCAGCCATGAATGGGAGGAAGATATTAGGAAAGGA    720
[0835]   56 --H--R--D--A--A--A--A--L--A--A--M--N--G--R--K--I--L--G--K--E     76

        721 GGTTAAAGTAAATTGGGCCACCACTCCAAGTAGCCAGAAGAAAGACACATCCAATCACTT    780
         76 --V--K--V--N--W--A--T--T--P--S--S--Q--K--K--D--T--S--N--H--F     96

        781 CCATGTTTTTGTGGGTGATTTGAATCCAGAGATTACTACTGAGGATGTCAGGGTTGCGTT    840
         96 --H--V--F--V--G--D--L--N--P--E--I--T--T--E--D--V--R--V--A--F    116

        841 TGCACCATTTGGGAAAATATCGGATGCCCGAGTTGTGAAGGACATGACGACAGGCAAATC    900
        116 --A--P--F--G--K--I--S--D--A--R--V--V--K--D--M--T--T--G--K--S    136

        901 AAAGGGGTATGGATTTGTGTCCTTCTACAACAAACTGGATGCAGAGAATGCCATTATTAA    960
        136 --K--G--Y--G--F--V--S--F--Y--N--K--L--D--A--E--N--A--I--I--N    156

        961 CATGTCGGGACAGTGGCTCGGAGGGCGCCAAATCAGGACTAACTGGGCTACGCGCAAACC   1020
        156 --M--S--G--Q--W--L--G--G--R--Q--I--R--T--N--W--A--T--R--K--P    176

       1021 TCCAGCTCCTAAGAGCACTCAGGACAATGGTTCAAAGCAGCTGAGGTTCGATGACGTAGT   1080
        176 --P--A--P--K--S--T--Q--D--N--G--S--K--Q--L--R--F--D--D--V--V    196

       1081 GAATCAATCCAGTCCACAGAACTGCACTGTGTACTGTGGAGGGATCCAATCAGGGCTATC   1140
        196 --N--Q--S--S--P--Q--N--C--T--V--Y--C--G--G--I--Q--S--G--L--S    216

       1141 AGAACATCTAATGCGACAGACCTTCTCACCATTCGGTCAGATAATGGAAGTCAGGGTTTT   1200
        216 --E--H--L--M--R--Q--T--F--S--P--F--G--Q--I--M--E--V--R--V--F    236

       1201 CCCAGAGAAAGGATATTCTTTCATCAGGTTTTCCTCCCATGACAGTGCTGCCCATGCCAT   1260
```

```
 236 --P--E--K--G--Y--S--F--I--R--F--S--S--H--D--S--A--A--H--A--I   256

1261 TGTTTCAGTAAACGGCACAGTCATTGAAGGACACGTAGTGAAGTGCTTCTGGGGCAAAGA  1320
 256 --V--S--V--N--G--T--V--I--E--G--H--V--V--K--C--F--W--G--K--E   276

1321 ATCACCCGACATGGCAAAAAGCCCACAGCAGGTTGATTACAGTCAGTGGGGACAGTGGAA  1380
 276 --S--P--D--M--A--K--S--P--Q--Q--V--D--Y--S--Q--W--G--Q--W--N   296

1381 CCAGGTCTATGGGAATCCGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGTATGGGCA     1440
 296 --Q--V--Y--G--N--P--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Y--G--Q   316

1441 GTATGTGACCAATGGGTGGCAAATGCCCTCTTACAACATGTATGGCCAGACATGGAACCA   1500
 316 --Y--V--T--N--G--W--Q--M--P--S--Y--N--M--Y--G--Q--T--W--N--Q   336

1501 GCAAGGATTTGGAGTAGAGCAGTCCCAGTCAACAGCCTGGATGGGAGGCTTTGGATCTCC  1560
 336 --Q--G--F--G--V--E--Q--S--Q--S--T--A--W--M--G--G--F--G--S--P   356

1561 ATCAGCCCAGGCTGCAGCCCCGCCTGGAACAGTCATGTCCAGCCTAGCCAACTTCGGCAT  1620
 356 --S--A--Q--A--A--A--P--P--G--T--V--M--S--S--L--A--N--F--G--M   376

1621 GGCTGGCTACCAAACGCAGTGAGAAGGCCCTAACCTCAATGTAATACCAAGGCGACACAG  1680
 376 --A--G--Y--Q--T--Q--*-.....................................    382

1681 CACTCTTACATTTGGACAGCTGCTGTGGTAAAAGAAGGGTGGGGCCATATTCACAAAGCC  1740
      ............................................................
1741 TTTCTAGCTAATAGTTGCTCCTACACAATTACAGTATACAACAGAAGGGAGCACACCCCT  1800
      ............................................................
1801 GTGCAATATTACATAAATGTCAGGTGATCAGAGCTGTACTGTCCAACAGTAATTGTGTTA  1860
      ............................................................
1861 CTTATGAGTACAGCAGTATGGTATTTGCTCTCATGCAAAGTTAAAAATGAATGGTATATA  1920
      ............................................................
1921 TTACCTTTATAATAAATATGTTTATATAATATTTGCTTTTCTTCATCAGAGGAAATACCC  1980
      ............................................................
1981 TTTCAATTCACGCAATAATGCTTTTACTGATACAGTTTTGACTCTTTTGAAATCTAGGTA  2040
      ............................................................
2041 ATATTGTACAGGTGTGTATTCGCTTTTGGTGTAGAGTGTATGATTTTAATCATAGTCAAT  2100
      ............................................................
2101 TAAACTCAGAACATTTAAAAAAAAAAGTTTGTTTCATTATTATTCCTAATTCTGTTTAAA  2160
      ............................................................
2161 AGAGAAAAAAAAAGTGCTCTTGGGCTTCTCAAGTAAAGCCAAACCAACTGTTTTTGTGTGA  2220
      ............................................................
2221 GTACGTGTTTAAGGACACGCAGTCTTTATGAGTGCTAGACCATGTGAAACATTGAGGATT  2280
      ............................................................
2281 CATGCCTACAGGGTAGAGATCTTGGCAGAGACAGGACTTACGATGCCTTTCCTTTCATCA  2340
      ............................................................
2341 CACATTTAACAGGTTGACCAGTGGGCCAACCCATTAAAACATCAATTTAGTTCTTAAATC  2400
      ............................................................
2401 TAATTTGTTACTCAATACAAATTCTTTCATATTTTACAAAACAAAAGGGCCTTAGAGAAA  2460
      ............................................................
2461 ATGTACGTGTAACATAGCGCACACTTTTTAAATGCCACTATTATTATTTTATTTTTTTTT  2520
      ............................................................
```

[0836]

[0837] 序列号93和95(TIAR突变等位基因-11nt插入)

[0838] 长度:2520bp(-11bp)和119aa

[0839] 类型:cDNA(序列号:93)和蛋白(序列号:95)

[0840] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 GGAAATTTCTTCACAGTGACATCTGAGCTCAGATTCGAGAAAGGTCCTGGTGGTTCGCGC   60
     ............................................................
  61 CACTGCCTTGAGCCGTCAAATCTCGGCATTGAAAACAAGCGTACCTTTGCATTGCATTTC  120
     ............................................................
 121 AAAATAAGAGTTTCGTATGCAGCTTCCTTTTCCAAAATTAATAAAATAAGTACACATTAG  180
     ............................................................
 181 GTTTGCTCTTTCGGCTTTTTACAGTTAATTTTTTAAAAATGGTGTCATTCAGAAGTAACG  240
     ............................................................
 241 GTCTTTAAGAAATTTTCAATTTTTTACTATTAAGAACGCAAAAAGCCTTTTATTACTTCA  300
     ............................................................
 301 ACCTTATGTGACGGGTCTCTTCCTGCACACGCACGTACGTACTCTGGACTCTCACAGTGT  360
     ............................................................
 361 GACGTATGCTCTGGCGCCCGGTTAGCTAGCTTCTAAGCTAGTTAGCTAGTTGTGGTTTCT  420
     ............................................................
 421 AATTGCCAGTTAATACCAGCTATAACTAGCTAGTAAGTGGCGTTTTCTTCCCTGGTTACT  480
     ............................................................
 481 GTCAGCATCGACTATGGACGACGAAACCCACCCCAGAACCCTGTATGTGGGAAACCTCTC  540
     ..............-M--D--D--E--T--H--P--R--T--L--Y--V--G--N--L--S   16
```

[0841]

```
 541 CAGGGATGTAACAGAAATTCTGATCCTGCAGCTCTTCACCCAGATAGGACCATGCAAAAG  600
  16 --R--D--V--T--E--I--L--I--L--Q--L--F--T--Q--I--G--P--C--K--S   36

 601 CTGTAAAATGATCACAGAGCACACGAGCAATGATCCCTATTGCTTTGTGGAGTTCTTTGA  660
  36 --C--K--M--I--T--E--H--T--S--N--D--P--Y--C--F--V--E--F--F--E   56

 661 ACACAGAGATGCTGCTGCAGCCCTTGCAGCCATGAATGGGAGGAAGATATTAGGAAAGGA  720
  56 --H--R--D--A--A--A--A--L--A--A--M--N--G--R--K--I--L--G--K--E   76

 721 GGTTAAAGTAAATTGGGCCACCACTCCAAGTAGCCAGAAGAAAGACACATCCAATCACTT  780
  76 --V--K--V--N--W--A--T--T--P--S--S--Q--K--K--D--T--S--N--H--F   96

 781 CCATGTTTTTGTGGGTGATTTGAATCCAGAGATTACTACTGAGGATGTCAGGGTTGCGTT  840
  96 --H--V--F--V--G--D--L--N--P--E--I--T--T--E--D--V--R--V--A--F  116

 841 TGCACCAATATAATTATGTTTGGGAAAATATCGGATGCCCGAGTTGTGAAGGACATGACG  900
 116 --A--P--I--*                                                 119
```

[0842] 序列号96和98(野生型KHSRP)

[0843] 长度:2085bp和695aa

[0844] 类型:cDNA(序列号:96)和蛋白(序列号:98)

[0845] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCTGATTACAGCTCTCTGCCATCAAATGGAGTCGGAGCAGGAATGAAAAACGACGCT   60
   1 -M--S--D--Y--S--S--L--P--S--N--G--V--G--A--G--M--K--N--D--A-   20

  61 TTCGCAGATGCCGTTCAGCGAGCCAGACAGATTGCAGCTAAAATTGGTGGTGACGGTGTG  120
  21 -F--A--D--A--V--Q--R--A--R--Q--I--A--A--K--I--G--G--D--G--V-   40

 121 CCCCTGACAACAAACAACGGAGGAGCTGAGAGCTATCCGTTCACATCACAGAAACGATCC  180
  41 -P--L--T--T--N--N--G--G--A--E--S--Y--P--F--T--S--Q--K--R--S-   60

 181 CTGGAAGAAGGAGATGAACCCGATGCCAAGAAGGTAGCATCACAGAGTGAAACTATTGGA  240
  61 -L--E--E--G--D--E--P--D--A--K--K--V--A--S--Q--S--E--T--I--G-   80

 241 GCTCAGCTAGCTGCTCTGTCCCAGCAAAGTGTAAGGCCCTCCACAATGACAGAAGAGTGC  300
  81 -A--Q--L--A--A--L--S--Q--Q--S--V--R--P--S--T--M--T--E--E--C-  100

 301 AGGGTGCCTGATAGCATGGTTGGGCTCATCATTGGGCGAGGAGGCGAACAGATTAACAAA  360
 101 -R--V--P--D--S--M--V--G--L--I--I--G--R--G--G--E--Q--I--N--K-  120

 361 ATTCAGCAAGAATCTGGCTGCAAAGTCCAAATTGCTCATGACAGCGTGGGTCTGCCAGAA  420
 121 -I--Q--Q--E--S--G--C--K--V--Q--I--A--H--D--S--V--G--L--P--E-  140

 421 AGAAGTATTTCCCTCACAGGATCACCCGATGCCATACAGAGAGCCAGGGCACTTCTAGAT  480
 141 -R--S--I--S--L--T--G--S--P--D--A--I--Q--R--A--R--A--L--L--D-  160

 481 GATATTGTGTCCAGAGGTCACGAGTCAACCAACGGTCAGTCAAGTTCCATGCAAGAGATG  540
 161 -D--I--V--S--R--G--H--E--S--T--N--G--Q--S--S--S--M--Q--E--M-  180
```

[0846]

```
 541 ATAATCCCTGCTGGAAAGGCTGGCCTTATTATCGGCAAAGGAGGAGAGACTATCAAACAA  600
 181 -I--I--P--A--G--K--A--G--L--I--I--G--K--G--G--E--T--I--K--Q-  200

 601 CTGCAGGAGCGAGCTGGAGTCAAAATGATTCTTATCCAAGATGCGTCGCAGCCACCCAAC  660
 201 -L--Q--E--R--A--G--V--K--M--I--L--I--Q--D--A--S--Q--P--P--N-  220

 661 ATAGATAAACCTCTTCGTATCATTGGAGACCCATACAAAGTCCAGCAAGCTAAGGAGATG  720
 221 -I--D--K--P--L--R--I--I--G--D--P--Y--K--V--Q--Q--A--K--E--M-  240

 721 GTTAATGAGATCCTACAGGAGAGGGATCATCAGGGTTTTGGAGAGAGGAACGAATATGGA  780
 241 -V--N--E--I--L--Q--E--R--D--H--Q--G--F--G--E--R--N--E--Y--G-  260

 781 TCAAGGATGGGAGGAGGGGGCATAGAAATAGCTGTCCCGCGGCACTCTGTGGGAGTTGTG  840
 261 -S--R--M--G--G--G--G--I--E--I--A--V--P--R--H--S--V--G--V--V-  280

 841 ATTGGTCGCAGTGGAGAGATGATCAAGAAGATCCAGAGTGATGCTGGCGTGAAAATACAG  900
 281 -I--G--R--S--G--E--M--I--K--K--I--Q--S--D--A--G--V--K--I--Q-  300

 901 TTTAAACCAGATGATGGTACAGGTCCTGATAAGATTGCTCATATTATGGGTCCACCAGAC  960
 301 -F--K--P--D--D--G--T--G--P--D--K--I--A--H--I--M--G--P--P--D-  320

 961 CAGTGTCAGCACGCTGCCTCGATCATCACTGACCTGCTACAGAGCATCCGTGCCAGAGAG 1020
 321 -Q--C--Q--H--A--A--S--I--I--T--D--L--L--Q--S--I--R--A--R--E-  340

1021 GAGGGTGGGCAAGGGGGTCCACCGGGTCCCGGTGCTGGTATGCCACCTGGTGGCCGAGGG 1080
 341 -E--G--G--Q--G--G--P--P--G--P--G--A--G--M--P--P--G--G--R--G-  360
```

```
1081 CAGGGTAGAGGCCAAGGGAACTGGGGTCCACCAGGAGGTGAGATGACTTTCTCCATCCCT 1140
 361 -Q--G--R--G--Q--G--N--W--G--P--P--G--G--E--M--T--F--S--I--P- 380

1141 GCTCACAAATGTGGGCTTGTTATTGGCAGAGGAGGAGAGAATGTCAAGTCCATCAACCAG 1200
 381 -A--H--K--C--G--L--V--I--G--R--G--G--E--N--V--K--S--I--N--Q- 400

1201 CAAACTGGTGCATTTGTGGAGATATCTCGTCAGCCACCTCCAAACGGTGACCCGAATTTC 1260
 401 -Q--T--G--A--F--V--E--I--S--R--Q--P--P--P--N--G--D--P--N--F- 420

1261 AAACTGTTCACCATCAGAGGGTCTCCACAACAGATAGATCATGCAAAGCAGCTTATAGAA 1320
 421 -K--L--F--T--I--R--G--S--P--Q--Q--I--D--H--A--K--Q--L--I--E- 440

1321 GAGAAGATTGAGGCTCCATTGTGTCCTGTGGGTGGTGGTCCTGGTCCAGGAGGGCCACCT 1380
 441 -E--K--I--E--A--P--L--C--P--V--G--G--G--P--G--P--G--G--P--P- 460

1381 GGTCCAATGGGTCCCTATAATCCGAACCCTTATAATGCAGGGCCTCCTGGTGGAGCTCCT 1440
 461 -G--P--M--G--P--Y--N--P--N--P--Y--N--A--G--P--P--G--G--A--P- 480

1441 CATGGAGCTGCACCAGGTGGTCCCCAGTATTCTCAGGGTTGGGGAAATGCCTATCAGCAG 1500
 481 -H--G--A--A--P--G--G--P--Q--Y--S--Q--G--W--G--N--A--Y--Q--Q- 500

1501 TGGCAAGCCCCAAATCCATATGACCCCAATAAGGCCGCAGCAGACCCAAATGCAGCATGG 1560
 501 -W--Q--A--P--N--P--Y--D--P--N--K--A--A--A--D--P--N--A--A--W- 520

[0847]
1561 GCAGCCTACTATGCACAATACTATGGGCAGCAGCCCGGGGGCACAATGCCAGCTCAGAAT 1620
 521 -A--A--Y--Y--A--Q--Y--Y--G--Q--Q--P--G--G--T--M--P--A--Q--N- 540

1621 CCAGGAGCTCCTGCAGCAGGAGCATCACCAGGAGACCAGAGCCAGGCAGCCCAGACTGCT 1680
 541 -P--G--A--P--A--A--G--A--S--P--G--D--Q--S--Q--A--A--Q--T--A- 560

1681 GGGGGTCAGCCAGACTACACTAAGGCTTGGGAAGAGTATTATAAGAAGATGGGCATGAGC 1740
 561 -G--G--Q--P--D--Y--T--K--A--W--E--E--Y--Y--K--K--M--G--M--S- 580

1741 ACAGCAGCAGCCCCCACAGCAGCTGCAGCAGGAGGAGCTGCACCTGGTGGCCAGCAGGAC 1800
 581 -T--A--A--A--P--T--A--A--A--A--G--G--A--A--P--G--G--Q--Q--D- 600

1801 TACAGTGCAGCCTGGGCTGAGTACTACAGACAGCAGGCTGCCTACTATGAACAGACAGGC 1860
 601 -Y--S--A--A--W--A--E--Y--Y--R--Q--Q--A--A--Y--Y--E--Q--T--G- 620

1861 CAGGCTCCTGGACAGGCAGCTGCTCCACAGCAGGGACAACAGAGTACGTTGGAACTGTTT 1920
 621 -Q--A--P--G--Q--A--A--A--P--Q--Q--G--Q--Q--S--T--L--E--L--F- 640

1921 TTTTGTTTTGTTTTTGTTTTTTTTAATATAAACCAGTTTTTTTGTCTTTTTTATTCCTCC 1980
 641 -F--C--F--V--F--V--F--F--N--I--N--Q--F--F--C--L--F--Y--S--S- 660

1981 CATTTGTTTTGTTTTTTACAGCTTGTTTTTAAATACTTAAGTAAAATGCCTAAAATGAAA 2040
 661 -H--L--F--C--F--L--Q--L--V--F--K--Y--L--S--K--M--P--K--M--K- 680

2041 GTTATCCTTTCAAGTTTAATGTTTTTATTCATATTTGAAAGTTTT                 2085
 681 -V--I--L--S--S--L--M--F--L--F--I--F--E--S--F-                 695
```

[0848] 序列号97和99(KHSRP突变等位基因-17nt缺失)

[0849] 长度:2085bp(-17bp)和410aa

[0850] 类型:cDNA(序列号:97)和蛋白(序列号:99)

[0851] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCTGATTACAGCTCTCTGCCATCAAATGGAGTCGGAGCAGGAATGAAAAACGACGCT   60
   1 -M--S--D--Y--S--S--L--P--S--N--G--V--G--A--G--M--K--N--D--A-   20

  61 TTCGCAGATGCCGTTCAGCGAGCCAGACAGATTGCAGCTAAAATTGGTGGTGACGGTGTG  120
  21 -F--A--D--A--V--Q--R--A--R--Q--I--A--A--K--I--G--G--D--G--V-   40

 121 CCCCTGACAACAAACAACGGAGGAGCTGAGAGCTATCCGTTCACATCACAGAAACGATCC  180
  41 -P--L--T--T--N--N--G--G--A--E--S--Y--P--F--T--S--Q--K--R--S-   60

 181 CTGGAAGAAGGAGATGAACCCGATGCCAAGAAGGTAGCATCACAGAGTGAAACTATTGGA  240
  61 -L--E--E--G--D--E--P--D--A--K--K--V--A--S--Q--S--E--T--I--G-   80

 241 GCTCAGCTAGCTGCTCTGTCCCAGCAAAGTGTAAGGCCCTCCACAATGACAGAAGAGTGC  300
  81 -A--Q--L--A--A--L--S--Q--Q--S--V--R--P--S--T--M--T--E--E--C-  100

 301 AGGGTGCCTGATAGCATGGTTGGGCTCATCATTGGGCGAGGAGGCGAACAGATTAACAAA  360
 101 -R--V--P--D--S--M--V--G--L--I--I--G--R--G--G--E--Q--I--N--K-  120

 361 ATTCAGCAAGAATCTGGCTGCAAAGTCCAAATTGCTCATGACAGCGTGGGTCTGCCAGAA  420
 121 -I--Q--Q--E--S--G--C--K--V--Q--I--A--H--D--S--V--G--L--P--E-  140

 421 AGAAGTATTTCCCTCACAGGATCACCCGATGCCATACAGAGAGCCAGGGCACTTCTAGAT  480
 141 -R--S--I--S--L--T--G--S--P--D--A--I--Q--R--A--R--A--L--L--D-  160

 481 GATATTGTGTCCAGAGGTCACGAGTCAACCAACGGTCAGTCAAGTTCCATGCAAGAGATG  540
 161 -D--I--V--S--R--G--H--E--S--T--N--G--Q--S--S--S--M--Q--E--M-  180

 541 ATAATCCCTGCTGGAAAGGCTGGCCTTATTATCGGCAAAGGAGGAGAGACTATCAAACAA  600
 181 -I--I--P--A--G--K--A--G--L--I--I--G--K--G--G--E--T--I--K--Q-  200

 601 CTGCAGGAGCGAGCTGGAGTCAAAATGATTCTTATCCAAGATGCGTCGCAGCCACCCAAC  660
 201 -L--Q--E--R--A--G--V--K--M--I--L--I--Q--D--A--S--Q--P--P--N-  220

 661 ATAGATAAACCTCTTCGTATCATTGGAGACCCATACAAAGTCCAGCAAGCTAAGGAGATG  720
 221 -I--D--K--P--L--R--I--I--G--D--P--Y--K--V--Q--Q--A--K--E--M-  240

 721 GTTAATGAGATCCTACAGGAGAGGGATCATCAGGGTTTTGGAGAGAGGAACGAATATGGA  780
 241 -V--N--E--I--L--Q--E--R--D--H--Q--G--F--G--E--R--N--E--Y--G-  260

 781 TCAAGGATGGGAGGAGGGGGCATAGAAATAGCTGTCCCGCGGCACTCTGTGGGAGTTGTG  840
 261 -S--R--M--G--G--G--G--I--E--I--A--V--P--R--H--S--V--G--V--V-  280

 841 ATTGGTCGCAGTGGAGAGATGATCAAGAAGATCCAGAGTGATGCTGGCGTGAAAATACAG  900
 281 -I--G--R--S--G--E--M--I--K--K--I--Q--S--D--A--G--V--K--I--Q-  300

 901 TTTAAACCAGATGATGGTACAGGTCCTGATAAGATTGCTCATATTATGGGTCCACCAGAC  960
 301 -F--K--P--D--D--G--T--G--P--D--K--I--A--H--I--M--G--P--P--D-  320

 961 CAGTGTCAGCACGCTGCCTCGATCATCACTGACCTGCTACAGAGCATCCGTGCCAGAGAG 1020
 321 -Q--C--Q--H--A--A--S--I--I--T--D--L--L--Q--S--I--R--A--R--E-  340

1021 GAGGGTGGGCAAGGGGGTCCACCGGGTCCCGGTGCTGGTATGCCACCTGGTGGCCGAGGG 1080
 341 -E--G--G--Q--G--G--P--P--G--P--G--A--G--M--P--P--G--G--R--G-  360

1081 CAGGGTAGAGGCCAAGGGAACTGGGGTGGTGAGATGACTTTCTCCATCCCTGCTCACAAAT 1140
 361 -Q--G--R--G--Q--G--N--W--G--G--E--M--T--F--S--I--P--A--H--K--  380

1141 GTGGGCTTGTTATTGGCAGAGAATGTCAAGTCCATCAACCAGCAAACTGGTGCATTTGTGG 1200
 381 -C--G--L--V--I--G--R--E--C--Q--V--H--Q--P--A--N--W--C--I--C--  400

1201 AGATATCTCGTCAGCCACCTCCAAACGGTGACCCGAATTTCAAACTGTTCACCATCAGAGG 1260
 401 G--D--I--S--S--A--T--S--K--R--*                               410
```

[0852]

[0853] 序列号100和102(野生型DHX9)

[0854] 长度:4280bp和1286aa

[0855] 类型:cDNA(序列号:100)和蛋白(序列号:102)

[0856] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 GACGATTCTCCCTCCGGCCTGAGGGGGCGCTGATGCACCGGGAGTTTATTTATTTTTTAA   60
     ............................................................
  61 CCGAAAGTGAAGTGCAGCCGGAGGAAGCCAAGGCTGCTAGGCTACCGGTGCTTAGCTGCT  120
     ............................................................
 121 GAAGTCTGGAGCAGCTTTTGCATTTTTCTGACCTGACTATTAACGGGTTCACGGAATAGG  180
     ............................................................
 181 AGGACCCTCCTGTCAGTCCACCATGGCGGACATCAAGAACTTCCTGTACGCCTGGTGTGG  240
     ......................-M--A--D--I--K--N--F--L--Y--A--W--C--G   13

 241 GAAAAAGAAGCTGACTCCAAACTACGACATCCGAGCAGCGGGCAACAAAAACAGGCAGAA  300
  13 --K--K--K--L--T--P--N--Y--D--I--R--A--A--G--N--K--N--R--Q--K   33

 301 GTTTATGTGTGAGGTCCGAGTCGATGGCTTCAACTACATTGGGATGGGAAACTCCACCAA  360
  33 --F--M--C--E--V--R--V--D--G--F--N--Y--I--G--M--G--N--S--T--N   53

 361 TAAGAAGGACGCGCAGACCAACGCCGCCCGCGACTTTGTCAACTATCTGGTCCGAATAGG  420
  53 --K--K--D--A--Q--T--N--A--A--R--D--F--V--N--Y--L--V--R--I--G   73

 421 AGAGATGAACGCAGCAGAGGTCCCGGCCATCGGGGTGAGCACGCCCATCGCAGATCAACC  480
  73 --E--M--N--A--A--E--V--P--A--I--G--V--S--T--P--I--A--D--Q--P   93

 481 TGATGCAGCTGGAGATGCTGGCTTTGGAAACCTCCCTTCTAGCGGTCCTCTACCACCTCA  540
  93 --D--A--A--G--D--A--G--F--G--N--L--P--S--S--G--P--L--P--P--H  113

 541 CCTGGTAGTGAAAGCTGAGCAAGGGGACGGCAGCGTCAGTGGGCCGGTTCCAGGAGTGAC  600
 113 --L--V--V--K--A--E--Q--G--D--G--S--V--S--G--P--V--P--G--V--T  133
```

[0857]

```
 601 CGGACTGGGTTATGCAGGAGGAGGAAACTCCGGTTGGGGCAGAGGAGGAAGTGACGGAGG  660
 133 --G--L--G--Y--A--G--G--G--N--S--G--W--G--R--G--G--S--D--G--G  153

 661 AGCTCAGTGGGACCGAGGAGCCAACCTGAAGGAGTATTACGCCAAGAGAGACGAACAGGA  720
 153 --A--Q--W--D--R--G--A--N--L--K--E--Y--Y--A--K--R--D--E--Q--E  173

 721 AGCACAGGCGACTCTGGAGTCGGAGGAAGTGGATCTGAACGCTAACCTTCACGGAAACTG  780
 173 --A--Q--A--T--L--E--S--E--E--V--D--L--N--A--N--L--H--G--N--W  193

 781 GACTCTGGAGAACGCCAAGGCCCGTCTGAACCAGTTCTTCCAGAAGGAGAAAACCAGTGC  840
 193 --T--L--E--N--A--K--A--R--L--N--Q--F--F--Q--K--E--K--T--S--A  213

 841 TGAGTATAAATACAGCCAAGTGGGACCGGACCACAACAGGAGCTTCATAGCAGAGATGCA  900
 213 --E--Y--K--Y--S--Q--V--G--P--D--H--N--R--S--F--I--A--E--M--Q  233

 901 GCTTTTTGTGAAGCAGCTTGGCAGAAGGATCACGGCTCGAGAGCACGGCTCCAACAAGAA  960
 233 --L--F--V--K--Q--L--G--R--R--I--T--A--R--E--H--G--S--N--K--K  253

 961 GCTGGCGGCTCAGTCGTGCGCTCTGTCTCTGGTCCGACAGCTGTATCACCTGGGAGTCAT 1020
 253 --L--A--A--Q--S--C--A--L--S--L--V--R--Q--L--Y--H--L--G--V--I  273

1021 CGAGGCGTACTCTGGGGTCACCAAGAAGAAGGAGGGAGAAACTTTGGAGGCGTTTGAGGT 1080
 273 --E--A--Y--S--G--V--T--K--K--E--G--E--T--L--E--A--F--E--V  293

1081 CAACGTGTCTCCAGACCTGCAGCAGCAGCTGGCCTCTGTGGTCCAGGAGCTCGGAGTCAG 1140
 293 --N--V--S--P--D--L--Q--Q--Q--L--A--S--V--V--Q--E--L--G--V--S  313
```

```
1141 CGTCCCCCCACCGCCTGCAGACCCCAGCAGCCCGGTGTCTCTGGCTCAGGGGAAGCTGGC 1200
 313 --V--P--P--P--P--A--D--P--S--S--P--V--S--L--A--Q--G--K--L--A  333

1201 GTACTTCGAGCCGTCACAGAGGCAGACCGGAGCCGGAGTCGTCCCCTGGTCGCCTCCTCA 1260
 333 --Y--F--E--P--S--Q--R--Q--T--G--A--G--V--V--P--W--S--P--P--Q  353

1261 GGTCAACTGGAACCCCTGGACCAGCAGCAACATCGACGAGGGGCCGCTGGCCTACTGCAC 1320
 353 --V--N--W--N--P--W--T--S--S--N--I--D--E--G--P--L--A--Y--C--T  373

1321 TCCAGAGCAGATCAGCGGCGACCTGCACGACGAGCTGAAGTACCAGCTGGAGCATGATGA 1380
 373 --P--E--Q--I--S--G--D--L--H--D--E--L--K--Y--Q--L--E--H--D--E  393

1381 AAACCTGCAGAAGATCCTGATGGAACGCGAGCAGCTGCCCGTCAAACAGTTTGAGGAGGA 1440
 393 --N--L--Q--K--I--L--M--E--R--E--Q--L--P--V--K--Q--F--E--E--E  413

1441 GATCATGGCGGCCATCGACAAAAGCCCTGTGGTGATCATCAGAGGAGCGACGGGCTGCGG 1500
 413 --I--M--A--A--I--D--K--S--P--V--V--I--I--R--G--A--T--G--C--G  433

1501 TAAAACCACTCAGGTTCCTCAGTACATCCTGGACCGCTTCATCAAGGGGGGCCGAGCATC 1560
 433 --K--T--T--Q--V--P--Q--Y--I--L--D--R--F--I--K--G--G--R--A--S  453

1561 GGACTGCAACATCGTGGTCACCCAGCCCAGACGGATCAGCGCCGTGTCCGTGGCTGAGAG 1620
 453 --D--C--N--I--V--V--T--Q--P--R--R--I--S--A--V--S--V--A--E--R  473

1621 GGTCGCCTTTGAGAGAGCAGAGGATCTTGGGAAAAGCTGTGGCTACAGCGTCCGATTTGA 1680
 473 --V--A--F--E--R--A--E--D--L--G--K--S--C--G--Y--S--V--R--F--E  493

1681 GTCCGTCCTCCCTCGACCCCACGCCAGTGTCCTCTTCTGCACCGTCGGTGTTCTTCTGCG 1740
 493 --S--V--L--P--R--P--H--A--S--V--L--F--C--T--V--G--V--L--L--R  513

[0858]
1741 GAAGCTGGAAGCAGGAATCAGAGGCATCAGTCACGTCATCGTTGATGAGATCCACGAGAG 1800
 513 --K--L--E--A--G--I--R--G--I--S--H--V--I--V--D--E--I--H--E--R  533

1801 AGACATCAACACGGACTTCCTCATGGTGGTCCTCAGAGACGTGGTCCAGGCCTACCCGGA 1860
 533 --D--I--N--T--D--F--L--M--V--V--L--R--D--V--V--Q--A--Y--P--D  553

1861 CGTGCGCATCATCCTCATGTCGGCCACCATCGACACCACCATGTTCAGAGAGTACTTCTT 1920
 553 --V--R--I--I--L--M--S--A--T--I--D--T--T--M--F--R--E--Y--F--F  573

1921 CAGCTGCCCCGTCATTGAGGTGTTTGGTCGCACCTTCCCCGTCCAAGAGTATTTCCTGGA 1980
 573 --S--C--P--V--I--E--V--F--G--R--T--F--P--V--Q--E--Y--F--L--E  593

1981 GGACTGCATCCAGATGACAAAGTTTGTGCCTCCACCGATGGACCGAAAGAAGAAAGACAA 2040
 593 --D--C--I--Q--M--T--K--F--V--P--P--P--M--D--R--K--K--K--D--K  613

2041 AGACGAGGAGGGAGGAGACGACGACACTAACTGTAATGTGATCTGCGGGCCGGAGTATAC 2100
 613 --D--E--E--G--G--D--D--D--T--N--C--N--V--I--C--G--P--E--Y--T  633

2101 GCCGGAGACGAAGCATTCGATGGCTCAGATCAATGAGAAGGAAACGTCCTTCGAGCTGGT 2160
 633 --P--E--T--K--H--S--M--A--Q--I--N--E--K--E--T--S--F--E--L--V  653

2161 GGAGGCGCTACTGAAGTACATCGAGACGCTGCAGGTGGCCGGCGCCGTGCTCGTCTTCCT 2220
 653 --E--A--L--L--K--Y--I--E--T--L--Q--V--A--G--A--V--L--V--F--L  673

2221 CCCCGGCTGGAACCTCATCTACTCCATGCAGAGACACCTGGAGAGCAACCCACACTTCGG 2280
 673 --P--G--W--N--L--I--Y--S--M--Q--R--H--L--E--S--N--P--H--F--G  693

2281 AAGCAACCGGTACCGAATCCTGCCGCTGCACTCTCAGATACCTCGAGAGGAGCAGAGGAG 2340
 693 --S--N--R--Y--R--I--L--P--L--H--S--Q--I--P--R--E--E--Q--R--R  713

2341 GGTGTTTGAACCAGTTCCTGATGACATCAGAAAGGTGATCCTGTCCACCAACATCGCCGA 2400
 713 --V--F--E--P--V--P--D--D--I--R--K--V--I--L--S--T--N--I--A--E  733
```

```
2401 GACGAGCATCACCATCAACGATGTCGTCTACGTCGTCGACTCCTGCAAGCAGAAAGTGAA 2460
 733 --T--S--I--T--I--N--D--V--V--Y--V--V--D--S--C--K--Q--K--V--K  753

2461 GCTGTTCACCTCCCACAACAATATGACCAACTACGCCACCGTCTGGGCCTCCAAGACCAA 2520
 753 --L--F--T--S--H--N--N--M--T--N--Y--A--T--V--W--A--S--K--T--N  773

2521 CCTGGAGCAGAGGAAAGGTCGAGCCGGCAGAGTCCGACCGGGGTTCTGCTTCCACCTCTG 2580
 773 --L--E--Q--R--K--G--R--A--G--R--V--R--P--G--F--C--F--H--L--C  793

2581 CAGCCGCGCTCGATTCGACAAGTTGGAGACTCACATGACTCCAGAGATCTTCAGAACTCC 2640
 793 --S--R--A--R--F--D--K--L--E--T--H--M--T--P--E--I--F--R--T--P  813

2641 GCTGCATGAAATTGCCCTGAGCATCAAACTGCTGAGACTCGGAGGCATCGGCCACTTCCT 2700
 813 --L--H--E--I--A--L--S--I--K--L--L--R--L--G--G--I--G--H--F--L  833

2701 GTCTAAGGCCATCGAGCCACCGCCGCTGGACGCCGTCATCGAGGCCGAACACACCTTGAA 2760
 833 --S--K--A--I--E--P--P--P--L--D--A--V--I--E--A--E--H--T--L--K  853

2761 AGAGCTGGACGCCCTGGACTCCAACGACGAGCTGACCCCTCTGGGGCGGATTCTGGCTCG 2820
 853 --E--L--D--A--L--D--S--N--D--E--L--T--P--L--G--R--I--L--A--R  873

2821 GCTGCCCATCGAACCTCGGCTGGGGAAGATGATGATCATGGGCTGCATCTTCCACGTCGG 2880
 873 --L--P--I--E--P--R--L--G--K--M--M--I--M--G--C--I--F--H--V--G  893

2881 CGATGCAATGTGCACCATCTCGGCCGCCACCTGTTTCCCAGAGCCTTTCATCAGCGAGGG 2940
 893 --D--A--M--C--T--I--S--A--A--T--C--F--P--E--P--F--I--S--E--G  913

2941 GAAGCGTCTCGGCTTCGTGCACAGAAACTTTGCTGGCAGTCGTTTCTCGGATCACGTGGC 3000
 913 --K--R--L--G--F--V--H--R--N--F--A--G--S--R--F--S--D--H--V--A  933

[0859]
3001 GCTGCTGTCCGTGTTCCAGGCCTGGGACGACGTCAGGATTAACGGAGAGGAGGCGGAGAG 3060
 933 --L--L--S--V--F--Q--A--W--D--D--V--R--I--N--G--E--E--A--E--S  953

3061 TCGCTTCTGTGACCACAAACGTCTCAACATGTCGACTCTGAGGATGACCTGGGAGGCCAA 3120
 953 --R--F--C--D--H--K--R--L--N--M--S--T--L--R--M--T--W--E--A--K  973

3121 AGTCCAGCTGAAGGAGATCCTGGTGAACTCTGGATTTCCTGAAGAGTGTCTCATGACGCA 3180
 973 --V--Q--L--K--E--I--L--V--N--S--G--F--P--E--E--C--L--M--T--Q  993

3181 GATGTTCAACACGGTGGGGCCGGACAACAACCTGGACGTGGTGGTCTCTCTGCTCACCTT 3240
 993 --M--F--N--T--V--G--P--D--N--N--L--D--V--V--V--S--L--L--T--F 1013

3241 CGGCTCGTACCCCAACGTCTGCTACCACAAAGAGAAGAGGAAGATCCTGACCACCGAGGG 3300
1013 --G--S--Y--P--N--V--C--Y--H--K--E--K--R--K--I--L--T--T--E--G 1033

3301 GCGCAACGCCCTCATCCACAAATCCTCCGTCAACTGTCCCTTCAGCAGCCACGACATGAT 3360
1033 --R--N--A--L--I--H--K--S--S--V--N--C--P--F--S--S--H--D--M--I 1053

3361 CTACCCGTCGCCATTCTTCGTCTTCGGCGAGAAGATCCGAACCAGAGCGATCTCGGCCAA 3420
1053 --Y--P--S--P--F--F--V--F--G--E--K--I--R--T--R--A--I--S--A--K 1073

3421 AGGGATGACTCTGGTCAGTCCTCTGCAGCTGCTGCTGTTCGCCTGCAAGAAGGTGACCTC 3480
1073 --G--M--T--L--V--S--P--L--Q--L--L--L--F--A--C--K--K--V--T--S 1093

3481 TAACGGAGAGATCGTGGAGCTCGACGACTGGATCAAACTGAAGATTGCTCACGAGGTGGC 3540
1093 --N--G--E--I--V--E--L--D--D--W--I--K--L--K--I--A--H--E--V--A 1113

3541 GGGGAGCATCCTGGCTCTGCGGGCCGCCCTGGAGGCGGTGGTGGTGGAGGTGACCAAAGA 3600
1113 --G--S--I--L--A--L--R--A--A--L--E--A--V--V--V--E--V--T--K--D 1133

3601 CCCGGAGTACATCAGACAGATGGACCAAACCAACGAGCGGCTCCTGAACGTCATCAGACA 3660
1133 --P--E--Y--I--R--Q--M--D--Q--T--N--E--R--L--L--N--V--I--R--H 1153
```

```
3661 CGTCTCCAAACCGTCGGCGGCCGGGCTCAACATGATGGCCAACAACCAGAGGATGGGAGA   3720
1153 --V--S--K--P--S--A--A--G--L--N--M--M--A--N--N--Q--R--M--G--D   1173

3721 CGGTCCACGACCTCCGAAGATGCCGCGTTTTGATGGAGGAGGCGGCGGCAGAGGTTACCA   3780
1173 --G--P--R--P--P--K--M--P--R--F--D--G--G--G--G--R--G--Y--Q      1193

3781 AGGAGGAGGAGGCTACAGGGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGATACAGAGGAGGTGGAGGATA   3840
1193 --G--G--G--G--Y--R--G--G--G--G--G--G--G--Y--R--G--G--G--G--Y   1213

3841 TGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGATACAGAGGAGGTGGAGGATATGGAGGAGGAGGAGGAGG   3900
1213 --G--G--G--G--G--G--G--Y--R--G--G--G--G--Y--G--G--G--G--G--G   1233

3901 GGGATACAGAGGAGGTGGCGGAGGATACAGGGGTGGTGGAGGATATGGAGGATACAGAGG   3960
1233 --G--Y--R--G--G--G--G--Y--R--G--G--G--G--Y--G--G--Y--R--G      1253
```

[0860]

```
3961 AGGTGGTGGTTATGGTGGTGGAGGAGGTGGTTATAGGGGAGGTGGTTATAGAGGAGGAGG   4020
1253 --G--G--G--Y--G--G--G--G--G--Y--R--G--G--G--Y--R--G--G--G      1273

4021 CAGCAGTTATGGAGGAGGTGGAGGATGCAGAGGAGGATACTAAGGTGAAAAATCAGTCAT   4080
1273 --S--S--Y--G--G--G--G--C--R--G--G--Y--*-.................      1286

4081 CTCGTGTCTTCTTCTTCTTCTTCTTTAGTTTATTGAGTAAAAGATTAATGTGAAATCGAC   4140
     ............................................................
4141 CGTTGCAGTTAAAACGATGTTTGACTGGAACCTGCTGATGTTTGTTTTTATGGTCTGTAA   4200
     ............................................................
4201 ATGAAAACGTCCCCAATAAATCTGTCATGTTCCCTCATCGCGTTGGCTCATTTTTCCTCT   4260
     ............................................................
4261 TCACACATTTAAAGTCTGAA                                         4280
     ....................
```

[0861] 序列号101和103(DHX9突变等位基因-7nt缺失)

[0862] 长度:4280bp(-7bp)和82aa

[0863] 类型:cDNA(序列号:101)和蛋白(序列号:103)

[0864] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 GACGATTCTCCCTCCGGCCTGAGGGGGCGCTGATGCACCGGGAGTTTATTTATTTTTTAA     60
     ............................................................
  61 CCGAAAGTGAAGTGCAGCCGGAGGAAGCCAAGGCTGCTAGGCTACCGGTGCTTAGCTGCT    120
     ............................................................
 121 GAAGTCTGGAGCAGCTTTTGCATTTTTCTGACCTGACTATTAACGGGTTCACGGAATAGG    180
     ............................................................
 181 AGGACCCTCCTGTCAGTCCACCATGGCGGACATCAAGAACTTCCTGTACGCCTGGTGTGG    240
     ......................-M--A--D--I--K--N--F--L--Y--A--W--C--G     13
```

[0865]

```
 241 GAAAAAGAAGCTGACTCCAAACTACGACATCCGAGCAGCGGGCAACAAAAACAGGCAGAA    300
  13 --K--K--K--L--T--P--N--Y--D--I--R--A--A--G--N--K--N--R--Q--K     33

 301 GTTTATGTGTGAGGTCCGAGTCGATGGCTTCAACTACATTGGGATGGGAAACTCCACCAA    360
  33 --F--M--C--E--V--R--V--D--G--F--N--Y--I--G--M--G--N--S--T--N     53

 361 TAAGAAGGACGCGCAGACCAACGCCGCCCGCGACTTTGTCAACTATCTGGTCCGAATAGG    420
  53 --K--K--D--A--Q--T--N--A--A--R--D--F--V--N--Y--L--V--R--I--G     73

 421 AGAGATGAACGCAGCAGAGGTCCCGGGGTGAGCACGCCCATCGCAGATCAACCTGATGCA    480
  73 --E--M--N--A--A--E--V--P--G--*-                                 82
```

[0866] 序列号104和106(野生型TIA1)

[0867] 长度:3664bp和387aa

[0868] 类型:cDNA(序列号:104)和蛋白(序列号:106)

[0869] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 CCTGTGTGACACGTAGAGAATAAAAATGTGGGGGCGCATCTTTGTGTGTGGGAGCAGGAG    60
     ............................................................
  61 CGCTTGATTTTGGCTTAATTTCAGCGCGCAGGTTGACGCTGCTGACGCCGCTCCTCCGCC   120
     ............................................................
 121 ATCTTCAACTTCCTATTGTTTGCATCAGACTGAGGCTGTCTGCGGTGTGTGCCAGAGAGA   180
     ............................................................
 181 GCAGAGTCGACCGCGGATATATTATTAAATAGTAGATTTAGTCTTTACGTTCGGGTCGCT   240
     ............................................................
 241 AAAGTTCAGCACAAACCATTTGTATGTCACTGGATTAAAAGCTTTCTCAGGACGAAACCA   300
     ............................................................
 301 CTAAACCTTGATGATGGAGGACGATCAACCCAGAACCTTGTATGTGGGGAATCTGTCCAG   360
     ..........-M--M--E--D--D--Q--P--R--T--L--Y--V--G--N--L--S--R    17

 361 GGATGTCACCGAGCCCCTCATTCTGCAGGTCTTCACACAGATAGGCCCCTGCAAGAGCTG   420
  17 --D--V--T--E--P--L--I--L--Q--V--F--T--Q--I--G--P--C--K--S--C    37

 421 TAAAATGATAGTCGATACAGCTGGCAATGATCCGTACTGCTTCGTGGAGTTCTATGACCA   480
  37 --K--M--I--V--D--T--A--G--N--D--P--Y--C--F--V--E--F--Y--D--H    57

 481 CAGGCATGCTGCTGCCTCATTGGCAGCTATGAATGGAAGGAAAATAATGGGTAAGGAAGT   540
  57 --R--H--A--A--A--S--L--A--A--M--N--G--R--K--I--M--G--K--E--V    77

 541 CAAAGTCAACTGGGCCACGACACCAACCAGCCAGAAAAAAGACACAAGTAATCATTTTCA   600
  77 --K--V--N--W--A--T--T--P--T--S--Q--K--K--D--T--S--N--H--F--H    97

 601 TGTTTTTGTTGGCGACCTCAGCCCAGAAATAACCACAGAAGACGTCAAAGCTGCCTTTGG   660
[0870]
  97 --V--F--V--G--D--L--S--P--E--I--T--T--E--D--V--K--A--A--F--G   117

 661 TCCATTCGGCAGGATATCAGATGCTCGTGTTGTGAAAGACATGGCTACAGGGAAATCTAA   720
 117 --P--F--G--R--I--S--D--A--R--V--V--K--D--M--A--T--G--K--S--K   137

 721 AGGCTATGGCTTCGTGTCTTTCTTTAACAAATGGGATGCAGAGAATGCCATTCAGCACAT   780
 137 --G--Y--G--F--V--S--F--F--N--K--W--D--A--E--N--A--I--Q--H--M   157

 781 GGGGGGGCAGTGGTTAGGAGGCAGACAGATTCGAACTAACTGGGCCACAAGAAAGCCTCC   840
 157 --G--G--Q--W--L--G--G--R--Q--I--R--T--N--W--A--T--R--K--P--P   177

 841 CGCCCCAAAGACCACCCATGAAAATAACTCCAAGCATCTCTCTTTTGATGAAGTAGTGAA   900
 177 --A--P--K--T--T--H--E--N--N--S--K--H--L--S--F--D--E--V--V--N   197

 901 TCAGTCCAGCCCCAGTAACTGCACTGTGTACTGTGGTGGAGTCAGCACAGGACTGACGGA   960
 197 --Q--S--S--P--S--N--C--T--V--Y--C--G--G--V--S--T--G--L--T--E   217

 961 GCAACTAATGAGACAGACCTTCTCCCCCTTTGGACAAATCATGGAAGTCAGAGTTTTTCC  1020
 217 --Q--L--M--R--Q--T--F--S--P--F--G--Q--I--M--E--V--R--V--F--P   237

1021 TGACAAAGGATATTCATTTGTCAGGTTCAACTCCCATGAGTCAGCAGCCCATGCCATTGT  1080
 237 --D--K--G--Y--S--F--V--R--F--N--S--H--E--S--A--A--H--A--I--V   257

1081 GTCCGTGAATGGCTCTTCTATAGAGGGGCACATAGTCAAATGCTACTGGGGTAAAGAGAC  1140
 257 --S--V--N--G--S--S--I--E--G--H--I--V--K--C--Y--W--G--K--E--T   277

1141 CCCAGACATGATGAACTCCATGCAGCAGATGCCTGTGCCACAACAAAACAAGATGGGCTT  1200
```

```
 277 --P--D--M--M--N--S--M--Q--Q--M--P--V--P--Q--Q--N--K--M--G--F   297

1201 TGCTGCAGCTCAGCCTTATGGCCAGTGGGGACAGTGGTACGGCAATGGGCCCCAGATTGG  1260
 297 --A--A--A--Q--P--Y--G--Q--W--G--Q--W--Y--G--N--G--P--Q--I--G   317

1261 CCAGTATGTCCCCAACGGGTGGCAGGTCCCCACCTACGGTGTCTACGGGCAGGCTTGGAA  1320
 317 --Q--Y--V--P--N--G--W--Q--V--P--T--Y--G--V--Y--G--Q--A--W--N   337

1321 TCAGCAGGGCTTCAATCACTTACCGGCCAGTGCTGGGTGGACTGGCATGAGCGCCATCAG  1380
 337 --Q--Q--G--F--N--H--L--P--A--S--A--G--W--T--G--M--S--A--I--S   357

1381 TAACGGTGGGGTTATGGAGCCTACACAGGGATTGAATGGGAGTATGCTAGCCAACCAGCC  1440
 357 --N--G--G--V--M--E--P--T--Q--G--L--N--G--S--M--L--A--N--Q--P   377

1441 CGGTATGGGAGCCGCAGGATACCCCACACACTGATAAGTGGGCAGGGTGGGAGATTTGTC  1500
 377 --G--M--G--A--A--G--Y--P--T--H--*-.........................   387

1501 AACCATCAGCCTCTTGCTGGCTGTACGGTGCCCTGCGGGGCTGTGTAACACTGCCTCCAT  1560
      ............................................................
1561 TTTGTGGCAGGACTGAGACTTTACTGGGATGTGGAACCTAATGAGAAGGGTGACGTCTGT  1620
      ............................................................
1621 GGAGATGTAAATGGGATTTCTTGGGGTGGGCTGAGGTAACGGGAGCCAGGGAGCAGCAGT  1680
      ............................................................
1681 TTGACCCACACAGGTATTTACACCATTTGTGGTAGGAAAGACTGGCCATGAACCAGGGCT  1740
      ............................................................
1741 CTTACCATTTTTAAGTTAACTGTAAATGAATTATAAAACTGTAAAGGAGAATCTCTTTTT  1800
      ............................................................
1801 TTCCTGGGTTTTACAGATTGCCTCCATTTTCACTTCTTTCCTCTCGACCACTGAGAGGTT  1860
      ............................................................
1861 TCTTTTCTCTTTTTCTTTTTTTTGGAACTGAGTCATGCTAAGTTATGATCCTTAATTATC  1920
      ............................................................
1921 TGAGGAATGGAAATTTGTTCTAATTTTCTCTTGGATTAAAAACAATTGCAGGGATTGTTG  1980
      ............................................................
1981 CCACTGCTGTTTCTCTGTAAGGGCAGATTAATATTGCACAGTTCTTTCCTCTCTTGGATT  2040
      ............................................................
2041 TCCCAGAAAAATTTGACTACCAAGAGCATTTTTCTTTTTTTCTTTTCTTTTTTGCATTCC  2100
      ............................................................
2101 ATTTCTCCTTCATATCTTTCTGACAGCCTCAAAACTTTTTTCGCCACGTGTAAATAACCA  2160
      ............................................................
2161 TCCATTCATTTGAAACGATGTAAGTAAAATGCTACTGTTAACTGTGGGTGCTTGTTTTTC  2220
      ............................................................
2221 TTTTTTTTGTTTTTGTTTTGATAACTCGACAGTTAACTCGAACATTGTACGTAGCAGAGT  2280
      ............................................................
2281 GGCACCATCAAAGGTGACACTGGCACAGTGCAACACGCGACTCTTCCATGCAGGGATAAG  2340
      ............................................................

2341 ACAGCATTGCTATGCAGTGCATACTTTAAAATTTAACACGATTCAAACGTTAAAGTGTGA  2400
      ............................................................
2401 ACATGTTTGACACTTCTGATGTTTCTTTCTTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTAAATATCTA  2460
      ............................................................
2461 TTGAAACGCCAGTATTTTATATCAGACAAATCTGAGTGTATTCAGCTTTACACTTGCTCT  2520
      ............................................................
2521 TTTTGCCAGAGAGATGGAGAGGCCTACATTGTGTAACTGTTGCCTTATAGAGCTGGTTTC  2580
      ............................................................
2581 TTTTAGCTGACAAGATACTCTTTTTAATTAGGCAGTGCCTACAGACCTTTTCAGACCTTT  2640
      ............................................................
2641 TTGTTTCGAAAGGTGTTAGTCCTGAGAACCGATGACTCTGCTACTGTAATCAATGTTTTC  2700
      ............................................................
2701 TTGCTTTGTCCAATTAAAATGCTAATGCACATAAACCACACTTTGTGTTTGTTTGCCCCC  2760
      ............................................................
2761 TTTGTTTCTTTTTGGTCATATTAGAGCATCAAATGGAAAAACTGCATCTTGACAACTGTG  2820
      ............................................................
2821 TCCAAAACTCTAAGCACATCACACAAAACATCTGGAAAAGTCTTGCTGATCATAGCCTGC  2880
      ............................................................
```

[0871]

```
2881 CAGTACTTGACCACACGACCACATTTGTTATGAAGAAAACCTGCTGATCTGTATCATGGA 2940
     ............................................................
2941 GCAGTTCAGCCAAATGTGTGGGGTTTTTTTAAGCCACCGGTCGCTTTAATCTTCTAACAT 3000
     ............................................................
3001 CTGCAGCCTTGTGTGTGTTTAAGACATTAGATTCTGTCCGGCTGAACCAGAGGAACTTTA 3060
     ............................................................
3061 TTTGGTGCCAAAGCGCACAGATAACAGATATCTCACCAAAATGTAGAAATGTGGGCAAAC 3120
     ............................................................
3121 ATAAATCAGGTCATGTGATCCCAAAACTCTTAATGGCTTCAAAGGTGAAAATGAAGCACA 3180
     ............................................................
3181 TAAGTGTTTTTTATAATCATATTACAGTAAGTCAGTCACACTGCAGCTAAAACTAGAGCT 3240
     ............................................................
3241 TAAAAAAAAGAACTTAAAGCCTTAGTTTTAGGGCACTACGTGCATAAAATTTTACAGTTC 3300
     ............................................................
3301 ATAAAGTAAATGAGCCACAGCTGAGATGGATTCAGCACAAAAAATGTTGAAGATACAATT 3360
     ............................................................
3361 TTAATTTTAATAAAAACAAAACTGTGCCTTCAGGTTGTCTGTTTGACTTTAACATTCGGT 3420
     ............................................................
3421 TCATTAAAGCACTGGATTGTATTCATTTATTTACATCTCATTTATTCCAGTTCATAAAAC 3480
     ............................................................
3481 AAAAAGGATTTCCCACAGTTCTACCACCACCTTCTGGCTGGAGCGTTTTATAGTTTGTCA 3540
     ............................................................
3541 GAGGACATTTGGAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAGCACATCCATATGTTTTCTCAGA 3600
     ............................................................
3601 AAGTGATGTTTGTTCCAAACCCTAAAAACACAATGCAAAGACTTGCTGGGGATTATGTTT 3660
     ............................................................
3661 CAAT                                                          3664
     ....
```

[0872]

[0873] 序列号105和107(TIA1突变等位基因-10nt缺失)

[0874] 长度:3664bp(-10bp)和27aa

[0875] 类型:cDNA(序列号:105)和蛋白(序列号:107)

[0876] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 CCTGTGTGACACGTAGAGAATAAAAATGTGGGGGCGCATCTTTGTGTGTGGGAGCAGGAG   60
    ............................................................
 61 CGCTTGATTTTGGCTTAATTTCAGCGCGCAGGTTGACGCTGCTGACGCCGCTCCTCCGCC  120
    ............................................................
121 ATCTTCAACTTCCTATTGTTTGCATCAGACTGAGGCTGTCTGCGGTGTGTGCCAGAGAGA  180
    ............................................................
181 GCAGAGTCGACCGCGGATATATTATTAAATAGTAGATTTAGTCTTTACGTTCGGGTCGCT  240
    ............................................................
241 AAAGTTCAGCACAAACCATTTGTATGTCACTGGATTAAAAGCTTTCTCAGGACGAAACCA  300
    ............................................................
301 CTAAACCTTGATGATGGAGGACGATCAACCCAGAACCTTGTATGTGGGGAATCTGTCACC  360
    ..........-M--M--E--D--D--Q--P--R--T--L--Y--V--G--N--L--P--S   17

361 GAGCCCCTCATTCTGCAGGTCTTCACACAGATAGGCCCCTGCAAGAGCTGTAAAATGATA  420
 17 --S--P--S--F--C--R--S--S--H--R--*                            27
```

[0877]

[0878] 序列号108和110(野生型Igf2bp3)

[0879] 长度:2288bp和589aa

[0880] 类型:cDNA(序列号:108)和蛋白(序列号:110)生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGAATAAGCTATACATTGGCAACGTAAGCGCAGAGGCGAGCGAGGAGGACTTCGAAACT   60
   1 -M--N--K--L--Y--I--G--N--V--S--A--E--A--S--E--E--D--F--E--T-   20

  61 ATCTTTGAGCAGTGGAAGATTCCGCACAGTGGTCCATTTCTTGTCAAAACTGGCTATGCG  120
  21 -I--F--E--Q--W--K--I--P--H--S--G--P--F--L--V--K--T--G--Y--A-   40

 121 TTTGTGGATTGCCCGGACGAGAAGGCAGCAATGAAGGCCATCGATGTTCTTTCAGGTAAA  180
  41 -F--V--D--C--P--D--E--K--A--A--M--K--A--I--D--V--L--S--G--K-   60

 181 GTTGAACTTCACGGAAAAGTTCTTGAAGTGGAGCACTCGGTCCCTAAACGTCAAAGGAGC  240
  61 -V--E--L--H--G--K--V--L--E--V--E--H--S--V--P--K--R--Q--R--S-   80

 241 TGTAAGCTGCAGATCAGGAACATCCCGCCTCACATGCAGTGGGAGGTTTTGGATGGTATG  300
  81 -C--K--L--Q--I--R--N--I--P--P--H--M--Q--W--E--V--L--D--G--M-  100

 301 CTTGCTCAGTATGGTGCAGTACAGAGCTGTGAACAAGTAAACACTGATACAGAGACTGCA  360
 101 -L--A--Q--Y--G--A--V--Q--S--C--E--Q--V--N--T--D--T--E--T--A-  120

 361 GTTGTCAATGTTCGGTATGCTACCAAGGACCAGGCTAGGCTGGCAATGGAGAAGCTGAAT  420
 121 -V--V--N--V--R--Y--A--T--K--D--Q--A--R--L--A--M--E--K--L--N-  140

 421 GGATCTATGATGGAGAACTCTACCTTGAAAGTGTCCTATATCCCAGATGAGACAGCGACA  480
 141 -G--S--M--M--E--N--S--T--L--K--V--S--Y--I--P--D--E--T--A--T-  160

 481 CCAGAGGGTCCTCCAGCAGGGGGCCGGAGAGGCTTTAATGCCCGCGGACCCCCTCGGTCT  540
 161 -P--E--G--P--P--A--G--G--R--R--G--F--N--A--R--G--P--P--R--S-  180

 541 GGCTCTCCGGGTTTGGGCGCCCGGCCTAAAGTGCAGTCAGACATCCCGCTACGCATGCTG  600
 181 -G--S--P--G--L--G--A--R--P--K--V--Q--S--D--I--P--L--R--M--L-  200

[0881]
 601 GTTCCCACGCAGTTTGTAGGGGCAATCATTGGCAAGGAGGGTGCCACTATCCGCAACATC  660
 201 -V--P--T--Q--F--V--G--A--I--I--G--K--E--G--A--T--I--R--N--I-  220

 661 ACCAAACAGACCCACTCAAAGATTGACATCCACAGAAAAGAGAACGCAGGTGCTGCAGAG  720
 221 -T--K--Q--T--H--S--K--I--D--I--H--R--K--E--N--A--G--A--A--E-  240

 721 AAACCCATCACTATTCACTCAACCCCTGATGGCTGTTCGAACGCTTGCAAAACCATCATG  780
 241 -K--P--I--T--I--H--S--T--P--D--G--C--S--N--A--C--K--T--I--M-  260

 781 GACATCATGCAGAAGGAAGCCCTTGACACAAAGTTTACTGAGGAGATCCCACTAAAGATC  840
 261 -D--I--M--Q--K--E--A--L--D--T--K--F--T--E--E--I--P--L--K--I-  280

 841 CTTGCACACAACAGCTTTGTGGGAAGATTAATAGGTAAAGAAGGACGCAACCTGAAGAAA  900
 281 -L--A--H--N--S--F--V--G--R--L--I--G--K--E--G--R--N--L--K--K-  300

 901 ATTGAGCAGGAAACGGGGACCAAGATCACAATCTCACCTCTTCAGGACCTAACCCTGTAC  960
 301 -I--E--Q--E--T--G--T--K--I--T--I--S--P--L--Q--D--L--T--L--Y-  320

 961 AACCCAGAACGGACCATCACAGTAAAGGGCTCCATTGAGGCATGTGCAAAAGCTGAGGAG 1020
 321 -N--P--E--R--T--I--T--V--K--G--S--I--E--A--C--A--K--A--E--E-  340

1021 GAAGTGATGAAGAAGATCAGGGAATCCTATGAGAGTGACATGGCTGCTATGAACCTCCAA 1080
 341 -E--V--M--K--K--I--R--E--S--Y--E--S--D--M--A--A--M--N--L--Q-  360

1081 TCCAACTTGATTCCAGGCTTGAATCTGAATGCTTTAGGTTTGTTCCCCACTACAGCACCA 1140
 361 -S--N--L--I--P--G--L--N--L--N--A--L--G--L--F--P--T--T--A--P-  380

1141 GGCATGGGTCCCTCCATGTCCAGTATCACACCTCCTGGAGCCCATGGTGGATCCTCATCA 1200
 381 -G--M--G--P--S--M--S--S--I--T--P--P--G--A--H--G--G--S--S--S-  400

1201 TTTGGACAGGGACACCCAGAATCGGAGACTGTTCACCTGTTCATTCCTGCACTTGCAGTG 1260
 401 -F--G--Q--G--H--P--E--S--E--T--V--H--L--F--I--P--A--L--A--V-  420
```

```
1261 GGCGCCATCATTGGAAAACAGGGTCAACACATCAAACAGCTGTCACACTTTGCCGGAGCC 1320
 421 -G--A--I--I--G--K--Q--G--Q--H--I--K--Q--L--S--H--F--A--G--A- 440

1321 TCAATCAAGATCGCCCCTGCAGAAGGAATGGATGCCAAGCAGAGGATGGTTATCATTGTC 1380
 441 -S--I--K--I--A--P--A--E--G--M--D--A--K--Q--R--M--V--I--I--V- 460

1381 GGACCACCAGAGGCTCAGTTTAAGGCTCAGTGTCGAATCTTTGGCAAGTTAAAAGAAGAG 1440
 461 -G--P--P--E--A--Q--F--K--A--Q--C--R--I--F--G--K--L--K--E--E- 480

1441 AATTTCTTTGGACCTAAGGAAGAGGTGAAGCTGGAGGCGCATATCAAGGTTCCCGCCTTT 1500
 481 -N--F--F--G--P--K--E--E--V--K--L--E--A--H--I--K--V--P--A--F- 500

1501 GCTGCTGGACGAGTTATTGGGAAGGGCGGGAAAACGGTAAACGAACTGCAGAACTTGACC 1560
 501 -A--A--G--R--V--I--G--K--G--G--K--T--V--N--E--L--Q--N--L--T- 520

1561 TGTGCAGAAGTGGTGGTGCCCCGAGACCAGACGCCTGACGAGAACGACCAGGTTATAGTA 1620
 521 -C--A--E--V--V--V--P--R--D--Q--T--P--D--E--N--D--Q--V--I--V- 540

1621 AAGATCAGCGGACACTTCTTTGCATGCCAGCTGGCCCAGAGGAAGATTCAGGAGATCCTA 1680
 541 -K--I--S--G--H--F--F--A--C--Q--L--A--Q--R--K--I--Q--E--I--L- 560

1681 GCCCAGGTGAGGAGGCAGCAGCAGCAACAACAGCAGCAGCAGCTTAAGCCTACATCTGGA 1740
 561 -A--Q--V--R--R--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--Q--L--K--P--T--S--G- 580

1741 CCCCAAGCTCCAATGCCACGCAGGAAATAA.............................. 1770
 581 -P--Q--A--P--M--P--R--R--K--*-.............................. 589

1801 GAATCTGCCAGAAGACTCGTCAGAAGGACAGATGCAGCAGAGTCCAGGAGGGGGGAGAAGA 1860
     ............................................................
1861 CGATGACGGCAGTGGGTCCTAATGCTCATCTCAGGGGTTAAAGGTTGTTGGAGCCCAACC 1920
     ............................................................
1921 AAACATCCTCCCCTCCTTGTCTTACTTGGGACTGCGCGGCTGATTTAAAAAAACAAAAAA 1980
     ............................................................
1981 AAGGAAGGAAAAAACAAAAAAAGAGAGACCCTGCGCCTCTAAAAGCTCCACCCACTCCGC 2040
     ............................................................
2041 CTCTCTGCATCTCTGCGAGAATGTACTCCTGAGGGCTCCCACCGTCGTCACCTGCCCTCA 2100
     ............................................................
2101 CAAGTGCACAACCCTCAACCGCTCTACTCCTCCCCCAAAGGATGTGTTTAAACTTGTATT 2160
     ............................................................
2161 TTTTTTCTTTTTACACTAGAAACACAAAGAAGAAATAAGGACCCCCGCCCCCTTCCTATC 2220
     ............................................................
2221 ACCGCCTTGGTGTTGTACTTTAAACATGACAAGATGTTTTGGTTGACTTCAGATTTAGTG 2280
     ............................................................
2281 AACACCTG                                                      2288
     ........
```

[0882]

[0883] 序列号109和111(Igf2bp3突变等位基因-2nt插入)

[0884] 长度:2288bp(-2bp)和206aa

[0885] 类型:cDNA(序列号:109)和蛋白(序列号:111)

[0886] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 ATGAATAAGCTATACATTGGCAACGTAAGCGCAGAGGCGAGCGAGGAGGACTTCGAAACT  60
  1 -M--N--K--L--Y--I--G--N--V--S--A--E--A--S--E--E--D--F--E--T- 20
```

[0887]

```
 61 ATCTTTGAGCAGTGGAAGATTCCGCACAGTGGTCCATTTCTTGTCAAAACTGGCTATGCG 120
 21 -I--F--E--Q--W--K--I--P--H--S--G--P--F--L--V--K--T--G--Y--A- 40
```

```
121 TTTGTGGATTGCCCGGACGAGAAGGCAGCAATGAAGGCCATCGATGTTCTTTCAGGTAAA 180
 41 -F--V--D--C--P--D--E--K--A--A--M--K--A--I--D--V--L--S--G--K-  60

181 GTTGAACTTCACGGAAAAGTTCTTGAAGTGGAGCACTCGGTCCCTAAACGTCAAAGGAGC 240
 61 -V--E--L--H--G--K--V--L--E--V--E--H--S--V--P--K--R--Q--R--S-  80

241 TGTAAGCTGCAGATCAGGAACATCCCGCCTCACATGCAGTGGGAGGTTTTGGATGGTATG 300
 81 -C--K--L--Q--I--R--N--I--P--P--H--M--Q--W--E--V--L--D--G--M- 100

301 CTTGCTCAGTATGGTGCAGTACAGAGCTGTGAACAAGTAAACACTGATACAGAGACTGCA 360
101 -L--A--Q--Y--G--A--V--Q--S--C--E--Q--V--N--T--D--T--E--T--A- 120

361 GTTGTCAATGTTCGGTATGCTACCAAGGACCAGGCTAGGCTGGCAATGGAGAAGCTGAAT 420
121 -V--V--N--V--R--Y--A--T--K--D--Q--A--R--L--A--M--E--K--L--N- 140

421 GGATCTATGATGGAGAACTCTACCTTGAAAGTGTCCTATATCCCAGATGAGACAGCGACA 480
141 -G--S--M--M--E--N--S--T--L--K--V--S--Y--I--P--D--E--T--A--T- 160

481 CCAGAGGGTCCTCCAGCAGGGGGCCGGAGAGGCTTTAATGGAGAGCCGGACCCCCTCGGT 540
161 -P--E--G--P--P--A--G--G--R--R--G--F--N--G--E--P--D--P--L--G- 180

541 CTGGCTCTCCGGGTTTGGGCGCCCGGCCTAAAGTGCAGTCAGACATCCCGCTACGCATGC 600
181 -L--A--L--R--V--W--A--P--G--L--K--C--S--Q--T--S--R--Y--A--C- 200

601 TGGTTCCCACGCAGTTTGTAGGGGCAATCATTGGCAAGGAGGGTGCCACTATCCGCAACA 660
201 -W--F--P--R--S--L--*-                                        206
```

[0888]

[0889] 序列号112和114(野生型Elavl1)

[0890] 长度:1894bp和359aa

[0891] 类型:cDNA(序列号:112)和蛋白(序列号:114)

[0892] 生物体:尼罗罗非鱼

```
          1 CTATTTTACAGAACTAGAAGAAGAAGGAGAGGAGGAGATCTCGCGATACTTCACTGGGCG     60
            ............................................................
         61 GCAGTTGGTTCTTTGTGTGCAGCAGGGAACGTGCGTGTTAGGATCGACAGATCATCTCAT    120
            ............................................................
        121 CTTCCAACTGCGGATCGATATCTGACCCAATCACACCAGATCACCTGTCCGGACTCCCAC    180
            ............................................................
        181 AGACGCAGTTAACTTCCTGAATCATTTCCATGGCGCAAAGACGAGGACACATCAGGTACC    240
            ............................-M--A--Q--R--R--G--H--I--R--Y--     10

        241 TGAAGGTGTGTGAGGTTCAGAACTCTCAGGGTGATGTCAGAGACGCTTCGCTCGCCGCTA    300
         11 L--K--V--C--E--V--Q--N--S--Q--G--D--V--R--D--A--S--L--A--A--     30

        301 AAGGAGCTGCTGGAAATGAGCTGTACGATAACGGGTACGGCGAGCAGATGATGGAGGACG    360
         31 K--G--A--A--G--N--E--L--Y--D--N--G--Y--G--E--Q--M--M--E--D--     50

        361 AAGACGCGCGCACGAACCTGATTGTGAACTACCTGCCGCAGAGCATGAGCCAGGACGAGC    420
         51 E--D--A--R--T--N--L--I--V--N--Y--L--P--Q--S--M--S--Q--D--E--     70

        421 TACGCAGCCTCTTCAGCAGTGTTGGCGAGGTCGAGTCTGCCAAGCTCATCCGCGACAAAG    480
         71 L--R--S--L--F--S--S--V--G--E--V--E--S--A--K--L--I--R--D--K--     90

        481 TGGCAGGCCACAGTTTAGGTTACGGCTTTGTTAACTTTGTTAACCCTAGTGATGCAGAGA    540
         91 V--A--G--H--S--L--G--Y--G--F--V--N--F--V--N--P--S--D--A--E--    110

        541 GGGCTATCAGTACCCTCAATGGCCTGAGGCTACAGTCTAAAACTATCAAGGTTTCATTTG    600
        111 R--A--I--S--T--L--N--G--L--R--L--Q--S--K--T--I--K--V--S--F--    130
[0893]
        601 CACGGCCGAGTTCGGACGCCATCAAAGATGCGAACCTGTATATCAGTGGTTTGCCACGGA    660
        131 A--R--P--S--S--D--A--I--K--D--A--N--L--Y--I--S--G--L--P--R--    150

        661 CTCTCAGTCAGCAGGACGTGGAGGACATGTTCTCGCACTACGGTCGCATCATCAATTCTA    720
        151 T--L--S--Q--Q--D--V--E--D--M--F--S--H--Y--G--R--I--I--N--S--    170

        721 GAGTGTTAGTGGACCAGGCTTCAGGTCTGTCACGTGGCGTGGCCTTCATCCGCTTTGATA    780
        171 R--V--L--V--D--Q--A--S--G--L--S--R--G--V--A--F--I--R--F--D--    190

        781 AGAGGGCTGAGGCCGATGACGCTGTCAAACACCTGAACGGACACACGCCTCCCGGCAGCG    840
        191 K--R--A--E--A--D--D--A--V--K--H--L--N--G--H--T--P--P--G--S--    210

        841 CTGAGCCAATCACGGTCAAGTTTGCTGCCAATCCCAACCAGGCCAGGAACTCCCAGATGA    900
        211 A--E--P--I--T--V--K--F--A--A--N--P--N--Q--A--R--N--S--Q--M--    230

        901 TGTCACAGATGTATCATGGCCAATCACGACGTTTTGGGGGGCCCGTCCATCACCAGGCAC    960
        231 M--S--Q--M--Y--H--G--Q--S--R--R--F--G--G--P--V--H--H--Q--A--    250

        961 AAAGGTTCCGGTTTTCTCCAATGAGCACCGACCACATGAGCGGAGGGGGTGGGGCCTCGG   1020
        251 Q--R--F--R--F--S--P--M--S--T--D--H--M--S--G--G--G--G--A--S--    270

       1021 GGAGCTCATCCTCTGGTTGGTGCATCTTCATCTACAACCTGGGCCAGGAAGCTGACGAGG   1080
        271 G--S--S--S--S--G--W--C--I--F--I--Y--N--L--G--Q--E--A--D--E--    290

       1081 CCATGCTGTGGCAGATGTTTGGCCCGTTCGGCGCAGTCTTGAATGTGAAAGTGATCCGAG   1140
        291 A--M--L--W--Q--M--F--G--P--F--G--A--V--L--N--V--K--V--I--R--    310
```

```
1141 ATTTTAACACCAATAAGTGCAAAGGCTTTGGCTTTGTTACAATGGCAAACTATGAGGAAG 1200
 311 D--F--N--T--N--K--C--K--G--F--G--F--V--T--M--A--N--Y--E--E--  330

1201 CTGCCATGGCGATCCACAGCCTGAACGGGTACCGCCTGGGGGACAAAGTCCTGCAGGTCT 1260
 331 A--A--M--A--I--H--S--L--N--G--Y--R--L--G--D--K--V--L--Q--V--  350

1261 CATTCAAGACCAGCAAGGGGCACAAATAGAGGAGGGGGCGAGGCTAAAACTAATAACAGG 1320
 351 S--F--K--T--S--K--G--H--K--*-.............................  359

1321 TGTTTTTGTTTTTGTTTTTTGTCTGTTTTGTCAGTTTTTCCCAGCATGCCCTGTTTCTTT 1380
      ............................................................
1381 ATGTCAGTAAGTAATTTTTCTGACTGTGTGGGCGTTCATCCACAATAAAGGACTGAAACC 1440
      ............................................................
1441 TGCAGTATGACTGACAGCTGACTGTCACCATGGTTATGAACATAACTGGAGTTGTATCAA 1500
      ............................................................
1501 TTTCTGCAGGTTTACATTTGGGGTCAAAGGATACGGAAACTAAATCTGCTCTTTTCTGAT 1560
      ............................................................
1561 TTGAGTAAAACGTTCAGTTGGTTTTATGTACAGTTTATGTAAATGATGTCATGGTAACCA 1620
      ............................................................
1621 CTGACAACCGATTAAAGGATTAAAAGTTTGGACAGGTAACCTGACGTTATCATGTCAGGT 1680
      ............................................................
1681 GATCAGGTCAGTGTTAGACGATTAGTTTCATGTTGTACAGGTGAGGTAGAGGAATGCACC 1740
      ............................................................
1741 TGATGAACAGGTAACTGATGTGAAGTCAATTTTCATTTGTTTTATTTTTGTATTGCAGCT 1800
      ............................................................
1801 TCATTGTGACATTTATTCAGCAATAAATCTGTTATTGTGAAAACATAACCTGTGTCTGAA 1860
      ............................................................
1861 TGTTTGTCTCCCCTTTGTCTGAATTTCTTTAAAC                           1894
      ................................
```

[0894]

[0895] 序列号113和115(Elavl1突变等位基因-3Knt缺失)

[0896] 长度:1894bp(-3kb)和105aa

[0897] 类型:cDNA(序列号:113)和蛋白(序列号:115)

[0898] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 CTATTTTACAGAACTAGAAGAAGAAGGAGAGGAGGAGATCTCGCGATACTTCACTGGGCG   60
     ............................................................
  61 GCAGTTGGTTCTTTGTGTGCAGCAGGGAACGTGCGTGTTAGGATCGACAGATCATCTCAT  120
     ............................................................
 121 CTTCCAACTGCGGATCGATATCTGACCCAATCACACCAGATCACCTGTCCGGACTCCCAC  180
     ............................................................
 181 AGACGCAGTTAACTTCCTGAATCATTTCCATGGCGCAAAGACGAGGACACATCAGGTACC  240
     ..........................-M--A--Q--R--R--G--H--I--R--Y--   10

 241 TGAAGGTGTGTGAGGTTCAGAACTCTCAGGGTGATGTCAGAGACGCTTCGCTCGCCGCTA  300
  11 L--K--V--C--E--V--Q--N--S--Q--G--D--V--R--D--A--S--L--A--A--   30

 301 AAGGAGCTGCTGGAAATGAGCTGTACGATAACGGGTACGGCGAGTTCGGCGCAGTCTTGA  360
  31 K--G--A--A--G--N--E--L--Y--D--N--G--Y--G--E--F--G--A--V--L--   50

 361 ATGTGAAAGTGATCCGAGATTTTAACACCAATAAGTGCAAAGGCTTTGGCTTTGTTACAA  420
  51 N--V--K--V--I--R--D--F--N--T--N--K--C--K--G--F--G--F--V--T--   70

 421 TGGCAAACTATGAGGAAGCTGCCATGGCGATCCACAGCCTGAACGGGTACCGCCTGGGGG  480
  71 M--A--N--Y--E--E--A--A--M--A--I--H--S--L--N--G--Y--R--L--G--   90

 481 ACAAAGTCCTGCAGGTCTCATTCAAGACCAGCAAGGGGCACAAAATAGAGGAGGGGGCGA  540
  91 D--K--V--L--Q--V--S--F--K--T--S--K--G--H--K--*                105
```

[0899]

[0900] 序列号116和118(野生型Elavl2)

[0901] 长度:1119bp和372aa

[0902] 类型:cDNA(序列号:116)和蛋白(序列号:118)

[0903] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 CAGGTAATTGCTGCCATGGAAACACAGCTATCCAATGGGCCCACTTGCAACAACACAAGC   60
   1 -Q--V--I--A--A--M--E--T--Q--L--S--N--G--P--T--C--N--N--T--S-   20

  61 AACGGTCCTTCAACTATCACAAACAACTGCTCCTCACCTGTAGAGTCAGGGAGCGTAGAG  120
  21 -N--G--P--S--T--I--T--N--N--C--S--S--P--V--E--S--G--S--V--E-   40

 121 GACAGTAAAACTAACTTGATAGTCAACTATCTGCCTCAGAACATGACCCAGGAGGAACTG  180
  41 -D--S--K--T--N--L--I--V--N--Y--L--P--Q--N--M--T--Q--E--E--L-   60

 181 AAGAGTTTGTTTGGGAGCATCGGAGAAATTGAGTCCTGTAAACTAGTTCGAGACAAAATC  240
  61 -K--S--L--F--G--S--I--G--E--I--E--S--C--K--L--V--R--D--K--I-   80

 241 ACAGGGCAGAGCCTAGGCTATGGATTTGTGAATTATGTGGACCCAAAGGATGCAGAAAAG  300
  81 -T--G--Q--S--L--G--Y--G--F--V--N--Y--V--D--P--K--D--A--E--K-  100

 301 GCCATCAATACCTTAAATGGCTTGAGACTTCAGACCAAAACCATCAAGGTTTCCTATGCG  360
 101 -A--I--N--T--L--N--G--L--R--L--Q--T--K--T--I--K--V--S--Y--A-  120

 361 CGTCCAAGCTCCGCCTCCATCAGAGATGCAAATTTATACGTCAGTGGCCTGCCAAAAACT  420
 121 -R--P--S--S--A--S--I--R--D--A--N--L--Y--V--S--G--L--P--K--T-  140

 421 ATGACTCAGAAGGAACTGGAGCAGCTCTTCTCTCAGTACGGACGCATTATTACCTCACGC  480
 141 -M--T--Q--K--E--L--E--Q--L--F--S--Q--Y--G--R--I--I--T--S--R-  160

 481 ATTCTGGTGGACCAGGTGACTGGTGTTTCCAGAGGAGTTGGCTTCATTCGTTTTGACCGG  540
 161 -I--L--V--D--Q--V--T--G--V--S--R--G--V--G--F--I--R--F--D--R-  180
```

[0904]

```
 541 CGAGTTGAGGCTGAGGAGGCCATCAAGGGTCTGAACTGTCAGAAGCCGCCTGGTGCCACC  600
 181 -R--V--E--A--E--E--A--I--K--G--L--N--C--Q--K--P--P--G--A--T-  200

 601 GAACCCATTACAGTCAAGTTTGCAAACAACCCGAGCCAAAAGACCAGCCAGGCACTGCTG  660
 201 -E--P--I--T--V--K--F--A--N--N--P--S--Q--K--T--S--Q--A--L--L-  220

 661 TCCCAGCTCTATCAGTCACCCAATCGAAGGTACCCAGGACCCCTCGCACAGCAGGCACAA  720
 221 -S--Q--L--Y--Q--S--P--N--R--R--Y--P--G--P--L--A--Q--Q--A--Q-  240

 721 CGCTTCAGGTTGGACAATCTGCTGAACATGGCCTACGGAGTCAAAAGCTCTATGGCAGTA  780
 241 -R--F--R--L--D--N--L--L--N--M--A--Y--G--V--K--S--S--M--A--V-  260

 781 TTGTGTAGCAGGTTCTCCCCGATGGCCATTGACGGGGTGACCAGCTTGGCTGGCATCAAC  840
 261 -L--C--S--R--F--S--P--M--A--I--D--G--V--T--S--L--A--G--I--N-  280

 841 ATCCCGGGGCACGCGGGCACTGGCTGGTGCATCTTCGTCTACAACCTGGCTCCGGACGCA  900
 281 -I--P--G--H--A--G--T--G--W--C--I--F--V--Y--N--L--A--P--D--A-  300

 901 GATGAAAGCATCCTTTGGCAGATGTTCGGGCCGTTTGGTGCTGTCACAAACGTCAAGGTT  960
 301 -D--E--S--I--L--W--Q--M--F--G--P--F--G--A--V--T--N--V--K--V-  320

 961 ATCCGCGACTTTAACACAAACAAGTGCAAAGGATTTGGTTTTGTCACCATGACTAATTAC 1020
 321 -I--R--D--F--N--T--N--K--C--K--G--F--G--F--V--T--M--T--N--Y-  340

1021 GACGAGGCAGCTGTGGCCATCGCCAGCTTGAATGGATACCGCCTTGGGGACAGAGTTCTG 1080
 341 -D--E--A--A--V--A--I--A--S--L--N--G--Y--R--L--G--D--R--V--L-  360
```

[0905]

```
1081 CAAGTGTCATTCAAAACCAACAAAACACACAAAGCCTGA                       1119
 361 -Q--V--S--F--K--T--N--K--T--H--K--A--*-                       372
```

[0906] 序列号117和119(Elavl2突变等位基因-8nt缺失)

[0907] 长度:1119bp(-8bp)和40aa

[0908] 类型:cDNA(序列号:117)和蛋白(序列号:119)

[0909] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 CAGGTAATTGCTGCCATGGAAACACAGCTATCCAACTTGCAACAACACAAGCAACGGTCC   60
   1 -Q--V--I--A--A--M--E--T--Q--L--S--N--L--Q--Q--H--K--Q--R--S-   20
```

[0910]

```
  61 TTCAACTATCACAAACAACTGCTCCTCACCTGTAGAGTCAGGGAGCGTAGAGGACAGTAA  120
  21 -F--N--Y--H--K--Q--L--L--L--T--C--R--V--R--E--R--R--G--Q--*-   40
```

[0911] 序列号120和122(野生型Cxcr4a)

[0912] 长度:1996bp和382aa

[0913] 类型:cDNA(序列号:120)和蛋白(序列号:122)

[0914] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 TTACAACAAGTACAGAAGTTTTATAGCGACCCTATTTGGGAGCATCCTACTTCTGCTCCT   60
     ............................................................
  61 CCCTCCCTTTCGGGGGAGGAGTTAATGGCACGGAATACTATTTATTGGCAGGCGCTGAAA  120
     ............................................................
 121 CAAACAACTTATCGTCGTGCGTCTCATGCCAACGTTTACTCACTAGTCCCACAGTTGGAT  180
     ............................................................
 181 TGTTATCACCATGGATGAAACCGTGGAGTTCAAATATGACATTGATTTTACCAGCAACAC  240
     ..........-M--D--E--T--V--E--F--K--Y--D--I--D--F--T--S--N--T   17

 241 TTCTGACAACATATCAGAAGGGTCTGGATTTGATTTTGGAGACCTGAATTTACCGGAGAT  300
  17 --S--D--N--I--S--E--G--S--G--F--D--F--G--D--L--N--L--P--E--I   37

 301 CTGTGGCCAGACATTCAGCAATGACTTCAACAAAATCTTCCTACCCACAGTGTACGGAAT  360
  37 --C--G--Q--T--F--S--N--D--F--N--K--I--F--L--P--T--V--Y--G--I   57

 361 AATATCCATTCTTGGGATAGTTGGTAATGGATTAGTTGTACTAGTCATGGGTTACCAGAA  420
  57 --I--S--I--L--G--I--V--G--N--G--L--V--V--L--V--M--G--Y--Q--K   77

 421 AAAGGTCAAAACAATGACGGACAAGTACCGGCTCCATCTGTCTGTTGCTGACCTCCTGTT  480
  77 --K--V--K--T--M--T--D--K--Y--R--L--H--L--S--V--A--D--L--L--F   97

 481 TGTCCTCACTCTGCCCTTCTGGGCTGTGGATGCAGCCAAAAACTGGTACTTTGGAGGTTT  540
  97 --V--L--T--L--P--F--W--A--V--D--A--A--K--N--W--Y--F--G--G--F  117

 541 CCTCTGCGTGTCTGTGCACATGATCTACACCATCAACCTGTACAGTAGCGTGCTGATTCT  600
 117 --L--C--V--S--V--H--M--I--Y--T--I--N--L--Y--S--S--V--L--I--L  137
```

[0915]

```
 601 GGCCTTCATCAGTCTGGACAGATACTTGGCAGTTGTACGGGCTACCAACAGCCAAGCCAC  660
 137 --A--F--I--S--L--D--R--Y--L--A--V--V--R--A--T--N--S--Q--A--T  157

 661 GAGGAAGCTTCTTGCAAACAGAGTGATCTACGTGGGTGTGTGGCTGCCGGCAACCATTCT  720
 157 --R--K--L--L--A--N--R--V--I--Y--V--G--V--W--L--P--A--T--I--L  177

 721 GACCATACCTGACATGGTGTTTGCAAGAGTGCAGAGCATGAGCTCTTCAAATATCTACTT  780
 177 --T--I--P--D--M--V--F--A--R--V--Q--S--M--S--S--S--N--I--Y--F  197

 781 CAAAGAAGAAAGCGAGGACACGGCAGACTCCAGGACTATCTGCCAGCGCATGTATCCAGT  840
 197 --K--E--E--S--E--D--T--A--D--S--R--T--I--C--Q--R--M--Y--P--V  217

 841 GGAAAGTAACGTCATATGGACAGTTGTTTTCCGTTTCCAGCACATCCTGGTGGGCTTCGT  900
 217 --E--S--N--V--I--W--T--V--V--F--R--F--Q--H--I--L--V--G--F--V  237

 901 TCTGCCCGGCTTGGTTATCCTCATCTGCTACTGCATTATCATAACAAAGCTGGCACAAGG  960
 237 --L--P--G--L--V--I--L--I--C--Y--C--I--I--I--T--K--L--A--Q--G  257

 961 CGCAAAGGGCCAGACACTGAAGAAAAAGGCGCTGAAGACCACAATCATTCTAATCTTTTG 1020
 257 --A--K--G--Q--T--L--K--K--K--A--L--K--T--T--I--I--L--I--F--C  277

1021 TTTTTTTTGTTGCTGGCTCCCCTACTGTGTTGGCATCTTTTTGGACAACCTCGTGATGCT 1080
 277 --F--F--C--C--W--L--P--Y--C--V--G--I--F--L--D--N--L--V--M--L  297

1081 GAATGTGCTCTCCCCCTCATGTGAACTGCAGCAAGCGCTGGACAAGTGGATTTCTGTCAC 1140
```

```
 297 --N--V--L--S--P--S--C--E--L--Q--Q--A--L--D--K--W--I--S--V--T   317

1141 TGAGGCGCTAGCCTATTTTCACTGCTGCCTAAACCCCATCCTCTATGCTTTCTTGGGAGT  1200
 317 --E--A--L--A--Y--F--H--C--C--L--N--P--I--L--Y--A--F--L--G--V   337

1201 TAAGTTTAAGAAATCAGCTAAGAGTGCACTGACAGCGAGCAGCAGATCAAGTCAGAAAGT  1260
 337 --K--F--K--K--S--A--K--S--A--L--T--A--S--S--R--S--S--Q--K--V   357

1261 GACTCTCATGACAAAAAAGCGAGGGCCAATTTCATCTGTGTCAACCGAGTCGGAGTCTTC  1320
 357 --T--L--M--T--K--K--R--G--P--I--S--S--V--S--T--E--S--E--S--S   377

1321 AAGTGTTTTGTCAAGTTAACTGTCAGCCTCGGAGTCTGTGACTTGATACTCTCAGGAGTG  1380
 377 --S--V--L--S--S--*-.....................................      382

1381 AAAAAGCTAAGCTGTAATTTCAAAGAACTACAATCTGTACAAATGTAAATGAAAGAGTTT  1440
      ............................................................
1441 TTATACGTGAAGATTTTTTTTGTGTGTGTGTGCCTTTGTACTTCAATCGTGGTTCAATCT  1500
      ............................................................
1501 TTTGTGGTTCTTATTTTCTGTATTTTATTTTCTGCTCCTCAAAGCAGATCGTGTCCTCAG  1560
      ............................................................
1561 GCAGTGCCTCATTTCCATTCATTCAGTTTTACAATCAATACCCATTGTCCTAGTTTTTAT  1620
      ............................................................
1621 CCCATAGTCTTTGATGCTGTATCAAAGCTCAGACACACAATGTCCTTTCTGGGGGGTTTT  1680
      ............................................................
1681 AGGACTGGTAGCTGCTTCTGGAAACATGTACATAGTTTGTAGCATATGTGTGTTTGCACC  1740
      ............................................................
1741 TAAGCTGTGCAATTATCTGAAAGCTATAATTTATTGCTGTCATACACACTGGAGTTTTGT  1800
      ............................................................
1801 AAAAGTCCTTCAAAATGATTTTTTTGTGCTGTTTTTTATGTGTTTGTATTGAAAATAAAA  1860
      ............................................................
1861 GAAACTCAAACATATTTTGTGGTGCGCCTTTTCACTGGCTTCTACTCCCGTGTGTGCATG  1920
      ............................................................
1921 TGTATTATCAAGGGGGTTGGGGGAGTGTCACACAAATGTCACCACCTGAACTGGCTGAAA  1980
      ............................................................
1981 AGCAGGAGGAATGAAC                                              1996
```

[0916]

[0917] 序列号121和123(Cxcr4a突变等位基因-8nt缺失)

[0918] 长度:1996bp(-8bp)和177aa

[0919] 类型:cDNA(序列号:121)和蛋白(序列号:123)

[0920] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 TTACAACAAGTACAGAAGTTTTATAGCGACCCTATTTGGGAGCATCCTACTTCTGCTCCT   60
     ............................................................
  61 CCCTCCCTTTCGGGGGAGGAGTTAATGGCACGGAATACTATTTATTGGCAGGCGCTGAAA  120
     ............................................................
 121 CAAACAACTTATCGTCGTGCGTCTCATGCCAACGTTTACTCACTAGTCCCACAGTTGGAT  180
     ............................................................
 181 TGTTATCACCATGGATGAAACCGTGGAGTTCAAATATGACATTGATTTTACCAGCAACAC  240
     ..........-M--D--E--T--V--E--F--K--Y--D--I--D--F--T--S--N--T   17

 241 TTCTGACAACATATCAGAAGGGTCTGGATTTGATTTTGGAGACCTGAATTTACCGGAGAT  300
  17 --S--D--N--I--S--E--G--S--G--F--D--F--G--D--L--N--L--P--E--I   37

 301 CTGTGGCCAGACATTCAGCAATGACTTCAACAAAATCTTCCTACCCACAGTGTACGGAAT  360
  37 --C--G--Q--T--F--S--N--D--F--N--K--I--F--L--P--T--V--Y--G--I   57

 361 AATATCCATTCTTGGGATAGTTGGTAATGGATTAGTTGTACTAGTCATGGGTTACCAGAA  420
  57 --I--S--I--L--G--I--V--G--N--G--L--V--V--L--V--M--G--Y--Q--K   77
[0921]
 421 AAAGGTCAAAACAATGACGGACAAGTACCGGCTCCATCTGTCTGTTGCTGACCTCCTGTT  480
  77 --K--V--K--T--M--T--D--K--Y--R--L--H--L--S--V--A--D--L--L--F   97

 481 TGTCCTCACTCTGCCCTTCTGGGCTGTGGATGCAGCCAAAAACTGGTACTTTGGAGGTTT  540
  97 --V--L--T--L--P--F--W--A--V--D--A--A--K--N--W--Y--F--G--G--F  117

 541 CCTCTGCGTGTCTGTGCACATGATCTACACCATCAACCTGTACAGTAGCGTGCTGATTCT  600
 117 --L--C--V--S--V--H--M--I--Y--T--I--N--L--Y--S--S--V--L--I--L  137

 601 GGCCTTCATCAGTCTGGACAGATACTTGGCAGTTGTACGGGCTACCAACAGCCAAGCCAC  660
 137 --A--F--I--S--L--D--R--Y--L--A--V--V--R--A--T--N--S--Q--A--T  157

 661 GAGGAAGCTTCTTGCAAACAGAGTGATCTACGTGGGTGCCGGCAACCATTCTGACCATAC  720
 157 --R--K--L--L--A--N--R--V--I--Y--V--G--A--G--N--H--S--D--H--T  177

 721 CTGACATGGTGTTTGCAAGAGTGCAGAGCATGAGCTCTTCAAATATCTACTTCAAAGAAG  780
 177 --*-                                                         177
```

[0922] 序列号124和127(野生型Ptbp1a)

[0923] 长度:6015bp和538aa

[0924] 类型:cDNA(序列号:124)和蛋白(序列号:127)

[0925] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGGACGGCAGTGTCCACCACGATATAACAGTTGGCACCAAGAGAGGATCTGACGAACTT   60
   1 -M--D--G--S--V--H--H--D--I--T--V--G--T--K--R--G--S--D--E--L-   20

  61 TTCTCCAGCGTCTCCAGCAACCCTTATATCATGAGCACCACAGCCAATGGCAACGACAGC  120
  21 -F--S--S--V--S--S--N--P--Y--I--M--S--T--T--A--N--G--N--D--S-   40

 121 AAAAAGTTCAAAGGTGACATAAGAGGCCCCAGCGTGCCATCCAGGGTCATCCACATCCGC  180
  41 -K--K--F--K--G--D--I--R--G--P--S--V--P--S--R--V--I--H--I--R-   60

 181 AAGCTTCCCAGCGACATCACAGAGGCGGAGGTGATCAGCCTCGGCGTGCCTTTTGGAGAC  240
  61 -K--L--P--S--D--I--T--E--A--E--V--I--S--L--G--V--P--F--G--D-   80

 241 GTCACCAACCTGCTGATGCTCAAAGCCAAGAACCAGGCCTTTTTAGAGATGAACTCAGAG  300
  81 -V--T--N--L--L--M--L--K--A--K--N--Q--A--F--L--E--M--N--S--E-  100

 301 GAAGCAGCTCAGAACCTGGTGGGTTATTACTCCACCATGGTGCCGATCATCAGGCACCAT  360
 101 -E--A--A--Q--N--L--V--G--Y--Y--S--T--M--V--P--I--I--R--H--H-  120

 361 CCAGTCTATGTACAGTTTTCCAACCACAAGGAGCTCAAGACTGACAACTCCCCAAACCAG  420
 121 -P--V--Y--V--Q--F--S--N--H--K--E--L--K--T--D--N--S--P--N--Q-  140

 421 GAGAGGGCTCAGGCAGCTCTTCGGGCTCTGAGTTCATCTCACGTGGACACGGCGGCGGTG  480
 141 -E--R--A--Q--A--A--L--R--A--L--S--S--S--H--V--D--T--A--A--V-  160

 481 GCTCCGAGCACAGTACTGAGGGTGGTGGTGGAGAACCTCATCTATCCCGTTACCCTGGAC  540
 161 -A--P--S--T--V--L--R--V--V--V--E--N--L--I--Y--P--V--T--L--D-  180

 541 GCCCTGTGCCAGATCTTCTCAAAGTTTGGCACCGTGCTAAGGATCATCATCTTCACAAAG  600
 181 -A--L--C--Q--I--F--S--K--F--G--T--V--L--R--I--I--I--F--T--K-  200

 601 AACAATCAGTTCCAGGCTCTGCTGCAGTATTCGGACGGCGCCTCAGCCCAGGCGGCCAAA  660
 201 -N--N--Q--F--Q--A--L--L--Q--Y--S--D--G--A--S--A--Q--A--A--K-  220

 661 CTGTCTCTGGACGGTCAGAACATCTATAATGGCTGCTGTACTCTGAGGATCAGCTTCTCC  720
 221 -L--S--L--D--G--Q--N--I--Y--N--G--C--C--T--L--R--I--S--F--S-  240

 721 AAACTCACCAGTCTCAACGTCAAATACAACAACGAGAAGAGCCGAGACTTCACCAGACCA  780
 241 -K--L--T--S--L--N--V--K--Y--N--N--E--K--S--R--D--F--T--R--P-  260

 781 GACCTTCCCACTGGAGACGGCCAGCCCACCATGGAACATACGGCCATGGCTACAGCCTTT  840
 261 -D--L--P--T--G--D--G--Q--P--T--M--E--H--T--A--M--A--T--A--F-  280

 841 ACTCCAGGCATCATCTCTGCTGCTCCATACGCTGGAGCCACCCACGCTTTCCCACCAGCC  900
 281 -T--P--G--I--I--S--A--A--P--Y--A--G--A--T--H--A--F--P--P--A-  300

 901 TTCACCCTGCAGCCTGCTGTGTCCTCCCCCTATCCAGGCCTTGCGGTCCCCGCTCTGCCC  960
 301 -F--T--L--Q--P--A--V--S--S--P--Y--P--G--L--A--V--P--A--L--P-  320

 961 GGAGCCCTGGCCTCTCTGTCCCTCCCTGGGGCCACCAGATTGGGATTCCCTCCAATCCCT 1020
 321 -G--A--L--A--S--L--S--L--P--G--A--T--R--L--G--F--P--P--I--P-  340

1021 GCTGGGCACTCTGTCTTGCTGGTCAGCAATCTCAACCCTGAGAGAGTTACGCCCCACTGC 1080
```

[0926]

```
 341 -A--G--H--S--V--L--L--V--S--N--L--N--P--E--R--V--T--P--H--C-   360

1081 CTCTTTATTCTCTTCGGTGTCTATGGAGATGTCATGAGAGTGAAGATTCTGTTCAACAAG  1140
 361 -L--F--I--L--F--G--V--Y--G--D--V--M--R--V--K--I--L--F--N--K-   380

1141 AAAGAAAACGCTCTGGTTCAGATGTCTGACAGCACACAGGCTCAGCTAGCCATGAGCCAC  1200
 381 -K--E--N--A--L--V--Q--M--S--D--S--T--Q--A--Q--L--A--M--S--H-   400

1201 CTGAATGGCCAGCGGCTGCACGGGAAGCCTGTGCGCATCACTCTGTCCAAACACACGAGC  1260
 401 -L--N--G--Q--R--L--H--G--K--P--V--R--I--T--L--S--K--H--T--S-   420

1261 GTTCAGCTTCCTCGCGAAGGGCACGAGGACCAGGGCCTGACCAAAGACTACAGCAACTCC  1320
 421 -V--Q--L--P--R--E--G--H--E--D--Q--G--L--T--K--D--Y--S--N--S-   440

1321 CCCTTGCACCGCTTCAAGAAGCCCGGCTCCAAGAATTATTCCAACATCTTCCCGCCTTCT  1380
 441 -P--L--H--R--F--K--K--P--G--S--K--N--Y--S--N--I--F--P--P--S-   460

1381 GCCACCTTACACCTTTCCAACATTCCCCCTTCTGTGGTGGAAGATGATCTGAAGATGCTG  1440
 461 -A--T--L--H--L--S--N--I--P--P--S--V--V--E--D--D--L--K--M--L-   480

1441 TTTGCCAGCTCAGGAGCCGTGGTCAAAGCCTTCAAATTCTTCCAGAAGGACCATAAAATG  1500
 481 -F--A--S--S--G--A--V--V--K--A--F--K--F--F--Q--K--D--H--K--M-   500

1501 GCTCTAATCCAGGTGGGCTCTGTGGAGGAGGCCATCGAGTCCCTCATAGAATTCCACAAC  1560
 501 -A--L--I--Q--V--G--S--V--E--E--A--I--E--S--L--I--E--F--H--N-   520

1561 CATGATTTGGGAGAGAACCACCACCTGCGAGTCTCCTTCTCCAAATCCTCAATCTGA...  1617
 521 -H--D--L--G--E--N--H--H--L--R--V--S--F--S--K--S--S--I--*-...   538

1621 ACCATCTGAATCCTCAGAGTCAGCACGACAGTATCTACCACACTCCAATCATTCCACCAC  1680
      ............................................................
1681 ATGTCTGTAGAAAACACAGTAAAGTCTGGATTAATGTTAAATTATTATAATTATTATTAT  1740
      ............................................................
1741 AATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATTATCATCATTATGCT    1800
      ............................................................
1801 TTTTTTTTAAATAAGTATTTCGGTTCTTTGCCTTCTGACAGAATTAAGGTCTCTCAAGGA  1860
      ............................................................
1861 GAAATCTGACTTTATTCTCTCAAATTTTATAAACTAGAGAATAAAGTTATAGTTCTGACC  1920
      ............................................................
1921 TGTTCAGGCTTTCTGGGATAAAGCCGGAGTTCTTCGGTTAGTCAGAATTCAGACAGCAAA  1980
      ............................................................
1981 GTTGTTACCTTTTACCTTGCTTTTGGGCTTTGTTCCCACACTGAGGGATTAAAGTCAGCC  2040
      ............................................................
2041 TTCTTATCCAAAGATGTTACGTTTTTCAGATTCAGACTTTTACTTTGATCTTAAATTAGC  2100
      ............................................................
2101 CCAAGTTTTACAGGTGGCCCTGTTCCTTTTTTAGCTCTCCCTTTAAAAGTTCCAGCTCTG  2160
      ............................................................
2161 CTTGTAAACGATCAGAGGTCAGATGTCCGCTCAGGCCTGCAGGTCCAAGTCTGGCCCCGT  2220
      ............................................................
2221 AAAGAGAAGCCTGGCTAGACCTTCACATGATCCCTGTGCCTTATTCCTGGAGTGTGAATG  2280
      ............................................................
2281 ACCGTGACTATGTCATGTTTAAGAGAAAGAGGAGGTTTACAGTTGAAAAGGTTTACTGTT  2340
      ............................................................
2341 AATGAGCTGTATTACAGATATATCTGCGTTTTCTGTCTCTAGTGTTTTGTACCACTGTGT  2400
      ............................................................
2401 TACTGTAGTGTGAAACATGAACTGATTGTCTTTTAGCAGGTTTGTTGGGTCTTTAGTCCT  2460
      ............................................................
2461 AAATGCATTGTTTTTCTTTTTGACTTCTTTATTTCTGTGTTTGCAATCATGTGTTAATCA  2520
      ............................................................
2521 AATGTTGTAGCAATATTTTAATCATTCCTGATATAACTGTTTTTGTTTTAGTTTTTTTGG  2580
      ............................................................
2581 GTGCCTCTGTGAGCTCGGCCTTTCACGGCGTGCAGACAAATGTTTTGTCTAGTTGGTGAA  2640
      ............................................................
2641 TCTGGTCAGGTTGTCTTGTGTGTCGCCTCTCTGGATGGTTTTATTTATAAGTTTGTGATC  2700
```

[0927]

```
          ..........
2701 CACTACAGCTGAAACCAAAAATGGCCTTCAGGATGCAAACAAATATGTCTGCCTCAGGTT 2760
          ..........
2761 TCTGGTTTTATGGACTACAGAAAGACTGCAAGCTGGTTTCAGCTTTCTTATTTTCCTGTG 2820
          ..........
2821 AGAATGCGGAATGTTTTTATTCATTTCTTAATTGCAAAACCAGATGTTTGGAGTGCCTTG 2880
          ..........
2881 GACGCAGCACTGAGTTGTAATCAGGCATTAATTTCTCTGTGTACTGATGTGACAGTTTGG 2940
          ..........
2941 TAGGGAGGAAGCCCACAGTCCTCCGAAACCACAAAATGCTGGTTTGATCTGTTTGTCTTA 3000
          ..........
3001 ATATGAATATTGTTATTTTCTCATTCCAGCTGCTCAGATGTTCAACTGAACTTCAAAAAG 3060
          ..........
3061 ACAAAGATTCTTCACTGACCATGGTTCATTTAAACAGGTTCATTGTGGTGCCTTCAGTAG 3120
          ..........
3121 AGCTTGGAGGGTTTGTGTGTTCACTTTGTCACTAGGTGAGGAGAAAATGGTGATTGTGTC 3180
          ..........
3181 CCAGTTTACTCCCTCCCTACATACCCAGACCAAAGGTGCGGGTGGGCGGGTCATTTCAGA 3240
          ..........
3241 GTCAAACAAATAAACTGTAGCCATGTTGCACCTGAATTTGGACATGACAAAAACCCCTTC 3300
          ..........
3301 TCCATTTGTACCTACCTACCGACTCGCCACAACCCGACTCGGATCGACTGGTTGTCCATT 3360
          ..........
3361 ACAATCCAGTACCACCTAACATGCGTCATTGTTGTTATAGCAACCCCTCTCAAGGCCCTG 3420
          ..........
3421 TGACGTAATTAGTATGCGACACGAACGCTGCAACAAAGGTGGCAGTCGAGGCAACGATAT 3480
          ..........
3481 ACCTGCTGCTTAGTCTGTGGCCTTTTGTCAGACTCGGAACCACGACATTGGTTTTTTTGT 3540
          ..........
3541 AGCTATTTCACTCGTTGCTGGGTTTCAAAAGTGGCCGTTTAAATTTTTGTGAACGAGACG 3600
          ..........
3601 GTCTCATGACTCATCAAATGAAATGACGGCACTGACCCACCAGTCAGTGGCATGCAGTCT 3660
          ..........
3661 GACATAACATTTAGTACATGCTCGGATCCCTTGGAATCCCTGCCAAGTAGGTACTATTTT 3720
          ..........
3721 AGTACCTGGTATTAGGAACTATCACCTAATAGAAAACCCTGGCAAGTCGATCTAATGGAA 3780
          ..........
3781 AAGGGGCTAAAGGTAAATCTTACGAGGTCCCTGCACATTGTGATTTCAGAGTTTGTATGG 3840
          ..........
3841 CTGTGCGAGGAATTTGAGACAGTTTCTAAAATTCACAGCTATATGTAACAGATAGGCACA 3900
          ..........
3901 TGACTCTGAGACATGTCAGCGATAACAACCAAACCCTCATGTACTTAAAAAAAAAAAACT 3960
          ..........
3961 TTTTACCATCTTCTTTCATTTAACTTTTCAAATGGCTTTAATTCTTACTCATTAAAATAC 4020
          ..........
4021 TCATGTGCGTATTATTAGCAAGAGAAGTCTGAGCTCCTAAAAAACCAACTCAAATAATGA 4080
          ..........
4081 AGACACATGTTCACTGAACAGAGGGTGTTTGTATTGGTGATTGATCAACTTAAACTGTCC 4140
          ..........
4141 GTTTTCTTCCACTATCAGACTGTGATGTGCAGTTCAGGGTTGTGATAAACCAGCTCATTG 4200
          ..........
4201 CAGTTCACACAAACCTTTCTGATTATGTGAGGTGCAAGTCTGACCTGAACCTGGCTGCTG 4260
          ..........
4261 TTACCACAGTGTCAGGGACCTTCATCTGTCAAACTGATAGACGTGCTGCATGCTGTTCAT 4320
          ..........
4321 CACTACATGGAGGCTGGGAGACACATTAGGACACAGTTCCCTTTAATCTGAAACCGCAGC 4380
          ..........
4381 CTTTCCGTTGGGACAGATCCCACAGGTGACTGGAATGCATCACAAAACCTGGTCAGGTGA 4440
          ..........
4441 GGTGGGAATGGGACCAGTCAGTCAGTAACAGGAGGGAGGGGCATTCAGCTGTACATACAC 4500
          ..........
4501 GTTTTATACCACAGTTCAGTGTCTAAAGGGCGATTGTCAGTTTTCTATCTGATGAAATCT 4560
          ..........
4561 GTATATTTTGATTAAAGTGTGAAATCGGTTCTGAGCCTTACATTGTTTGTGTCTAAAAGA 4620
```

[0928]

```
          ..........                                                  
4621 AAGATTAAATCACTTTTTAATCTAAACCTCTAGGCCTTTGTTATCTGTCATCAGTGCGGT 4680
          ..........                                                  
4681 TTATATCAGTGTCTTTCACAAGTCTTGTGTGCGTAGAGTTGTTTGTTCATGTTAAACACT 4740
          ..........                                                  
4741 TTGTTTGATGACATTGTTGTTAGCCATGGCTGATCAGAGCTTTTTAATGAGTGTTTATTG 4800
          ..........                                                  
4801 ATGATATGACTTCTGATTGCACTGCCAACCAGAATTTAGTCTGATCCAAGGTAACTTGGT 4860
          ..........                                                  
4861 GTTTCTAATTTTTTTTTTTTTTACTTAAACAGGCAGGAGGTTACTGGGTTACACTGGATC 4920
          ..........                                                  
4921 AATGCAGTAAAATATAAGAAAATAAGTTGTATTTTATTTTATATTCTATGAGACCGTCTC 4980
          ..........                                                  
4981 ATTTGGGGAAGTTACTGCAACGTCACCATTAATAATACACTTAAATTCAAATACAAAGAT 5040
          ..........                                                  
5041 TCAGCCAGTTCACTTCAGTAAAAACAACCATTATGCCAAGAGCACAACATTAGTGGCTCA 5100
          ..........                                                  
5101 AAAACAGTTAGAGCAGGCTTCACGCATTTCTCTCTGAAAACCGCGTGGCAATTCAAATAA 5160
          ..........                                                  
5161 ATGAGAGGAGGCTGAAGGAAAAATAAATATACTTTTGATATAAGAAATGGCTGATAGGAA 5220
          ..........                                                  
5221 TTGTAGAGCAGTGTGCACATTATTCTGATTAAGACTAAAGGAAGATTTATGCAAAGGAAA 5280
          ..........                                                  
5281 ACTGCATTACAATAGTTCAAACTATTCCACTATACAAACCTTAAACAGCTGACCTTTATT 5340
          ..........                                                  
5341 TTTACTGCTTTCTACATAGTAGATACATAGTGAAGATGGATGTGAAGCAAGATGCATGGA 5400
          ..........                                                  
5401 ATTATGCAGCAAAGAAAAAACTCTAAATACAAATACATATCAGAAAAAGTTGGAACAGTA 5460
          ..........                                                  
5461 TGGTAAACACAAATTAAAAAAAAAAGTTTTGCCTGGTCAACTTCATTTCATTTGTAACTG 5520
          ..........                                                  
5521 TACATCCTTTCCTGTCATTCAGACCTGCAACACATTCCAAAAAAAGGTTGGGATAGGAGC 5580
          ..........                                                  
5581 AATTTAGCTCTAGTAATCAGGTAAATTGGTTAAATAATGATGTGATTTGTAACAGGTGAT 5640
          ..........                                                  
5641 TGTAACTATGATTTGGTACAAAAGCAGCATTCAAGAAACATCTAGTCCTTTAGGAGCAAA 5700
          ..........                                                  
5701 GATGGGCCGAGGATCGCCAGTTTGCCAACAAATGCGTGAGGAAAATTATTGAAATGTGTA 5760
          ..........                                                  
5761 AAAGCAATATTCAGGAAGAGATTTGGATATTTCACCTTAAACAGTGCATAACGTAATTAA 5820
          ..........                                                  
5821 AAGATTCAAGGAATCTGGAGGAATTTCAGTGTGTAAAGAACAAGTTCAGCTTAGGCTTGC 5880
          ..........                                                  
5881 GCCCAACTGTTATCTCCGATCCCTCAGGCAGCACTGCGTCAAGAATTGTCATTCATCTAT 5940
          ..........                                                  
5941 AAGTGATATCACCACATGGGCTCAAGTCTACTTTAGCAAACTTTTCTCATGTGCGTAGTT 6000
          ..........                                                  
6001 GCATCCATAAATGCC                                                 6015
          ...............
```

[0929]

[0930] 序列号125和128(Ptbp1a突变等位基因-13nt缺失)

[0931] 长度:6015bp(-13bp)和80aa

[0932] 类型:cDNA(序列号:125)和蛋白(序列号:128)

[0933] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGGACGGCAGTGTCCACCACGATATAACAGTTGGCACCAAGAGAGGATCTGACGAACTT   60
   1 -M--D--G--S--V--H--H--D--I--T--V--G--T--K--R--G--S--D--E--L-   20

  61 TTCTCCAGCGTCTCCAGCAACCCTTATATCATGAGCACCACAGCCAATGGCAACGACAGC  120
  21 -F--S--S--V--S--S--N--P--Y--I--M--S--T--T--A--N--G--N--D--S-   40

 121 AAAAAGTTCAAAGGTGACATAAGAGGCCCCAGCGTGCCATCCAGGGTCATCCACATCCGC  180
  41 -K--K--F--K--G--D--I--R--G--P--S--V--P--S--R--V--I--H--I--R-   60

 181 AAGCTTCCCAGCGACATCACAGAGGCGGAGGTGTGCCTTTTGGAGACGTCACCAACCTGC  240
  61 -K--L--P--S--D--I--T--E--A--E--V--C--L--L--E--T--S--P--T--C-   80

 241 TGATGCTCAAAGCCAAGAACCAGGCCTTTTTAGAGATGAACTCAGAGGAAGCAGCTCAGA  300
  81 -*-                                                          80
```

[0934]

[0935] 序列号126和129(Ptbp1a突变等位基因-1.5knt缺失)

[0936] 长度:6015bp(-1.5kb)和346aa

[0937] 类型:cDNA(序列号:126)和蛋白(序列号:129)

[0938] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGGACGGCAGTGTCCACCACGATATAACAGTTGGCACCAAGAGAGGATCTGACGAACTT   60
   1 -M--D--G--S--V--H--H--D--I--T--V--G--T--K--R--G--S--D--E--L-   20

  61 TTCTCCAGCGTCTCCAGCAACCCTTATATCATGAGCACCACAGCCAATGGCAACGACAGC  120
  21 -F--S--S--V--S--S--N--P--Y--I--M--S--T--T--A--N--G--N--D--S-   40

 121 AAAAAGTTCAAAGGTGACATAAGAGGCCCCAGCGTGCCATCCAGGGTCATCCACATCCGC  180
  41 -K--K--F--K--G--D--I--R--G--P--S--V--P--S--R--V--I--H--I--R-   60

 181 AAGCTTCCCAGCGACATCACAGAGGCGGAGGTGATCAGAGACGGCCAGCCCACCATGGAA  240
  61 -K--L--P--S--D--I--T--E--A--E--V--I--R--D--G--Q--P--T--M--E-   80

 241 CATACGGCCATGGCTACAGCCTTTACTCCAGGCATCATCTCTGCTGCTCCATACGCTGGA  300
  81 -H--T--A--M--A--T--A--F--T--P--G--I--I--S--A--A--P--Y--A--G-  100

 301 GCCACCCACGCTTTCCCACCAGCCTTCACCCTGCAGCCTGCTGTGTCCTCCCCCTATCCA  360
 101 -A--T--H--A--F--P--P--A--F--T--L--Q--P--A--V--S--S--P--Y--P-  120

 361 GGCCTTGCGGTCCCCGCTCTGCCCGGAGCCCTGGCCTCTCTGTCCCTCCCTGGGGCCACC  420
 121 -G--L--A--V--P--A--L--P--G--A--L--A--S--L--S--L--P--G--A--T-  140

 421 AGATTGGGATTCCCTCCAATCCCTGCTGGGCACTCTGTCTTGCTGGTCAGCAATCTCAAC  480
 141 -R--L--G--F--P--P--I--P--A--G--H--S--V--L--L--V--S--N--L--N-  160

 481 CCTGAGAGAGTTACGCCCCACTGCCTCTTTATTCTCTTCGGTGTCTATGGAGATGTCATG  540
 161 -P--E--R--V--T--P--H--C--L--F--I--L--F--G--V--Y--G--D--V--M-  180

 541 AGAGTGAAGATTCTGTTCAACAAGAAAGAAAACGCTCTGGTTCAGATGTCTGACAGCACA  600
 181 -R--V--K--I--L--F--N--K--K--E--N--A--L--V--Q--M--S--D--S--T-  200

 601 CAGGCTCAGCTAGCCATGAGCCACCTGAATGGCCAGCGGCTGCACGGGAAGCCTGTGCGC  660
 201 -Q--A--Q--L--A--M--S--H--L--N--G--Q--R--L--H--G--K--P--V--R-  220

 661 ATCACTCTGTCCAAACACACGAGCGTTCAGCTTCCTCGCGAAGGGCACGAGGACCAGGGC  720
 221 -I--T--L--S--K--H--T--S--V--Q--L--P--R--E--G--H--E--D--Q--G-  240

 721 CTGACCAAAGACTACAGCAACTCCCCCTTGCACCGCTTCAAGAAGCCCGGCTCCAAGAAT  780
 241 -L--T--K--D--Y--S--N--S--P--L--H--R--F--K--K--P--G--S--K--N-  260

 781 TATTCCAACATCTTCCCGCCTTCTGCCACCTTACACCTTTCCAACATTCCCCCTTCTGTG  840
 261 -Y--S--N--I--F--P--P--S--A--T--L--H--L--S--N--I--P--P--S--V-  280

 841 GTGGAAGATGATCTGAAGATGCTGTTTGCCAGCTCAGGAGCCGTGGTCAAAGCCTTCAAA  900
 281 -V--E--D--D--L--K--M--L--F--A--S--S--G--A--V--V--K--A--F--K-  300

 901 TTCTTCCAGAAGGACCATAAAATGGCTCTAATCCAGGTGGGCTCTGTGGAGGAGGCCATC  960
 301 -F--F--Q--K--D--H--K--M--A--L--I--Q--V--G--S--V--E--E--A--I-  320

 961 GAGTCCCTCATAGAATTCCACAACCATGATTTGGGAGAGAACCACCACCTGCGAGTCTCC 1020
 321 -E--S--L--I--E--F--H--N--H--D--L--G--E--N--H--H--L--R--V--S-  340
```

[0939]

```
1021 TTCTCCAAATCCTCAATCTGA                                        1041
 341 -F--S--K--S--S--I--*-                                         346
```

[0940]

[0941] 序列号130和132(野生型Nos3)

[0942] 长度:660bp和219aa

[0943] 类型:cDNA(序列号:130)和蛋白(序列号:132)

[0944] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGAACGGAATGGTTTGGGGATTCCTTCATCACCTGCCACGCGTTATGGAGTCCGACGGC   60
   1 -M--N--G--M--V--W--G--F--L--H--H--L--P--R--V--M--E--S--D--G-   20

  61 AAAAGTTTCCAGCCCTGGCGAGACTACATGGGACTGTGTGATACAATCAGAGATATCTTG  120
  21 -K--S--F--Q--P--W--R--D--Y--M--G--L--C--D--T--I--R--D--I--L-   40

 121 GGTCGCAGCACCGTCTCCGAGTCCTCTCAGCCTGTGTCCAAAGCTCATCACACGGAGTGT  180
  41 -G--R--S--T--V--S--E--S--S--Q--P--V--S--K--A--H--H--T--E--C-   60

 181 GACATGAGCCGAGCTATGGTATCTTTGCGCATTAACGCAGCTCGCCAAAGTGGCCTCGGA  240
  61 -D--M--S--R--A--M--V--S--L--R--I--N--A--A--R--Q--S--G--L--G-   80

 241 GCAGAGAGTGCGCCGGATCCCTGCTCCCGCGAATGTGCACTAACGAGTTCCCCTGCTCGC  300
  81 -A--E--S--A--P--D--P--C--S--R--E--C--A--L--T--S--S--P--A--R-  100

 301 ATGGATCCAGTGGATGGTGTGGCGTATGCACCAAACGCAATCGATCTGAAATTGATGCAA  360
 101 -M--D--P--V--D--G--V--A--Y--A--P--N--A--I--D--L--K--L--M--Q-  120

 361 AACCCGCCGGGCTCCCGGGGGCCAAAAGATCGAAAGAAGACGAGTCGTTTCAAAACACCC  420
 121 -N--P--P--G--S--R--G--P--K--D--R--K--K--T--S--R--F--K--T--P-  140

 421 GAGGCAGTCTTACCCACTCCTGACCGCATGTTCTGCAGCTTTTGTAAACACAACGGAGAG  480
 141 -E--A--V--L--P--T--P--D--R--M--F--C--S--F--C--K--H--N--G--E-  160

 481 TCTGAGCTGGTCTACGGATCCCACTGGCTGAAGAACCAAGAAGGAGATGTTTTGTGTCCC  540
 161 -S--E--L--V--Y--G--S--H--W--L--K--N--Q--E--G--D--V--L--C--P-  180

 541 TTTCTGCGGCAGTATGTGTGTCCTCTGTGTGGCGCCACAGGGGCCAAAGCTCACACCAAG  600
 181 -F--L--R--Q--Y--V--C--P--L--C--G--A--T--G--A--K--A--H--T--K-  200

 601 CGTTTCTGCCCCAAAGTGGACAGCGCATACAGCTCCGTGTACGCCAAGTCCAGACGCTGA  660
 201 -R--F--C--P--K--V--D--S--A--Y--S--S--V--Y--A--K--S--R--R--*-  219
```

[0945]

[0946] 序列号131和133(Nos3突变等位基因-5nt缺失)

[0947] 长度:660bp(-5pb)和145aa

[0948] 类型:cDNA(序列号:131)和蛋白(序列号:133)

[0949] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGAACGGAATGGTTTGGGGATTCCTTCATCACCTGCCACGCGTTATGGAGTCCGACGGC   60
   1 -M--N--G--M--V--W--G--F--L--H--H--L--P--R--V--M--E--S--D--G-   20

  61 AAAAGTTTCCAGCCCTGGCGAGACTACATGGGACTGTGTGATACAATCAGAGATATCTTG  120
  21 -K--S--F--Q--P--W--R--D--Y--M--G--L--C--D--T--I--R--D--I--L-   40

 121 GGTCGCAGCACCGTCTCCGAGTCCTCTCAGCCTGTGTCCAAAGCTCATCACACGGAGTGT  180
  41 -G--R--S--T--V--S--E--S--S--Q--P--V--S--K--A--H--H--T--E--C-   60

 181 GACATGAGCCGAGCTATGGTATCTTTGCGCATTAACGCAGCTCGCCAAAGTGGCCTCGGA  240
  61 -D--M--S--R--A--M--V--S--L--R--I--N--A--A--R--Q--S--G--L--G-   80

 241 GCAGAGAGTGCGCCGGATCCCTGCTCCCGCGAATGTGCACTAACGAGTTCCCCTGCTCGC  300
  81 -A--E--S--A--P--D--P--C--S--R--E--C--A--L--T--S--S--P--A--R-  100

 301 ATGGATCCAGTGGATGGTGTGGCGTATGCACCAAACGCAATCGATCTGAAATTGATGCAA  360
 101 -M--D--P--V--D--G--V--A--Y--A--P--N--A--I--D--L--K--L--M--Q-  120

 361 AACCCGCCGGGCTCCCGGGGGCCAAAAGATCGAAAGAAGACGAGTCGTTTCAAAACACCC  420
 121 -N--P--P--G--S--R--G--P--K--D--R--K--K--T--S--R--F--K--T--P-  140

 421 AGTCTTACCCACTCCTGACCGCATGTTCTGCAGCTTTTGTAAACACAACGGAGAGTCTGA  480
 141 -S--L--T--H--S--*-                                           145
```

[0950]

[0951] 序列号134和136(野生型dnd1)

[0952] 长度:1653bp和320aa

[0953] 类型:cDNA(序列号:134)和蛋白(序列号:136)

[0954] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 AGACAATGCACAATAGGTTACAAAAAAGTTTAAAAGCAGTCCTCCATACACAGCCGTTTG   60
     ............................................................
  61 GTATTTGTGACAAAATTTCATTCCATACCTTAGCGACGGGCTATGCTAGGCCCCGCCCAC  120
     ............................................................
 121 GGCTCAGTGGGCACTAAAGACATAGCATCGAGTGTACGCTGGACTACTGCAGTTGGAAAC  180
     ............................................................
 181 GGGCTACAAAGTGGCGTCGCTGTGCGCACAAACACGCTGAGACGATGGAAAACACGCAAA  240
     ........................................-M--E--N--T--Q--        5

 241 GCCAGGTGCTGAACCTTGAACGGGTGCAGGCCCTGGAAATCTGGTTGAAAGCAACCAACA  300
   6 S--Q--V--L--N--L--E--R--V--Q--A--L--E--I--W--L--K--A--T--N--   25

 301 CAAAGCTGACTCAAGTTAATGGCCAGAGGAAATATGGAGGACCACCTGAGGTGTGGGAAG  360
  26 T--K--L--T--Q--V--N--G--Q--R--K--Y--G--G--P--P--E--V--W--E--   45

 361 GTCCCACACCGGGACCGCGCTGTGAAGTCTTCATCAGCCAGATCCCACGGGACACGTATG  420
  46 G--P--T--P--G--P--R--C--E--V--F--I--S--Q--I--P--R--D--T--Y--   65

 421 AGGACATCCTTATTCCCCTGTTCAGCTCCATTGGGCCACTCTGGGAGTTCCGGCTGATGA  480
  66 E--D--I--L--I--P--L--F--S--S--I--G--P--L--W--E--F--R--L--M--   85

 481 TGAACTTCAGTGGGCAGAACCGCGGCTTTGCGTATGCCAAATATGGCTCAGCTGCTATAG  540
  86 M--N--F--S--G--Q--N--R--G--F--A--Y--A--K--Y--G--S--A--A--I--  105

 541 CTGTTGAAGCCATACGACAGCTGCACGGTCACATGGTGGAGCCTGGCTACCGCATCAGTG  600
 106 A--V--E--A--I--R--Q--L--H--G--H--M--V--E--P--G--Y--R--I--S--  125
```

[0955]

```
 601 TACGGCGGAGCACAGAGAAGCGACACCTTTGTATTGGAGGTCTGCCTGCTTCCACTAGAC  660
 126 V--R--R--S--T--E--K--R--H--L--C--I--G--G--L--P--A--S--T--R--  145

 661 AAGAAGGCATACTGCAGGTGCTGCGTATGCTGGTAGAGGGGGTGGAGAGAGTTTCCCTGA  720
 146 Q--E--G--I--L--Q--V--L--R--M--L--V--E--G--V--E--R--V--S--L--  165

 721 AGGCCGGACCTGGTATAGAGGGGGTATCTGCTACTGTTGCTTTCTCATCTCACCATGCAG  780
 166 K--A--G--P--G--I--E--G--V--S--A--T--V--A--F--S--S--H--H--A--  185

 781 CTTCTATGGCTAAGAAAGTGCTGGTGGAAGCATTTAAGAAGCAGTTTGCAATGTGTGTGT  840
 186 A--S--M--A--K--K--V--L--V--E--A--F--K--K--Q--F--A--M--C--V--  205

 841 CAGTCAAGTGGCAGCCAACAGAGAAGCCAAACCCTGACGAGCCACGATGCCCTCAGAAAC  900
 206 S--V--K--W--Q--P--T--E--K--P--N--P--D--E--P--R--C--P--Q--K--  225

 901 GTGCAAAGAGCCTGTTGCCGTCACACCTAGGGCCCCTGCACCACAGTTCTCCACAACCCT  960
 226 R--A--K--S--L--L--P--S--H--L--G--P--L--H--H--S--S--P--Q--P--  245

 961 CAGGCCCGCCTTCATTCCTGACCCTCCCTGCATCCATACCCGCAGGTTTCTGCAGAGCAG 1020
 246 S--G--P--P--S--F--L--T--L--P--A--S--I--P--A--G--F--C--R--A--  265

1021 TGGGAGGGCCCACTGCTCCTCAGCTCGCTCACCCTACATGCTCTTTTCCCAATTCCTCCA 1080
 266 V--G--G--P--T--A--P--Q--L--A--H--P--T--C--S--F--P--N--S--S--  285

1081 CCCAAGGCCATCTTGTATTTGCAGCATCCCCAGTGATGCTTCTCAGTGCAGATCCGCGGG 1140
```

```
 286 T--Q--G--H--L--V--F--A--A--S--P--V--M--L--L--S--A--D--P--R--   305

1141 ATCACTGCCGCTTTCAAGGGGTTGGTCATGATCTTACCGGGTCCTAATGCCAGCACCATG  1200
 306 D--H--C--R--F--Q--G--V--G--H--D--L--T--G--S--*-.............   320

1201 CTAGAGGAGGCTCAGAAGGCTGTAGCCCAGCAGGTCCTGCAGAAGATGTACAACACTGGT  1260
      ............................................................
1261 CTCACACACTAAACAGCTGATGCCGTCCTGCAGTTCTGTTTCACCTTGTTTGTGTTATGT  1320
      ............................................................
1321 GGTTTCATTTTCTGCATGTTTTTACTAGAGTAGCACCAAGTTTGTTTCTCTGACTATAAC  1380
      ............................................................
1381 TTGTGGTTTGTTTTATGCATGATTTTTACTGTACATTAGTGTTCTGTGTTACTGGATTGG  1440
      ............................................................
1441 TTCTCATTTTAATTAAATGAGCTTTGAAAAGAAAGTGTCGGCGTTTCTTTCAAATTAATG  1500
      ............................................................
1501 AAAGATTTAAATTAACTTAGGAAAATGGTAAAGCAGTTATTATTGTCTCACTTCATGCTG  1560
      ............................................................
1561 TTATGAACCCTAGTGATTCTCATCCAGACCTTTACGTATCTTTGAAGGTTGTGGATTGAG  1620
      ............................................................
1621 ACTAACCCCCCTCAGTGGTTTGGCATTTTAAAC                             1653
      ..............................
```

[0956]

[0957] 序列号135和137(dnd突变等位基因-5nt缺失)

[0958] 长度:1653bp(-5pb)和324aa

[0959] 类型:cDNA(序列号:135)和蛋白(序列号:137)

[0960] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 AGACAATGCACAATAGGTTACAAAAAAGTTTAAAAGCAGTCCTCCATACACAGCCGTTTG    60
     ............................................................
  61 GTATTTGTGACAAAATTTCATTCCATACCTTAGCGACGGGCTATGCTAGGCCCCGCCCAC   120
     ............................................................
 121 GGCTCAGTGGGCACTAAAGACATAGCATCGAGTGTACGCTGGACTACTGCAGTTGGAAAC   180
     ............................................................
 181 GGGCTACAAAGTGGCGTCGCTGTGCGCACAAACACGCTGAGACGATGGAAAACACGCAAA   240
     ..........................................-M--E--N--T--Q--       5

 241 GCCAGGTGCTGAACCTTGAACGGGTGCAGGCCCTGGAAATCTGGTTGAAAGCAACCAACA   300
   6 S--Q--V--L--N--L--E--R--V--Q--A--L--E--I--W--L--K--A--T--N--    25

 301 CAAAGCTGACTCAAGTTAATGGCCAGAGGAAATATGGAGGACCACCTGAGGTGTGGGAAG   360
  26 T--K--L--T--Q--V--N--G--Q--R--K--Y--G--G--P--P--E--V--W--E--    45

 361 GTCCCACACCGGGACCGCGCTGTGAAGTCTTCATCAGCCAGATCCCACGGGACACGTATG   420
  46 G--P--T--P--G--P--R--C--E--V--F--I--S--Q--I--P--R--D--T--Y--    65

 421 AGGACATCCTTATTCCCCTGTTCAGCTCCATTGGGCCACTCTGGGAGTTCCGGCTGATGA   480
  66 E--D--I--L--I--P--L--F--S--S--I--G--P--L--W--E--F--R--L--M--    85

 481 TGAACTTCAGTGGGCAGAACCGCGGCTTTGCGTATGCCAAATATGGCTCAGCTGCTATAG   540
  86 M--N--F--S--G--Q--N--R--G--F--A--Y--A--K--Y--G--S--A--A--I--   105

 541 CTGTTGAAGCCATACGACAGCTGCACGGTCACATGGTGGAGCCTGGCTACCGCATCAGTG   600
 106 A--V--E--A--I--R--Q--L--H--G--H--M--V--E--P--G--Y--R--I--S--   125

 601 TACGGCGGAGCACAGAGAAGCGACACCTTTGTATTGGAGGTCTGCCTGCTTCCACTAGAC   660
 126 V--R--R--S--T--E--K--R--H--L--C--I--G--G--L--P--A--S--T--R--   145

 661 AAGAAGGCATACTGCAGGTGCTGCGTATGCTGGTAGAGGGGGTGGAGAGAGTTTCCCTGA   720
 146 Q--E--G--I--L--Q--V--L--R--M--L--V--E--G--V--E--R--V--S--L--   165
```

[0961]

```
 721 AGGCCGGACCTGGTATAGAGGGGGTATCTGCTACTGTTGCTTTCTCATCTCACCATGCAG   780
 166 K--A--G--P--G--I--E--G--V--S--A--T--V--A--F--S--S--H--H--A--   185

 781 CTTCTATGGCTAAGAAAGTGCTGGTGGAAGCATTTAAGAAGCAGTTTGCAATGTGTGTGT   840
 186 A--S--M--A--K--K--V--L--V--E--A--F--K--K--Q--F--A--M--C--V--   205

 841 CAGTCAAGTGGCAGCCAACAGAGAAGCCAAACCCTGACGAGCCACGATGCCCTCAGAAAC   900
 206 S--V--K--W--Q--P--T--E--K--P--N--P--D--E--P--R--C--P--Q--K--   225

 901 GTGCAAAGAGCCTGTTGCCGTCACACCTAGGGCCCCTGCACCACAGTTCTCCACAACCCT   960
 226 R--A--K--S--L--L--P--S--H--L--G--P--L--H--H--S--S--P--Q--P--   245
```

[0962]

```
 961 CAGGCCCGCCTTCATTCCTGACCCTCCCTGCATCCATACCCGCAGGTTTCTGCAGAGCAG  1020
 246 S--G--P--P--S--F--L--T--L--P--A--S--I--P--A--G--F--C--R--A--   265

1021 TGGGAGGGCCCACTGCTCCTCAGCTCGCTCACCCTACATGCTCTTTTCCCAATTCCTCCA  1080
 266 V--G--G--P--T--A--P--Q--L--A--H--P--T--C--S--F--P--N--S--S--   285

1081 CCCAAGGCCATCTTGTATTTGCAGCATCCCCAGTGATGCTTCTCAGTGCAGATCCGCGGG  1140
 286 T--Q--G--H--L--V--F--A--A--S--P--V--M--L--L--S--A--D--P--R--   305

1141 ATCACTGCCGCTTTCAAGGGGTTGGTCATGATCGGGTCCTAATGCCAGCACCATGCTAGA  1200
 306 D--H--C--R--F--Q--G--V--G--H--D--R--V--L--M--P--A--P--C--*.   324
```

[0963] 序列号138和140(野生型Hnrnpab)

[0964] 长度:999bp和332aa

[0965] 类型:cDNA(序列号:138)和蛋白(序列号:140)

[0966] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCTGAGTCAGAGCAACAGTACATGGAAACATCGGAAAACGGCCACGAAGTCGACGAT   60
   1 -M--S--E--S--E--Q--Q--Y--M--E--T--S--E--N--G--H--E--V--D--D-   20

  61 GATTTTAACGGAGCCGGCCTCACTGAGGAGGGGAATGACGACGACGGCGCCACCGCGAAT  120
  21 -D--F--N--G--A--G--L--T--E--E--G--N--D--D--D--G--A--T--A--N-   40

 121 GACTGCGGAGAGGACGCAGGGCCCGAGGAAGACGACAATTCGCAAAACGGCGGCACGGAG  180
  41 -D--C--G--E--D--A--G--P--E--E--D--D--N--S--Q--N--G--G--T--E-   60

 181 GGAGGCCAGATCGACGCCAGCAAGGGCGAGGAGGATGCCGGGAAAATGTTCGTTGGAGGT  240
  61 -G--G--Q--I--D--A--S--K--G--E--E--D--A--G--K--M--F--V--G--G-   80

 241 CTCAGCTGGGACACAAGCAAGAAGGATCTTAAAGACTACTTCTCTAAATTTGGCGAGGTG  300
  81 -L--S--W--D--T--S--K--K--D--L--K--D--Y--F--S--K--F--G--E--V-  100

 301 ACAGACTGCACCATCAAGATGGACCAGCAGACAGGCCGGTCAAGAGGCTTTGGTTTCATT  360
 101 -T--D--C--T--I--K--M--D--Q--Q--T--G--R--S--R--G--F--G--F--I-  120

 361 CTGTTTAAAGATGCAGCCAGCGTAGAAAAGGTTCTTGAACAGAAGGAGCACAGGCTAGAT  420
 121 -L--F--K--D--A--A--S--V--E--K--V--L--E--Q--K--E--H--R--L--D-  140

 421 GGGAGACAGATTGACCCCAAGAAAGCCATGGCCATGAAGAAGGATCCAGTAAAGAAAATC  480
 141 -G--R--Q--I--D--P--K--K--A--M--A--M--K--K--D--P--V--K--K--I-  160

 481 TTTGTGGGCGGACTCAACCCTGATACTTCAAAGGAAGTCATTGAGGAGTACTTTGGGACC  540
 161 -F--V--G--G--L--N--P--D--T--S--K--E--V--I--E--E--Y--F--G--T-  180

 541 TTTGGAGAGATTGAGACCATAGAGCTTCCACAGGACCCAAAGACAGAGAAGAGGAGGGGA  600
 181 -F--G--E--I--E--T--I--E--L--P--Q--D--P--K--T--E--K--R--R--G-  200

 601 TTCGTATTCATCACGTACAAGGAAGAGGCTCCCGTGAAGAAAGTCATGGAGAAGAAGTAC  660
 201 -F--V--F--I--T--Y--K--E--E--A--P--V--K--K--V--M--E--K--K--Y-  220

 661 CACAATGTTGGTGGTAGCAAGTGTGAAATTAAAATCGCGCAGCCCAAAGAGGTCTACCTG  720
 221 -H--N--V--G--G--S--K--C--E--I--K--I--A--Q--P--K--E--V--Y--L-  240

 721 CAGCAGCAGTATGGTGCCCGTGGATATGGCGGACGTGGGCGAGGACGTGGAGGCCAGGGC  780
 241 -Q--Q--Q--Y--G--A--R--G--Y--G--G--R--G--R--G--R--G--G--Q--G-  260

 781 CAGAACTGGAATCAAGGCTACAACAACTACTGGAACCAGGGATACAACCAGGGCTATGGT  840
 261 -Q--N--W--N--Q--G--Y--N--N--Y--W--N--Q--G--Y--N--Q--G--Y--G-  280

 841 TATGGACAGCAAGGCTACGGATATGGTGGCTATGGTGGCTATGACTACTCTGCTGGTTAT  900
 281 -Y--G--Q--Q--G--Y--G--Y--G--G--Y--G--G--Y--D--Y--S--A--G--Y-  300

 901 TACGGCTATGGGGGTGGCTACGATTACAACCAGGGCAATACAAGCTATGGGAAAACTCCA  960
 301 -Y--G--Y--G--G--G--Y--D--Y--N--Q--G--N--T--S--Y--G--K--T--P-  320

 961 AGACGTGGAGGCCACCAGAGTAGCTACAAGCCATACTGA                       999
 321 -R--R--G--G--H--Q--S--S--Y--K--P--Y--*-                       332
```

[0967]

[0968] 序列号139和141(Hnrnpab突变等位基因-8nt缺失)

[0969] 长度:999bp(-8bp)和29aa

[0970] 类型:cDNA(序列号:139)和蛋白(序列号:141)

[0971] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCTGAGTCAGAGCAACAGTACATGGAAACATCGGAAAACGGCCACGAAGTCGACGAT   60
   1 -M--S--E--S--E--Q--Q--Y--M--E--T--S--E--N--G--H--E--V--D--D-   20

  61 GATTTTAACGGAGCCGGCCTCGGGGAATGACGACGACGGCGCCACCGCGAATGACTGCGG  120
  21 -D--F--N--G--A--G--L--G--E--*-                                 29
```

[0972]

[0973] 序列号142和144(野生型Hermes)

[0974] 长度:525bp和174aa

[0975] 类型:cDNA(序列号:142)和蛋白(序列号:144)

[0976] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 CAGGTCCGAACACTATTTGTCAGTGGGCTACCACTGGATATTAAACCGCGGGAGCTCTAC   60
  1 -Q--V--R--T--L--F--V--S--G--L--P--L--D--I--K--P--R--E--L--Y-   20

 61 CTCCTCTTCAGACCATTTAAGGGCTATGAAGGCTCCTTGATAAAGCTCACTTCTAAACAG  120
 21 -L--L--F--R--P--F--K--G--Y--E--G--S--L--I--K--L--T--S--K--Q-   40

121 CCAGTGGGGTTTGTCAGTTTTGACAGTCGATCAGAGGCGGAGGCTGCTAAGAATGCCTTG  180
 41 -P--V--G--F--V--S--F--D--S--R--S--E--A--E--A--A--K--N--A--L-   60

181 AACGGGGTACGATTTGACCCAGAGATTCCCCAGACTCTGCGGCTGGAGTTCGCCAAGGCC  240
 61 -N--G--V--R--F--D--P--E--I--P--Q--T--L--R--L--E--F--A--K--A-   80

241 AACACCAAGATGGCCAAAAACAAGCTGGTTGGCACTCCCAACCCCCCACCTTCTCAGCAG  300
 81 -N--T--K--M--A--K--N--K--L--V--G--T--P--N--P--P--P--S--Q--Q-  100

301 AGCCCCGGGCCACAGTTCATAAGCAGAGACCCATATGAGCTCACAGTGCCTGCTCTCTAT  360
101 -S--P--G--P--Q--F--I--S--R--D--P--Y--E--L--T--V--P--A--L--Y-  120

361 CCCAGCAGCCCAGACGTGTGGGCCTCATACCCGCTGTACCCGGCGGAGCTGTCGCCGGCC  420
121 -P--S--S--P--D--V--W--A--S--Y--P--L--Y--P--A--E--L--S--P--A-  140

421 CTTCCACCCGCTTTCACCTACCCCTCCTCGCTCCACGCTCAGATTCGTTGGCTCCCGCCT  480
141 -L--P--P--A--F--T--Y--P--S--S--L--H--A--Q--I--R--W--L--P--P-  160

481 GCAGATGGAACTCCTCAGGGATGGAAGTCCAGGCAGTTCTGCTGA                 525
161 -A--D--G--T--P--Q--G--W--K--S--R--Q--F--C--*-                 174
```

[0977]

[0978] 序列号143和145(Hermes突变等位基因-16nt插入)

[0979] 长度:525bp(+16bp)和61aa

[0980] 类型:cDNA(序列号:143)和蛋白(序列号:145)

[0981] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 CAGGTCCGAACACTATTTGTCAGTGGGCTACCACTGGATATTAAACCGCGGGAGCTCTAC   60
  1 -Q--V--R--T--L--F--V--S--G--L--P--L--D--I--K--P--R--E--L--Y-   20

 61 CTCCTCTTCAGACCATTTAAGGGCTATGAAGGCTCCTTGATAAAGCTCACTTCTAAACAG  120
 21 -L--L--F--R--P--F--K--G--Y--E--G--S--L--I--K--L--T--S--K--Q-   40
```

[0982]

```
121 CCAGTGGGGTTTGTCAGTTTTGACAGTCGATCAGAGTCGATCACACCTACGATCGGAGGC  180
 41 -P--V--G--F--V--S--F--D--S--R--S--E--S--I--T--P--T--I--G--G-   60

181 TGCTAAGAATGCCTTG AACGGGGTACGATTTGACCCAGAGATTCCCCAGACTCTGCGGC  240
 61 -C--*-                                                       61
```

[0983] 序列号146和148(野生型RBM24)

[0984] 长度:708bp和235aa

[0985] 类型:cDNA(序列号:146)和蛋白(序列号:148)

[0986] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 ATGCACGCGGCACAGAAAGACACCACCTTCACCAAGATCTTTGTGGGAGGTCTTCCTTAT   60
  1 -M--H--A--A--Q--K--D--T--T--F--T--K--I--F--V--G--G--L--P--Y-   20

 61 CACACAACCGACTCAAGTCTGAGAAAATACTTCGAGGTGTTTGGCGACATCGAAGAGGCC  120
 21 -H--T--T--D--S--S--L--R--K--Y--F--E--V--F--G--D--I--E--E--A-   40

121 GTCGTTATCACTGACCGGCAGACGGGCAAATCCAGAGGTTATGGATTCGTGACCATGGCA  180
 41 -V--V--I--T--D--R--Q--T--G--K--S--R--G--Y--G--F--V--T--M--A-   60

181 GACCGGGCCTCTGCCGACCGAGCCTGCAAGGACCCCAACCCCATAATAGATGGAAGGAAA  240
 61 -D--R--A--S--A--D--R--A--C--K--D--P--N--P--I--I--D--G--R--K-   80

241 GCCAATGTGAACCTGGCGTATCTTGGGGCCAAACCCAGAGTCATTCAGCCAGGCTTTGCA  300
 81 -A--N--V--N--L--A--Y--L--G--A--K--P--R--V--I--Q--P--G--F--A-  100

301 TTTGGTGTGCCTCAGATCCATCCAGCATTCATCCAGAGACCTTACGGGATCCCAGCTCAT  360
101 -F--G--V--P--Q--I--H--P--A--F--I--Q--R--P--Y--G--I--P--A--H-  120
```

[0987]

```
361 TATGTCTTCCCTCAAGCCTTTGTCCAACCCAGCGTGGTGATCCCTCATGTACAACCGTCT  420
121 -Y--V--F--P--Q--A--F--V--Q--P--S--V--V--I--P--H--V--Q--P--S-  140

421 GCGGCTACAGCAACAGCTGCTGCTGCCACTTCCCCATACCTTGACTATACTGGAGCAGCT  480
141 -A--A--T--A--T--A--A--A--A--T--S--P--Y--L--D--Y--T--G--A--A-  160

481 TATGCCCAGTACTCCGCAGCTGCTGCGACTGCTGCTGCTGCAGCTGCTGCCTATGAGCAG  540
161 -Y--A--Q--Y--S--A--A--A--A--T--A--A--A--A--A--A--A--Y--E--Q-  180

541 TATCCGTACGCAGCTTCACCAGCACCGACGAGCTACATGACTACAGCGGGGGTATGGGTAC  600
181 -Y--P--Y--A--A--S--P--A--P--T--S--Y--M--T--T--A--G--Y--G--Y-  200

601 ACTGTCCAGCAGCCGCTCGCCACCGCTGCCACCCCAGGAGCAGCTGCTGCTGCTGCGGCC  660
201 -T--V--Q--Q--P--L--A--T--A--A--T--P--G--A--A--A--A--A--A--A-  220

661 TTCAGTCAGTACCAGCCTCAGCAGCTCCAGACAGATCGCATGCAGTAA               708
221 -F--S--Q--Y--Q--P--Q--Q--L--Q--T--D--R--M--Q--*-               235
```

[0988] 序列号147和149(RBM24突变等位基因-7nt缺失)

[0989] 长度:708bp(-7bp)和54aa

[0990] 类型:cDNA(序列号:147)和蛋白(序列号:149)

[0991] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 ATGCACGCGGCACAGAAAGACACCACCTTCACCAAGATCTTTGTGGGAGGTCTTCCTTAT   60
  1 -M--H--A--A--Q--K--D--T--T--F--T--K--I--F--V--G--G--L--P--Y-   20
```

[0992]

```
 61 CACACAACCGACTCAAGTCTGAGAAAATACTTCGAGGTGTTTGGCGACATCGAAGAGGCC  120
 21 -H--T--T--D--S--S--L--R--K--Y--F--E--V--F--G--D--I--E--E--A-   40

121 GTCGTTACCGGCAGACGGGCAAATCCAGAGGTTATGGATTCGTGACCATGGCAGACCGGG  180
 41 -V--V--T--G--R--R--A--N--P--E--V--M--D--S--*-                  54
```

[0993] 序列号150和152(野生型RBM42)

[0994] 长度:1227bp和408aa

[0995] 类型:cDNA(序列号:150)和蛋白(序列号:152)

[0996] 生物体:尼罗罗非鱼

```
          1 ATGGCGCTCAAGTCCGGCGAGGAGCGTCTGAAGGAGATGGAGGCTGAGATGGCGCTCTTT     60
          1 -M--A--L--K--S--G--E--E--R--L--K--E--M--E--A--E--M--A--L--F-     20

         61 GAGCAGGAGGTTCTCGGTGGTCCAGTACCAGTATCAGGAAGTCCACCTGTCATGGAGGCA    120
         21 -E--Q--E--V--L--G--G--P--V--P--V--S--G--S--P--P--V--M--E--A-     40

        121 GTACCTGTAGCTCTGGCTGTCCCAACAGTTCCAGTGGTGCGACCCATTATAGGAACCAAC    180
         41 -V--P--V--A--L--A--V--P--T--V--P--V--V--R--P--I--I--G--T--N-     60

        181 ACCTACAGACAGGTCCAGCAGACATTAGAAGCCAGAGCTGCAACTTTTGTTGGACCTCCA    240
         61 -T--Y--R--Q--V--Q--Q--T--L--E--A--R--A--A--T--F--V--G--P--P-     80

        241 CCACAAGCCTTTGTGGGACCAGTTCCTCCAGTACGTCCTCCTCCTCCCATGATGAGACCG    300
         81 -P--Q--A--F--V--G--P--V--P--P--V--R--P--P--P--P--M--M--R--P-    100

        301 GCTTTTGTTCCACATATTCTGCAAAGACCAGTGTTGTCAGGTGGTCAGAGGTTACAGATG    360
        101 -A--F--V--P--H--I--L--Q--R--P--V--L--S--G--G--Q--R--L--Q--M-    120

        361 ATGCGTGGTCCTCCAGTAGCACCTCCTTTGCCTCGACCTCCTCCACCTCCACCCATGATG    420
        121 -M--R--G--P--P--V--A--P--P--L--P--R--P--P--P--P--P--P--M--M-    140
[0997]

        421 CTCCCTCCTTCCCTGCAGGGCCCAATGCCTCAGGGACCCTCTCAGCCCATCCAACCCATG    480
        141 -L--P--P--S--L--Q--G--P--M--P--Q--G--P--S--Q--P--I--Q--P--M-    160

        481 GCTGCTCCACCTCAGGTTGGTGATATGGTTTCAATGGTGTCAGGCCCACCTACACGACAA    540
        161 -A--A--P--P--Q--V--G--D--M--V--S--M--V--S--G--P--P--T--R--Q-    180

        541 GTAGCCTCACTTCCTGTCAAACCAACACCATCAATCATCCAGGCAGCACCAACTGTGTAC    600
        181 -V--A--S--L--P--V--K--P--T--P--S--I--I--Q--A--A--P--T--V--Y-    200

        601 GTTGCTCCTCCTGCCCATGTTGGACTAAAAAGAAATGAAGTTCACGCTCAGAGACAGGCC    660
        201 -V--A--P--P--A--H--V--G--L--K--R--N--E--V--H--A--Q--R--Q--A-    220

        661 CGAATGGAAGAACTGGCAGCGCGGGTGGCCGAGCAGCAGGCTGCAGTGATGGCTGCAGGT    720
        221 -R--M--E--E--L--A--A--R--V--A--E--Q--Q--A--A--V--M--A--A--G-    240

        721 CTGCTCAGCAAGAAGGAGAGCGAGGACAGCAGCACGGTGATTGGACCAAGTATGCCGGAG    780
        241 -L--L--S--K--K--E--S--E--D--S--S--T--V--I--G--P--S--M--P--E-    260

        781 CCTGAACCCCCCCAAACTGAGAAAATGGAAACTACTACTGAAGACAAAAAAAAGGCAAAA    840
        261 -P--E--P--P--Q--T--E--K--M--E--T--T--T--E--D--K--K--A--K-     280

        841 ACAGAGAAGGTGAAGAAGTGTATCCGCACAGCAGCAGGGACGACCTGGGAGGACCAGAGT    900
        281 -T--E--K--V--K--K--C--I--R--T--A--A--G--T--T--W--E--D--Q--S-    300

        901 CTGCTGGAATGGGAATCAGACGACTTCCGTATTTTCTGTGGTGATCTTGGTAACGAGGTT    960
        301 -L--L--E--W--E--S--D--D--F--R--I--F--C--G--D--L--G--N--E--V-    320

        961 AATGATGACATACTGGCCAGAGCCTTCAGCAGATACCCATCTTTCCTCAAAGCTAAGGTG   1020
        321 -N--D--D--I--L--A--R--A--F--S--R--Y--P--S--F--L--K--A--K--V-    340
[0998]

       1021 GTCAGAGACAAACGGACTGGAAAAACCAAAGGCTACGGTTTTGTGAGCTTCAAAGATCCA   1080
        341 -V--R--D--K--R--T--G--K--T--K--G--Y--G--F--V--S--F--K--D--P-    360

       1081 AATGATTACGTGAGAGCCATGAGAGAGATGAACGGGAAGTACGTTGGTAGCCGTCCCATC   1140
        361 -N--D--Y--V--R--A--M--R--E--M--N--G--K--Y--V--G--S--R--P--I-    380

       1141 AAACTGAGGAAGAGCATGTGGAAGGACCGCAACATTGAAGTGGTTCGCAAGAAACAAAAA   1200
        381 -K--L--R--K--S--M--W--K--D--R--N--I--E--V--V--R--K--K--Q--K-    400

       1201 GAGAAGAAGAAACTGGGCCTCAGATAG                                    1227
        401 -E--K--K--K--L--G--L--R--*-                                    408
```

[0999] 序列号151和153(RBM42突变等位基因-7nt缺失)

[1000] 长度:1227bp(-7pb)和178aa

[1001] 类型:cDNA(序列号:151)和蛋白(序列号:153)

[1002] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 ATGGCGCTCAAGTCCGGCGAGGAGCGTCTGAAGGAGATGGAGGCTGAGATGGCGCTCTTT   60
  1 -M--A--L--K--S--G--E--E--R--L--K--E--M--E--A--E--M--A--L--F-   20

 61 GAGCAGGAGGTTCTCGGTGGTCCAGTACCAGTATCAGGAAGTCCACCTGTCATGGAGGCA  120
 21 -E--Q--E--V--L--G--G--P--V--P--V--S--G--S--P--P--V--M--E--A-   40

121 GTACCTGTAGCTCTGGCTGTCCCAACAGTTCCAGTGGTGCGACCCATTATAGGAACCAAC  180
 41 -V--P--V--A--L--A--V--P--T--V--P--V--V--R--P--I--I--G--T--N-   60

181 ACCTACAGACAGGTCCAGCAGACATTAGAAGCCAGAGCTGCAACTTTTGTTGGACCTCCA  240
 61 -T--Y--R--Q--V--Q--Q--T--L--E--A--R--A--A--T--F--V--G--P--P-   80

241 CCACAAGCCTTTGTGGGACCAGTTCCTCCAGTACGTCCTCCTCCTCCCATGATGAGACCG  300
 81 -P--Q--A--F--V--G--P--V--P--P--V--R--P--P--P--P--M--M--R--P-  100

301 GCTTTTGTTCCACATATTCTGCAAAGACCAGTGTTGTCAGGTGGTCAGAGGTTACAGATG  360
101 -A--F--V--P--H--I--L--Q--R--P--V--L--S--G--G--Q--R--L--Q--M-  120

361 ATGCGTGGTCCTCCAGTAGCACCTCCTTTGCCTCGACCTCCTCCACCTCCACCCATGATG  420
121 -M--R--G--P--P--V--A--P--P--L--P--R--P--P--P--P--P--P--M--M-  140

421 CTCCCTCCTTCCCTGCAGGGCCCAATGCCTCAGGGACCCTCTCAGCCCATCCAGCTGCTC  480
141 -L--P--P--S--L--Q--G--P--M--P--Q--G--P--S--Q--P--I--Q--L--L-  160

481 CACCTCAGGTTGGTGATATGGTTTCAATGGTGTCAGGCCCACCTACACGACAAGTAGCCT  540
161 -H--L--R--L--V--I--W--F--Q--W--C--Q--A--H--L--H--D--K--*-     178
```

[1003]

[1004] 序列号154和156(野生型TDRD6)

[1005] 长度:4890bp和1630aa

[1006] 类型:cDNA(序列号:154)和蛋白(序列号:156)

[1007] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCATCAATCTTAGGACTCCCTACACGAGGATCAGATGTAACTGTTCTCATATCCAGG   60
   1 -M--S--S--I--L--G--L--P--T--R--G--S--D--V--T--V--L--I--S--R-   20

  61 GTCCACGTGCATCCCTTTTGTGTACTTGTGGAATTCTGGGGAAAATTTAGCCTGGAGAGG  120
  21 -V--H--V--H--P--F--C--V--L--V--E--F--W--G--K--F--S--L--E--R-   40

 121 ACTGCAGAGTATGAACGTCTAGCTAAAGACATTCAGTCCCCTGGGGACACTTTTCAAGAA  180
  41 -T--A--E--Y--E--R--L--A--K--D--I--Q--S--P--G--D--T--F--Q--E-   60

 181 CTGGAAGGAAAACCTGGTGACCAGTGCTTGGTTCAAATTGAGAGTATTTGGTATAGGGCT  240
  61 -L--E--G--K--P--G--D--Q--C--L--V--Q--I--E--S--I--W--Y--R--A-   80

 241 CGCATAGTCTCAAGTAATGGCTCGAAATACACAGTGTTTCTCATTGACAAAGGAACAACA  300
  81 -R--I--V--S--S--N--G--S--K--Y--T--V--F--L--I--D--K--G--T--T-  100

 301 TGCCGTGCCATCACAAGTAGGCTTGCATGGGGTAAAAAGGAGCATTTCCAACTGCCTCCT  360
 101 -C--R--A--I--T--S--R--L--A--W--G--K--K--E--H--F--Q--L--P--P-  120

 361 GAAGTGGAGTTTTGTGTGCTAGCTAACGTGCTACCACTGTCACTTGAGAACAAATGGTCC  420
 121 -E--V--E--F--C--V--L--A--N--V--L--P--L--S--L--E--N--K--W--S-  140

 421 CCAGTGGCTCTTGAATTTCTGAAATCTCTTCCTGGGAAGTGTGTGTCAGCACATGTGCAG  480
 141 -P--V--A--L--E--F--L--K--S--L--P--G--K--C--V--S--A--H--V--Q-  160

 481 GAAGTACTAGTCCTGAACAGAACATTCCTCCTGCACATACCTTGCATATCCAAACAAATG  540
 161 -E--V--L--V--L--N--R--T--F--L--L--H--I--P--C--I--S--K--Q--M-  180

 541 TATGAGATGGGATTTGCCAAGAAACTATCCCCAAACATCTTCCAGGACTTTGTCCTAAAG  600
 181 -Y--E--M--G--F--A--K--K--L--S--P--N--I--F--Q--D--F--V--L--K-  200

[1008]

 601 TCAGTGCAGTCCCATAGTGGAGCTGAGGTTTCTCCAGAGATCAAACGGCTGTCCGTGGGA  660
 201 -S--V--Q--S--H--S--G--A--E--V--S--P--E--I--K--R--L--S--V--G-  220

 661 CCTGTTGAACAACTGCACAAGCAAGGGGTGTTCATGTACCCAGAGCTACAGGGAGGAACT  720
 221 -P--V--E--Q--L--H--K--Q--G--V--F--M--Y--P--E--L--Q--G--G--T-  240

 721 GTAGAGACTGTCGTTGTAACAGAAGTGACAAATCCACAGAGGATTTTTTGCCAGTTAAAG  780
 241 -V--E--T--V--V--V--T--E--V--T--N--P--Q--R--I--F--C--Q--L--K-  260

 781 GTCTTCTCTCAAGAGCTGAAGAAACTGTCTGATCAACTTACACAGAGTTGCGAAGGGAGA  840
 261 -V--F--S--Q--E--L--K--K--L--S--D--Q--L--T--Q--S--C--E--G--R-  280

 841 ATGCCCAATTGCATTATAGGCCCAGAAATGATTGGGTTTCCATGTTCTGCAAGGGGAAGT  900
 281 -M--P--N--C--I--I--G--P--E--M--I--G--F--P--C--S--A--R--G--S-  300

 901 GATGGCAAATGGTACCGCTCTGTTCTACAGCAGGTATTTCCAACCAGTAACATGGTGGAA  960
 301 -D--G--K--W--Y--R--S--V--L--Q--Q--V--F--P--T--S--N--M--V--E-  320

 961 GTATTGAATGTTGACAGTGGAACCAAAGAGTTTGTTAAAGTGGACAATGTAAGGTCACTG 1020
 321 -V--L--N--V--D--S--G--T--K--E--F--V--K--V--D--N--V--R--S--L-  340

1021 GCTGCAGAGTTCTTTAGGATGCCAGTTGTCACTTACATCTGCTCTCTCCATGGAGTTATT 1080
 341 -A--A--E--F--F--R--M--P--V--V--T--Y--I--C--S--L--H--G--V--I-  360

1081 GACAAAGGGGTAGGATGGACAACCACAAAAATTGACTACCTCAAGTCTCTCCTGCTGTAC 1140
 361 -D--K--G--V--G--W--T--T--T--K--I--D--Y--L--K--S--L--L--L--Y-  380

1141 AAGACGATGATTGCCAAATTTGAGTACCAAAGCATCTCAGAGGGTGTTCACTATGTCACT 1200
```

```
 381 -K--T--M--I--A--K--F--E--Y--Q--S--I--S--E--G--V--H--Y--V--T-   400

1201 CTTTATGGGGATGACAATACAAACATGAACATCTTGTTTGGTTCCAAACAGGGCTGTTTG  1260
 401 -L--Y--G--D--D--N--T--N--M--N--I--L--F--G--S--K--Q--G--C--L-   420

1261 CTGGACTGTGAAAAAACACTGGGAGATTATGCTATCCTCAACACAGCACACAGGCAACCG  1320
 421 -L--D--C--E--K--T--L--G--D--Y--A--I--L--N--T--A--H--R--Q--P-   440

1321 CATCCAGCCCAGCAAGAAAGAAAAATGCTAACTCCTGGAGAAGTTATGGAAGAAAAAGAA  1380
 441 -H--P--A--Q--Q--E--R--K--M--L--T--P--G--E--V--M--E--E--K--E-   460

1381 GGGAAAGCAGTTGCAGAGAGGGTGCCTGCTGAAGTTCTTCTGCTAAACTCTTCACATGTG  1440
 461 -G--K--A--V--A--E--R--V--P--A--E--V--L--L--N--S--S--H--V-   480

1441 GCAGTTGTTCAGCATGTAACAAACCCATCAGAGTTTTACATCCAAACGCAAAACTATACA  1500
 481 -A--V--V--Q--H--V--T--N--P--S--E--F--Y--I--Q--T--Q--N--Y--T-   500

1501 AAGCAGTTGAATGAATTAATGGATACTGTCTGCCAACTGTACAAAGATTCTGTGAATAAA  1560
 501 -K--Q--L--N--E--L--M--D--T--V--C--Q--L--Y--K--D--S--V--N--K-   520

1561 GGATCTGTTAGAATTCCAACTGTTGGACTCTACTGTGCAGCCAAAGCAGCAGATGGTGAT  1620
 521 -G--S--V--R--I--P--T--V--G--L--Y--C--A--A--K--A--A--D--G--D-   540

1621 TTCTACAGAGCAACTGTGACTAAAGTTGGTGAGACACAAGTCGAGGTATTCTTTGTTGAT  1680
 541 -F--Y--R--A--T--V--T--K--V--G--E--T--Q--V--E--V--F--F--V--D-   560

1681 TATGGAAATACAGAAGTGGTCGATAGGAGAAACCTCAGGATACTTCCTGCTGAGTTCAAA  1740
 561 -Y--G--N--T--E--V--V--D--R--R--N--L--R--I--L--P--A--E--F--K-   580

1741 AAGCTGCCACGGTTGGCACTAAAATGTACTCTGGCTGGTGTCAGACCTAAAGATGGGAGA  1800
 581 -K--L--P--R--L--A--L--K--C--T--L--A--G--V--R--P--K--D--G--R-   600

[1009]
1801 TGGAGTCAGAGTGCCTCTGTCTTTTTCAGAAAAGCAGTAACCGATAAAGAACTAAAAGTC  1860
 601 -W--S--Q--S--A--S--V--F--F--R--K--A--V--T--D--K--E--L--K--V-   620

1861 CATGTACTGGCCAAATATGATAGTGGCTATGTTGTCCATCTGACAGATCCTAAAGCAGAG  1920
 621 -H--V--L--A--K--Y--D--S--G--Y--V--V--H--L--T--D--P--K--A--E-   640

1921 GGAGAACAACAAGTCAGTACACTGTTGTGTAATTCTGGTCTTGCTGAAAAGGCTGACAAA  1980
 641 -G--E--Q--Q--V--S--T--L--L--C--N--S--G--L--A--E--K--A--D--K-   660

1981 CCAGGGCAGTGCAAAAACACAATGCATCCTGCTATTACGCCTCCCACACAATATCCAGAT  2040
 661 -P--G--Q--C--K--N--T--M--H--P--A--I--T--P--P--T--Q--Y--P--D-   680

2041 GCCAGCCCACCATGTGGGAATAGGGACACTGGATTGGCTCTCCAGGTCCAAAACATAATT  2100
 681 -A--S--P--P--C--G--N--R--D--T--G--L--A--L--Q--V--Q--N--I--I-   700

2101 GGCCTTAGCCAGAAAGAAGGAAGAATGGCTACCTTTAAGGAACACATGTTTCCCATCGGA  2160
 701 -G--L--S--Q--K--E--G--R--M--A--T--F--K--E--H--M--F--P--I--G-   720

2161 AGTGTCCTTGATGTCAATGTGTCCTTCATTGAAAGCCCAAATGACTTTTGGTGCCAGCTA  2220
 721 -S--V--L--D--V--N--V--S--F--I--E--S--P--N--D--F--W--C--Q--L-   740

2221 GTTTATAATGCAGGACTCTTGAAATTGCTCATGGATGACATACAGGCACACTATGCAGGC  2280
 741 -V--Y--N--A--G--L--L--K--L--L--M--D--D--I--Q--A--H--Y--A--G-   760

2281 AGTGAGTTTCAGCCAAATGTCGAAATGGCTTGTGTTGCTCGTCACCCTGGTAACGGATTG  2340
 761 -S--E--F--Q--P--N--V--E--M--A--C--V--A--R--H--P--G--N--G--L-   780

2341 TGGTACAGGGCCCTTGTGATTCATAAACATGAAACTCATGTGGATGTGTTGTTTGTTGAC  2400
 781 -W--Y--R--A--L--V--I--H--K--H--E--T--H--V--D--V--L--F--V--D-   800

2401 TATGGCCAGACAGAGACAGTCTCCTTCCAAGACCTGAGGAGAATCAGCCCAGAATTTCTT  2460
 801 -Y--G--Q--T--E--T--V--S--F--Q--D--L--R--R--I--S--P--E--F--L-   820
```

```
2461 ACTCTGCATGGTCAGGCTTTTCGATGCAGTCTGTTAAATCCCATTGACCCTACATCTGCT 2520
 821 -T--L--H--G--Q--A--F--R--C--S--L--L--N--P--I--D--P--T--S--A- 840

2521 GTAACTGAGTGGAGCGAAGAGGCAGTAGAAAGGTTTAAAAACTTTGTGGACTCGGCTGCT 2580
 841 -V--T--E--W--S--E--E--A--V--E--R--F--K--N--F--V--D--S--A--A- 860

2581 TCCAACTTTGTGATTCTGAAATGCACCATATATGCTGTCATGTGCAGTGAGCAGAAGATT 2640
 861 -S--N--F--V--I--L--K--C--T--I--Y--A--V--M--C--S--E--Q--K--I- 880

2641 GTTTTCAACATTGTGGATCTAGAAACTCCATTTGAGAGTATTTGCACTAGTGTGGTAAAT 2700
 881 -V--F--N--I--V--D--L--E--T--P--F--E--S--I--C--T--S--V--V--N- 900

2701 GTCATGAAAAGTACACCTCCCAAAAAAGCTACAGGAGCATCTTTTCGTCTGGATACATAC 2760
 901 -V--M--K--S--T--P--P--K--K--A--T--G--A--S--F--R--L--D--T--Y- 920

2761 TATTACTCAACACACAATGTCAAAACTGGGATGGAGGAAGAGGTCACAGTGACATGTGTG 2820
 921 -Y--Y--S--T--H--N--V--K--T--G--M--E--E--E--V--T--V--T--C--V- 940

2821 AACAATGTCAGTCAGTTCTACTGCCAGCTTGAAAAGAATGCTGATGTGATAAATGACCTC 2880
 941 -N--N--V--S--Q--F--Y--C--Q--L--E--K--N--A--D--V--I--N--D--L- 960

2881 AAGATGAAAGTGAGCAGTTTTTGTCGTCAGCTTGAGAATGTAAAGCTTCCAGCAGTCTTT 2940
 961 -K--M--K--V--S--S--F--C--R--Q--L--E--N--V--K--L--P--A--V--F- 980

2941 GGAACTCTGTGCTTTGCAAGATATACTGATGGGCAGTGGTACAGAGGGCAGATCAAGGCC 3000
 981 -G--T--L--C--F--A--R--Y--T--D--G--Q--W--Y--R--G--Q--I--K--A- 1000

3001 ACAAAGCCAGCACTCCTGGTTCACTTTGTGGATTACGGGGACACTATTGAAGTAGATAAA 3060
1001 -T--K--P--A--L--L--V--H--F--V--D--Y--G--D--T--I--E--V--D--K- 1020

[1010]
3061 TCTGACTTGCTCCCAGTTCCCAGAGAGGCAAATGACATCATGTCTGTGCCTGTGCAAGCA 3120
1021 -S--D--L--L--P--V--P--R--E--A--N--D--I--M--S--V--P--V--Q--A- 1040

3121 GTAGTGTGTGGTCTTTCTGATGTTCCTGCTAATGTTTCCAGTGAGGTGAACAGCTGGTTT 3180
1041 -V--V--C--G--L--S--D--V--P--A--N--V--S--S--E--V--N--S--W--F- 1060

3181 GAGACAACTGCAACAGAATGCAAATTCCGGGCGCTAGTAGTAGCCAGAGAACCTGATGGG 3240
1061 -E--T--T--A--T--E--C--K--F--R--A--L--V--V--A--R--E--P--D--G- 1080

3241 AAAGTCCTAGTTGAGCTCTATCTTGGAAACACTCAGATCAATTCAAAGCTCAAGAAAAAG 3300
1081 -K--V--L--V--E--L--Y--L--G--N--T--Q--I--N--S--K--L--K--K--K- 1100

3301 TTTCATATTGAGATGCACACAGAAAGCCAGGTTGTCTGCCATGGTTGGAGAGCTTTTGAG 3360
1101 -F--H--I--E--M--H--T--E--S--Q--V--V--C--H--G--W--R--A--F--E- 1120

3361 GCTTCACCGAGTTATTCGCAAAAGACAAAATGCACCACAAAAATGGAAGGGGATGATGGG 3420
1121 -A--S--P--S--Y--S--Q--K--T--K--C--T--T--K--M--E--G--D--D--G- 1140

3421 AAATCTAACGAAATGAACCTTTGGAACAAAACAACAAAGTCAGTTCATGAAAATGGTCAA 3480
1141 -K--S--N--E--M--N--L--W--N--K--T--T--K--S--V--H--E--N--G--Q- 1160

3481 AGGATCAAGAGTCCGCGACTAGAGTTGTACACACCTCCACAGCAAAGGGAGTCATCTGCT 3540
1161 -R--I--K--S--P--R--L--E--L--Y--T--P--P--Q--Q--R--E--S--S--A- 1180

3541 GGTGGCAATGTCAGATCTTCAGATCTTCCAACAGATGCCAAGAAACTCAAGTCAACAGTA 3600
1181 -G--G--N--V--R--S--S--D--L--P--T--D--A--K--K--L--K--S--T--V- 1200

3601 AATGGCACAGAATCCCAAAAGGAAAGTAATGCTGAAAAGCTTCCTAAACTTTCAGACTTG 3660
1201 -N--G--T--E--S--Q--K--E--S--N--A--E--K--L--P--K--L--S--D--L- 1220

3661 CCCTCAAATTTTATCACACCTGGTATGGTAGCAGATGTCTACGTGTCACATTGCAACAGC 3720
1221 -P--S--N--F--I--T--P--G--M--V--A--D--V--Y--V--S--H--C--N--S- 1240
```

```
3721 CCAGTAAGTTTCCACGTGCAGTGTGTAAGCGATGAGGATCATATATATTCCCTGGTAGAA 3780
1241 -P--V--S--F--H--V--Q--C--V--S--D--E--D--H--I--Y--S--L--V--E- 1260

3781 AAGCTCAATGACCCCAGTTCAACTGCAGAAACCAACGGGCTCAAAGATGTGCGTCCAGAT 3840
1261 -K--L--N--D--P--S--S--T--A--E--T--N--G--L--K--D--V--R--P--D- 1280

3841 GACCTTGTTCAAGCACAGTTCACAGATGATTCCTCATGGTACCGAGCAGTTGTAAGAGAA 3900
1281 -D--L--V--Q--A--Q--F--T--D--D--S--S--W--Y--R--A--V--V--R--E- 1300

3901 CTTCACGGTGATGCAATGGCTCTCATTGAGTTTGTTGATTTTGGCAATACAGCCATGACT 3960
1301 -L--H--G--D--A--M--A--L--I--E--F--V--D--F--G--N--T--A--M--T- 1320

3961 CCACTTTCCAAGATGGGCAGACTCCACAAGAATTTCTTGCAGCTGCCGATGTACAGCACA 4020
1321 -P--L--S--K--M--G--R--L--H--K--N--F--L--Q--L--P--M--Y--S--T- 1340

4021 CACTGTATGCTGAGTGATGCTGCTGGTCTTGGGGAAGAGGTTGTAGTTGATCCAGATGTG 4080
1341 -H--C--M--L--S--D--A--A--G--L--G--E--E--V--V--D--P--D--V- 1360

4081 GTGTCAACTTTCAAAGAAAAGATTTCTAGTAGTGGAGAAAAAGTGTTCAAGTGCCAGTTT 4140
1361 -V--S--T--F--K--E--K--I--S--S--S--G--E--K--V--F--K--C--Q--F- 1380

4141 GTCAGGAAGATTGGGTCTGTGTGGGAAGTTAACCTTGAAGACAATGGTGTGAAGGTTACG 4200
1381 -V--R--K--I--G--S--V--W--E--V--N--L--E--D--N--G--V--K--V--T- 1400

4201 TATAAAGTGCCTACTGCAGATCCTGAAATCACTTCAGAGAAACTTGAGCAAGTAAAGGAA 4260
1401 -Y--K--V--P--T--A--D--P--E--I--T--S--E--K--L--E--Q--V--K--E- 1420

4261 GAGCCATCCCAGGTGTCTGATATCAGAGAAGTGCCAGAGAGATCAGTGCTGAGCCACTGC 4320
1421 -E--P--S--Q--V--S--D--I--R--E--V--P--E--R--S--V--L--S--H--C- 1440
```

[1011]

```
4321 TCCCCACATAACTTTCTAGAAGACCTTTTTGAGGGGCATAAATTGGAAGCCTATGTCACA 4380
1441 -S--P--H--N--F--L--E--D--L--F--E--G--H--K--L--E--A--Y--V--T- 1460

4381 GTTATAAATGATGATCAGACTTTCTGGTGTCAGTCTGCTAGTTCAGAAGAACATGATGAG 4440
1461 -V--I--N--D--D--Q--T--F--W--C--Q--S--A--S--S--E--E--H--D--E- 1480

4441 ATCTTATTAGGTCTCTCAGAAGTTGAGAATTCAACAGGTCAGAACTATATTGATCCAGAT 4500
1481 -I--L--L--G--L--S--E--V--E--N--S--T--G--Q--N--Y--I--D--P--D- 1500

4501 GCTCTCGTTCCTGGAAGTCTATGTGTTGCTCGCTTTTTAGATGATGAGTTTTGGTATCGT 4560
1501 -A--L--V--P--G--S--L--C--V--A--R--F--L--D--D--E--F--W--Y--R- 1520

4561 GCAGAGGTCATTGACAAAAATGAGGGTGAGCTCTCTGTTTTCTTTTTGGACTATGGAAAC 4620
1521 -A--E--V--I--D--K--N--E--G--E--L--S--V--F--F--L--D--Y--G--N- 1540

4621 AAGGCTAGAGTCAGCATAACAGATGTGAGAGAAATGCCACCTTGCTTGTTGAAGATTCCA 4680
1541 -K--A--R--V--S--I--T--D--V--R--E--M--P--P--C--L--L--K--I--P- 1560

4681 CCACAGGCATTTTTGTGTGAGCTTGAAGGCTTTGATGCTTTATGTGGATATTGGGAAAGT 4740
1561 -P--Q--A--F--L--C--E--L--E--G--F--D--A--L--C--G--Y--W--E--S- 1580

4741 GGAGCAAAGGTTGAATTGTCTGCACTTATAGATGTCAAACTGTTGCAGTTGACTGTCACA 4800
1581 -G--A--K--V--E--L--S--A--L--I--D--V--K--L--L--Q--L--T--V--T- 1600

4801 AAACTAGCAAGAGCTACAGGAACAATCTTTGTGCAGGTGGAATGCGAAGGTCAGGTGATC 4860
1601 -K--L--A--R--A--T--G--T--I--F--V--Q--V--E--C--E--G--Q--V--I- 1620

4861 AACGAGTTGATGAAAACCTGGTGGAAGAGC 4890
1621 -N--E--L--M--K--T--W--W--K--S- 1630
```

[1012] 序列号155和157(TDRD6突变等位基因-10nt缺失)

[1013] 长度:4890bp(-10bp)和43aa

[1014] 类型:cDNA(序列号:154)和蛋白(序列号:156)

[1015] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 ATGTCATCAATCTTAGGACTCCCTACACGAGGATCAGATGTAACTGTTCTCATATCCAGG   60
   1 -M--S--S--I--L--G--L--P--T--R--G--S--D--V--T--V--L--I--S--R-   20

  61 GTCCACGTGCATCCCTTTTGTGTACTTGTGGAAAATTTAGCCTGGAGAGGACTGCAGAGT  120
  21 -V--H--V--H--P--F--C--V--L--V--E--N--L--A--W--R--G--L--Q--S-   40

 121 ATGAACGTCTAGCTAAAGACATTCAGTCCCCTGGGGACACTTTTCAAGAACTGGAAGGAA  180
  41 -M--N--V--*-                                                  43
```

[1016]

[1017] 序列号158和160(野生型Hook2)

[1018] 长度:4002bp和708aa

[1019] 类型:cDNA(序列号:158)和蛋白(序列号:160)

[1020] 生物体:尼罗罗非鱼

```
   1 GCATAATCCATCGCCTTGGAAACGCTCTAATACGGAAGCTCGCGAGGCCCATAGGAGCCG   60
     ............................................................
  61 AAACGCGAAGGTTGTCAGGAGCAGCAGGAGGAGGCCACGGCTGGACAGTGTCTGACGTGG  120
     ............................................................
 121 AAAGTGTCAGCACTGAGTAAGAAACTTCGGGCCAAAACAAGCCTCGAGAACAAAATCCCC  180
     ............................................................
 181 ACAGTTCTCTGTAAGCTCCTGCGAGTTTCACAGAGGACAGCACAATGAGTCTGGATAAGG  240
     ........................................-M--S--L--D--K--          5

 241 CGAAGCTGTGTGATTCACTGTTAACCTGGTTACAGACATTTCAGGTGCCATCGTGCAACA  300
   6 A--K--L--C--D--S--L--L--T--W--L--Q--T--F--Q--V--P--S--C--N--   25

 301 GCAAGCATGACCTGACAAGCGGAGTGGCCATTGCACACGTACTGCACAGAATAGACCCTT  360
  26 S--K--H--D--L--T--S--G--V--A--I--A--H--V--L--H--R--I--D--P--   45

 361 CTTGGTTTAATGAGACATGGCTAGGCAGGATCAAGGAGGAGAGCGGGGCCAACTGGCGCC  420
  46 S--W--F--N--E--T--W--L--G--R--I--K--E--E--S--G--A--N--W--R--   65

 421 TCAAGGTCAGCAACTTGAAAAAGATTCTGAAAAGCATGATGGAATATTATCACGATGTGC  480
  66 L--K--V--S--N--L--K--K--I--L--K--S--M--M--E--Y--Y--H--D--V--   85

 481 TCGGTCACCAGGTGTCTGATGAGCATATGCCAGACGTGAACCTGATAGGAGAGATGGGAG  540
  86 L--G--H--Q--V--S--D--E--H--M--P--D--V--N--L--I--G--E--M--G--  105

 541 ATGTCACAGAACTGGGAAAGCTGGTACAGCTCGTGTTGGGTTGTGCAGTCAGCTGCGAGA  600
 106 D--V--T--E--L--G--K--L--V--Q--L--V--L--G--C--A--V--S--C--E--  125

 601 AGAAACAAGAGCAAATCCAGCAGATAATGACACTCGAGGAATCTGTCCAGCATGTTGTGA  660
 126 K--K--Q--E--Q--I--Q--Q--I--M--T--L--E--E--S--V--Q--H--V--V--  145

 661 TGACTGCCATTCAGGAACTCTTATCAAAGGAGCCGTCATCTGAACCGGGAAGCCCAGAGA  720
 146 M--T--A--I--Q--E--L--L--S--K--E--P--S--S--E--P--G--S--P--E--  165

 721 CCTACGGGGATTTTGACTATCAGTCCAGGAAGTATTATTTTCTGAGTGAGGAGGCAGACG  780
 166 T--Y--G--D--F--D--Y--Q--S--R--K--Y--Y--F--L--S--E--E--A--D--  185

 781 AGAAGGACGACCTGAGCCAGCGCTGTCGAGACCTTGAACATCAGCTGTCAGTGGCTCTGG  840
 186 E--K--D--D--L--S--Q--R--C--R--D--L--E--H--Q--L--S--V--A--L--  205
```

[1021]

```
 841 AGGAGAAGATGTCCCTGCAGGCAGAGACACGCTCCCTGAAAGAGAAGCTCAGCCTCAGCG  900
 206 E--E--K--M--S--L--Q--A--E--T--R--S--L--K--E--K--L--S--L--S--  225

 901 AATCTCTGGATGCCTCCACCACTGCCATCACTGGCAAGAAGCTGCTGCTGCTGCAGAGTC  960
 226 E--S--L--D--A--S--T--T--A--I--T--G--K--K--L--L--L--L--Q--S--  245

 961 AGATGGAGCAGCTTCAGGAGGAAAACTACAGACTGGAGAACGGCAGAGACGACATGCGTG 1020
 246 Q--M--E--Q--L--Q--E--E--N--Y--R--L--E--N--G--R--D--D--M--R--  265

1021 TGCGGGCAGAGATACTGGAGCGCGAGGTGGCCGAGCTGCAACTACGGAACGAAGAGCTGA 1080
 266 V--R--A--E--I--L--E--R--E--V--A--E--L--Q--L--R--N--E--E--L--  285

1081 CCAGCCTGGCGCAGGAGGCCCAGGCCCTCAAAGATGAGATGGACATCCTCAGGCACTCGT 1140
 286 T--S--L--A--Q--E--A--Q--A--L--K--D--E--M--D--I--L--R--H--S--  305

1141 CTGACCGGGTGAACCAGCTCGAGGCGATGGTGGAGACGTACAAGAGGAAGCTGGAGGACC 1200
 306 S--D--R--V--N--Q--L--E--A--M--V--E--T--Y--K--R--K--L--E--D--  325

1201 TGGGAGACCTGCGCAGGCAGGTGCGCCTCCTGGAAGAGCGCAACACCGTGTACATGCAGC 1260
 326 L--G--D--L--R--R--Q--V--R--L--L--E--E--R--N--T--V--Y--M--Q--  345

1261 GCACGTGCGAGCTGGAGGAGGAGCTTCGCAGGGCCAACGCTGTCCGCAGTCAGCTGGACA 1320
 346 R--T--C--E--L--E--E--E--L--R--R--A--N--A--V--R--S--Q--L--D--  365

1321 CCTACAAGAGACAGGCTCATGAGCTTCACACCAAGCACTCAGCAGAGGCCATGAAAGCTG 1380
 366 T--Y--K--R--Q--A--H--E--L--H--T--K--H--S--A--E--A--M--K--A--  385

1381 AGAAGTGGCAGTTTGAGTACAAGAACCTTCACGACAAGTACGACGCACTGCTGAAGGAGA 1440
 386 E--K--W--Q--F--E--Y--K--N--L--H--D--K--Y--D--A--L--L--K--E--  405

1441 AAGAACGTCTGATCGCAGAAAGAGACACACTGCGGGAGACAAACGATGAGCTCAGGTGTG 1500
 406 K--E--R--L--I--A--E--R--D--T--L--R--E--T--N--D--E--L--R--C--  425
[1022]

1501 CACAAGTCCAGCAGAGGTATCTCAGTGGAGCAGGAGGCTTGTGTGACAGCGGTGACACGG 1560
 426 A--Q--V--Q--Q--R--Y--L--S--G--A--G--G--L--C--D--S--G--D--T--  445

1561 TTGAAAACCTGGCTGCAGAGATCATGCCAACTGAGATCAAGGAGACAGTTGTTCGCCTCC 1620
 446 V--E--N--L--A--A--E--I--M--P--T--E--I--K--E--T--V--V--R--L--  465

1621 AAAGTGAAAACAAGATGCTGTGCGTCCAGGAGGAGACCTACCGACAGAAACTTGTGGAAG 1680
 466 Q--S--E--N--K--M--L--C--V--Q--E--E--T--Y--R--Q--K--L--V--E--  485

1681 TTCAGGCTGAGCTGGAGGAGGCTCAACGCAGCAAGAATGGGCTAGAAACTCAGAACAGGC 1740
 486 V--Q--A--E--L--E--E--A--Q--R--S--K--N--G--L--E--T--Q--N--R--  505

1741 TGAACCAGCAGCAGATCTCAGAGCTGCGTTCTCAGGTCGAGGAGCTCCAGAAAGCACTCC 1800
 506 L--N--Q--Q--Q--I--S--E--L--R--S--Q--V--E--E--L--Q--K--A--L--  525

1801 AGGAGCAGGACAGCAAGAACGAGGACTCGTCCTTATTGAAGAAAAAGCTTGAGGAGCACC 1860
 526 Q--E--Q--D--S--K--N--E--D--S--S--L--L--K--K--K--L--E--E--H--  545

1861 TGGAGAAGCTCCACGAGGCCCAGTCAGACCTGCAAAAGAAAAAAGAGGTCATTGACGACC 1920
 546 L--E--K--L--H--E--A--Q--S--D--L--Q--K--K--K--E--V--I--D--D--  565

1921 TAGAGCCCAAAGTGGACAGCAACATGGCCAAGAAGATTGATGAACTCCAGGAGATCCTGC 1980
 566 L--E--P--K--V--D--S--N--M--A--K--K--I--D--E--L--Q--E--I--L--  585

1981 GGAAGAAGGACGAGGACATGAAGCAGATGGAGCAGCGATACAAACGCTACGTGGAGAAGG 2040
 586 R--K--K--D--E--D--M--K--Q--M--E--Q--R--Y--K--R--Y--V--E--K--  605

2041 CGAGAACGGTGATCAAAACCCTGGATCCTAAGCAGCAGCCAGTGACTCCTGACGTTCAGG 2100
 606 A--R--T--V--I--K--T--L--D--P--K--Q--Q--P--V--T--P--D--V--Q--  625

2101 CCCTGAAAAACCAGCTGACAGAGAAGGAGAGAAGAATCCAGCATCTGGAGCATGATTATG 2160
```

```
 626 A--L--K--N--Q--L--T--E--K--E--R--R--I--Q--H--L--E--H--D--Y--   645

2161 AGAAGAGCAGGGCCAGACACGACCAGGAGGAGAAACTCATCATCGGTGCCTGGTACAAGA  2220
 646 E--K--S--R--A--R--H--D--Q--E--E--K--L--I--I--G--A--W--Y--K--   665

2221 TGGGAATGGCACTGCATCAGAAAGTGTCTGGTGAGCGGCTGGGTTCCTCCAACCAGGCCA  2280
 666 M--G--M--A--L--H--Q--K--V--S--G--E--R--L--G--S--S--N--Q--A--   685

2281 TGTCCTTCCTCGCCCAGCAGAGACAACTAATCAACGCAAGGAGGGGCCTGACACGACACC  2340
 686 M--S--F--L--A--Q--Q--R--Q--L--I--N--A--R--R--G--L--T--R--H--   705

2341 ACCCGAGATGAGACACTGAGGCGTGACAGTTACCCTCAAATGAAAAGCAAAGTGCACACA  2400
 706 H--P--R--*-.................................................   708

2401 AGGTGATCCATGTGAACTCTGAGTGTCTTTTGCCTTTTTATGCCTTCACTGGGATCACTG  2460
      ............................................................
2461 CGCCTCAGTGTTTGTCACGCTGCTGCTGCCCCCTGCTGGCTCTTACTGATATGAGAAGAT  2520
      ............................................................
2521 TTCTTTTCTCCGTTGGGCTCCAGAGCAGAAGCTCTCTGCTCTGTTAAAAAGTAGGAGTTA  2580
      ............................................................
2581 TAGGCCTTAAGAAGAGGCAACCTCACCTTTTAAGGTGACTTTTATTTCCCCTGTAGCCTC  2640
      ............................................................
2641 TTGGACTCACTAGTTTTTTTTTTTGTTTTTTTTTCTTGAACATTTATTTAAAATCCTTTT  2700
      ............................................................
2701 TTTTAATTTTTTTATGTTACACAGTGAAACAGAACTGGAACAAGTTTTGTCAGGTGCCAG  2760
      ............................................................
2761 TTTAAATGTGATAGATGATGGAGAAGTTTCACTACTCCGAGTGCTACAGAACAAAAGCTG  2820
      ............................................................
2821 CACAAGCTGTCCTCATACCTCCACTACAGATCGTCACGTTAACTACATCTTGGGTTTTAT  2880
      ............................................................
2881 GTGTTTGCTGATGATTTTTCTTCTTGTAGCGTTTTATTTTTAGTTTAAGTTTGAAGTACC  2940
      ............................................................
2941 TTTGGAAAAAAATGTAAAAAATCAAGCGGGTGTGTAACAGCTTTAGTCTAGATTTCTTCT  3000
      ............................................................
3001 GTATTCACTTTGAATGCTTCCCTTTTTTTTTTCCTTCTCAGCCTTAAATCTGAAACATGT  3060
      ............................................................
3061 CTTCTGTAAATATTTTCACAATGTACACCAAAGCACTTTCTCTCTAGAAGGGTGGGTTTG  3120
      ............................................................
3121 TTCAGTGCCTCGCAAAAGTCTCCCATGCTAGCCCTTTATTAGATGAGACTGAACACTGAC  3180
      ............................................................
3181 ATGTTTGCAGCGCCAACACTGTTTCTGTCACACTACAGGTACGTGCCCGTGTCTGGTGAT  3240
      ............................................................
3241 ATGACTTTTGTGTAATTTTTTTCTCTCTGTTGCCTCTAAAAAAAATTTTTATTTTTTTTA  3300
      ............................................................
3301 ATTCCTATCCATAAGACCTCCCCCATCAGGGGGTCTGATTGTGGGTCGGACCTAACTGCA  3360
      ............................................................
3361 CTCTCCACTTTAAACACAAAAACTGGAAAACACTATGCGAGAGTCTCTAATCATAAAAAC  3420
      ............................................................
3421 ACTAAAAAATATATAAAACTGAGTCAGCTGATGTCCTGTTTGCTGCTGCTAGGTGTTGTT  3480
      ............................................................
3481 CACGGCTGAGCTGGAAGGAAACGTGTTCTTCAATGCGCTGGAATTTTTCCTGTGACAGGA  3540
      ............................................................
3541 AATCGACAGCAGATTAAAAAGCCTGAGGCACATTTATCAGACACTACGTCTGCCTTTCTT  3600
      ............................................................
3601 TACAACCGCTGATCAAGTTGTTTTTGTGCGTCCCATATCAGAGCCGCTGTCCTGTGACTT  3660
      ............................................................
3661 GTACTTGCCTCTAACAGTTTGTGCTATGATCTACGAAGACCAGAGTCCTGCGGTTGTGTA  3720
      ............................................................
3721 AACACTTTTTATTTTTTTGTTCTACTGATGTTTTTTTTTTTCTTTTAAGTTGGTTTTTAT  3780
      ............................................................
3781 GGCGTAAAATTATTGCTCCACATATGCATGGTATGAAAGGTTGCATCATGAAATGGTCTA  3840
      ............................................................
3841 CTAGATTATACCATAATGTACTTGACACAGGGTTATATTATTTGTAGTCCTCTGTTCTAC  3900
      ............................................................
```

[1023]

```
3901 TTTTTGCACTACAAATAAATGGGATCTTAAGTTAAAGATGGCATTTTGTGTTCTTCTTTT 3960
     ............................................................
3961 CAGTGCATTCAAAGGCACACTTTCACAGTCCCTTCTGATTTA                   4002
     ........................................
```

[1024]

[1025] 序列号159和161(Hook2突变等位基因-2nt缺失)

[1026] 长度:4002bp(-2pb)和158aa

[1027] 类型:cDNA(序列号:159)和蛋白(序列号:161)

[1028] 生物体:尼罗罗非鱼

```
  1 GCATAATCCATCGCCTTGGAAACGCTCTAATACGGAAGCTCGCGAGGCCCATAGGAGCCG   60
    ............................................................
 61 AAACGCGAAGGTTGTCAGGAGCAGCAGGAGGAGGCCACGGCTGGACAGTGTCTGACGTGG  120
    ............................................................
121 AAAGTGTCAGCACTGAGTAAGAAACTTCGGGCCAAAACAAGCCTCGAGAACAAAATCCCC  180
    ............................................................
181 ACAGTTCTCTGTAAGCTCCTGCGAGTTTCACAGAGGACAGCACAATGAGTCTGGATAAGG  240
    ........................................-M--S--L--D--K--        5

241 CGAAGCTGTGTGATTCACTGTTAACCTGGTTACAGACATTTCAGGTGCCATCGTGCAACA  300
  6 A--K--L--C--D--S--L--L--T--W--L--Q--T--F--Q--V--P--S--C--N--   25

301 GCAAGCATGACCTGACAAGCGGAGTGGCCATTGCACACGTACTGCACAGAATAGACCCTT  360
 26 S--K--H--D--L--T--S--G--V--A--I--A--H--V--L--H--R--I--D--P--   45

361 CTTGGTTTAATGAGACATGGCTAGGCAGGATCAAGGAGGAGAGCGGGGCCAACTGGCGCC  420
 46 S--W--F--N--E--T--W--L--G--R--I--K--E--E--S--G--A--N--W--R--   65

421 TCAAGGTCAGCAACTTGAAAAAGATTCTGAAAAGCATGATGGAATATTATCACGATGTGC  480
 66 L--K--V--S--N--L--K--K--I--L--K--S--M--M--E--Y--H--D--V--     85

481 TCGGTCACCAGGTGTCTGATGAGCATATGCCAGACGTGAACCTGATAGGAGATGGGAGAT  540
 86 L--G--H--Q--V--S--D--E--H--M--P--D--V--N--L--I--G--D--G--R--  105

541 GTCACAGAACTGGGAAAGCTGGTACAGCTCGTGTTGGGTTGTGCAGTCAGCTGCGAGAAG  600
106 C--H--R--T--G--K--A--G--T--A--R--V--G--L--C--S--Q--L--R--E--  125
601 AAACAAGAGCAAATCCAGCAGATAATGACACTCGAGGAATCTGTCCAGCATGTTGTGATG  660
126 E--T--R--A--N--P--A--D--N--D--T--R--G--I--C--P--A--C--C--D--  145

661 ACTGCCATTCAGGAACTCTTATCAAAGGAGCCGTCATCTGAACCGGGAAGCCCAGAGACC  720
146 D--C--H--S--G--T--L--I--K--G--A--V--I--*                      158
```

[1029]

[1030] 序列号166(nanos33'UTR)

[1031] 长度:703bp

[1032] 类型:cDNA非编码

[1033] 生物体:牙鲆(Paralichthys olivaceus)

```
  1 AGCCAACAGGTGTCAGGTATATCGACAACAAGCCACTGCACAGAGGCCGCAGTTCTTTTT   60
    ............................................................
 61 ATGTGTGATTTTTATTTTAATAGCACTAGTGTTGTTTTTTGCTTTTGTGTGGTTTTTGGT  120
    ............................................................
121 TTGGTTTTAATTTGCATGCTTTGGCACGTTTACACTGAGGCCTTCTGTGAAGCTGGCTGA  180
    ............................................................
```

[1034]

```
181 TCTTTCTGTGGGCCCTCTACTTCAAAAAGCGTCTGTTGGTGGATTTCGTGAGGTACTCTC 240
241 TTTCGACAACGACTGCCAGATATGTTTGGGAGGAGAAAAGGAAAAAATGTTTCTCAGGAA 300
301 ATTGTATGTTTGTTTTATTTATATTTTAAACGTGGCCATCTGATGTCCAGCCTCACTTTT 360
361 CCTGTCCATGCATTGAAGGATTTCAACACAAATACCAAAGCTTTATCAGACCTACATTCA 420
```

[1035]

```
421 TCATTGGTAATAATTTTACTACAGCATTTAAACATCATGTGACCATGTCAGTATTTTAAA 480
481 TTTTTAAAATATCAGTGACTTGTTCTAGTTCTAAGGTGTGTGAGTGAATTCCTGTTCCTG 540
541 AGACATCCTGTTTTATTTTGAATATTCTATGTGTGGCTTTTCTAAAGGTAAAAAAAAAAA 600
601 AGCCGCTGTAACTCATCTGGCTTTGTGGGGGGGGGGAATCTTTGTGTGAATATTCTTGTA 660
661 GTTACACATGTCTAAAGTGAGTAAATCTGTGTTTGTATGCTTT 703
```

[1036] 序列号167(nanos33'UTR)

[1037] 长度:567bp

[1038] 类型:cDNA非编码

[1039] 生物体:鲤鱼(Cyprinus Carpio)

```
  1 ACCGGACGTTTCTGGCCACGGTCATACAAGAAGGACGTTTTTACGAGTAGTTTTAATATT  60
 61 CCAGTTTTAATTGTTCAATCCATAATGGCTTGTGTGTAAGTTTGCATGCATGTGTGCTTT 120
121 TTGGTGTTGTTTGATTTTGCACGGTTTTTTGTCTTCCTCTTGTGTGCAGTGGTGTTTTTC 180
181 ACTCTAACAAACTTGTACACAAGCCAGTTGGCTTGCTACAGGTGCAACCACGTGTGAACT 240
241 AGCGCTTTCTTGTTAATTTTACTAAAAAAAAAAGTATCTTGTGATTAATCTGTGGTGAAA 300
```

[1040]

```
301 TATATATAAACGCTTTTAGTGTTATTTACATGTGTTTCTCTTTAAAGCTGCCTATATTTT 360
361 GCATTAACACTTAAAAAAATCTCAGTCTTCTGTTTTATTTCTTTTTACAACATTTTGAAA 420
421 ACATTATCAGGTTTTGTTCACGTGACATCAGGAAGTTCATGTATATTTGTTTAAAAATGA 480
481 TTTACCTTGGGACAAAAACAAGAAAATGAACAGAACTTTTGGAACCCTGTGTTCATATCA 540
541 CAGCACTTAAGCTGAAATTGGTTCAGT 567
```

[1041] 序列号168(nanos33'UTR)

[1042] 长度:618bp

[1043] 类型:cDNA非编码

[1044] 生物体:斑马鱼(Danio Rerio)

[1045]

```
  1 AGCGGACATTGATGCTCCGGTAGATTTGAAGAAACACTTTTTACCGCAGGTTTTAATGTT  60
 61 TAAGTTTTAACTCTTTAATTGTTTGTTTGGTTGATACGCGGCGGATTGCGAGTTTGCATG 120
```

```
          ...........................................................
      121 CATGTGTGCGTTCACTGTTTGATTTTGCACTTTTTTTGTGTGTGTGTATATGTGTGTGTT    180
          ...........................................................
      181 TGCTGTGTTTTATTTTGTGTGCACTGGTGTTGTGTTTTCACTTGGTAACAAACTTGTACA    240
          ...........................................................
      241 CAAGCCAGCAGGCTCGCTACAGGCGCAACCGCACTCAAAAACAAACCCTTTCATGCTTAT    300
          ...........................................................
      301 TTGGTAAATACAATGTGTGTTTAGTCCTCCTTTTAAATGTCAGATTTTATGGTGTTGTAT    360
          ...........................................................
[1046] 361 TTAAACAAAAAATTCAATGTTAATATTTAGATTTTAGTGATTTTATTATTGAAAACGGCT    420
          ...........................................................
      421 TGTTTTGTATAAGTAACCTTTAAAAAAAGTTTTCTCCATTGCATTTAAATTCAGTTTGAA    480
          ...........................................................
      481 AAACATAATCGCCATATTTTCATGTCGCTTGCTAAAATTCATGTACTACTTTCATCATTT    540
          ...........................................................
      541 TATGTCAGTGTGTGATTTTTGACTTGTGATGGAGTGAAAAATGTGAGGAAAATATAAACA    600
          ...........................................................
      601 TTTTCTCTAGACTTTAAA                                          618
          ...................
```

[1047] 序列号169(nanos33'UTR)

[1048] 长度:801bp

[1049] 类型:cDNA非编码

[1050] 生物体:尼罗罗非鱼(Oreochromis Niloticus)

```
        1 ACCAGCAGGTGGCAAGGAGCAATAAGACACTACACAGAAGGCAGGACCCTCGTTTCGTTT     60
          ...........................................................
       61 AGTGTGACTTTATTTTTTCTATTTGTGTATTTATTTTAGCACTAGTGTGGTTTTGCTTTT    120
          ...........................................................
      121 GTGTGCTTTTCATTTGCATGCTTTGGTTCGTTTGCTGTGTAGCTGATTAGAGTTTCTTTG    180
          ...........................................................
      181 CAGCTGGTCCTGCCAGCCTAAAATACCTCAGCTGTTTGCTGTTTGGATTTGTGAGGCACT    240
          ...........................................................
      241 TTCAAGAACGACTGCCAGATTTTATGTTTGGGAGGAGGTTTGAAAAAAAAAAAAGAAGAC    300
          ...........................................................
      301 ATGTTTCAAAAAATTATTGTATGTTTCTTTTACATACTTTTAAAACGTGGCCAGCTGATG    360
          ...........................................................
[1051] 361 TCCAGTTTCATATTTCCTGTCCATGCATTGAAGGATTATAACACTGTCAAACATTATAAG    420
          ...........................................................
      421 AGATGCAGTCATAATTAATAACTCTACTAAAGCAGGTAAAGCATCATGTGACCATGTCAG    480
          ...........................................................
      481 CATTTTAAATTTTTAAAAATGAGTGACTAGTTCTTGTTCCTCTGATGTGTGCAAGTAGAC    540
          ...........................................................
      541 CTCTGTTCTTGAGGATAGATTATTTTATTTTGAAAACTGTAATTGTGGCTTTTCTAAAAA    600
          ...........................................................
      601 TGTTAACGCCGTTGTAGCTCTTTGTCGAAAAAGTCTGAAAATTTCTCTGTGGCTATTCTT    660
          ...........................................................
      661 GTGTGCTAAAAAGTTATAAATAACTAAATTGGCTAAGTTTA                      801
          ....................................
```

[1052] 序列号170(nanos33'UTR)

[1053] 长度:903bp

[1054] 类型:cDNA非编码生物体:斑点叉尾鮰(Ictalurus punctatus)

```
   1 ACCGAAAATCTGAACCCCACTCTCACACTCGCTACCAAACTGTAGGTTATTCTTTTTTTT   60
     ............................................................
  61 TTTTTTTTACTTGGGAAGGTGAACAAGAAGCTTTAGACAAAAGCTGCACAGGTACGTCAG  120
     ............................................................
 121 CGGTCCTTAAAGTCCGGTACTGTACCTGGAATGCTTTTATATGTAGGCTTCAACTATATT  180
     ............................................................
 181 TTCAAAAGGTACTAAAGATGTACCAGTTATGATTCAATTTCAGAGAAAAGCTCAAGTACA  240
     ............................................................
 241 GTTGGTGCTTTTTTATCTGAGAGTGGCTGTAGAAAGTTGTAAGTCCTTTTAAAAAAAAAAA  300
     ............................................................
 301 AAAAAAAAAAATCAGCATTATATTTTTAATGTCTGCATTACTGTGCTTATTATTATGGCT  360
     ............................................................
 361 TAGAGCTGTCGGGTTTAGTTGTTTGAAACTCCGGAATGACCTGCCCTGGGTTTACAGCTG  420
     ............................................................
 421 TAACACCTGGAACGCTGTGGGTGTCAAGAGTTTTGCTTTACTAACTTTGTGTGCACTTTG  480
     ............................................................
 481 TGTATGCACTTGTGTTGTGTGTTTATTTTGATTGGTGTGTTTTGTTTTGAAGCTGATTTC  540
     ............................................................
 541 TCTAACGAGCTTGTGCTCAGGCCTCTCTGGCTCATCACAGGTGCAGCATGTTACAGGTGC  600
     ............................................................
 601 GGGTCTATGCAGGGCTTCATGATGGGACCGTGGCTCTCCGACCTGCTATTTTTCTGCTCC  660
     ............................................................
 661 ATTTTATTGTCCATTCGAAGAACTTCTGACGTGTTGTGACTTTTTAAAGTGTTTTAGACC  720
     ............................................................
 721 ATTTGGGATTTGAGTTAATATACTTTATATGCATGTAACAAGCCTCAGTGCTGCATTTGT  780
     ............................................................
 781 TTTTATATATTATATAAGACGTAAGTGTTGGACTGTTTTGGTACGAATGACCTCGTCGAT  840
     ............................................................
 841 GCCTCTGAATCTTCTGCAATTCTGTAAGTTTCAATTTCTAATATATTTAAAGTGTGAGCT  900
     ............................................................
 901 CCA                                                           903
     ...
```

[1055]

[1056] 序列号171(nanos33'UTR)

[1057] 长度:1000bp

[1058] 类型:cDNA非编码

[1059] 生物体:虹鳟(Oncorhynchus mykiss)

```
   1 AAGCGCTAGCTCTGGTCCAGGCCGTTACTGCGCTACCCTCTAGACCTACTAACATAGTCA   60
     ............................................................
  61 ACTTGTTGTTGCGAGATGGGTGGAACCAGAGCTAGAGAAGCGCTGGAGAGACTTCAGGCT  120
     ............................................................
 121 GTTGTTTTGCAGACTTTCTTGAGCGTCTCTAGCGCACTGTATGCGGACAATTGTAAGAGG  180
     ............................................................
 181 ATTTACGAGTGGATATTTAGCTTAGACGCAGTTTGGAACAGGCTGACAAGTTTGTAGACT  240
     ............................................................
 241 GTAATTTCCTGTTAGTCGTGTGATTTTTATTATTTATTTCCTTGACTTTTTTTCGTGTGT  300
     ............................................................
 301 TTTCAACCATTGTCGCGTATTTTTATGTATTTATGACGTGTGATTATTTGCGTGCCCGTG  360
     ............................................................
 361 CATTTATTTTCAACACATTTTGGGTTTGAGTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTAAAGTGGAA  420
     ............................................................
 421 ATGTTTCTGTCTGTCTGTGACCAAACTAACTGTGTCTTTACATGTTGGTGTGAGATTTTG  480
     ............................................................
 481 TAAAACCTCAACCTCTTAATGTGTCGCCTACTGTGTCGCCCTTACCAACAAAACTCTCAC  540
     ............................................................
 541 TGCAGAATTAAACGTTTATCCCACGTTTTTCCCTGCTACATTGGGGAGGAAAAAACGGAA  600
```

[1060]

```
          ..........                                                  
601 GTGTTGTCTTGTTTTGAGACTTGTTTTCCTGGCTTTAAAACGACATGCTTTAATCTAACT    660
          ..........                                                  
661 GTACATATGCAAGTTTACGGGCCTAAAATAACTATTAAAAGAACATTCCCATTGACACCA    720
          ..........                                                  
721 AGACAACTTTTGTTTTATGACGTGGTGTGCTGAGCTACTTTGTATTTTTCATTTCCCATG    780
          ..........                                                  
781 CTAGCTACTATTAAGAACCGTTATACTTTAATATATCTAGAAGTGTTTTTTTATTTTAAA    840
          ..........                                                  
841 TTTGACTTTTCAACCTCGATGCATCTTACATTGGCTGTACAGGACTTTAATGTTAAGTTT    900
          ..........                                                  
901 AATCTCACTTTAAAGAACTGCGCTACCCCATGTTGAATAGTATGTTTGTTTATTATGATA    960
          ..........                                                  
961 ACATGTTTTCTATAATAATAATAATAATAACAATATCTGC                        1000
```

[1061]

[1062] 序列号172(nanos33'UTR)

[1063] 长度:124bp

[1064] 类型:cDNA非编码

[1065] 生物体:日本青鳉(Oryzias latipes)

```
  1 AAAGACTCAATCCGTTGTAAATATGTGTGTGGTTTGTTTTGAATTATTTTTAACCTAATT     60
          ..........                                                  
 61 TGCATGGTGTGCTGTTGTAAAATTAATATTTTCAAAACATTAAAACCAGGTTGTCTTTGG    120
          ..........                                                  
121 TTGC                                                            124
          ....
```

[1066]

[1067] 序列号173(nanos33'UTR)

[1068] 长度:400bp

[1069] 类型:cDNA非编码

[1070] 生物体:黑青斑河鲀

```
  1 ACCACCGGCCGGAAAACAACTTCTTTATTAGTGATTGGTGCTTTATTTGCACGGGTGTTT     60
          ..........                                                  
 61 GTGTGTTTTTTTTTAATGATTGTGTGGTTTGATTTGTTACTTGCATGCTCTGCACGTTTG    120
          ..........                                                  
121 CCGTGTAACCTCAGTCACGCCACGTCTTTGAGAGGACAGAGACGTGGCCTTCGGCTCTCT    180
          ..........                                                  
181 TGCGTTTTTAATCCCTTTGCCCGGTCACTGACCTCAGAAAAGTCATTTTATTACACCAGC    240
          ..........                                                  
241 ATTTTTTAAACGTGTGGCTAGTTCTAGTCCTACTTTTGTGTTTTATTTTGCGCAATATAA    300
          ..........                                                  
301 AAAGGGCTTTTCTGGAAATGTCTCAAGGAAAAAAGTGTAAATAATTCCGTATTAATATTC    360
          ..........                                                  
361 TTGTGATAATTGTGTGTATTTATGTTTTAAATTTACCTCG                        400
          ....................................
```

[1071]

[1072] 序列号174(dnd13'UTR)

[1073] 长度:173bp

[1074] 类型:cDNA非编码

[1075] 生物体:大西洋鲑鱼(Salmo salar)

```
  1 TGGTGTTGAAGCACAGATCCCCTACTTTGTTTTAATTATGAAAATACTTAAATGTTTTGC     60
          ..........                                                  
 61 ACTCTTTTATATTTAGTAAGTAGATGCATGATTTTACTTTTTTTTTGAACCACTTTTGCA    120
          ..........                                                  
121 TGTTTCTGCACCATTTAATTGTTTCTCATTATAATAAAATGAGATTTGTCAAA           173
          ..................................................
```

[1076]

[1077] 序列号175(dnd13'UTR)

[1078] 长度:500bp

[1079] 类型:cDNA非编码

[1080] 生物体:大西洋鳕鱼(Gadus morhua)

```
     1 CTTGCAGCCCTCTGGCCGGGCACGGAGGGCATGCCGAAACAGGCTTGGTGAACGCGCCCA     60
       ............................................................
    61 ACGGGACGTGTTAAACACTTATCTTGACCATCGCAGGGCGTTCCCCTTTTATACATGTTC    120
       ............................................................
   121 GAAGAAAAAAATGCTTTGGTTTTATGTTGTGCATGTTTTTATTGGTGTTGACTGTTGCAT    180
       ............................................................
   181 GCTTTATATTTGTACCTAATTTAAATCTAAATAAGCTGCTGCTTGTCATTGTAGAAGAGT    240
       ............................................................
   241 ATGCAGAGTGGAGTTTTACAGAGATCTATTGGGAGGTTTGATATGAAAGACGTCGGTTCT    300
       ............................................................
   301 GCACCTTGGTGTGGACATGTTGGTTTGATCTTGCATGATTAAATGTCTTACCTACCATCC    360
       ............................................................
   361 TTGGTGTTGCACTGCTAGTCACTTTGTATTTTATTTACATAGGACATCAAAACATACGAT    420
       ............................................................
   421 AAAAGGGAAACGAACGCAACCACGGACTGAGTGCCGGACTTGGGGTGATCGGGCCTTCTC    480
       ............................................................
   481                                   AGTTTCTGTCCCCCTACCCT
500

       ..................
```

[1081]

[1082] 序列号176(dnd1 3'UTR)

[1083] 长度:190bp

[1084] 类型:cDNA非编码

[1085] 生物体:虹鳟(Onchrorincus myskiss)

```
     1 TAGTGTTGAAGCACAGATCCCATACTTTGTTTTAATTATGAAAATACTTCATGTTTTGCA     60
       ............................................................
    61 CTCTTTTATACTTAGTAAGTAGATGCATGATTTTACTTTTATTTTGAACCACTTTTGCAT    120
       ............................................................
   121 GTTTCTGCACCATTTAATTGTTTCTCATAATAAAATGAGATTTGTCAAATGTCAAAAAAA    180
       ............................................................
   181 AAAAAAAAAA                                                     190
       ..........
```

[1086]

[1087] 序列号177(dnd1 3'UTR)

[1088] 长度:465bp

[1089] 类型:cDNA非编码

[1090] 生物体:尼罗罗非鱼(Oreochromis Niloticus)

```
     1 TGCCAGCACCATGCTAGAGGAGGCTCAGAAGGCTGTAGCCCAGCAGGTCCTGCAGAAGAT     60
       ............................................................
    61 GTACAACACTGGTCTCACACACTAAACAGCTGATGCCGTCCTGCAGTTCTGTTTCACCTT    120
       ............................................................
   121 GTTTGTGTTATGTGGTTTCATTTTCTGCATGTTTTTACTAGAGTAGCACCAAGTTTGTTT    180
       ............................................................
   181 CTCTGACTATAACTTGTGGTTTGTTTTATGCATGATTTTTACTGTACATTAGTGTTCTGT    240
       ............................................................
   241 GTTACTGGATTGGTTCTCATTTTAATTAAATGAGCTTTGAAAAGAAAGTGTCGGCGTTTC    300
       ............................................................
   301 TTTCAAATTAATGAAAGATTTAAATTAACTTAGGAAAATGGTAAAGCAGTTATTATTGTC    360
       ............................................................
   361 TCACTTCATGCTGTTATGAACCCTAGTGATTCTCATCCAGACCTTTACGTATCTTTGAAG    420
       ............................................................
   421 GTTGTGGATTGAGACTAACCCCCCTCAGTGGTTTGGCATTTTAAAC                 465
       .............................................
```

[1091]

[1092] 序列号178(dnd13'UTR)

[1093] 长度:273bp

[1094] 类型:cDNA非编码

[1095] 生物体:河豚(Takifugu rubripes)

```
    1 GCAGGCCTGCACAGTTCAGCAACTTCTACTGCACCGCTCAATACTGTTTTATTTCATAGA   60
   61 GTTGTTCAAAAAACATTGATATGTATATTTTATTGCAGTTAACTTATTTTTGCATGGTTT  120
  121 TATTAGTATTTGCTGTTTGTTCTGTTCTATGCATGCTTGTTGTTGTTGTGCTCAGTTAAT  180
  181 CATTTTAAGTAAATGTGACTTCAAAAGTAAATCTGATGTGTTGGATTCTTTGGGGTTGTA  240
  241 AAGTGATTGTTTATACATAAAAGGATCTCAGAA                              273
```

[1096]

[1097] 序列号179(dnd13'UTR)

[1098] 长度:527bp

[1099] 类型:cDNA非编码

[1100] 生物体:斑马鱼(Danio rerio)

```
    1 GAATGTGATTGTGATCAGTTTTACGNTCAGTATTATGTACTGTTCCGGTTATAGATGATG   60
   61 AATATGTGGAAATGTAATGAAAAATAAGCATTTAGTTTACTGTTGATGAAGAGAAAAAAA  120
  121 AAGGTGACCAAGGCAGTATTACTTTTATTTGATTTTATTTTTTTCNAGCTCTTGANTTTA  180
  181 GTGGTTTGAAGTTTTATGTTCTCGTCGTTTTATAATATTTTAACTATGTAATATTAATAA  240
  241 TTGAGTTGTTTTAGTCAGCCTCATCATATTAGGATGACTGCATGTTTTCACGCTTTTCTT  300
  301 TTGAGTGTTTTTCACTGTATTTCGACTTCACTTTGGTTTGCGTTTGTCACGATTGTTCTT  360
  361 TTTGCATGGTGTGCTCCTTGTGTTTCCTTGTTTGATGGGTTGTACTGACTATAAATGACT  420
  421 TTTGTACAATAAATAAGTTGTTCGAGAAATGTTATTCCTGCAGGTTATTGTTCACTACAG  480
  481 TCTAGTACTGTATCTGATGCACTGTTAATAAACACCTGTTGAAAATA                527
```

[1101]

[1102]

[1103] 序列号180(dnd13'UTR)

[1104] 长度:552bp

[1105] 类型:cDNA非编码

[1106] 生物体:沟鲶(Ictalurus punctatus)

```
    1 GGTTTGACGTCAGATGCCGTTTTGTGTGAGAATGTGATTTCCTAAAGTAGAACATGGTCC   60
   61 TGGATCAGCTTTCCTGTGTTTAATTTGTTGTCAGTACAAATCTCAAAGATGTCACAGTCA  120
  121 CAGATGGAGCTTGTAGATGTATTGGAGCAGTTTCACCTCCAAGCTTGTTTCGTTAGAGAG  180
  181 AACTAGATGACAGGAACCTGGATTGGCAATGTCTAAACTAATTTTTTAAAAAAACTAAGT  240
  241 AAGATCCAAACATAAATAAGTAACTAACAATGAAATAAATAAAATCTCTTTCACATTGCA  300
  301 AAGCTACGCTAACTTTCCTGTCTAGAAACTTCCAGAGGTGGTCCTTCTTCCACTGATGAC  360
  361 ATCCCAGAGCAACGATTGGCTATGTAATTACAGAAACAACGAAATGATGAAAGATTTTGA  420
  421 TCAAGTAACATGTTCAACTTAAAAAAAAAAAAAGAAAAACGTTCTCCTCCAGTTTCACGT  480
  481 TCAGTATGAAGATCAGAAAATATGTAGAGTTGTTTCTGCGTTTTTTTTACATGGTTGTAA  540
  541 TTTTTTTTTTTT
```

[1107]

[1108] 序列号181(dnd13'UTR)

[1109] 长度:585bp

[1110] 类型:cDNA非编码

[1111] 生物体:爪蟾(Xenopus tropicalis)

[1112]
```
  1 CTGTTTTTCTTTCTGTGATGAGGACACCACATCAGAAGAGCTTACTTTTTTATAGTTTTG   60
    ............................................................
 61 TTGTCTTCAAATGATTTTATAGTTACCACCACCCGTTTAAAGGGAAATATTTTTACATCA  120
    ............................................................
121 GTGTATAGCTAGTTTTCTTTCCCCTTTTTTTCACTATGATGTTTGCACTTTTTTTATTTC  180
    ............................................................
181 TGTGTGTGTACATTGCGCTTAAGATTTAAAAAAACAACTTTTGTGTGTCTCTTTAAAATG  240
    ............................................................
241 TACAGGTTACAGTATCTCTTATCCATGTACAGCACTGAACACCGTGGAGTTTCCTATGTT  300
    ............................................................
301 TATTTTAAAATGTATGCCAAACTATAGAAGGCAAAACTTGTGGTGTAAGGGTTTCAACAT  360
    ............................................................
361 TTTTTCATTGCACAAAAATCAGGTTTATGAATGTATCTCTAGAAATCTTAGTAGTAGTAT  420
    ............................................................
421 TAGCCACTGGTTGGCTAATTGATCTTTTATAAATCCTTCTTTTTTTTCTTGTGTGTGGTT  480
    ............................................................
481 TTTAAGAAAACATGTTTAAATTATGTTTTGTATTTCTAGGATCAGTGTTTGCTAGCATTT  540
    ............................................................
541 TATATCACAGGTTCTTACTGTTTTCAGAATAAAACAATACTACTC                 485
    ........................................
```

[1113]

[1114] 序列号182(Elavl23'UTR)

[1115] 长度:2235bp

[1116] 类型:cDNA非编码

[1117] 生物体:大西洋鳟鱼(Salmo salar)

[1118] TCTCATCTCGGATTGTTTATAGAAAACTCTACAGAAAATGGAAAAACCTAAAATGGAAACCTACCGACC
GTAAACTTTCTACATTAGCAAAAACATCTTTGTAAATCAGTGTTACGAAGGGAAACTATACTTAGCGTCCAACAGTG
TTTTCCTTTCCTTCATTGCTAGGCTTTGAAACTTCTTAAAATACTTTGCGTTAAACCAGAAAAAATACTGCAGGTTT
TCACGCCTGTCTTTAAAGCTGGACCTTTTAAAATGTTACTAAAGGTTTTTTTTTGTTTTGTTGCACATCTGCTGTAA
AACAGGAAGTTTTGTAAGGCTTTGTGTAGTGATTTTTCTTTTGTATTCTTCTGTGTCCTGATTTGCCTTGGTGCTTT
TTGCGTCTTAAGTGGTTAACGAAGTATTTATTTTTGATTATTCAGTTTAAACAAATTGTTAGTATTATGTTTATTGT
AATATGAGTTATTGGTTGGCTGCATAATATTGCTTATTGTAAAATTTAATGGAGGAAAAACACAAAAAAATATATCT
TAAAGCAGTACCTTGCCAAAGAGCTAAGAACCTCTTTGATGTGGGTTTAAAAAGCATCTATTTTTATAAAAAGACAA
ATTTGGAGAAACTTTTTACTGGACCTGGAACAAATATTTTGACTTGGATACTTTGAGAAATATCTTCATATGACACC
TTACCAGGAAGTTTGCAGTGGTTGACATTTCTGGAGAGATTTCTGATGTAAAAGATACCTTTTGAGATCTTTGTATT
ATCTTTCGATTCTAGAATCAATGGCAGTGATGGTTTCATTTGTATAATCACCTGTGGGTTGTCCTATCATCCTGGCT
GTTATGACTAGCAACTCCCATTCACTTTTGATTTGGAAATGCAGACAGAAAAAATACAAAGGTTTATTTGCAAAAGT
GCATGCAAAATTATAGTGGAAATATCTTCAAGGTAAAAGGGGGGGGGGATAAAAATCAGTTCTTCCTAAAGAATTCC
CTTCAAGACAGCGCTCATGGTGGTTTGTGGTGTACTTACTATATCATTTTGTCTTTATATTAAACAAATAAGGGTTT
TACCTACTTTGTATGAAAGAGGGAGAGGACAAGCTGACCAAGGCAGCTGATTAAGTAAACGAGTTTGAATGAAAGAT
GGGGAAGATTACTCCTGGGCTTAGAGCTATGTAAATAAGTCCTTTTTTTTTATGTTGAGTATTTAGCTAGCATATTT
GTTATTTTTTTGGACTTTATGGCGAAGTGCTTTTTTTATTTGAGTAACTAGTGTGATTTATTGATTTTTCTGGGGAG
ATATTGCCTTATTTTGATTTCAGTTCGACTTTGAAAGTTCACATTCAGTTAAAATACTTGATTTGTTGTCCTATGGA
CTAGCATTACAGTGTCAGATTTGTTGGTGATTTTGGTCTTTAGATGGTCTTGCTTCTGCTATTAAGAAAACTATAGA
CATTTAAGTTGGTTTGTTTTATATATAAACATTATAGATATATATTTATGTGGTAAAGAATGGATATAAACCAGTTT
TTAGCTTTCTGATTACTTTTTTTTTTTCATTCATATAGACGTAATGCATAATAACCTGTCTTAAAAATCGTAAAAGG
TGTATTGCTTTATTCACTTGAAGCGGTTCCATGACCATATCAAAAAGGGTTGCAAGAGATTGCCGAACAACATCTTG

CTTCTCTCGAACAGAGGCTGGTCAAGCCCTTAGATGCACTGAGTACTGCACCTGCATCCTGCTTTGTCTTGAGCTCA
TTACTAGTCATACGTCTCCTTATCGAGCAGTGTGCTGTGCATTATATATATATACATTTATATATTTACCAACTGCT
TTTCTTATACTTTTTCTCTTTTTTTTTTTGGTTAATTGTACAAGTTCAACTTTGATTATAGATTAGCTGTGACACTG
CTGCTGTGGGGGAAGGGGCCCCCATTTTCTCATGCCCGGCCTCTCACTGGTCTTGATTGAGGATAACTTGACGGACC
CGAGGGGGCTCTGACTAGCTAGGCATGGCAAAATGAGCCCCCCCACACCCACTTTCAATTCTAAATGTGAGAATTAT
TATTTATTTGAAGTTGTACAGTATTACTTGGTTCCACAGCGGTTTTGGGATAGAATATATCTTGAGTATTTAAAAAA
GGATGTACATGTTATTTTCTTTGTGTTTGGAATACTTTGTATTTTTTCATGTTCAGTACATCAATAAATACGTTGAA
GGGAAATGCA

[1119] 序列号183(Elavl23'UTR)

[1120] 长度:bp

[1121] 类型:cDNA非编码

[1122] 生物体:尼罗罗非鱼(O.Niloticus)

[1123] AACTCAGATTGTTTCTAGAAAACTCACCAGAAAATGGAAACAGAAAATGGAAGCGTATTGACCGTAACT
TTCTACATTAGTAACAAGAGCTTTGTAAATCAGTGTTGCGAAGAAAAACGATATTTAGCGTCCAACAATGTGATCTT
TTTTCCTTTTTTTTTCCTTCTCTTTTTTCCCATTGCTACACTTTGAATCTTCTCTATACTTTAAAACAGAAAATACC
TGCAGGTCTTGATGCCTGTCATGTTGACTTCTTGCTGTCTTTACAGATGGACCATCTAAAATGTTACTCTAGGTTTT
GTCATTTTGTTGCACATCTGCTTTGAAACAGTAAGTCTTGTAAGGTTATGTGTAGTGATTTTTCTTTGTACTTCTGT
GTCCTGATTTGCCACAGGTGCGTTTATGCCTTCGGTGGTTAGCAAGTACTTGCGTTGAACTATTTGCGGTTCTGTTA
ATTTTGTAAGTATTCTGTTTCCTGTAATATCAGTTGGTTATTGGTTGGCTGCATAATGTTGCTTATTGTACAATTAA
CAGATAAAAAGACAAAAAAAAAAAGATTCTTAAAGCAGTACCTTGCCAAAGAGCTAAGAACCTCTTTGATGTGGGTTT
AAAAGCATCTATTTTTATAAAAAGAAAAATTTGGAGAAACTTTTTACTGGACCTGGAACAAAATATTTTGACTTGGA
TACTTTGAGAAATATCTTCATATGACACCTTGTGAGCTTTTGAACTTTACAAGAAAGTTTGCAGTGGTTGAAATTTC
TGGAGAGATTTATGATGTAAAAGATACCTTTTGAGATCTTTGTATTACCTTTAGATTATAGAATCAGTGGCAGTGCT
GGTTTCATTTGTAAAATCATCTGTGGGTACCCCCCTCCCCTCAGTCGTCTGGTCGTTACGGCTAGCGACTCGCTTTC
CGGTCTGATTTGGAAACGGACAAAACTTCAAAGGTTGATCTGCAAAAAGTGCATGAAAAATTAAAAACATGGAGATA
TAAAGGTAAATGGGGGGATTTAAAAAAAGGGAAAAAAGAAAAATCAGTTCTTCCTCTAAGATTCCCTTCAGATGGAG
CTCATGGTGTTTTGTGGTGTATCTACAATATCATTAGACTGATTTTTGTCTTAATATCAACCGATGAGGGTTTTTAC
ATACTTTGTATGAAAGATTGAAGACAAGCCAGTGAAGGCAGCAGCATCAAAAAAAACATCTAGTGTGACAAATAGAA
GGGTTCCTCCTGAGCTTTGAGCTGTGTAAATAAGTCCTTTTTTATGTTGAGTACTTGGCAGACTTTGGTTTTCGTTT
GGACTTCATTGAAAAGTGTGATTATTATATACAACTTGATTTTTCTTTTCAGGACTGTGTAAGGTCTTTTTTTGTTT
TTGGATCTTTATTTATTTTCAGTTTCTCTTAAGTTAAAATACTTGAGTTGTTGTCCTATGGACTAGCATTAGTGCAT
CGAATTTGTTGGTTGTTAGGTCTGTAGATAGTCTTGCTTCGTTAAAAAAAAAAAAAGGTATTAAGAAACTATAGACA
TTTGTTTTTGTTTTGTTTTTTTTATATATAAACATTATAGATATATATTTATGTGGTAAAGAATGGATATAAACCAC
AGTTTTGAACTATTTGATTACTTTTTTCATACTCATATCTATATATATATATAAATATATACGTAATGCATATAACC
TGTCTTTAAAATCGTAAAAAGGTGTATATTGCTTTATTCACTTTGGGGAAGGGCGGTGAAGCGGTTCCATTAACAAT
AGCAAAGTTGGTTGCAGAAGTTTGTCAACATCTAGCTCATCTCGAACACACGAACGGAGGCTGGTCGAGCCTTAGAT
GCACTGAATACTGCACCTGCATCCTGCTTGGTATTTCAACCGATTATTAGTCATGCTTCCCCTTAAACGAGCAGTGT
GCTATGCATTATATAATTATCTTTGCAACTGCTTTTTCTTGTTTATCTATTCCTTCTTTGTGTTACTTGTACAAGTT
AAACTTTAAGTCTAGATGAGTTGTGATACTTGCTGCTGTAGGGAAGAGACAACATTTGTCATGCCTGACCTGCCACT

GCTGAGAATAAGTTTTGTTTTTCCTTTATGTAACCGCTTGATGATTTTCTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTGGGGTCTT
GGGAAATTGTGCTGCAGGTCTGGCATGAGGAAATGTTTCCTCCCATCCCTCTTTTCTCAATTCCTAATATGAGAGTG
ATTATTTATTTGAAGTTGTATAGTCTGACTTGGTTCACAGCATTTTTGGAATAGAATCTTTTTGTTAAGTATTTAAA
AGGATGTACATGTTCTTTACTTTGTGTTTGGATACTTTTGGATTTATTTTATTTTTTTCCATGTTCAGTACATCAAT
AAATAAGTTGAAGGGCAA

[1124] 序列号184(Elavl23'UTR)

[1125] 长度:465bp

[1126] 类型:cDNA非编码

[1127] 生物体:斑马鱼(Danio rerio)

[1128] GGAGTGCCGACGTGCAGCGCTTTGCAAACGTGACTTTGCAATAATGACGGGACGCGTATATTATATTCT
TTTCTTTTCTTAAAGTACTTTATCATTATTTTAAGCATTTGTTTAATGATTTACGTAGGATATAACAGCTGACTGTT
TAAGTGTTTGTTTTTGGCGTGTGATCCTGAGGGCGTGATGCTGAGATGGAGAGCGCTGGTGTTCCCGTCTCTCCTCA
TGGGCTTCTGCGGTGCAGTCCACTGCATAATCTTTGTGCATGAATCTTTAGTTAAACCATTTCAGTTCGCTTTCTGT
GCTAAAGGCTCTTTGTGTTGAAAGATATATCTTTATGTTAAGCATTTAAATGAGACAAGATGTACGTGTTGTTTTGT
GTTTGAAATTTGGGATTTGTTTTTGTTTTTTATTGTTCAGTACATCAATAAATACTTTGAAAGGAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAA

[1129] 序列号185(Elavl23'UTR)

[1130] 长度:1264bp

[1131] 类型:cDNA非编码

[1132] 生物体:鲶鱼(Ictalurus punctatus)

[1133] GAATGAAGTGTTTGAAGGGAGAAGAGCTCCTGAGTTAATACCTTACTGTAAATAAGTACTTTACGTTGA
GTAATGTGTATCGTTTATTTTTTTCCCCAAGCAAGTGTTTTTTTGTTTTGTTTTTTTTTTTTGTTAAAGTACGTAGGG
TAATTTTTGTTAGCTAATAATTTGGTTTGCCTCTGAGAGTTGTTTAGTTGAGAGACTTTGTTTGATGCATTATTACT
GTATCAGATTTGTTGGTGGTTTTGTCCGTAGATAGTCTTGCTTCTGCGAAATGCTAGGCATTTGAGTTTTTTTTTTT
TTGTTGTTGTTTTTGTTTACTTGTTTTTTTTTTTCTTCCTTCCTTCAGGTTTTTCTTTTCTTTCTTTAATCTATATA
TTATAAGTATTAAATATATTTGTGGTTAAAAATTGAAGAGCCACAGTTTTGAACAAATACTTATTTGATTTAGTTTT
TGTATTCATGTTACACTCGATACATAATATAACCCATTTTAAAATAAAAAAAAAATAAAATAAAAAGTGTATATTGC
TTAATCTTCATGAGGGGAGCCTGACTAGGCTTTTCCATGACCGTAGCAACACAATGGCGTGTTTTATTCTCCACTTA
CTGAAGGAAAGAGCCTTTATCAGTGCAGTTCAGGCTCCCCGGATGTGTGGCAGTGTGCTATGCATTACATTTATTTT
CCTTCTTTCTCTTTTTGGCTGTTTATTATTATTATTGTTTTTGTTTTTTTGTTTGGTTATATTTTCATTGATGAACT
GTGGCTTTGTGCTGCTTGGGGACAGGGAGAGCTTTTCATGTCATGTAGGGTTTAGTTTTCTGTTTAACTTTTTTTTG
TTTTTTTTTTTTTCTTCCCATAAACCACTGCAAGGCAGAGACTCTTCAGCTGCTAGTGTTTTAAACACGGCTAAATT
TGAGCTCGGATCCGTCTGTGGCGTGAAAAGCCTCCGTGTCCTGTCTGTAGTCTCAGTTCTGTAGTGTGCATTATTTA
TTTCAAGTTGTACAGTATAACCTTATTCACAGCTGAGTTTTGAATTTTGGGGTATATAATCTTTTTGTTCAGTATTT
AAAAGAAATGGTATTACTAGATGTACATGTTCTTTTGCCTTCTTTTTTTTTTTTCTTTTTTTTTTTTCCTCTTGTGT
TTGGAATACTTTGTATTTTTTCATGTTCGGTACATCAATAAATAAATTGAAGGGAGCTGTGATAGAATTGCTCTTCA
CTGTGTTTTATTGCACTTCCTTTCCCTTAGTTTATTTTCC

[1134] 序列号186(Elavl23'UTR)

[1135] 长度:2176bp

[1136] 类型:cDNA非编码

[1137] 生物体:青鳉(Oryzias latipes)

[1138] AAGTAAGGGGGGGAAAAAAACCACTGAGATTGTTCTTAAAAAACAAAAAAACTCACCAGAAAGAAGTGG
AACATGGGAGCTTTTGACCGTAACTTTCTACATTAGTAAGAACAGCTTTGTAATCGATATTTAGCCTCCAACATTGT
GACTTTTTGTTTTCGTTGCTTTCAGTCCTTAGTTTCAAGCAAAAAAGTAGTGCAGGTCTGAAGGCCTGTCGTGTTGC
CGATGGATCACCTGAAATGTTCTGGGTTTTGTCGTTTAGTTGCTCTTTGATTTGACCCAGTGAGTCTTGTACGGCTG
TGACTTTTTCTTTCTCTTCTGCTGTGTCCCCCAGTAGCTGCATCAGGCTTTTAGTGGTAAGCTAGTACTTCTGTTGG
AGACTTTTTTTTTTTTTTCCTCTTTCCGTTCTGTTGGTTTCTCGTAATGCGTTGGTTATCGGTTGACTGCATCCAG
TTGCTTATTGTAAAACTTAGCCGATTAAAAAATAAAAAATACATACATAAAGGGAAAAAGACAAAAAAAATTCTTAA
AGCAGTACCTTGCCAAAGAGCTAAGAACCTCTTTGATGTGGGTTTAAAAAGCATCTATTTTTATAAACAGAAAAATT
TGGAGAAACTTTTTACTGGACCTGGAACAAAAAAAAAAATATTTTGACTTGGATACTTTGAGAAATATCTTCATATG
ACACCTTGTGAGCTTTTGAACTTTACAAGAAAGTTTGCAGTGGTCGACATTTCTGGAGAGATGTTATGATGTAAAAG
ATACCTTTTGAGATCTTTGTATTACCTTTAGATTCTAGAATCAGTGGCAGTGCTGGTTTCATTCGTCAAATCGTCTG
TGGGTTCTCCTCCATCCCGGTCGTCCGCTCGACCCCCAACGGTGCACTTTTCCCCCCTCCAGACAAAAGCGAACAGT
GCATGCTAAACGACCGCTAGAGGAGATCTTCATGGGAATTAAATCAGTTCTTCCTTTAAGATTCCCTTCAGACGGAG
CCGCGGTGGTTTGTGGCGCACCCACGATGTATCGTGAGACCAATCTTGGCTTGAAATGAATCATTTGTGGTTTTTAA
ATAGTTTGTACGACAGACTGACGGAGGCAGAGACAAAAAAAAAACCCAACAAAAGCTCTGAAGAATCGGATGACTCCT
AAGCGTTGAGCTGTGTAAATAAATCTTTTGTTTGTTTTGTTTATGTTGTGTATTGGACACTTTTCTTTACAGTTGGA
TTCCTGGGTATGGAAAGTGATGATTTTTTTTTCTTTCTTTCTTTCTTGGAGTACGTGAGGTGTTTACTGTTTTTGA
GTTGGCAAAACCTTAATTTATATTTTTGGTTTTCCTATGGACGAACACTGAAGTGCATCAAATTTGTTGGTGGTTTG
GTCTGTAGTTAGTCTTTGTTTGTTACAAAAAAAAGTATTCAACTATAGACAGTTTTTTTTTAATATATAAACATTAT
AGATATATATTTATGTGGTGAAGAATGGATATAAACCACATTTCTGGATTTTTTTTTTCATACTATGTAAAAACAAT
GCATATAACCTGTCTTTAAAAATCGTAAAAAAGGTGTCTATTGCTTTAGGAAGGACGGTGAAGCAGAAACGAATAGC
AGAAGTGATTGCAACAGTTGTTGGCGGCGGTGGGCGGAGCCTAGCAGTCTCTGAATCCTGCATCCTTTCTGCTATTT
CAACCCAGTCATGCTTCCCTTACTGAGCAGTGTGCTATGCATTCAATGATCCTTTGCAACTGCTTTTTCTTTAGAGA
ACTTCTTTGTGTTCCTTGTAAAAGTTCCTCTTTAAGTCTAGATGAGTTGTGATACTTGCTGCTGTAGAGGAGGGTGG
GGTGGGGGGGCATGCTTTTTACGCCTGACCCATCTGGGCTTTTTTTGTTTTTTTAAAAATTCATCGATTTTTTTTTT
TTTTTTTTTAATAGATTTGATCGTCCGGCGTGAAAACGTGTCCCCCTACGACCCCGGCCCCCCCATTCTTCTGATCT
CTATTCTTTAGTGAGAATGATTATTTATTTGAAGTTGTATAGTCCGACTCGGTTCACAGCGTTTTTGGGAATAGAAT
ATTTTTGTTGACTATTTAAAAGGATGTACATGTTCTTTACTTTGTGTTTGGATACTTTGACTTTTTTCAATGTTCAG
TACATCAATAAATATGTTTGAAGGGCAA

[1139] 序列号187(Elavl23'UTR)

[1140] 长度:485bp

[1141] 类型:cDNA非编码

[1142] 生物体:爪蟾(X.tropicalis)

[1143] CAAGTTAACTTCTCCCATTATATACACACATGCAACAAAGGCAAGTTGATAAACTTTATACTTTTTGAA
ATTGTCTTTGCAAGTAAGTGTTACACCAAAGTGTGTGGGTTTGAGGGAGCCACGGCAAAATGAGATCATCATTTAGC
ATCTTTAGAATATGTGAGATTGTTATTGTTGGATTTTGGATTTTTATTTTATGTTTGTGTATGGACCTTGGGTAACA
GGGTTTTTACCGGTCATATTACATTATGCCTTCTATTGAGGGGGATTTTTTTTAGATATTTCAGCAGTGGGAAGACG

ATTTATGTTCCGTTTTTTTACATTCTTACCTTCAAACCTGAGTTAAAGCTTTGGAAGGATTTTTGTTAAAATGGTTA
AGTATATGAAAGTTATTTCATTTTTATTATAATTTATAAATGTGTAAAACCATATTTATTTTGCGGTTATTTAGGGA
ATTGGAGGACTCCACTATAAAAAAAAAAAAA

[1144] 序列号188(nanos33'UTR-Del8nt)

[1145] 长度:793bp

[1146] 类型:cDNA非编码

[1147] 生物体:尼罗罗非鱼(Oreochromis Niloticus)

[1148]
```
  1 ACCAGCAGGTGGCAAGGAGCAATAAGACACTACACAGAAGGCAGGACCCTCGTTTCGTTT   60
 61 AGTGTGACTTTATTTTTTCTATTTGTGTATTTATTTTAGCACTAGTGTGGTTTTGCTTTT  120
121 GTGTGCTTTTCATTTGCATGCTTTGGTTCGTTTGCTGTGTAGCTGATTAGAGTTTCTTTG  180
181 CAGCTGGTCCTGCCAGCCTAAAATACCTCAGCTGTTTGCTGTTTGGATTTGTGAGGCACT  240
241 TTCAAGAACGACTGCCAGATTTGGAGGAGGTTTGAAAAAAAAAAAAGAAGACATGTTTCA  300
301 AAAAATTATTGTATGTTTCTTTTACATACTTTTAAAACGTGGCCAGCTGATGTCCAGTTT  360
361 CATATTTCCTGTCCATGCATTGAAGGATTATAACACTGTCAAACATTATAAGAGATGCAG  420
421 TCATAATTAATAACTCTACTAAAGCAGGTAAAGCATCATGTGACCATGTCAGAGATGCAG  480
481 ATTTTTAAAAATGAGTGACTAGTTCTTGTTCCTCTGATGTGTGCAAGTAGACCTCTGTTC  540
541 TTGAGGATAGATTATTTTATTTTGAAAACTGTAATTGTGGCTTTTCTAAAAATGTTAACG  600
601 CCGTTGTAGCTCTTTGTCGAAAAAGTCTGAAAATTTCTCTGTGGCTATTCTTGTGTGCTA  660
661 AAAAGTTATAAATAACTAAATTGGCTAAGTTTA                              801
```

[1149] 序列号189(nanos3 3'UTR-Del 32nt)

[1150] 长度:769bp

[1151] 类型:cDNA非编码

[1152] 生物体:尼罗罗非鱼(Oreochromis Niloticus)

[1153]
```
  1 ACCAGCAGGTGGCAAGGAGCAATAAGACACTACACAGAAGGCAGGACCCTCGTTTCGTTT   60
 61 AGTGTGACTTTATTTTTTCTATTTGTGTATTTATTTTAGCACTAGTGTGGTTTTGCTTTT  120
121 GTGTGCTTTTCATTTGCATGCTTTGGTTCGTTTGCTGTGTAGCTGATTAGAGTTTCTTTG  180
181 CAGCTGGTCCTGCCAGCCTAAAATACCTCAGCTGTTTGCTGTTTGGATTTGTGAGGCACT  240
241 TTGGAGGTTTGAAAAAAAAAAAAGAAGACATGTTTCAAAAAATTATTGTATGTTTCTTTT  300
301 ACATACTTTTAAAACGTGGCCAGCTGATGTCCAGTTTCATATTTCCTGTCCATGCATTGA  360
361 AGGATTATAACACTGTCAAACATTATAAGAGATGCAGTCATAATTAATAACTCTACTAAA  420
421 GCAGGTAAAGCATCATGTGACCATGTCAGCATTTTAAATTTTTAAAAATGAGTGACTAGT  480
481 TCTTGTTCCTCTGATGTGTGCAAGTAGACCTCTGTTCTTGAGGATAGATTATTTTATTTT  540
541 GAAAACTGTAATTGTGGCTTTTCTAAAAATGTTAACGCCGTTGTAGCTCTTTGTCGAAAA  600
601 AGTCTGAAAATTTCTCTGTGGCTATTCTTGTGTGCTAAAAAGTTATAAATAACTAAATTG  660
661 GCTAAGTTTA                                                     769
```

[1155] 序列号190(dnd1 3'UTR-edited motif1)

[1156] 长度:465bp

[1157] 类型:cDNA非编码

[1158] 生物体:尼罗罗非鱼(Oreochromis Niloticus)

[1159]

```
  1 TGCCAGCACCATGCTAGAGGAGGCTCAGAAGGCTGTAGCCCAGCAGGTCCTGCAGAAGAT   60
    ............................................................
 61 GTACAACACTGGTCTCACACACTAAACAGCTGATGCCGTCCTGCAGTTCTGTTTCACCTT  120
    ............................................................
121 GTTTGTGTTATGTGGTTTCATTAACTGATTATAATTACTAGAGTAGCACCAAGTTTGTTT  180
    ............................................................
181 CTCTGACTATAACTTGTGGTTTGTTTTATGCATGATTTTTACTGTACATTAGTGTTCTGT  240
    ............................................................
241 GTTACTGGATTGGTTCTCATTTTAATTAAATGAGCTTTGAAAAGAAAGTGTCGGCGTTTC  300
    ............................................................
301 TTTCAAATTAATGAAAGATTTAAATTAACTTAGGAAAATGGTAAAGCAGTTATTATTGTC  360
    ............................................................
361 TCACTTCATGCTGTTATGAACCCTAGTGATTCTCATCCAGACCTTTACGTATCTTTGAAG  420
    ............................................................
421 GTTGTGGATTGAGACTAACCCCCCTCAGTGGTTTGGCATTTTAAAC               465
    .............................................
```

[1160] 在前面的描述中,出于解释的目的,阐述了许多细节,以便提供对实施例的透彻理解。然而,显而易见的是,对于本领域技术人员来说不需要这些具体细节。

[1161] 上述说明的实施例仅旨在作为示例。本领域技术人员可以对特定实施例进行改变、修改和变化。权利要求的范围不应受到本文阐述的特定实施例的限制,而应以与本详述整体一致的方式来解释。

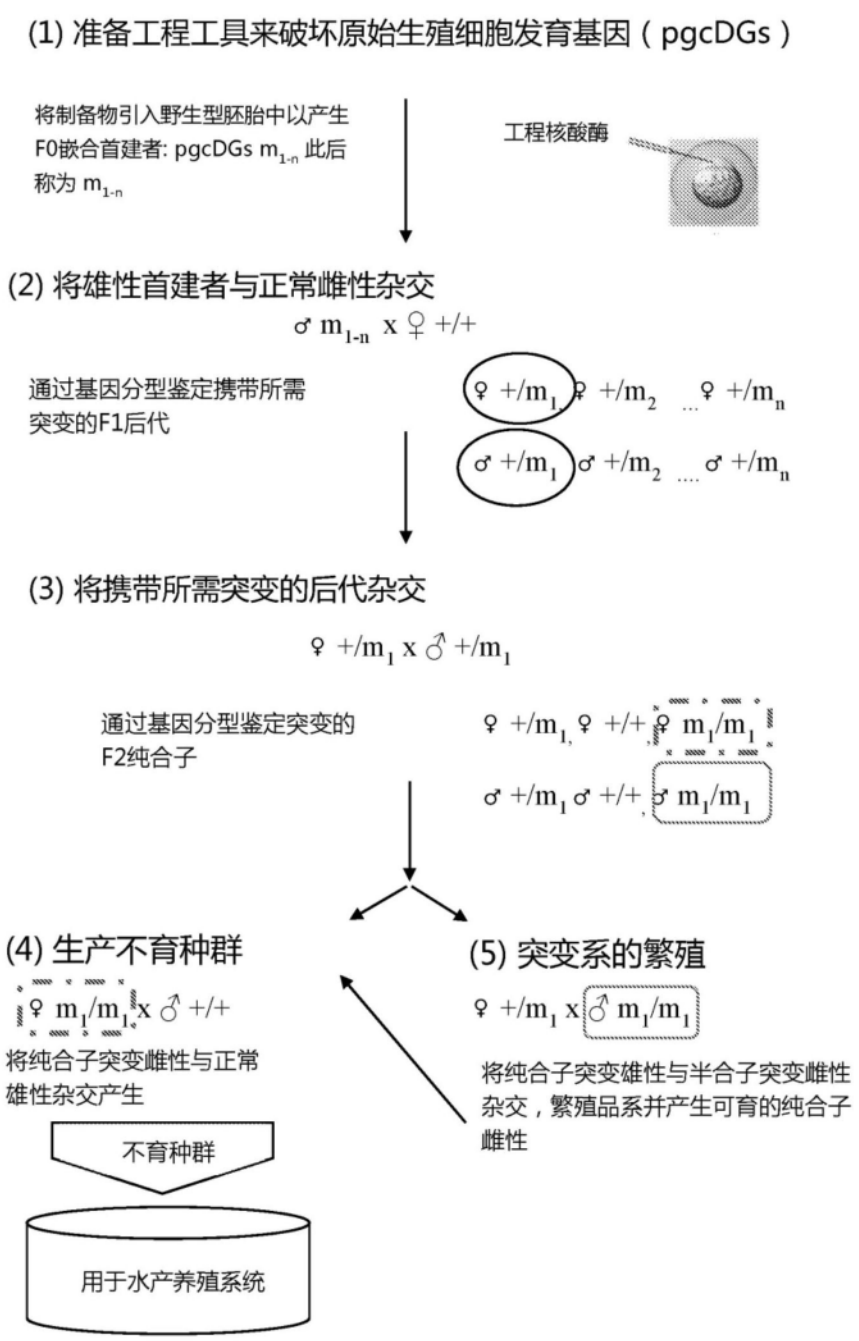

(1) 准备工程工具来破坏原始生殖细胞发育基因（pgcDGs）
将制备物引入野生型胚胎中以产生F0嵌合首建者: pgcDGs m_{1-n} 此后称为 m_{1-n}
工程核酸酶
(2) 将雄性首建者与正常雌性杂交
♂ m_{1-n} x ♀ +/+
通过基因分型鉴定携带所需突变的F1后代
♀ +/m_1 ♀ +/m_2 ...♀ +/m_n
♂ +/m_1 ♂ +/m_2 ....♂ +/m_n
(3) 将携带所需突变的后代杂交
♀ +/m_1 x ♂ +/m_1
通过基因分型鉴定突变的F2纯合子
♀ +/m_1 ♀ +/+ ♀ m_1/m_1
♂ +/m_1 ♂ +/+ ♂ m_1/m_1
(4) 生产不育种群
♀ m_1/m_1 x ♂ +/+
将纯合子突变雌性与正常雄性杂交产生
不育种群
用于水产养殖系统
(5) 突变系的繁殖
♀ +/m_1 x ♂ m_1/m_1
将纯合子突变雄性与半合子突变雌性杂交，繁殖品系并产生可育的纯合子雌性

图1

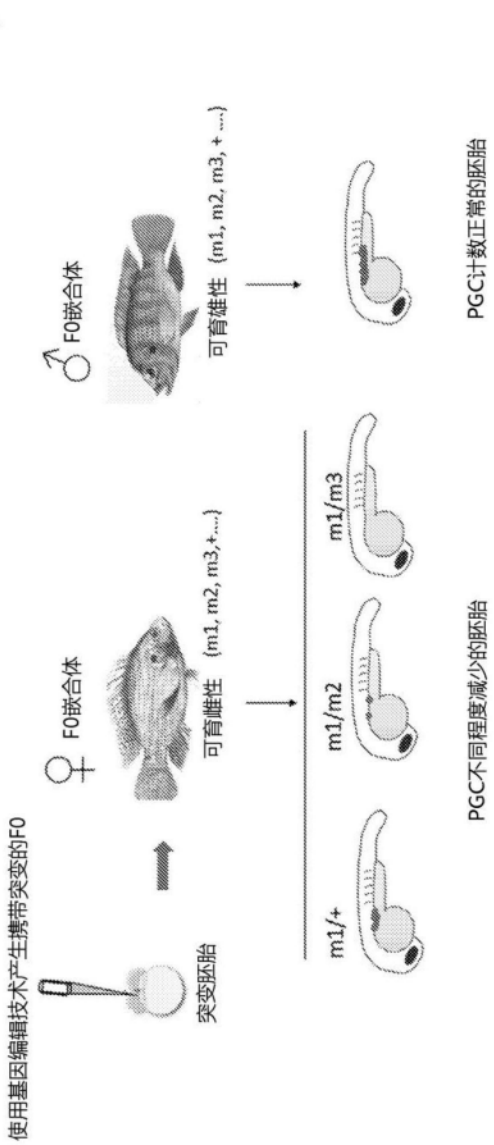

A
使用基因编辑技术产生携带突变的F0
突变胚胎
♀ F0嵌合体
可育雌性 (m1, m2, m3,+....)
♂ F0嵌合体
可育雄性 (m1, m2, m3, + ...)
m1/+
m1/m2
m1/m3
PGC不同程度减少的胚胎
PGC计数正常的胚胎

图2A

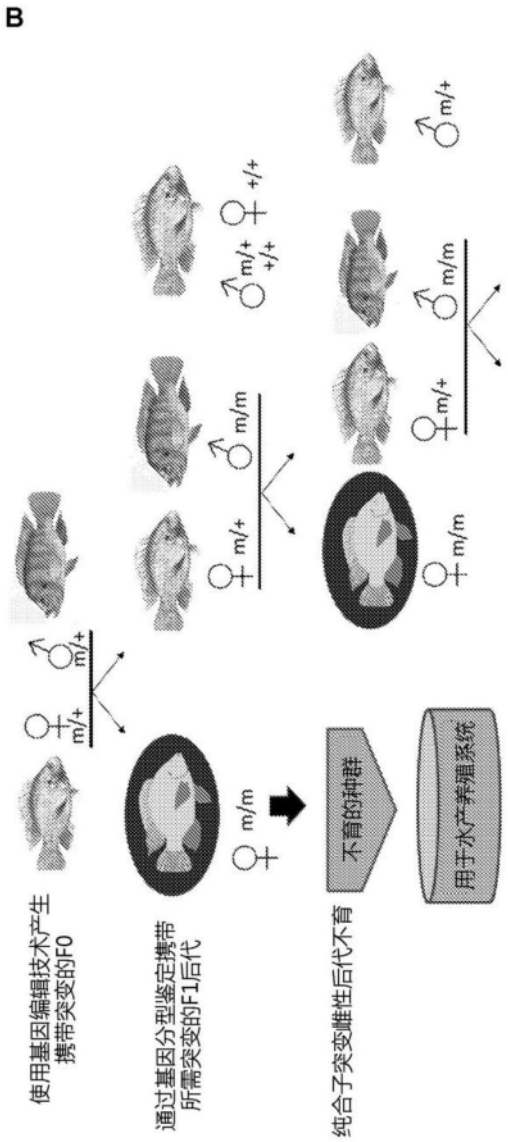

B
使用基因编辑技术产生携带突变的F0
通过基因分型鉴定携带所需突变的F1后代
m/m
不育的种群
纯合子突变雌性后代不育
用于水产养殖系统
m/+
+/+
m/m

图2B

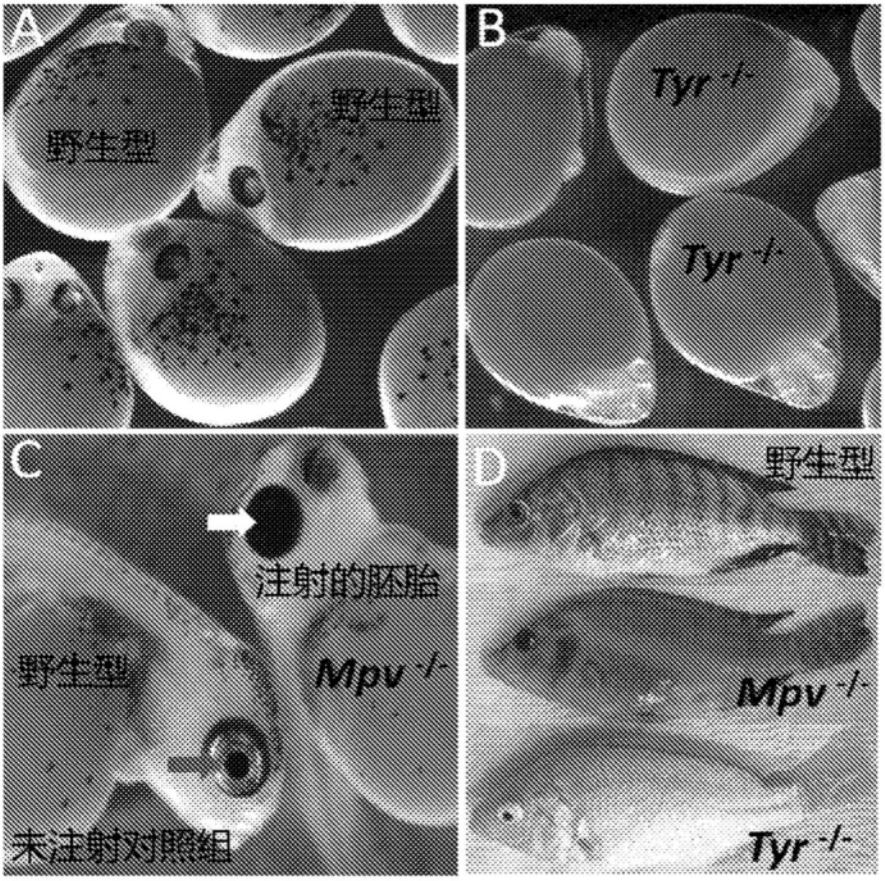

A
野生型
野生型
B
Tyr -/-
Tyr -/-
C
注射的胚胎
野生型
Mpv -/-
未注射对照组
D
野生型
Mpv -/-
Tyr -/-

图3

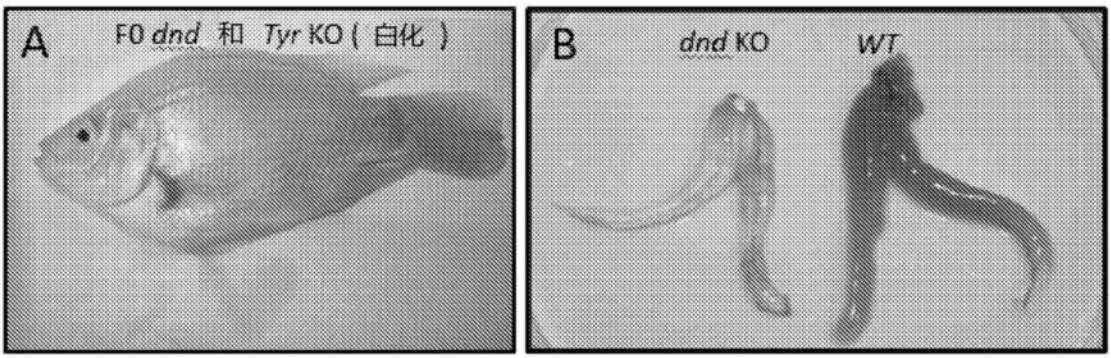

A
F0 dnd 和 Tyr KO (白化)
B
dnd KO
WT

图4

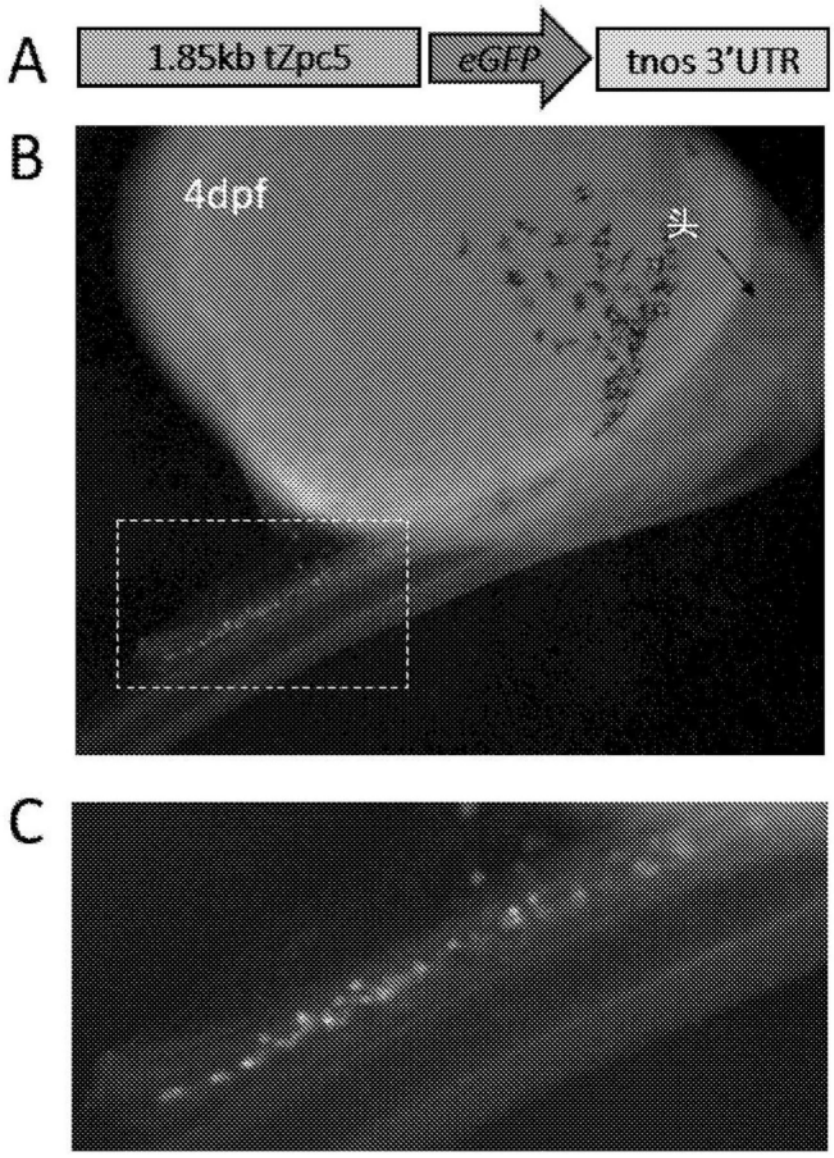


图5

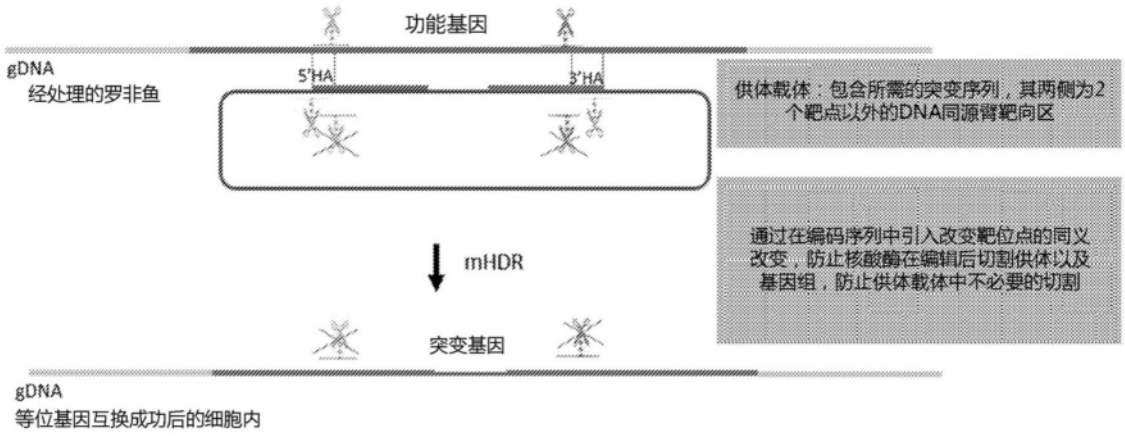

功能基因
gDNA
经处理的罗非鱼
5'HA
3'HA
供体载体：包含所需的突变序列，其两侧为2个靶点以外的DNA同源臂靶向区
通过在编码序列中引入改变靶位点的同义改变，防止核酸酶在编辑后切割供体以及基因组，防止供体载体中不必要的切割
mHDR
突变基因
gDNA
等位基因互换成功后的细胞内

图6

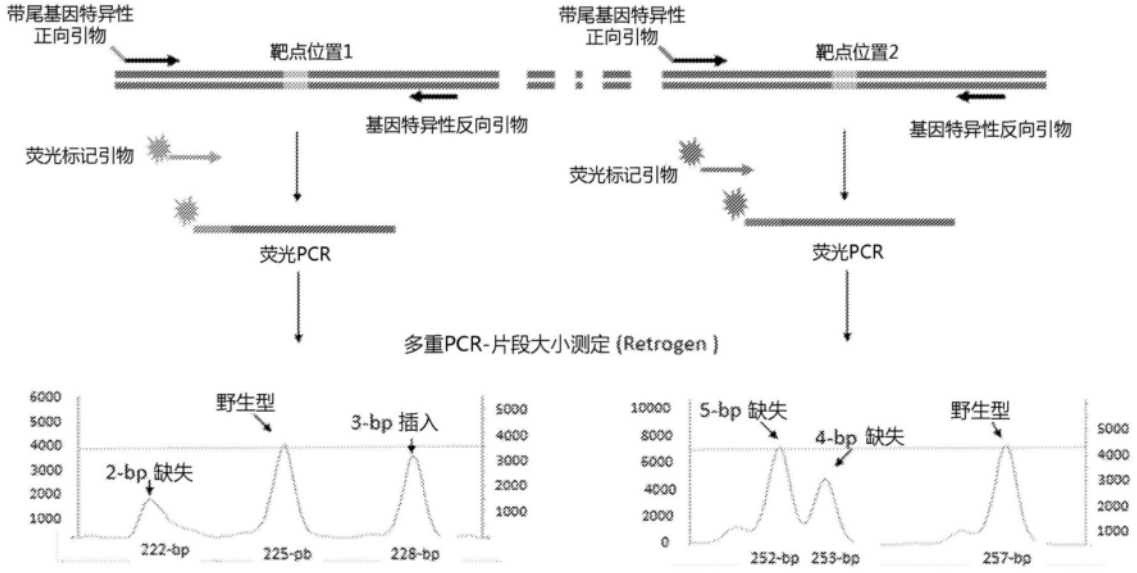

带尾基因特异性正向引物
靶点位置1
基因特异性反向引物
荧光标记引物
荧光PCR
带尾基因特异性正向引物
靶点位置2
基因特异性反向引物
荧光标记引物
荧光PCR
多重PCR-片段大小测定 (Retrogen)
野生型
3-bp 插入
2-bp 缺失
222-bp
225-pb
228-bp
5-bp 缺失
4-bp 缺失
野生型
252-bp
253-bp
257-bp

图7

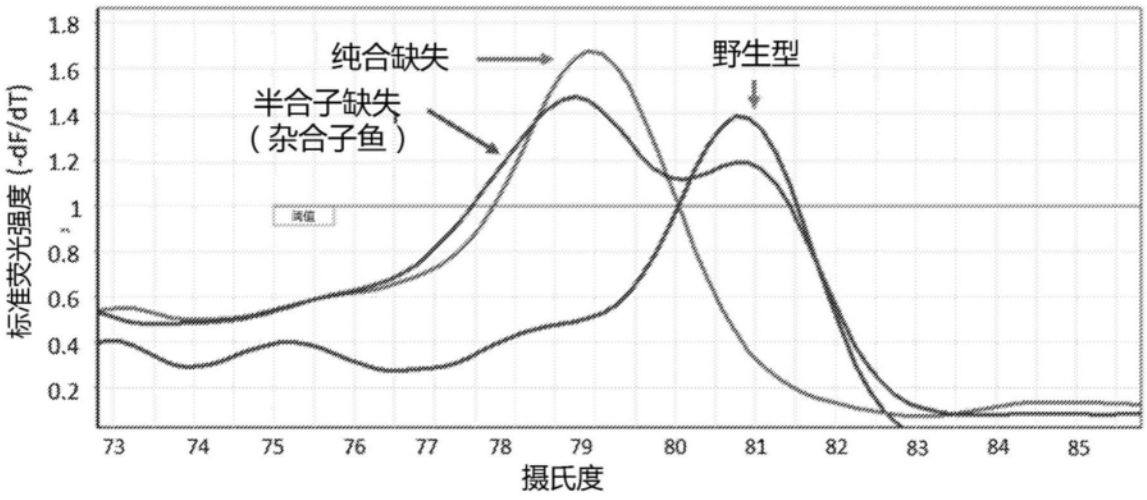

纯合缺失
野生型
半合子缺失
（杂合子鱼）
阈值
标准荧光强度 (-dF/dT)
摄氏度
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85

图8

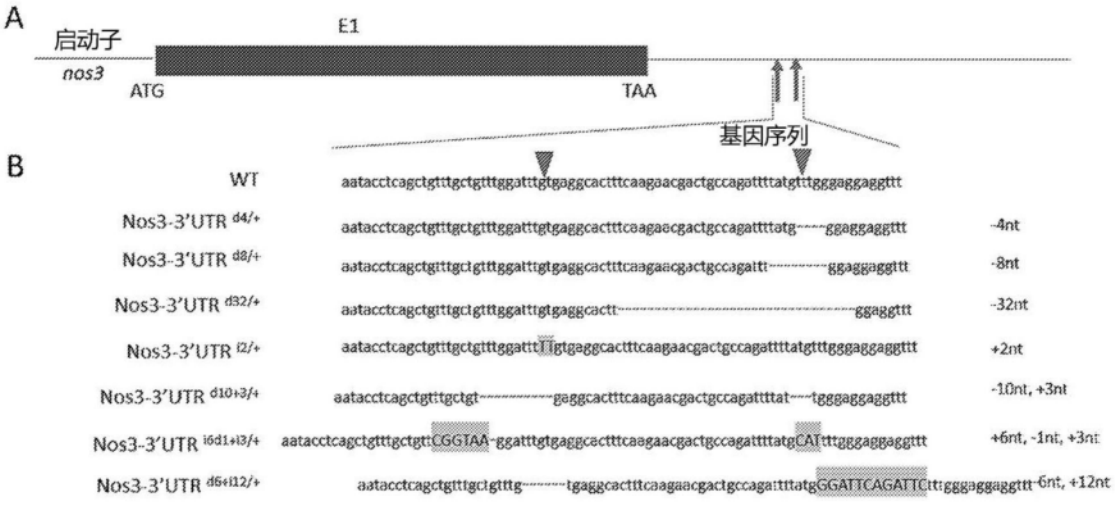

A
启动子
nos3
E1
ATG
TAA
基因序列
B
WT
Nos3-3'UTR d4/+
Nos3-3'UTR d8/+
Nos3-3'UTR d32/+
Nos3-3'UTR i2/+
Nos3-3'UTR d10+3/+
Nos3-3'UTR i6d1+i3/+
Nos3-3'UTR d6+i12/+
-4nt
-8nt
-32nt
+2nt
-10nt, +3nt
+6nt, -1nt, +3nt
-6nt, +12nt

图9

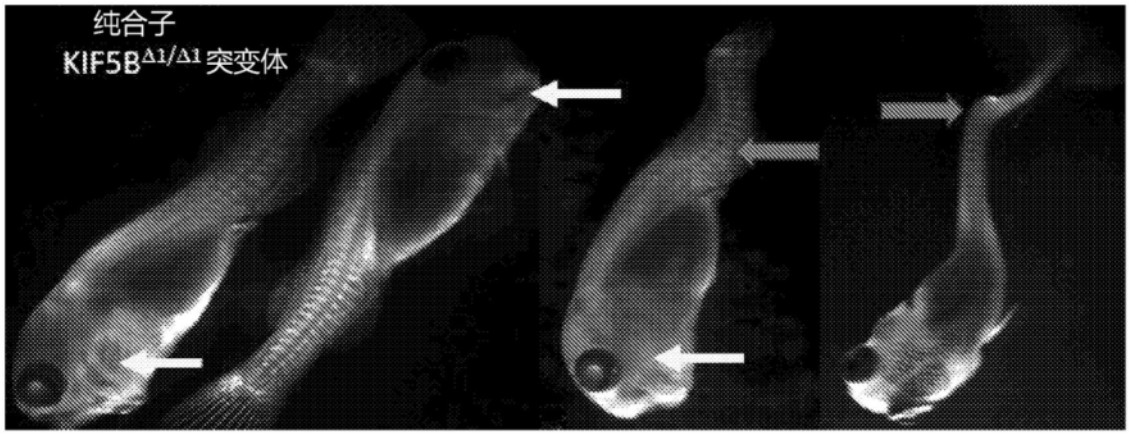

纯合子
KIF5B$^{\Delta 1/\Delta 1}$突变体

图10

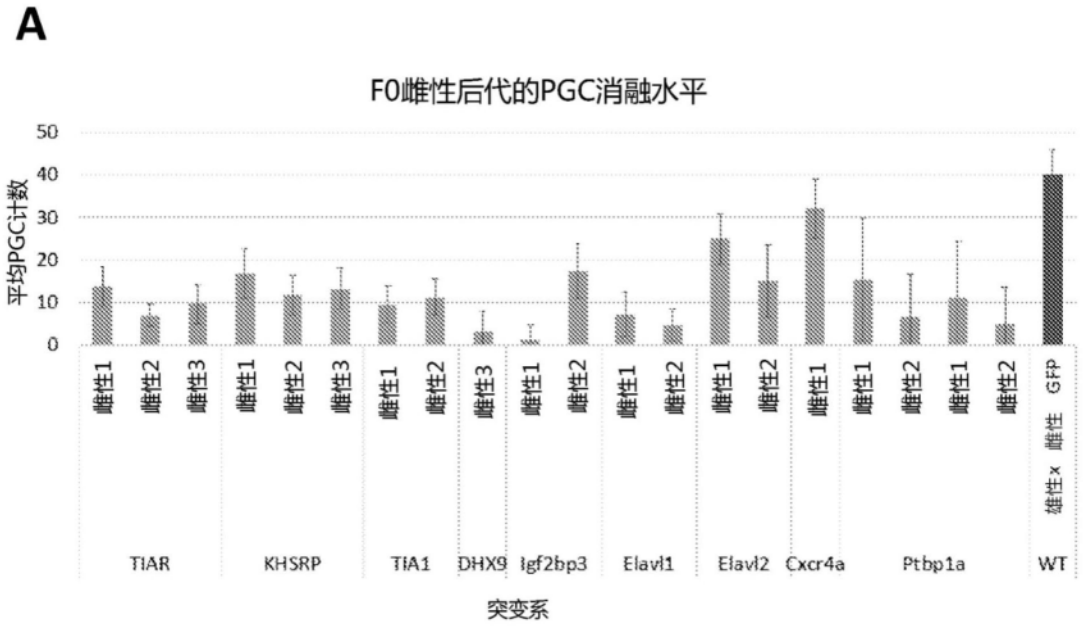

A
F0雌性后代的PGC消融水平
平均PGC计数
50
40
30
20
10
0
雌性1
雌性2
雌性3
雌性1
雌性2
雌性3
雌性1
雌性2
雌性3
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性1
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雄性x 雌性 GFP
TIAR
KHSRP
TIA1
DHX9
Igf2bp3
Elavl1
Elavl2
Cxcr4a
Ptbp1a
WT
突变系

图11

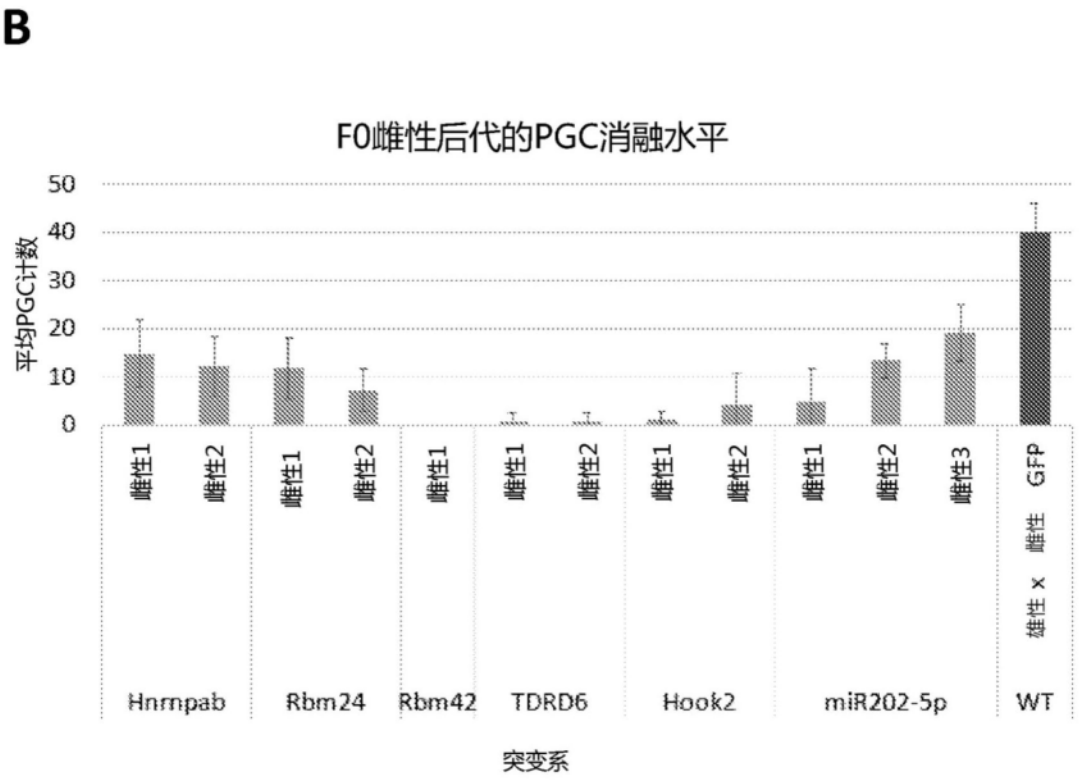

B
F0雌性后代的PGC消融水平
平均PGC计数
50
40
30
20
10
0
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性1
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性1
雌性2
雌性3
GFP
雄性 x 雌性
Hnrnpab
Rbm24
Rbm42
TDRD6
Hook2
miR202-5p
WT
突变系

图11续

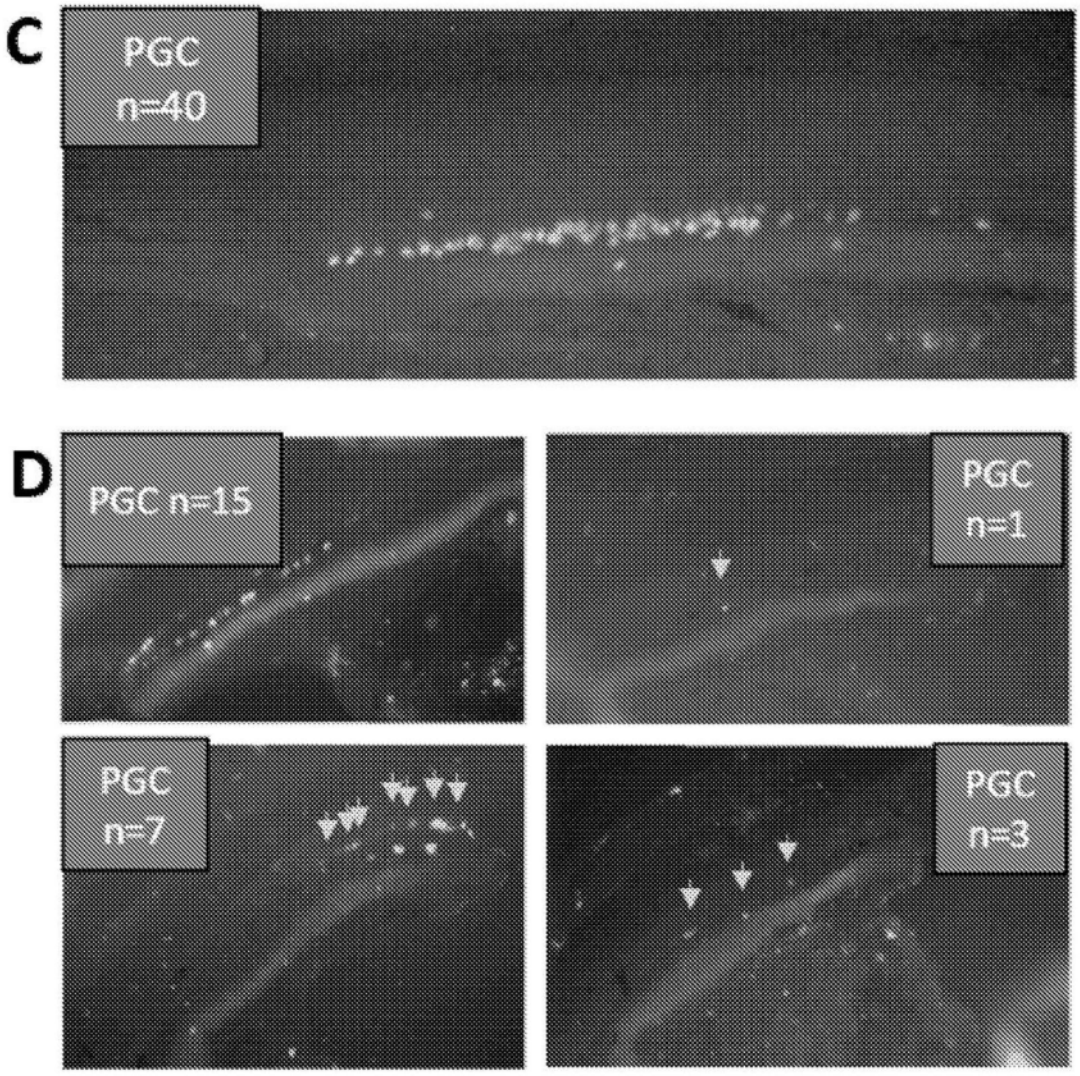


图11续

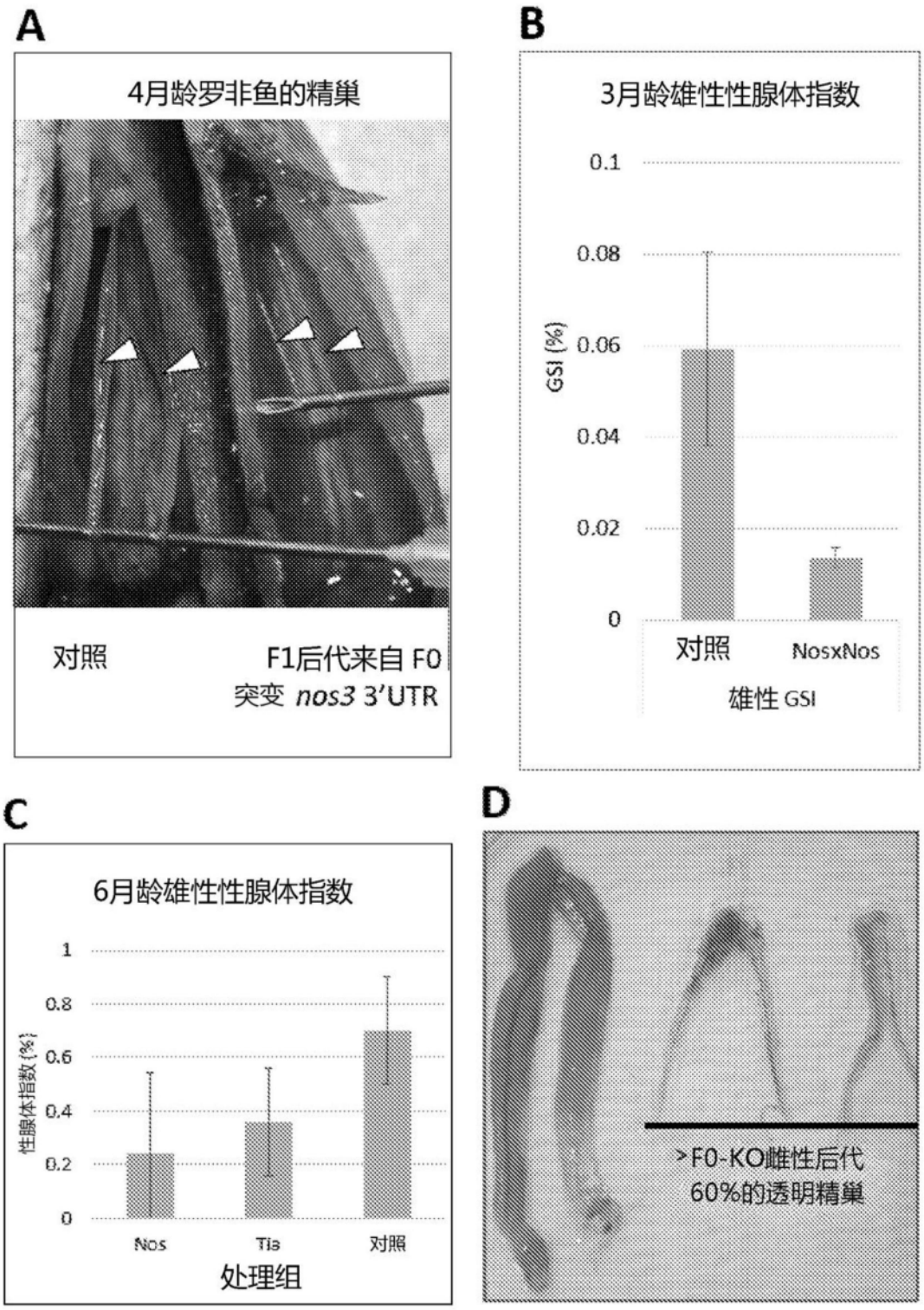
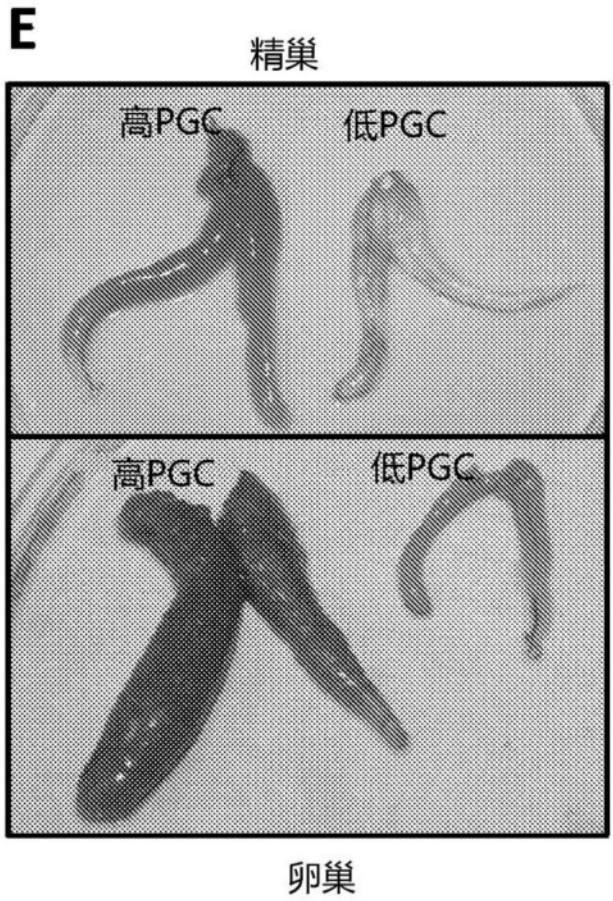

A
4月龄罗非鱼的精巢
对照
F1后代来自 F0
突变 nos3 3'UTR
B
3月龄雄性性腺体指数
0.1
0.08
0.06
0.04
0.02
0
GSI (%)
对照
NosxNos
雄性 GSI
C
6月龄雄性性腺体指数
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
性腺体指数 (%)
Nos
Tia
对照
处理组
D
>F0-KO雌性后代
60%的透明精巢

图12


E
精巢
高PGC
低PGC
高PGC
低PGC
卵巢

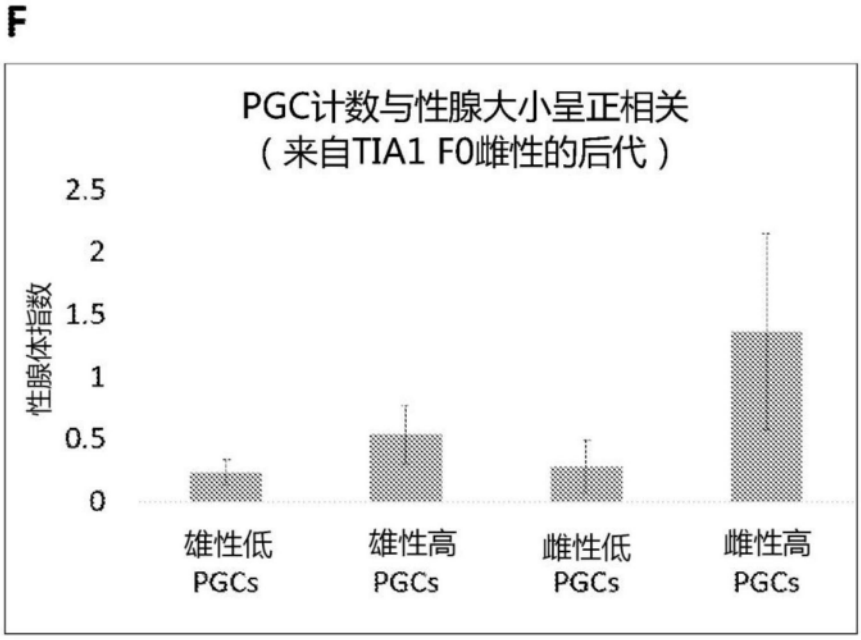

F
PGC计数与性腺大小呈正相关
（来自TIA1 F0雌性的后代）
性腺体指数
2.5
2
1.5
1
0.5
0
雄性低 PGCs
雄性高 PGCs
雌性低 PGCs
雌性高 PGCs

图12续

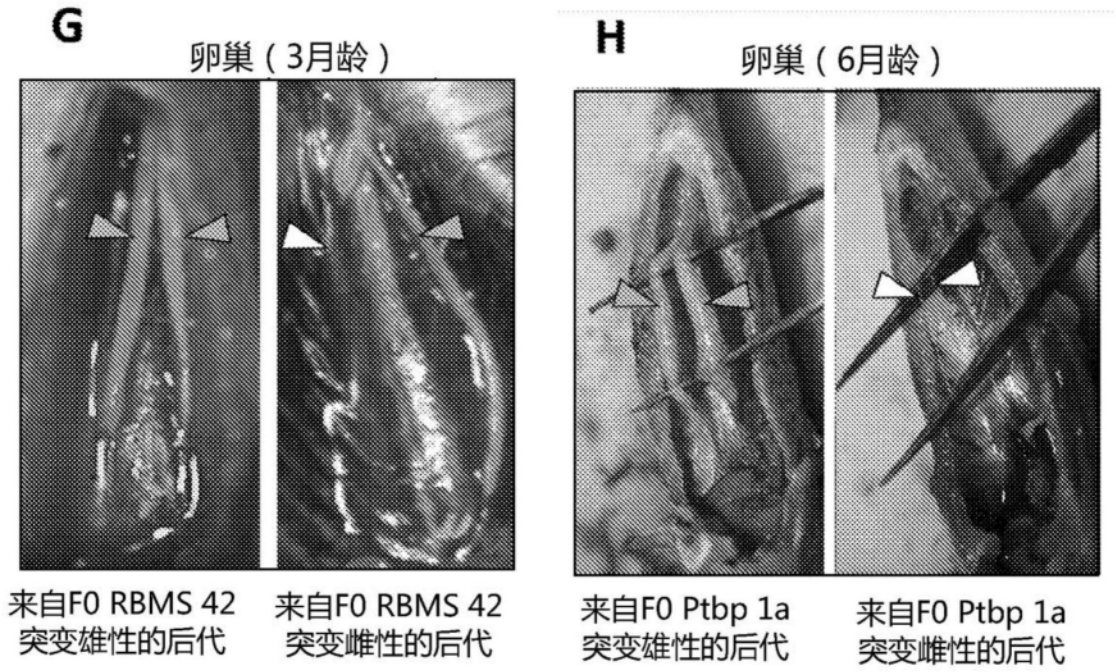

G
卵巢（3月龄）
H
卵巢（6月龄）
来自F0 RBMS 42
突变雄性的后代
来自F0 RBMS 42
突变雌性的后代
来自F0 Ptbp 1a
突变雄性的后代
来自F0 Ptbp 1a
突变雌性的后代

图12续

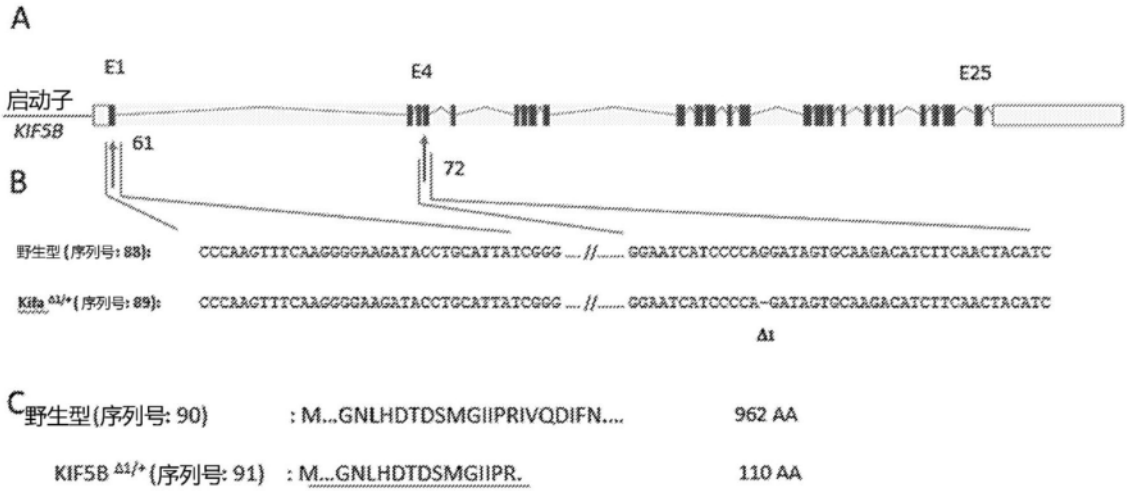

A
E1
E4
E25
启动子
KIF5B
61
72
B
野生型(序列号: 88):
CCCAAGTTTCAAGGGGAAGATACCTGCATTATCGGG ... //..... GGAATCATCCCCAGGATAGTGCAAGACATCTTCAACTACATC
Kifa Δ1/+(序列号: 89):
CCCAAGTTTCAAGGGGAAGATACCTGCATTATCGGG ... //..... GGAATCATCCCCA-GATAGTGCAAGACATCTTCAACTACATC
Δ1
C
野生型(序列号: 90) : M...GNLHDTDSMGIIPRIVQDIFN.... 962 AA
KIF5B Δ1/+(序列号: 91) : M...GNLHDTDSMGIIPR. 110 AA

图13

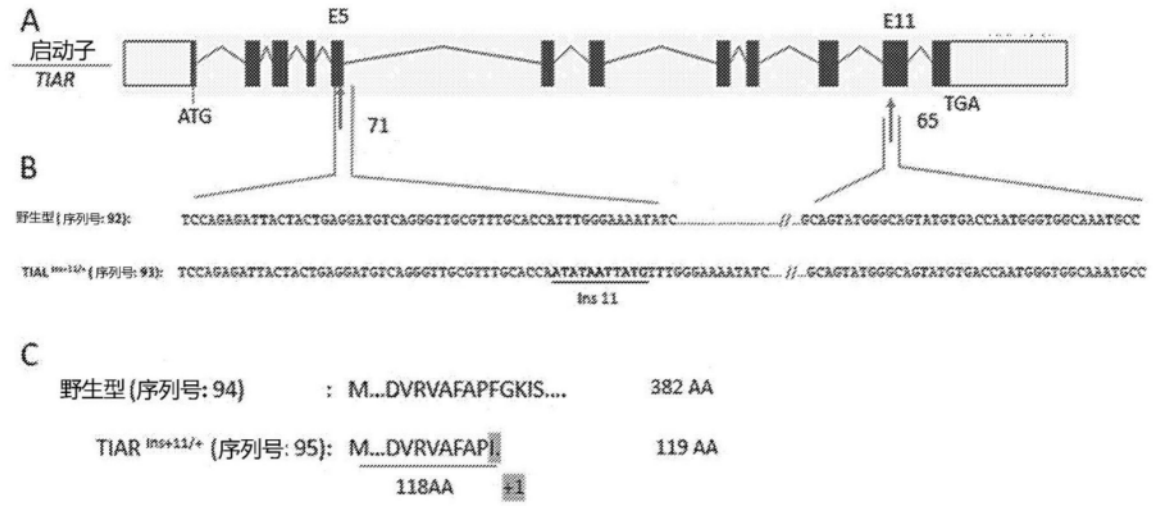

A
启动子
TIAR
E5
E11
ATG
TGA
71
65
B
野生型(序列号: 92):
TCCAGAGATTACTACTGAGGATGTCAGGGTTGCGTTTGCACCATTTGGGAAAATATC
GCAGTATGGGCAGTATGTGACCAATGGGTGGCAAATGCC
TIAL ins+11/+ (序列号: 93):
TCCAGAGATTACTACTGAGGATGTCAGGGTTGCGTTTGCACCAATATAATTATGTTTGGGAAAATATC
GCAGTATGGGCAGTATGTGACCAATGGGTGGCAAATGCC
Ins 11
C
野生型(序列号: 94) : M...DVRVAFAPFGKIS.... 382 AA
TIAR ins+11/+ (序列号: 95): M...DVRVAFAPI. 119 AA
118AA +1

图14

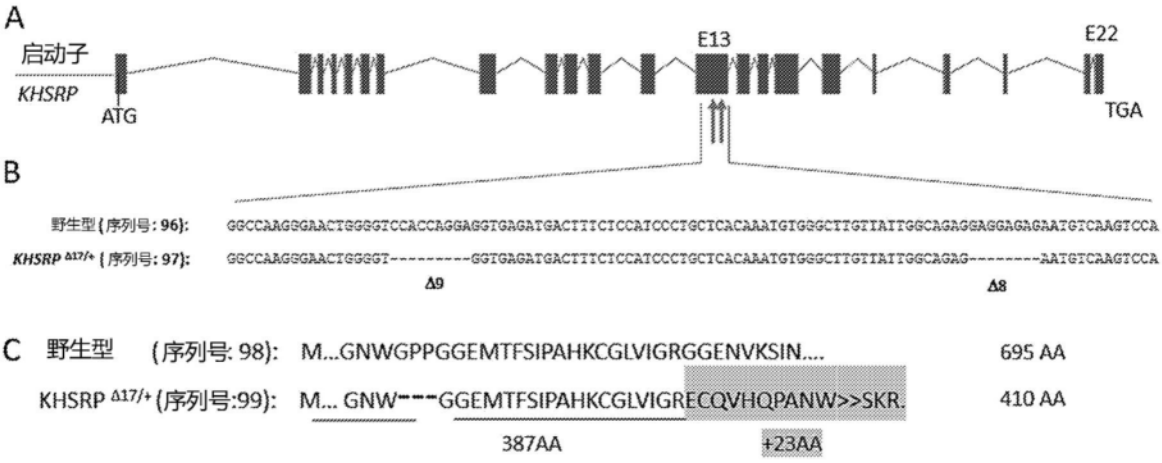

A
启动子
KHSRP
ATG
E13
E22
TGA
B
野生型(序列号: 96):
GGCCAAGGGAACTGGGGTCCACCAGGAGGTGAGATGACTTTCTCCATCCCTGCTCACAAATGTGGGCTTGTTATTGGCAGAGGAGGAGAGAATGTCAAGTCCA
KHSRP Δ17/+ (序列号: 97):
GGCCAAGGGAACTGGGGT---------GGTGAGATGACTTTCTCCATCCCTGCTCACAAATGTGGGCTTGTTATTGGCAGAG--------AATGTCAAGTCCA
Δ9
Δ8
C 野生型 (序列号: 98): M...GNWGPPGGEMTFSIPAHKCGLVIGRGGENVKSIN.... 695 AA
KHSRP Δ17/+ (序列号:99): M... GNW---GGEMTFSIPAHKCGLVIGRECQVHQPANW>>SKR. 410 AA
387AA +23AA

图15

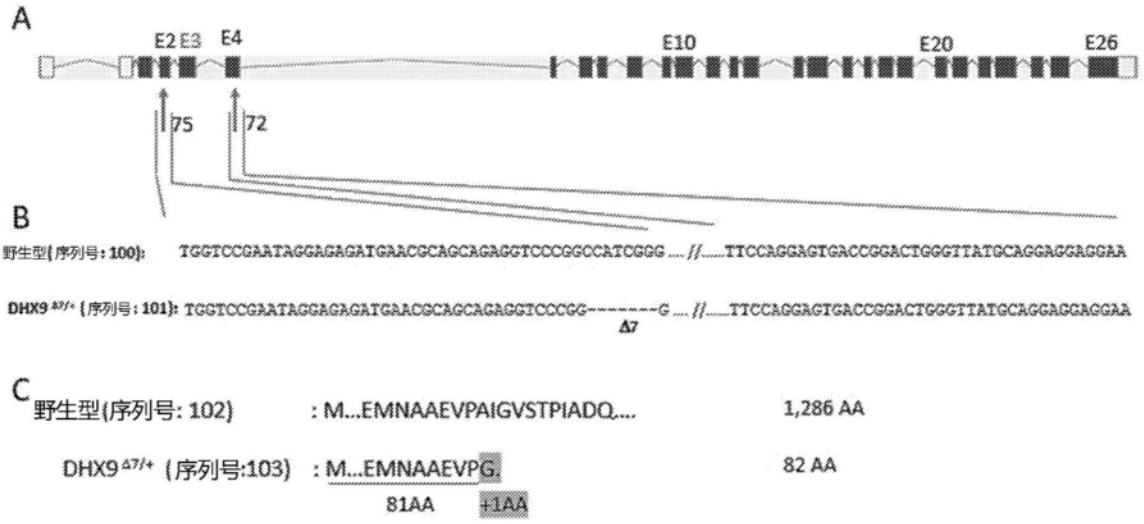

A
E2 E3 E4
E10
E20
E26
75
72
B
野生型(序列号:100): TGGTCCGAATAGGAGAGATGAACGCAGCAGAGGTCCCGGCCATCGGG .... //..... TTCCAGGAGTGACCGGACTGGGTTATGCAGGAGGAGGAA
DHX9 Δ7/+ (序列号:101): TGGTCCGAATAGGAGAGATGAACGCAGCAGAGGTCCCGG--------G .... //..... TTCCAGGAGTGACCGGACTGGGTTATGCAGGAGGAGGAA
Δ7
C
野生型(序列号: 102) : M...EMNAAEVPAIGVSTPIADQ.... 1,286 AA
DHX9 Δ7/+ (序列号:103) : M...EMNAAEVPG. 82 AA
81AA +1AA

图16

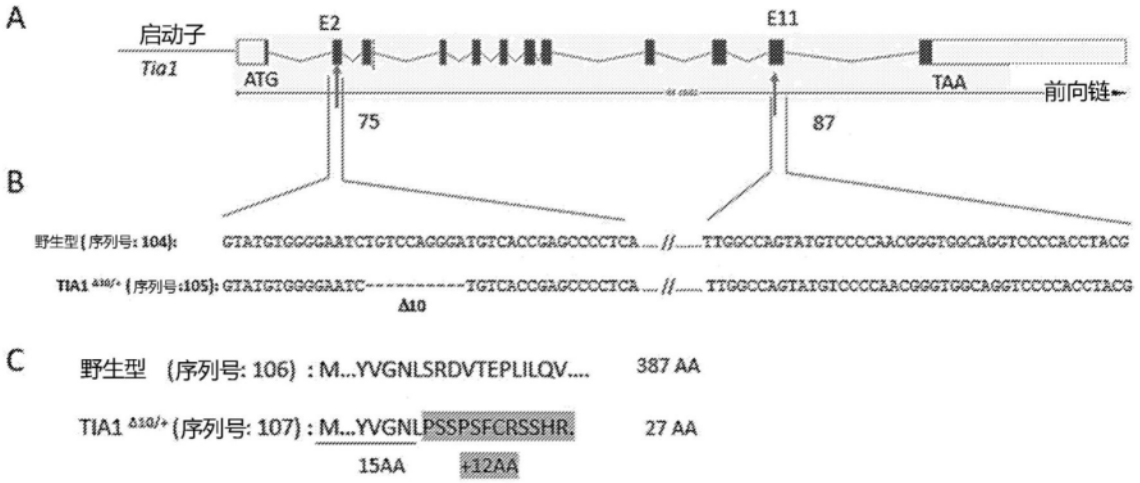

A
启动子
Tia1
E2
E11
ATG
TAA
前向链
75
87
B
野生型(序列号:104): GTATGTGGGGAATCTGTCCAGGGATGTCACCGAGCCCCTCA .... //..... TTGGCCAGTATGTCCCCAACGGGTGGCAGGTCCCCACCTACG
TIA1 Δ10/+ (序列号:105): GTATGTGGGGAATC----------TGTCACCGAGCCCCTCA .... //..... TTGGCCAGTATGTCCCCAACGGGTGGCAGGTCCCCACCTACG
Δ10
C
野生型 (序列号: 106) : M...YVGNLSRDVTEPLILQV.... 387 AA
TIA1 Δ10/+ (序列号: 107) : M...YVGNLPSSPSFCRSSHR. 27 AA
15AA +12AA

图17

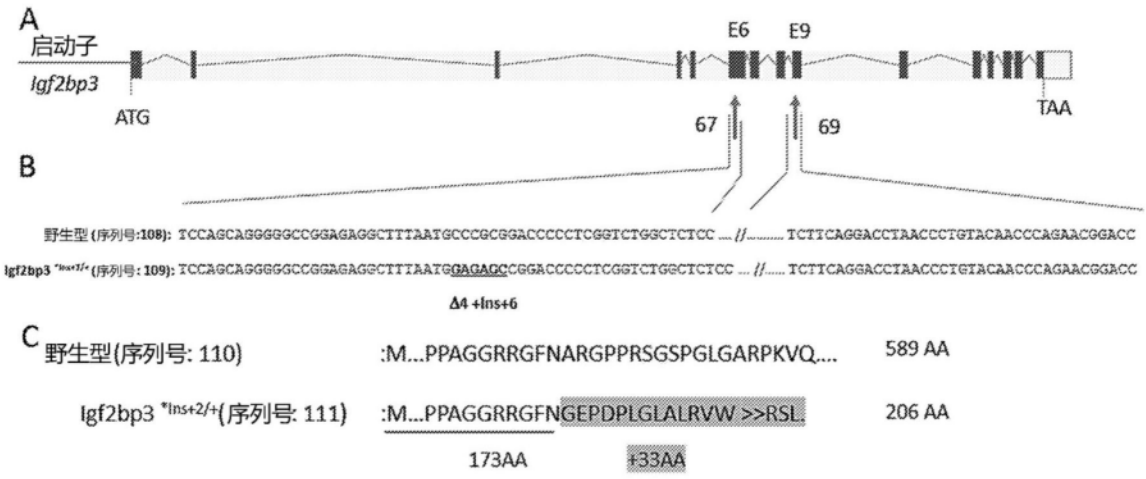

A
启动子
Igf2bp3
ATG
E6
E9
TAA
67
69
B
野生型(序列号:108): TCCAGCAGGGGGCCGGAGAGGCTTTAATGCCCGCGGACCCCCTCGGTCTGGCTCTCC ... //..... TCTTCAGGACCTAACCCTGTACAACCCAGAACGGACC
Igf2bp3 *Ins+2/+ (序列号:109): TCCAGCAGGGGGCCGGAGAGGCTTTAATGGAGAGCCGGACCCCCTCGGTCTGGCTCTCC ... //..... TCTTCAGGACCTAACCCTGTACAACCCAGAACGGACC
Δ4 +Ins+6
C
野生型(序列号: 110) :M...PPAGGRRGFNARGPPRSGSPGLGARPKVQ.... 589 AA
Igf2bp3 *Ins+2/+(序列号: 111) :M...PPAGGRRGFNGEPDPLGLALRVW >>RSL. 206 AA
173AA
+33AA

图18

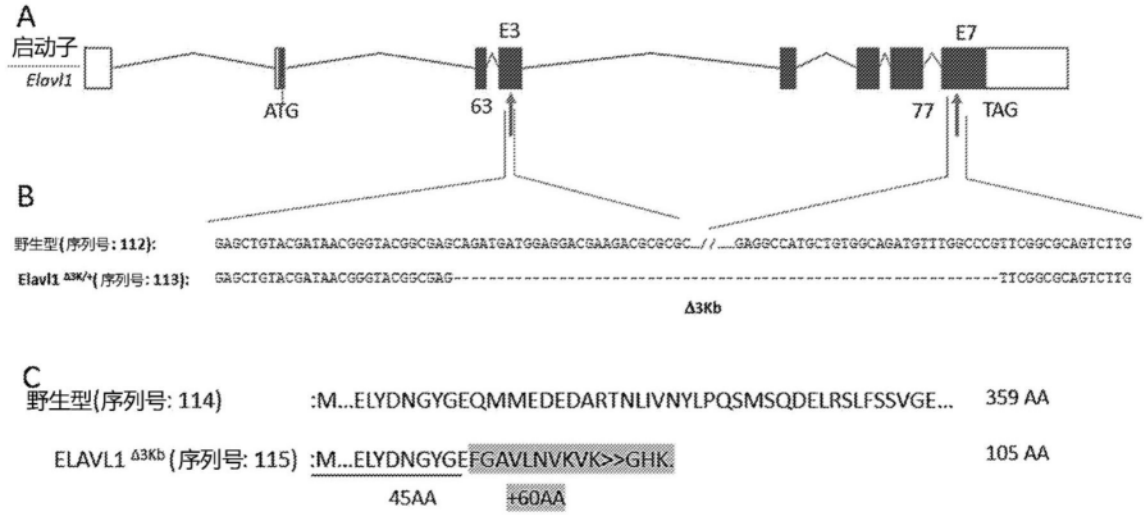

A
启动子
Elavl1
ATG
E3
63
E7
77
TAG
B
野生型(序列号:112): GAGCTGTACGATAACGGGTACGGCGAGCAGATGATGGAGGACGAAGACGCGCGC.../ /.....GAGGCCATGCTGTGGCAGATGTTTGGCCCGTTCGGCGCAGTCTTG
Elavl1 Δ3K/+(序列号:113): GAGCTGTACGATAACGGGTACGGCGAG----------TTCGGCGCAGTCTTG
Δ3Kb
C
野生型(序列号: 114) :M...ELYDNGYGEQMMEDEDARTNLIVNYLPQSMSQDELRSLFSSVGE... 359 AA
ELAVL1 Δ3Kb(序列号: 115) :M...ELYDNGYGEFGAVLNVKVK>>GHK. 105 AA
45AA
+60AA

图19

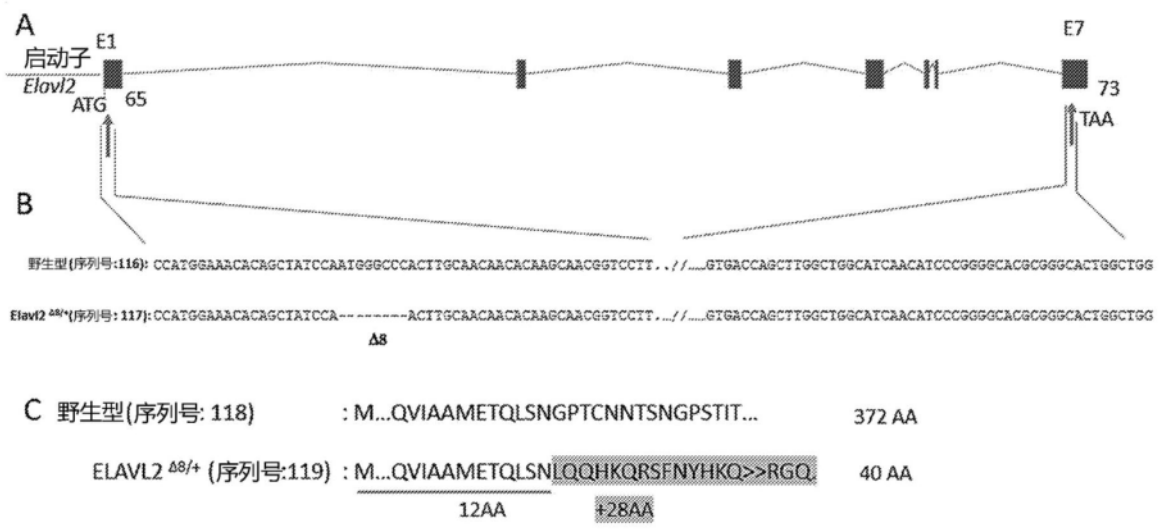

A
启动子
Elavl2
E1
ATG
65
E7
73
TAA
B
野生型(序列号:116): CCATGGAAACACAGCTATCCAATGGGCCCACTTGCAACAACACAAGCAACGGTCCTT../.....GTGACCAGCTTGGCTGGCATCAACATCCCGGGGCACGCGGGCACTGGCTGG
Elavl2 Δ8/+(序列号:117): CCATGGAAACACAGCTATCCA--------ACTTGCAACAACACAAGCAACGGTCCTT.../.....GTGACCAGCTTGGCTGGCATCAACATCCCGGGGCACGCGGGCACTGGCTGG
Δ8
C 野生型(序列号: 118) : M...QVIAAMETQLSNGPTCNNTSNGPSTIT... 372 AA
ELAVL2 Δ8/+ (序列号:119) : M...QVIAAMETQLSNLQQHKQRSFNYHKQ>>RGQ. 40 AA
12AA
+28AA

图20

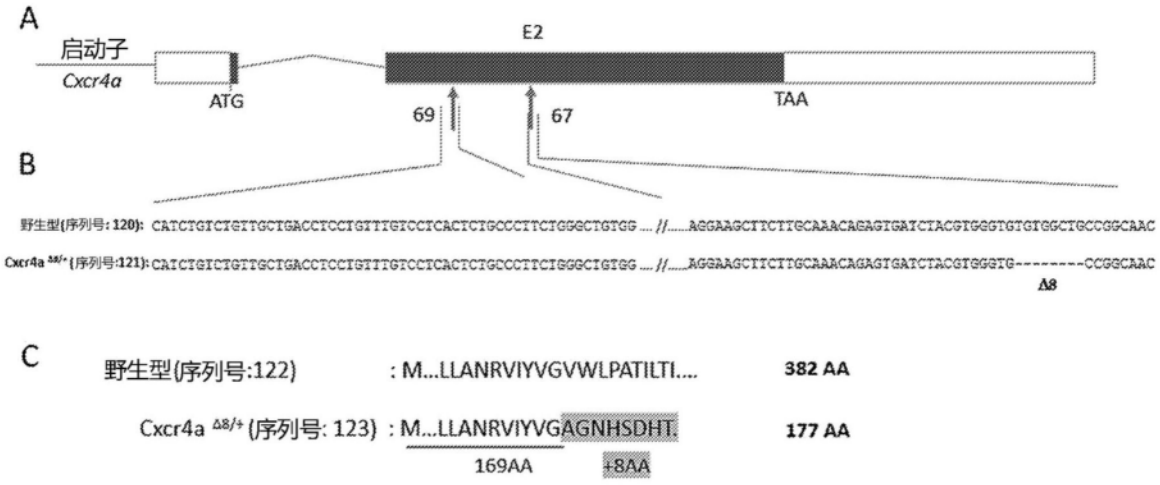

A
启动子
Cxcr4a
ATG
E2
69
67
TAA
B
野生型(序列号:120): CATCTGTCTGTTGCTGACCTCCTGTTTGTCCTCACTCTGCCCTTCTGGGCTGTGG ... //.....AGGAAGCTTCTTGCAAACAGAGTGATCTACGTGGGTGTGTGGCTGCCGGCAAC
Cxcr4a Δ8/+(序列号:121): CATCTGTCTGTTGCTGACCTCCTGTTTGTCCTCACTCTGCCCTTCTGGGCTGTGG ... //.....AGGAAGCTTCTTGCAAACAGAGTGATCTACGTGGGTG--------CCGGCAAC
Δ8
C 野生型(序列号:122) : M...LLANRVIYVGVWLPATILTI.... 382 AA
Cxcr4a Δ8/+ (序列号: 123) : M...LLANRVIYVGAGNHSDHT. 177 AA
169AA
+8AA

图21

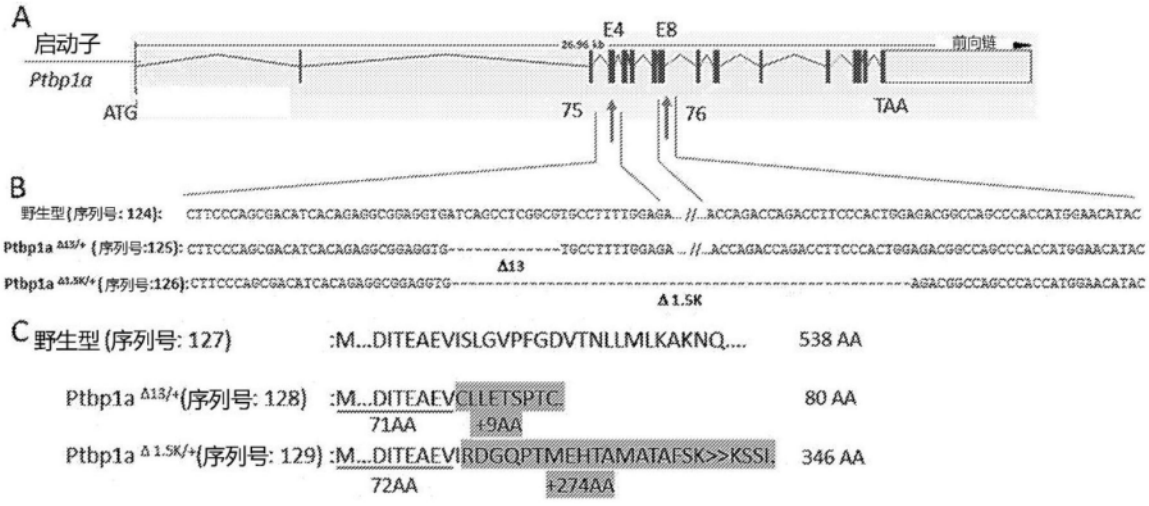

A
启动子
Ptbp1a
ATG
E4
E8
26.96 kb
前向链
75
76
TAA
B
野生型(序列号: 124):
Ptbp1a Δ13/+ (序列号:125):
Δ13
Ptbp1a Δ1.5K/+(序列号:126):
Δ1.5K
C
野生型 (序列号: 127) :M...DITEAEVISLGVPFGDVTNLLMLKAKNQ.... 538 AA
Ptbp1a Δ13/+(序列号: 128) :M...DITEAEVCLLETSPTC_ 80 AA
71AA +9AA
Ptbp1a Δ 1.5K/+(序列号: 129) :M...DITEAEVIRDGQPTMEHTAMATAFSK>>KSSI. 346 AA
72AA +274AA

图22

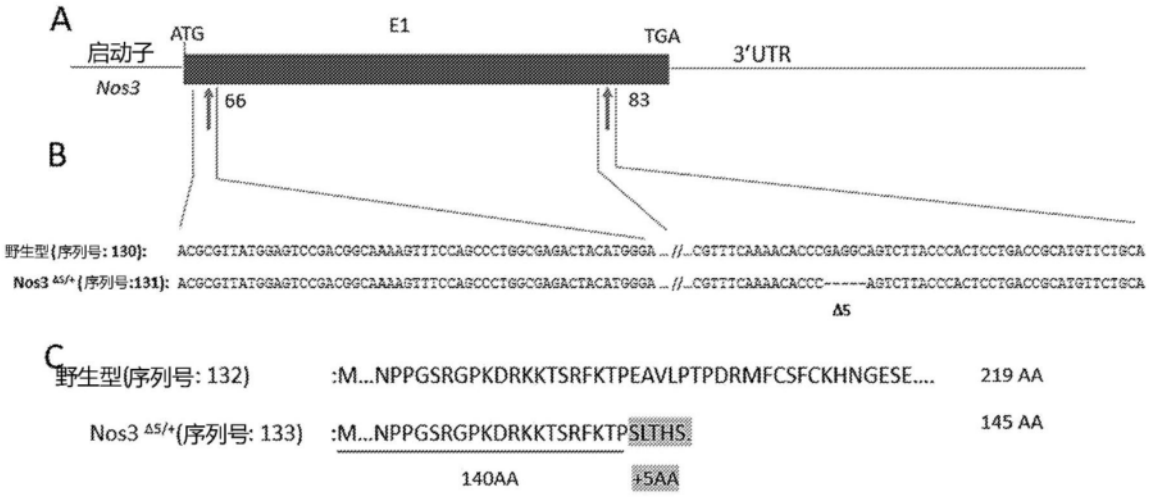

A
启动子
Nos3
ATG
E1
TGA
3'UTR
66
83
B
野生型(序列号: 130):
Nos3 Δ5/+(序列号:131):
Δ5
C
野生型(序列号: 132) :M...NPPGSRGPKDRKKTSRFKTPEAVLPTPDRMFCSFCKHNGESE.... 219 AA
Nos3 Δ5/+(序列号: 133) :M...NPPGSRGPKDRKKTSRFKTPSLTHS. 145 AA
140AA +5AA

图23

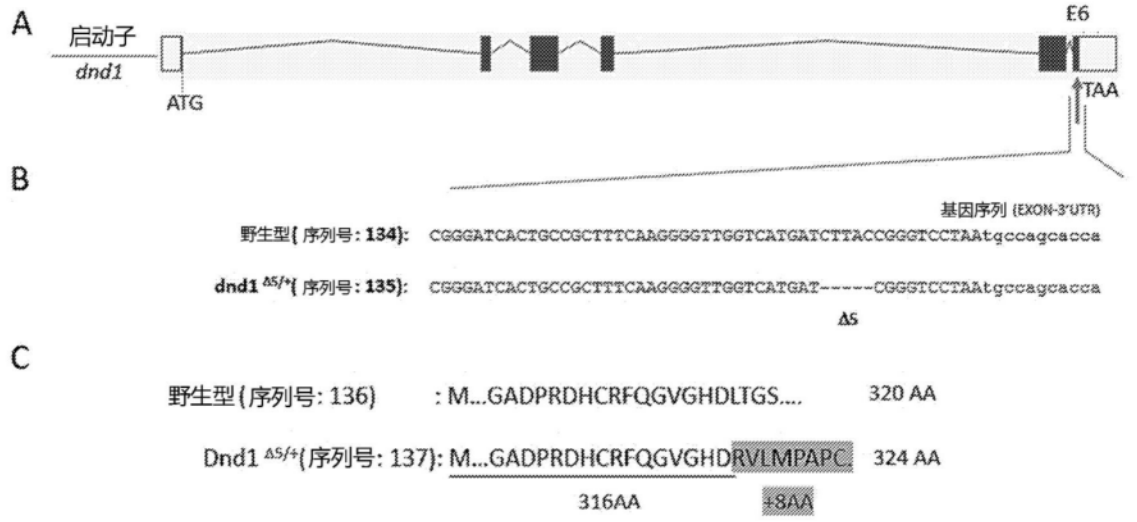

A
启动子
dnd1
ATG
E6
TAA
B
基因序列 (EXON-3'UTR)
野生型(序列号:134): CGGGATCACTGCCGCTTTCAAGGGGTTGGTCATGATCTTACCGGGTCCTAAtgccagcacca
dnd1 Δ5/+(序列号:135): CGGGATCACTGCCGCTTTCAAGGGGTTGGTCATGAT-----CGGGTCCTAAtgccagcacca
Δ5
C
野生型(序列号: 136) : M...GADPRDHCRFQGVGHDLTGS.... 320 AA
Dnd1 Δ5/+(序列号: 137): M...GADPRDHCRFQGVGHDRVLMPAPC. 324 AA
316AA
+8AA

图24

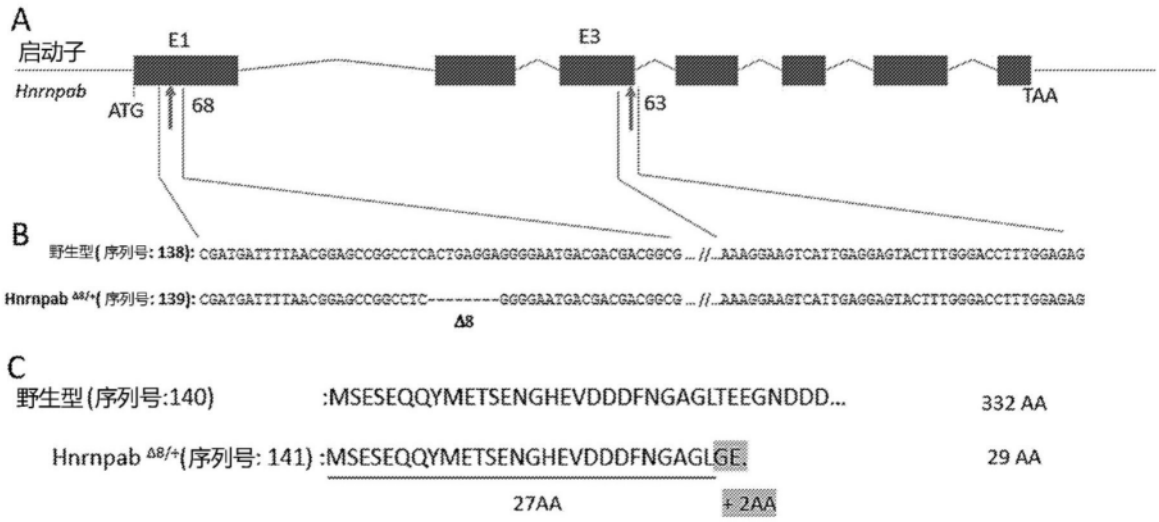
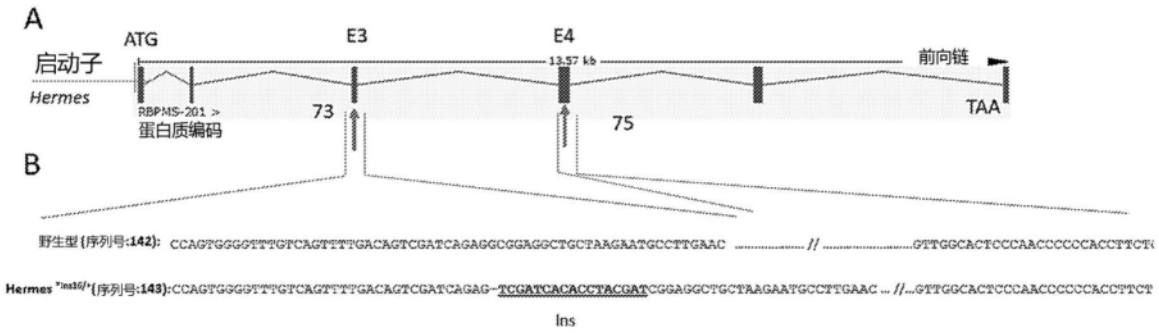

A
启动子
Hnrnpab
E1
E3
ATG
68
63
TAA
B
野生型(序列号:138): CGATGATTTTAACGGAGCCGGCCTCACTGAGGAGGGGAATGACGACGACGGCG ... //...AAAGGAAGTCATTGAGGAGTACTTTGGGACCTTTGGAGAG
Hnrnpab Δ8/+(序列号:139): CGATGATTTTAACGGAGCCGGCCTC---------GGGGAATGACGACGACGGCG ... //...AAAGGAAGTCATTGAGGAGTACTTTGGGACCTTTGGAGAG
Δ8
C
野生型(序列号:140) :MSESEQQYMETSENGHEVDDDFNGAGLTEEGNDDD... 332 AA
Hnrnpab Δ8/+(序列号: 141) :MSESEQQYMETSENGHEVDDDFNGAGLGE. 29 AA
27AA
+ 2AA

图25


A
启动子
Hermes
ATG
E3
E4
13.57 kb
前向链
RBPMS-201 >
蛋白质编码
73
75
TAA
B
野生型(序列号:142): CCAGTGGGGTTTGTCAGTTTTGACAGTCGATCAGAGGCGGAGGCTGCTAAGAATGCCTTGAAC ... //... GTTGGCACTCCCAACCCCCCACCTTCT
Hermes *ins16/+(序列号:143):CCAGTGGGGTTTGTCAGTTTTGACAGTCGATCAGAG-TCGATCACACCTACGATCGGAGGCTGCTAAGAATGCCTTGAAC ... //...GTTGGCACTCCCAACCCCCCACCTTCT
Ins

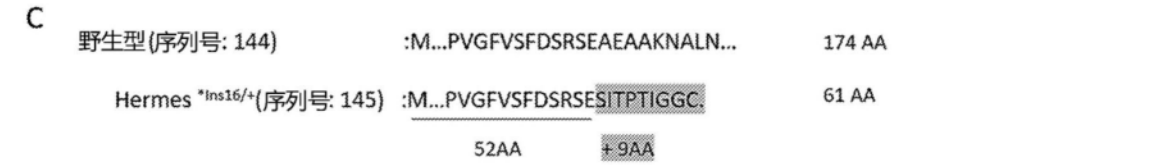
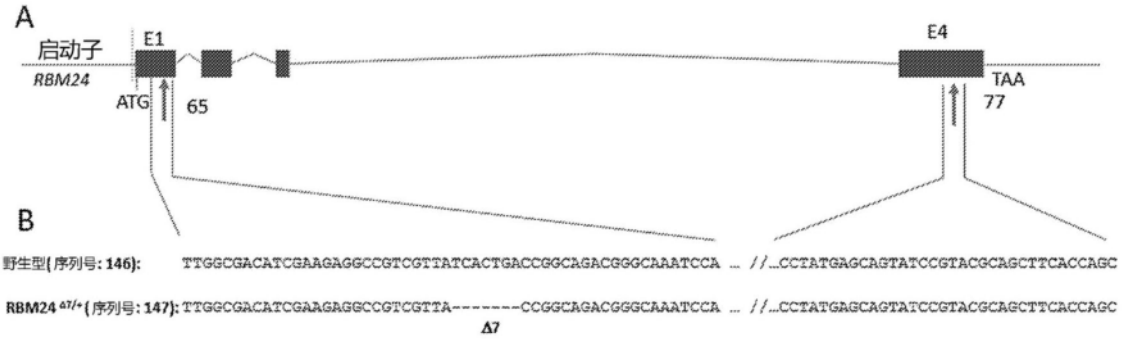

C
野生型(序列号: 144) :M...PVGFVSFDSRSEAEAAKNALN... 174 AA
Hermes *Ins16/+(序列号: 145) :M...PVGFVSFDSRSESITPTIGGC. 61 AA
52AA
+ 9AA

图26


A
启动子
RBM24
E1
E4
ATG
65
TAA
77
B
野生型(序列号: 146): TTGGCGACATCGAAGAGGCCGTCGTTATCACTGACCGGCAGACGGGCAAATCCA ... //...CCTATGAGCAGTATCCGTACGCAGCTTCACCAGC
RBM24 Δ7/+(序列号: 147): TTGGCGACATCGAAGAGGCCGTCGTTA-------CCGGCAGACGGGCAAATCCA ... //...CCTATGAGCAGTATCCGTACGCAGCTTCACCAGC
Δ7

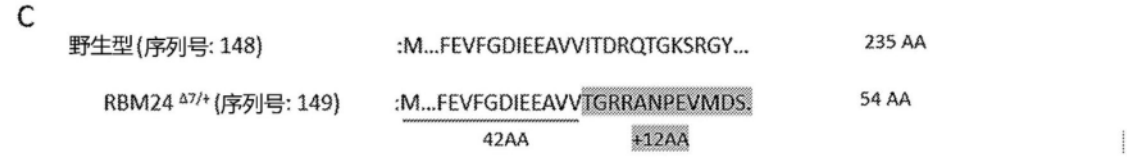

C
野生型(序列号: 148) :M...FEVFGDIEEAVVITDRQTGKSRGY... 235 AA
RBM24 Δ7/+(序列号: 149) :M...FEVFGDIEEAVVTGRRANPEVMDS. 54 AA
42AA
+12AA

图27

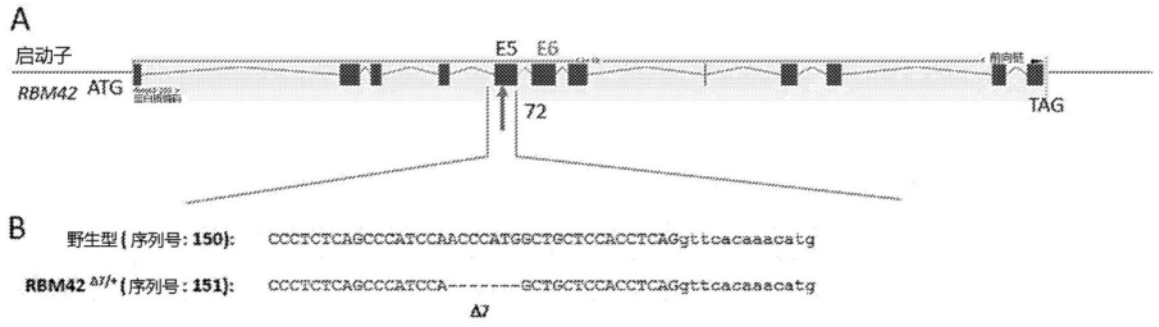

A
启动子
RBM42
ATG
E5
E6
72
TAG
B
野生型(序列号: 150): CCCTCTCAGCCCATCCAACCCATGGCTGCTCCACCTCAGgttcacaaacatg
RBM42 Δ7/+(序列号: 151): CCCTCTCAGCCCATCCA-------GCTGCTCCACCTCAGgttcacaaacatg
Δ7
C
野生型(序列号: 152) :M...GPSQPIQPMAAPPQVGDMVSMVSGPP.... 408 AA
RBM42 Δ7/+(序列号: 153) :M...GPSQPIQLLHLRLVIWFQWCQAHLHDK. 178 AA
158AA
+20AA

图28

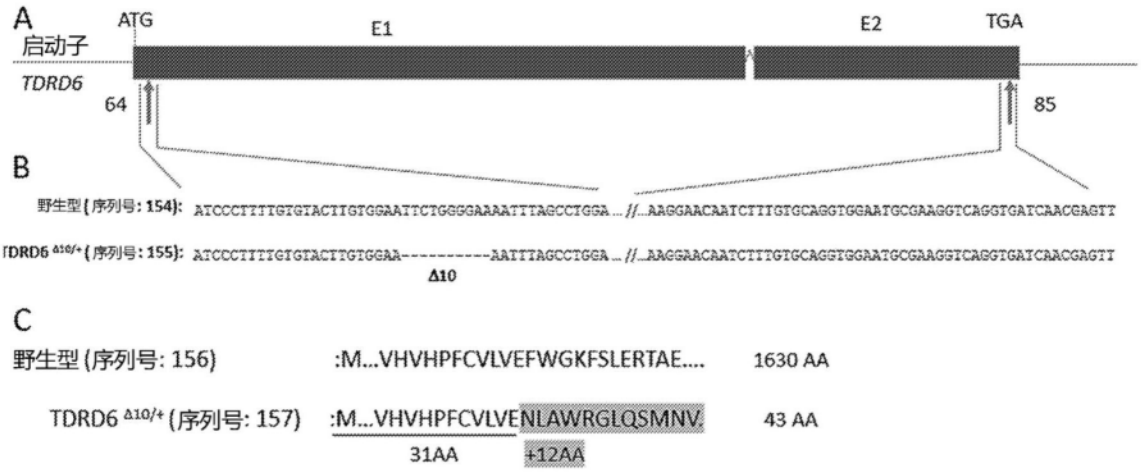

A
ATG
E1
E2
TGA
启动子
TDRD6
64
85
B
野生型(序列号: 154): ATCCCTTTTGTGTACTTGTGGAATTCTGGGGAAAATTTAGCCTGGA... //...AAGGAACAATCTTTGTGCAGGTGGAATGCGAAGGTCAGGTGATCAACGAGTT
TDRD6 Δ10/+(序列号: 155): ATCCCTTTTGTGTACTTGTGGAA----------AATTTAGCCTGGA... //...AAGGAACAATCTTTGTGCAGGTGGAATGCGAAGGTCAGGTGATCAACGAGTT
Δ10
C
野生型(序列号: 156) :M...VHVHPFCVLVEFWGKFSLERTAE.... 1630 AA
TDRD6 Δ10/+(序列号: 157) :M...VHVHPFCVLVENLAWRGLQSMNV. 43 AA
31AA
+12AA

图29

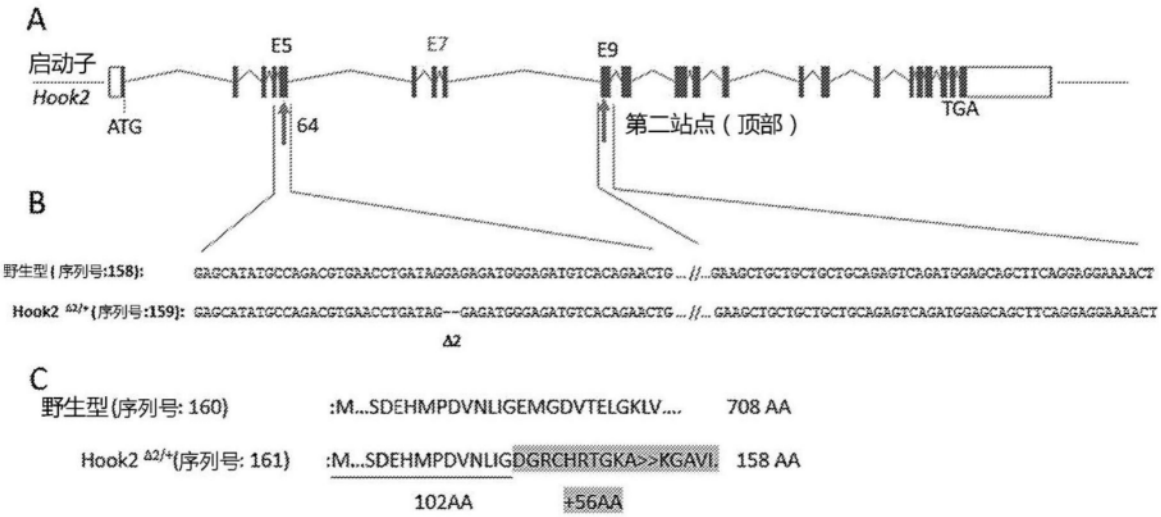

A
启动子
Hook2
ATG
E5
64
E7
E9
第二站点（顶部）
TGA
B
野生型(序列号:158):
Hook2 Δ2/+(序列号:159):
Δ2
C
野生型(序列号: 160) :M...SDEHMPDVNLIGEMGDVTELGKLV.... 708 AA
Hook2 Δ2/+(序列号: 161) :M...SDEHMPDVNLIGDGRCHRTGKA>>KGAVI. 158 AA
102AA
+56AA

图30

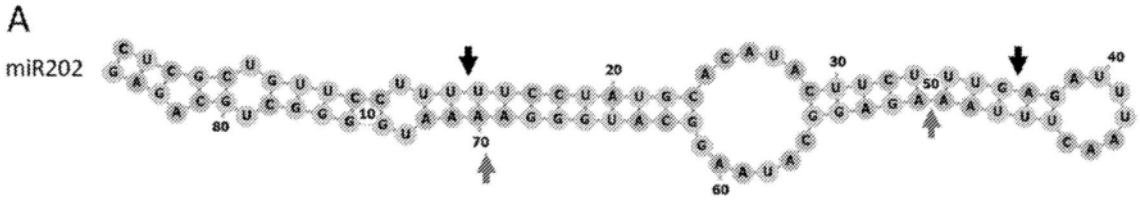

A
miR202

图31

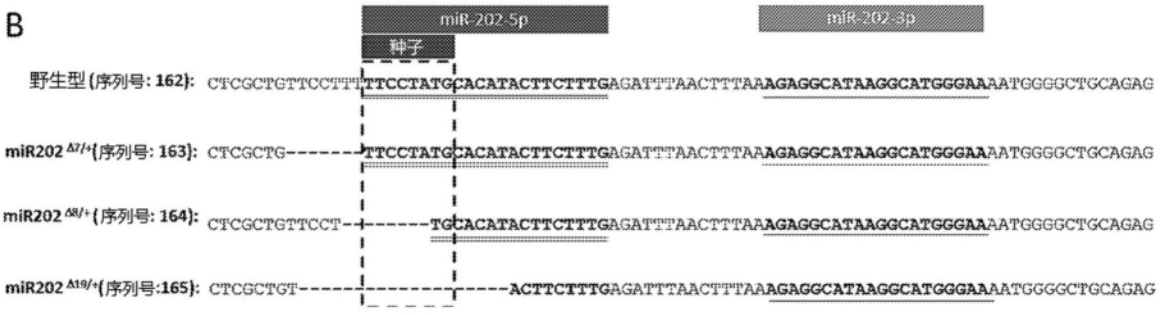

B
miR-202-5p
miR-202-3p
种子
野生型(序列号: 162):
miR202 Δ7/+(序列号: 163):
miR202 Δ8/+(序列号: 164):
miR202 Δ19/+(序列号:165):

图31续

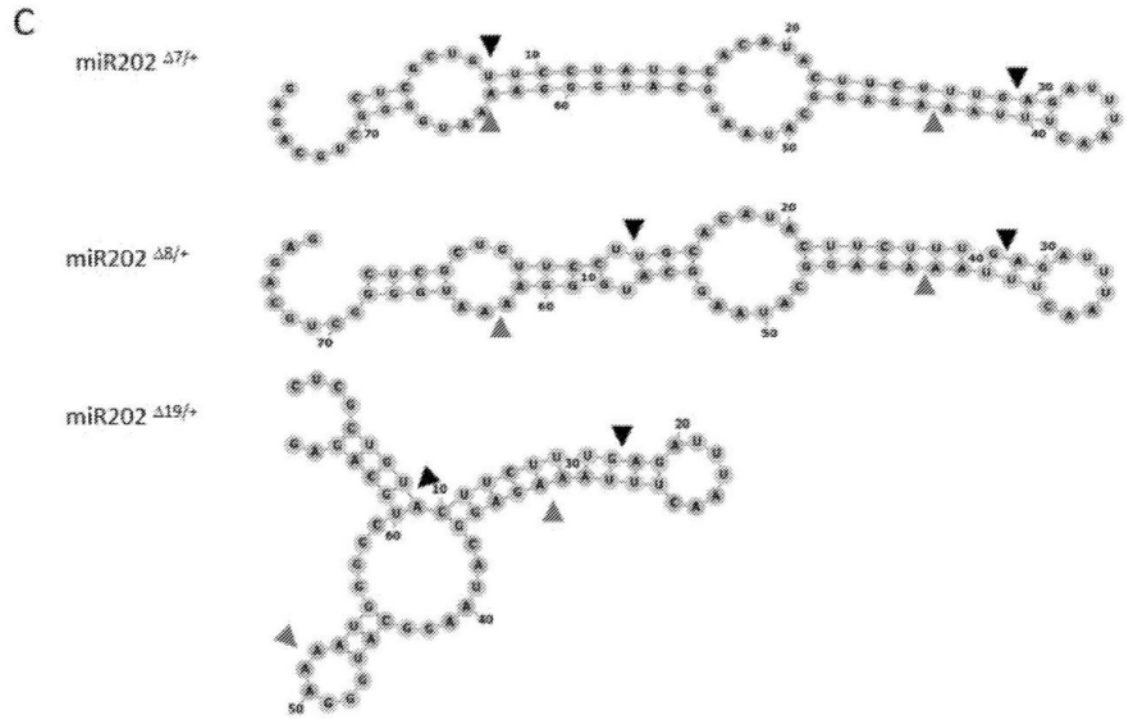


图31续

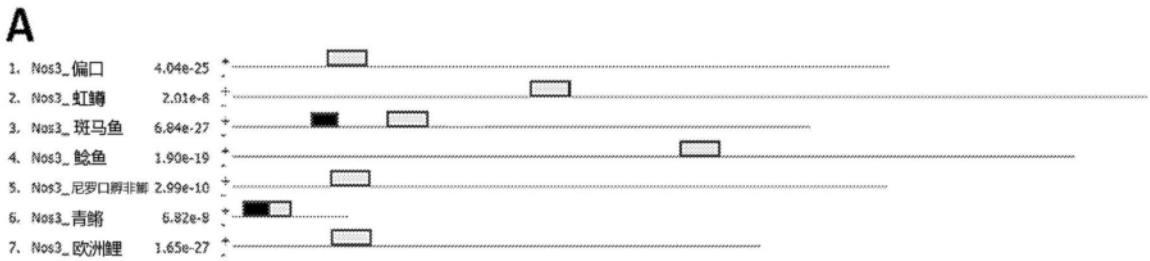


图32

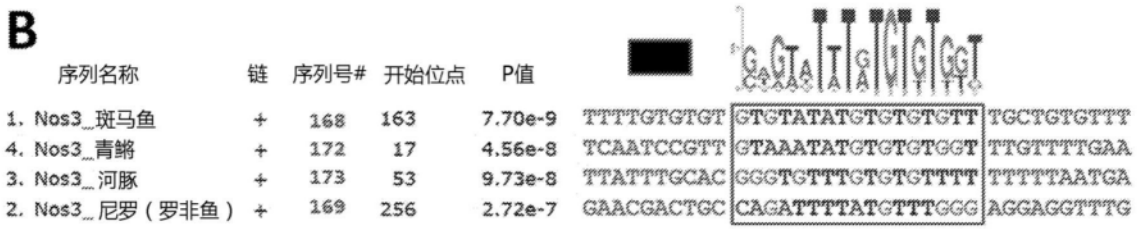


图32续

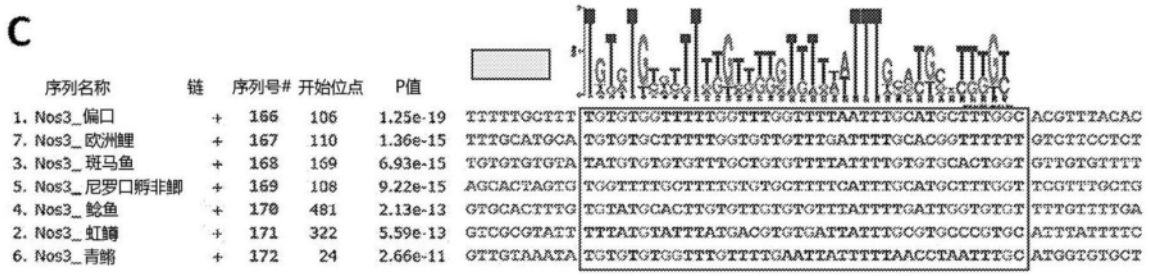


图32续

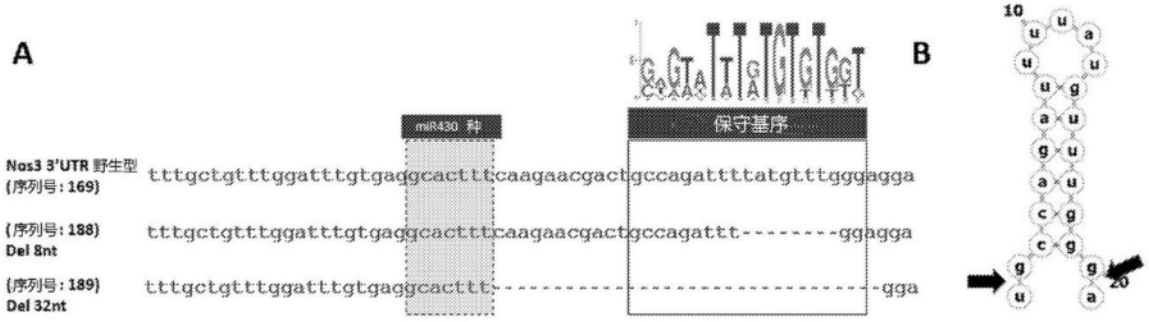


图33

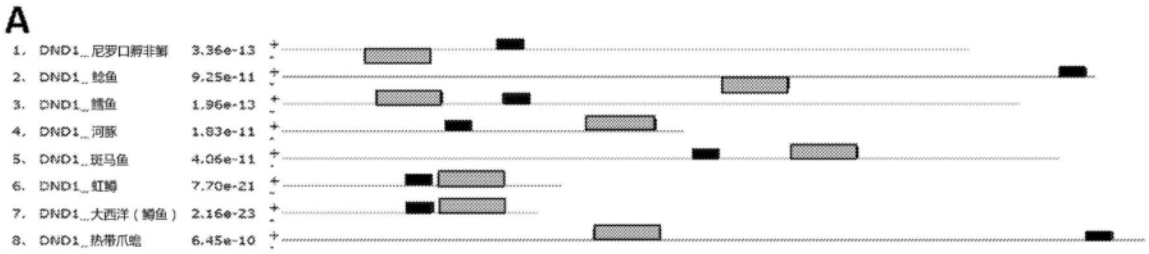


图34

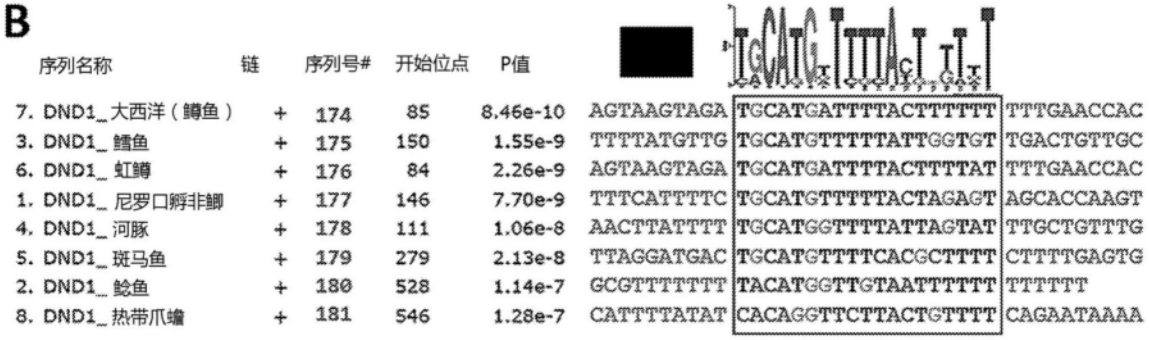


图34续

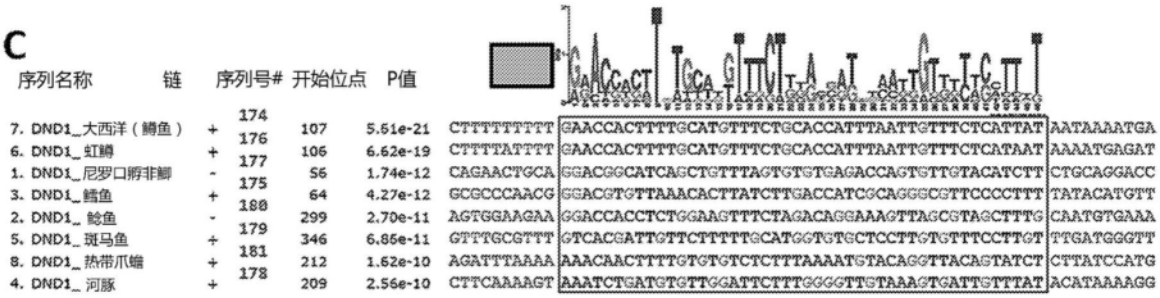

C
序列名称 链 序列号# 开始位点 P值
7. DND1_大西洋（鳟鱼） + 174 107 5.61e-21 CTTTTTTTTT GAACCACTTTTGCATGTTTCTGCACCATTTAATTGTTTCTCATTAT AATAAAATGA
6. DND1_虹鳟 + 176 106 6.62e-19 CTTTTATTTT GAACCACTTTTGCATGTTTCTGCACCATTTAATTGTTTCTCATAAT AAAATGAGAT
1. DND1_尼罗口孵非鲫 - 177 56 1.74e-12 CAGAACTGCA GGACGGCATCAGCTGTTTAGTGTGTGAGACCAGTGTTGTACATCTT CTGCAGGACC
3. DND1_鳕鱼 + 175 64 4.27e-12 GCGCCCAACG GGACGTGTTAAACACTTATCTTGACCATCGCAGGGCGTTCCCCTTT TATACATGTT
2. DND1_鲶鱼 - 180 299 2.70e-11 AGTGGAAGAA GGACCACCTCTGGAAGTTTCTAGACAGGAAAGTTAGCGTAGCTTTG CAATGTGAAA
5. DND1_斑马鱼 + 179 346 6.85e-11 GTTTGCGTTT GTCACGATTGTTCTTTTTGCATGGTGTGCTCCTTGTGTTTCCTTGT TTGATGGGTT
8. DND1_热带爪蟾 + 181 212 1.62e-10 AGATTTAAAA AAACAACTTTTGTGTGTCTCTTTAAAATGTACAGGTTACAGTATCT CTTATCCATG
4. DND1_河豚 + 178 209 2.56e-10 CTTCAAAAGT AAATCTGATGTGTTGGATTCTTTGGGGTTGTAAAGTGATTGTTTAT ACATAAAAGG

图34续

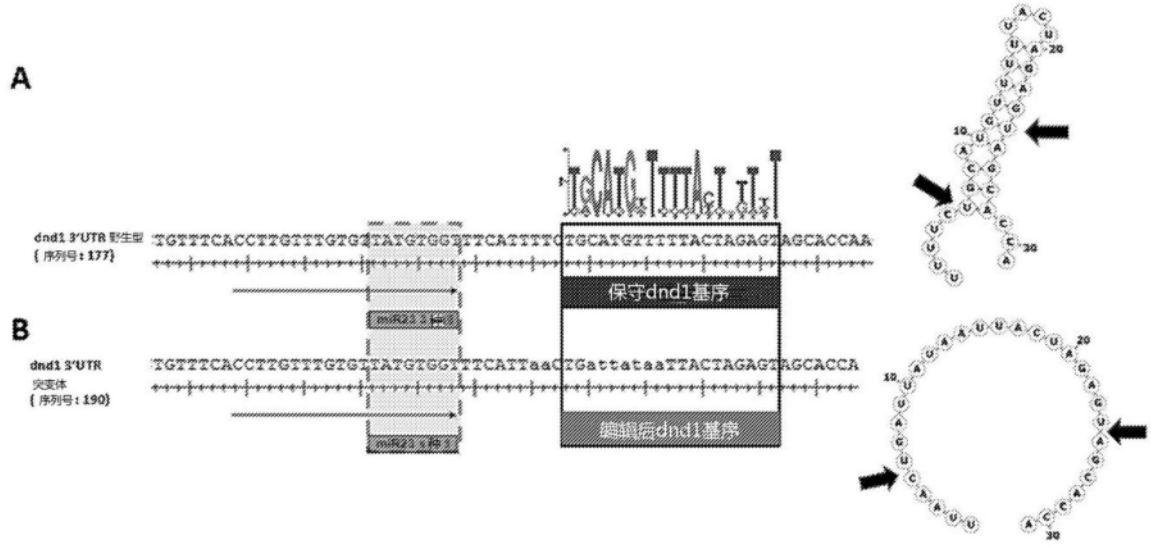

A
dnd1 3'UTR 野生型
{ 序列号：177}
TGTTTCACCTTGTTTGTGTTATGTGGTTTCATTTTCTGCATGTTTTTACTAGAGTAGCACCAA
保守dnd1基序
B
dnd1 3'UTR
突变体
{ 序列号：190}
TGTTTCACCTTGTTTGTGTTATGTGGTTTCATTaaCTGattataaTTACTAGAGTAGCACCA
编辑后dnd1基序

图35

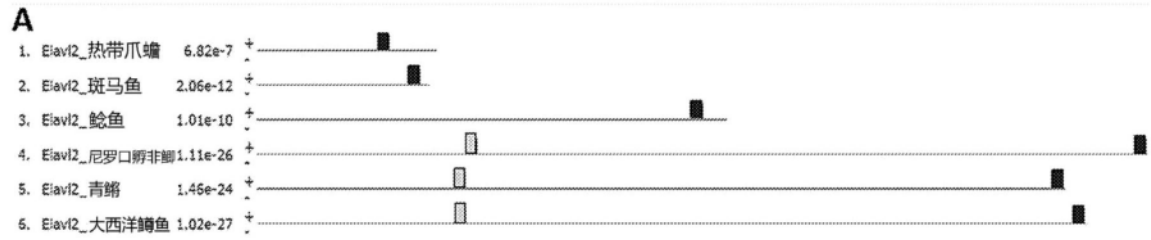

A
1. Elavl2_热带爪蟾 6.82e-7
2. Elavl2_斑马鱼 2.06e-12
3. Elavl2_鲶鱼 1.01e-10
4. Elavl2_尼罗口孵非鲫 1.11e-26
5. Elavl2_青鳉 1.46e-24
6. Elavl2_大西洋鳟鱼 1.02e-27

图36

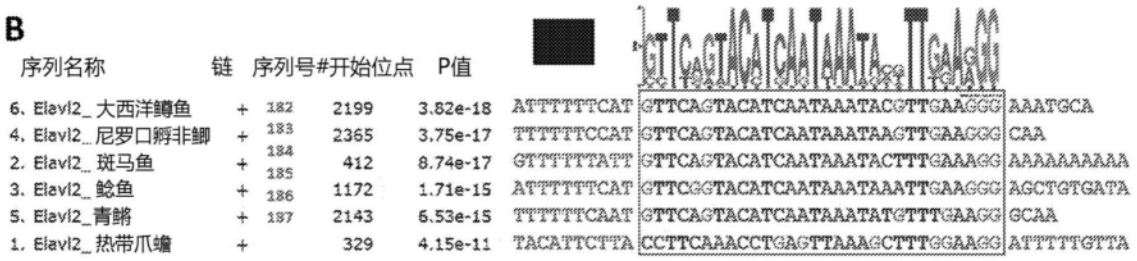


图36续

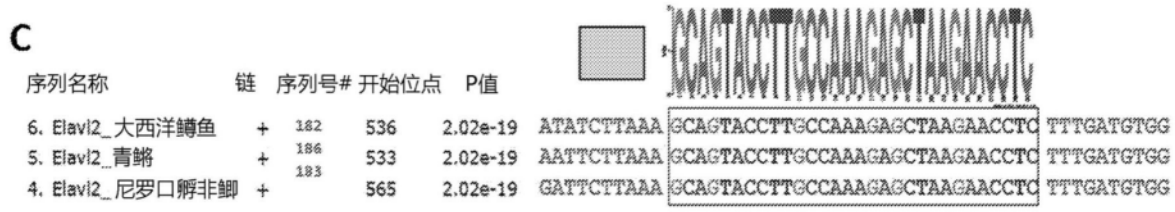


图36续

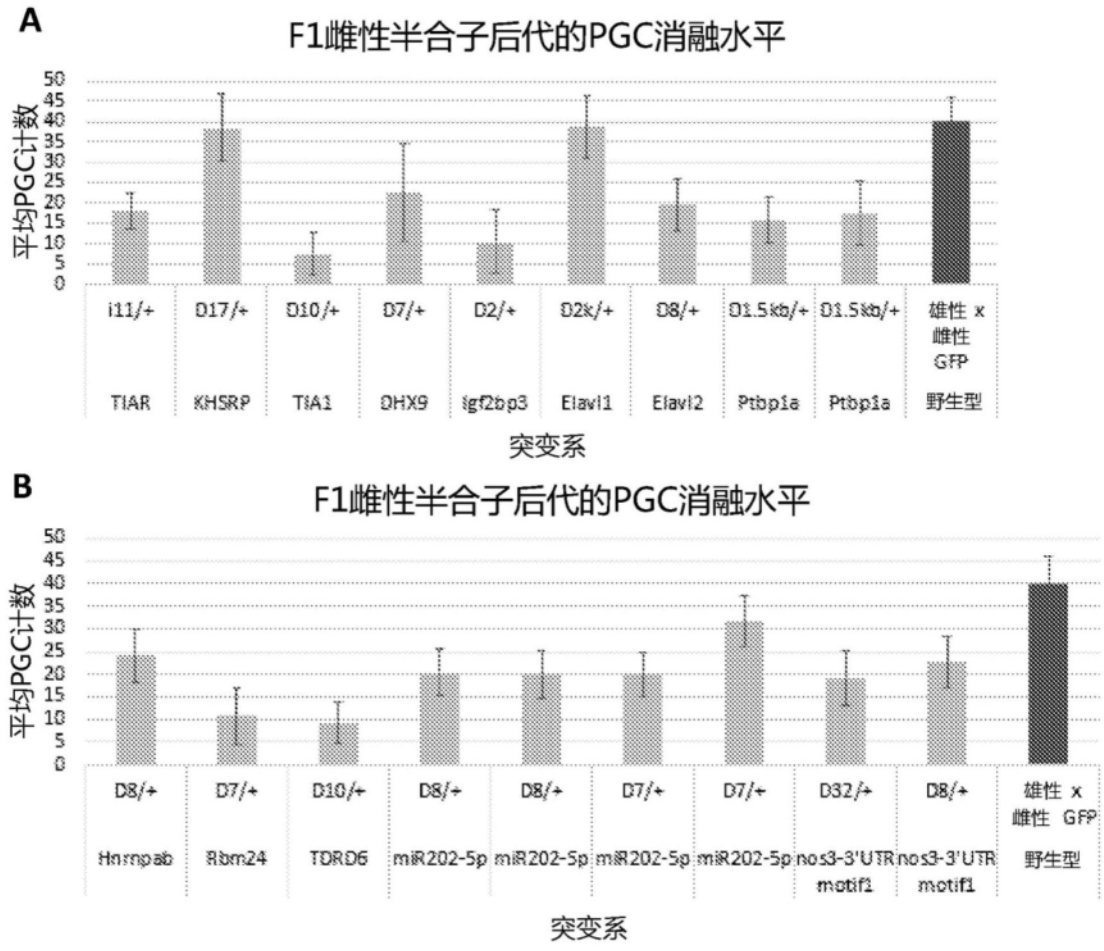


图37

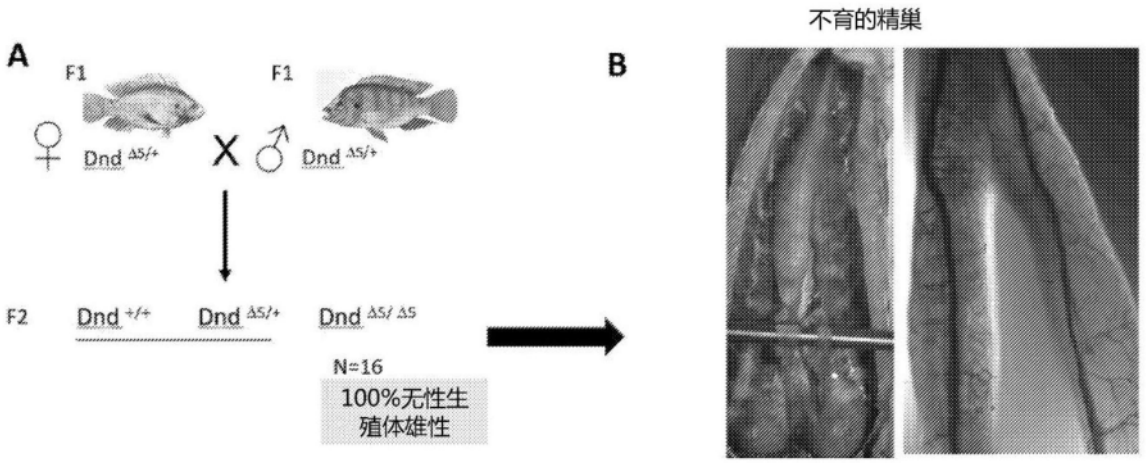

A
F1
F1
Dnd Δ5/+
Dnd Δ5/+
F2
Dnd +/+
Dnd Δ5/+
Dnd Δ5/ Δ5
N=16
100%无性生殖体雄性
B
不育的精巢

图38

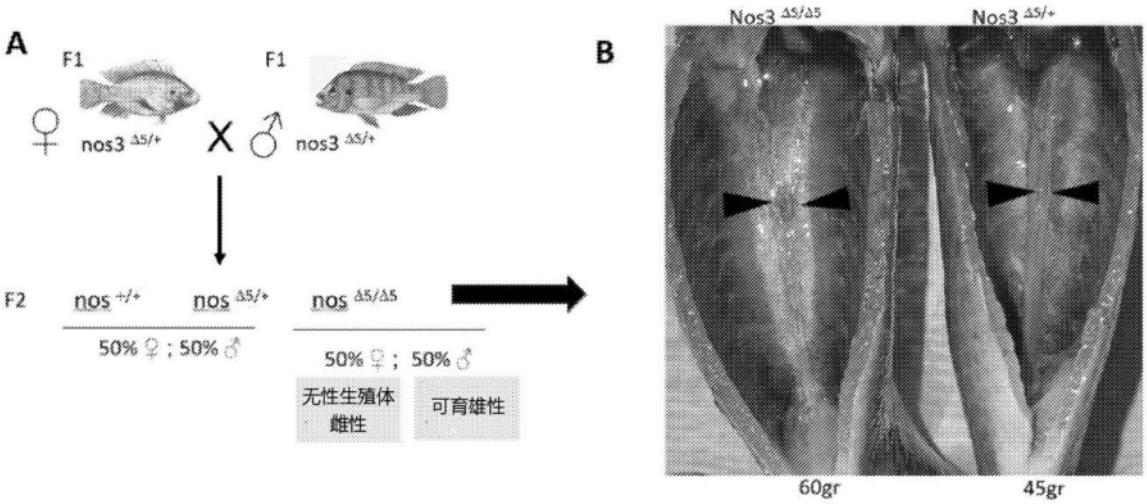

A
F1
F1
nos3 Δ5/+
nos3 Δ5/+
F2
nos +/+
nos Δ5/+
nos Δ5/Δ5
50% ♀ ; 50% ♂
50% ♀ ; 50% ♂
无性生殖体雌性
可育雄性
B
Nos3 Δ5/Δ5
Nos3 Δ5/+
60gr
45gr

图39

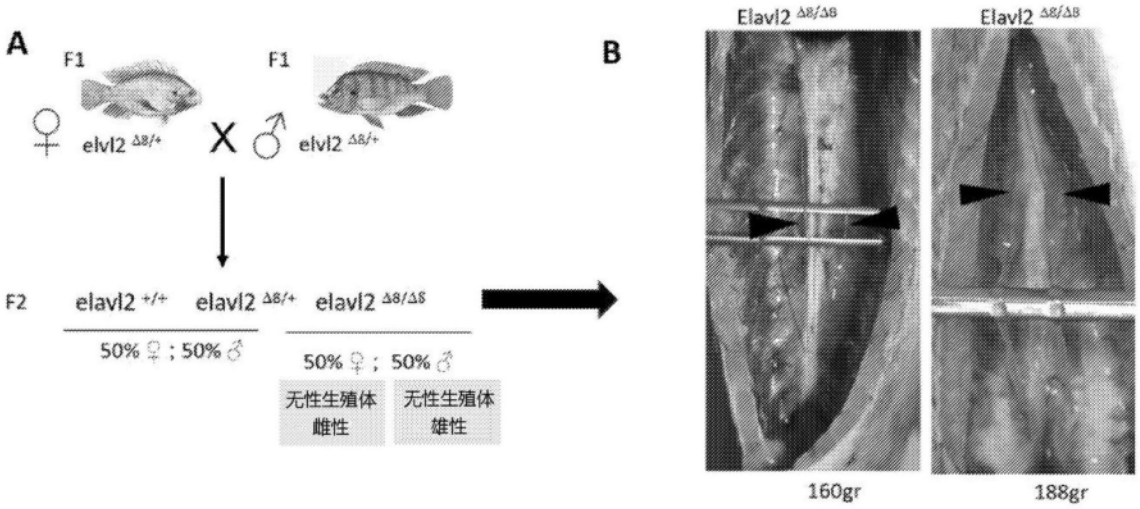

A
F1
F1
elvl2 Δ8/+
elvl2 Δ8/+
F2
elavl2 +/+
elavl2 Δ8/+
elavl2 Δ8/Δ8
50% ♀ ; 50% ♂
50% ♀ ; 50% ♂
无性生殖体
雌性
无性生殖体
雄性
B
Elavl2 Δ8/Δ8
Elavl2 Δ8/Δ8
160gr
188gr

图40

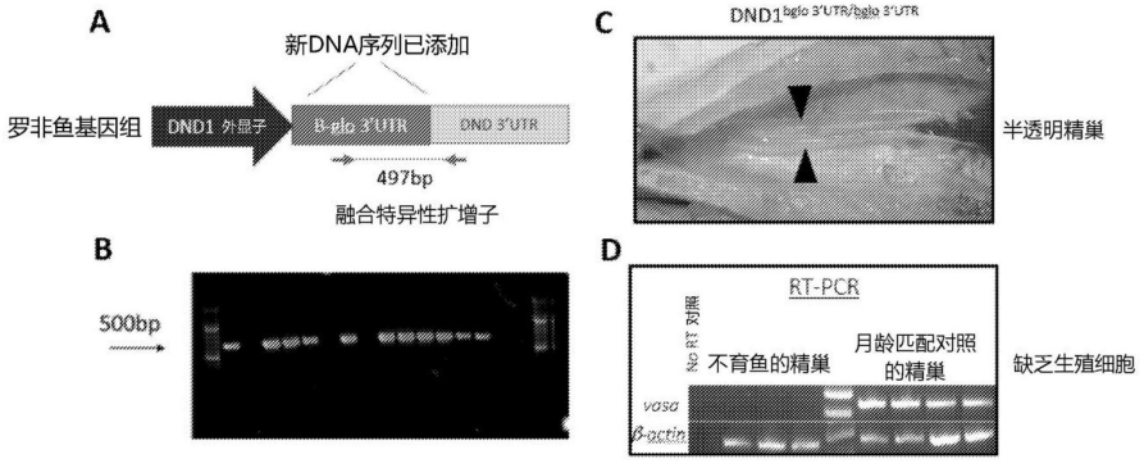

A
新DNA序列已添加
罗非鱼基因组
DND1 外显子
B-glo 3'UTR
DND 3'UTR
497bp
融合特异性扩增子
B
500bp
C
DND1bglo 3'UTR/bglo 3'UTR
半透明精巢
D
RT-PCR
No RT 对照
不育鱼的精巢
月龄匹配对照
的精巢
缺乏生殖细胞
vasa
β-actin

图41

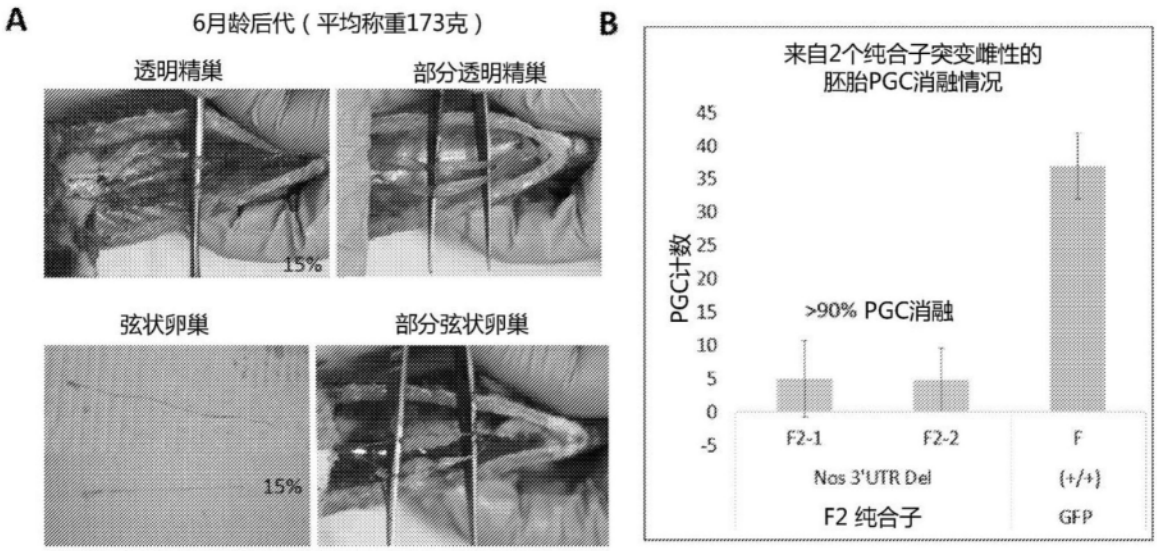

A
6月龄后代（平均称重173克）
透明精巢
部分透明精巢
15%
弦状卵巢
部分弦状卵巢
15%
B
来自2个纯合子突变雌性的
胚胎PGC消融情况
PGC计数
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
-5
>90% PGC消融
F2-1
F2-2
F
Nos 3'UTR Del
{+/+}
F2 纯合子
GFP

图42

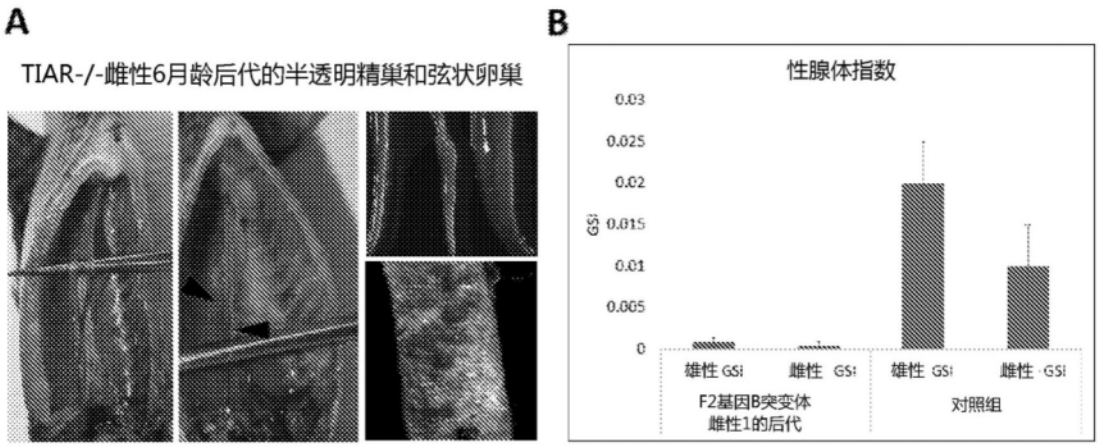

A
TIAR-/-雌性6月龄后代的半透明精巢和弦状卵巢
B
性腺体指数
GSI
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
雄性 GSI
雌性 GSI
雄性 GSI
雌性 GSI
F2基因B突变体
雌性1的后代
对照组

图43

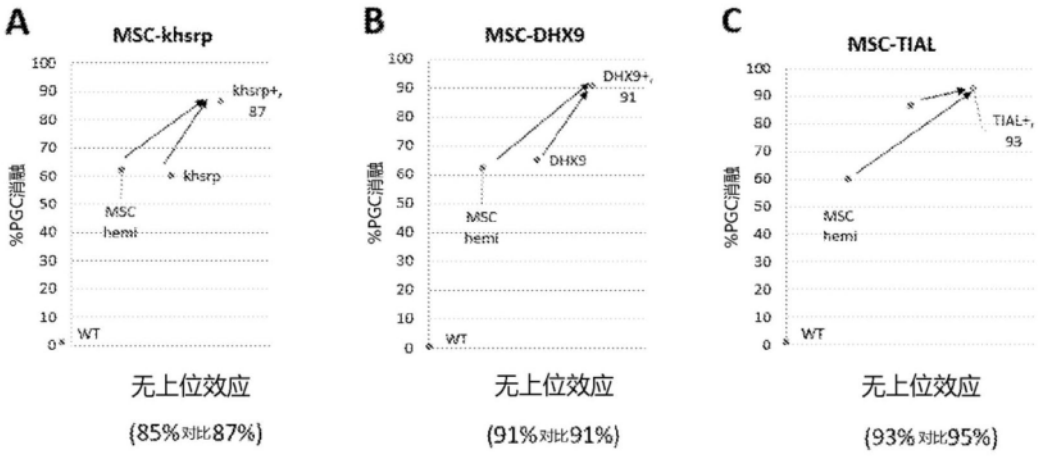

A
MSC-khsrp
%PGC消融
khsrp+, 87
khsrp
MSC hemi
WT
无上位效应
(85%对比87%)
B
MSC-DHX9
%PGC消融
DHX9+, 91
DHX9
MSC hemi
WT
无上位效应
(91%对比91%)
C
MSC-TIAL
%PGC消融
TIAL+, 93
MSC hemi
WT
无上位效应
(93%对比95%)

图44

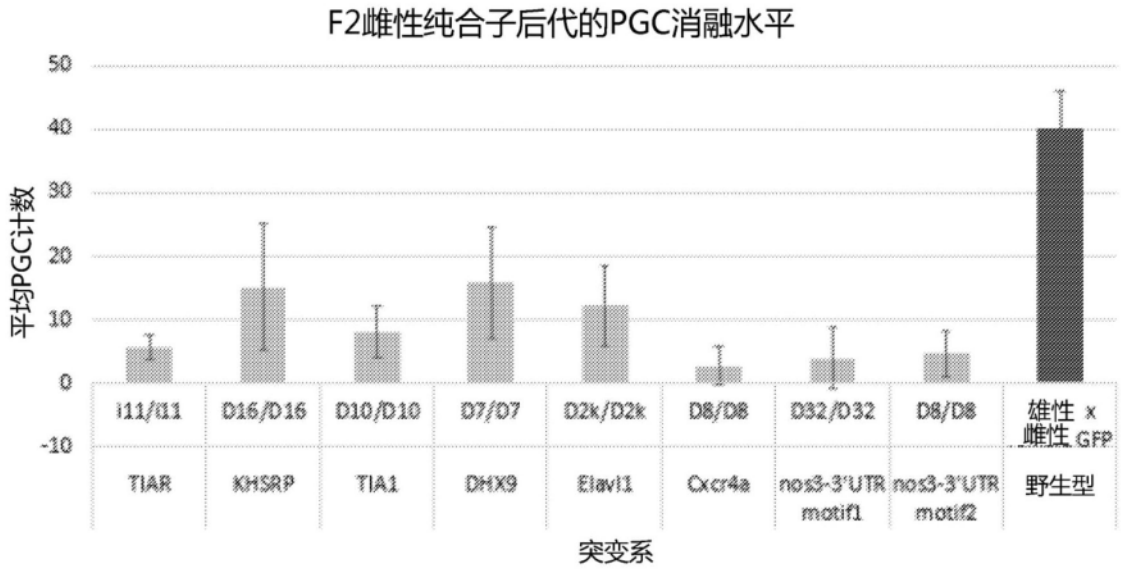

F2雌性纯合子后代的PGC消融水平
平均PGC计数
i11/i11
D16/D16
D10/D10
D7/D7
D2k/D2k
D8/D8
D32/D32
D8/D8
雄性 x 雌性 GFP
TIAR
KHSRP
TIA1
DHX9
Elavl1
Cxcr4a
nos3-3'UTR motif1
nos3-3'UTR motif2
野生型
突变系

图45