



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102016014 A

(43) 申请公布日 2011.04.13

(21) 申请号 200980114283.X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.04.22

C12N 9/16 (2006.01)

(30) 优先权数据

C12N 15/29 (2006.01)

61/047213 2008.04.23 US

C12N 15/82 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

A01H 5/00 (2006.01)

2010.10.22

A01H 5/10 (2006.01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/041331 2009.04.22

(87) PCT申请的公布数据

W02009/132057 EN 2009.10.29

(71) 申请人 纳慕尔杜邦公司

地址 美国特拉华州

申请人 先锋高级育种国际公司

(72) 发明人 S·M·艾伦 S·卢克 J·马伦

H·萨凯 S·西瓦桑卡 S·V·廷盖

R·W·威廉斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 李波 李炳爱

权利要求书 3 页 说明书 50 页 序列表 137 页

附图 7 页

(54) 发明名称

涉及编码蛋白酪氨酸磷酸酶的基因的耐旱植物以及相关的构建体和方法

(57) 摘要

本发明涉及分离的多核苷酸和多肽,以及用于提供耐旱性的重组 DNA 构建体、包含这些重组 DNA 构建体的组合物(例如植物或种子),以及利用这些重组 DNA 构建体的方法。所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至植物中有功能的启动子的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码蛋白酪氨酸磷酸酶。

Diagram A shows a sequence alignment with nucleotide sequences (top) and amino acid sequences (bottom) for various protein variants. Diagram B shows a similar alignment for a different set of variants. Diagram C shows a detailed alignment of a specific variant against a reference sequence, with positions 100 to 200 indicated.

1. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控元件的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO : 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性，并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。

2. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控元件的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO : 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性，并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出至少一种农学特性的改变。

3. 权利要求 2 的植物，其中所述至少一种农学特性为选自下列的至少一种：绿度、产量、生长速率、生物量、成熟时的鲜重、成熟时的干重、果实产量、种子产量、总植物含氮量、果实含氮量、种子含氮量、总植物游离氨基酸含量、果实游离氨基酸含量、种子游离氨基酸含量、果实蛋白质含量、种子蛋白质含量、营养组织蛋白质含量、耐旱性、氮摄取、根倒伏、收获指数、茎倒伏、植株高度、穗高、穗长、在低温胁迫下的早期幼苗活力和幼苗出苗率。

4. 权利要求 2 或权利要求 3 的植物，其中在水限制条件下与未包含所述重组 DNA 构建体的所述对照植物比较时，所述植物表现出所述至少一种农学特性的所述改变。

5. 权利要求 1 至 4 中任一项的植物，其中所述植物是玉米植物或大豆植物。

6. 增加植物耐旱性的方法，所述方法包括：

(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO : 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性；

(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；以及

(c) 获得源自步骤 (b) 的所述转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体并且在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。

7. 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：

(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO : 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性；

(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因

植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；

(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；以及

(d) 评价所述子代植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

8. 测定植物的至少一种农学特性改变的方法，所述方法包括：

(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性；

(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；

(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；以及

(d) 测定所述子代植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

9. 权利要求 8 的方法，其中所述测定步骤 (d) 包括测定所述转基因植物在水限制条件下与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

10. 权利要求 8 或权利要求 9 的方法，其中所述至少一种农学特性为选自下列的至少一种：绿度、产量、生长速率、生物量、成熟时的鲜重、成熟时的干重、果实产量、种子产量、总植物含氮量、果实含氮量、种子含氮量、总植物游离氨基酸含量、果实游离氨基酸含量、种子游离氨基酸含量、果实蛋白质含量、种子蛋白质含量、营养组织蛋白质含量、耐旱性、氮摄取、根倒伏、收获指数、茎倒伏、植株高度、穗高、穗长、在低温胁迫下的早期幼苗活力和幼苗出苗率。

11. 权利要求 6 至 10 中任一项的方法，其中所述植物是玉米植物或大豆植物。

12. 分离的多核苷酸，所述分离的多核苷酸包含：

(a) 编码具有蛋白酪氨酸磷酸酶活性的多肽的核苷酸序列，其中基于 Clustal V 比对方法，成对比对的默认参数 KTUPLE = 1，空位罚分 = 3，窗口 = 5，并且 DIAGONALS SAVED = 5，所述多肽具有的氨基酸序列在与 SEQ ID NO：25、37、40 或 41 进行比较时具有至少 90% 的序列同一性，或者在与 SEQ ID NO：21 或 39 进行比较时具有至少 93% 的序列同一性，或者所述氨基酸序列包含 SEQ ID NO：17、34、43 或 44；或者

(b) 所述 (a) 的核苷酸序列的全长互补序列。

13. 权利要求 12 的多核苷酸，其中所述多肽的氨基酸序列包含 SEQ ID NO：17、21、25、34、36、37、40、41、43 或 44。

14. 权利要求 12 的多核苷酸，其中所述核苷酸序列包含 SEQ ID NO：16、20、24、39 或 42。

15. 包含重组 DNA 构建体的植物或种子，其中所述重组 DNA 构建体包含权利要求 12

至 14 中任一项的多核苷酸，所述多核苷酸可操作地连接至少一种调控序列。

涉及编码蛋白酪氨酸磷酸酶的基因的耐旱植物以及相关的 构建体和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本专利申请要求提交于 2008 年 4 月 23 日的美国临时申请 61/047,213 的优先权，其全部内容以引用方式并入本文。

发明领域

[0003] 本发明领域涉及植物育种和基因学，并且具体地讲涉及用于赋予植物抗旱性的重组 DNA 构建体。

[0004] 发明背景

[0005] 非生物胁迫是世界范围内农作物损失的主要因素，它引起主要农作物平均超过 50 % 的产量损失 (Boyer, J.S.(1982) *Science* 218 : 443-448 ; Bray, E.A. 等人 (2000), In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Buchanan, B.B. 等人编辑, Amer.Soc. Plant Biol., 第 1158-1249 页)。在不同的非生物胁迫中，干旱是世界范围内限制农作物产量的主要因素。植物在不同发育阶段暴露于水限制环境下似乎启动多个生理和发育变化。理解干旱胁迫的基本生物化学和分子机制，转导和耐受性是生物学中的主要挑战。已经公布了非生物胁迫响应和干旱胁迫耐受性的遗传调节机制的回顾 (Valliyodan, B. 和 Nguyen, H.T., (2006) *Curr.Opin.Plant Biol.* 9 : 189-195 ; Wang, W. 等人 (2003) *Planta* 218 : 1-14) ; Vinocur, B. 和 Altman, A.(2005) *Curr.Opin.Biotechnol.* 16 : 123-132 ; Chaves, M.M. 和 Oliveira, M.M.(2004) *J.Exp.Bot.* 55 : 2365-2384 ; Shinozaki, K. 等人 (2003) *Curr.Opin.Plant Biol.* 6 : 410-417 ; Yamaguchi-Shinozaki, K. 和 Shinozaki, K.(2005) *Trends Plant Sci.* 10 : 88-94)。

[0006] 通过差异和 / 或差减分析已经完成了较早的对非生物胁迫分子方面的研究工作 (Bray, E.A.(1993) *Plant Physiol.* 103 : 1035-1040 ; Shinozaki, K. 和 Yamaguchi-Shinozaki, K.(1997) *Plant Physiol.* 115 : 327-334 ; Zhu, J.-K. 等人 (1997) *Crit. Rev.Plant Sci.* 16 : 253-277 ; Thomashow, M.F.(1999) *Annu.Rev.Plant Physiol.Plant Mol. Biol.* 50 : 571-599)。其他方法包括选择候选基因并分析此类基因或其活性产物在胁迫下的表达，或者通过在确切定义的胁迫体系中的功能互补 (Xiong, L. 和 Zhu, J.-K.(2001) *Physiologia Plantarum* 112 : 152-166)。此外，已经使用涉及鉴定并分离调控基因的突变的正向和反向基因研究提供用于在胁迫或暴露条件下的基因表达中观察到的改变的证据 (Xiong, L. 和 Zhu, J.-K.(2001) *Physiologia Plantarum* 112 : 152-166)。

[0007] 可利用激活标记来鉴定能影响性状的基因。已经在模型植物拟南芥属中使用该方法 (Weigel, D. 等人 (2000) *Plant Physiol.* 122 : 1003-1013)。插入转录增强子元件能够显著激活和 / 或提高附近内源基因的表达。可使用该方法选择涉及在农学上重要的表型 (包括胁迫耐受性) 中涉及的基因。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明包括：

[0010] 在一个实施方案中，在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物，该重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控元件的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性，并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。

[0011] 在另一个实施方案中，在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物，该重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控元件的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性，并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出至少一种农学特性的改变。任选地，在水限制条件下与未包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时，所述植物表现出所述至少一种农学特性的改变。

[0012] 在另一个实施方案中，本发明包括本发明的任何植物，其中所述植物是玉米植物或大豆植物。

[0013] 在另一个实施方案中，增加植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；并且 (c) 获得源自步骤 (b) 的所述转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体，并且在与不包含所述 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。

[0014] 在另一个实施方案中，评估植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；(c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (d) 评价该子代植物在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0015] 在另一个实施方案中，测定植物至少一种农学特征改变的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比

较时具有至少 50% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体；(c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (d) 测定该子代植物在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。任选地，所述测定步骤 (d) 包括测定所述转基因植物在水限制条件下与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0016] 在另一个实施方案中，本发明包括本发明的任何方法，其中所述植物是玉米植物或大豆植物。

[0017] 在另一个实施方案中，本发明包括分离的多核苷酸，所述分离的多核苷酸包括：(a) 编码具有蛋白酪氨酸磷酸酶活性的多肽的核苷酸序列，或者 (b) 所述核苷酸序列的全长互补序列，其中所述多肽的氨基酸序列在与 SEQ ID NO：25、37、40 或 41 进行比较时具有至少 90% 的序列同一性，或者在与 SEQ ID NO：21 或 39 进行比较时具有至少 93% 的序列同一性，或者所述氨基酸序列包含 SEQ ID NO：17、34、43 或 44；其中所述全长互补序列和所述核苷酸序列由相同数目的核苷酸组成并且是 100% 互补的。所述多肽可包含 SEQ ID NO：17、21、25、34、36、37、40、41、43 或 44 的氨基酸序列。所述核苷酸序列可包含 SEQ ID NO：16、20、24、39 或 42 的核苷酸序列。

[0018] 在另一个实施方案中，本发明涉及包含任何本发明的分离的多核苷酸的重组 DNA 构建体，所述分离的多核苷酸可操作地连接至少一种调控序列，并且涉及包含重组 DNA 构建体的细胞、植物、和种子。

[0019] 附图简述和序列表

[0020] 根据以下的发明详述和附图以及序列表，可更全面地理解本发明，以下的发明详述和附图以及序列表形成本申请的一部分。

[0021] 图 1A-1C 给出了如 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、40、43、45 和 46 所示的蛋白酪氨酸磷酸酶的氨基酸序列的比对。在框中包括了在给定位点与 SEQ ID NO：15 的残基相同的残基。给出了共有序列，其中如果残基在所有序列中相同，它被示出，否则示出句号。

[0022] 图 2 给出图 1A-1C 中给出的每对序列的序列同一性百分比和趋异值。

[0023] 图 3 给出了如 SEQ ID NO：33、34、35、36、37、38、41、44、47、48、49 和 50 所示的潜在细胞质蛋白酪氨酸磷酸酶的每对序列的序列同一性百分比和趋异值。

[0024] 图 4A-4B 示出对用 PHP30853 转化的单个 Gaspe Flint 来源的玉米品系的评估。

[0025] 图 5A-5B 示出对用 PHP30853 转化的 Gaspe Flint 来源的玉米品系的综合评估。

[0026] SEQ ID NO：1 是用于制备拟南芥属种群的 pHSbarENDs2 活化标记载体的核苷酸序列。

[0027] SEQ ID NO：2 是 Gateway[®] 供体载体 pDONR[™]/Zeo 的核苷酸序列。attP1 位点位于核苷酸 570-801；attP2 位点位于核苷酸 2754-2985 (互补链)。

[0028] SEQ ID NO：3 是 Gateway[®] 供体载体 pDONR[™]221 的核苷酸序列。attP1 位点位于核苷酸 570-801；attP2 位点位于核苷酸 2754-2985 (互补链)。

[0029] SEQ ID NO：4 是 pBC-yellow 的核苷酸序列，pBC-yellow 是用于拟南芥属

的目的载体。 attR1 位点位于核苷酸 11276-11399(互补链); attR2 位点位于核苷酸 9695-9819(互补链)。

[0030] SEQ ID NO: 5 是 PHP27840 的核苷酸序列, PHP27840 是用于大豆的目的载体。 attR1 位点位于核苷酸 7310-7434; attR2 位点位于核苷酸 8890-9014。

[0031] SEQ ID NO: 6 是 PHP23236 的核苷酸序列, PHP23236 是用于 GaspeFlint 来源的玉米品系的目的载体。 attR1 位点位于核苷酸 2006-2130; attR2 位点位于核苷酸 2899-3023。

[0032] SEQ ID NO: 7 是 PHP10523 的核苷酸序列 (Komari 等人, Plant J.10: 165-174(1996); NCBI 通用标识符 59797027)。

[0033] SEQ ID NO: 8 是 PHP23235 的核苷酸序列, PHP23235 是用于构建目的载体 PHP23236 的载体, 用于 Gaspe Flint 来源的品系。

[0034] SEQ ID NO: 9 是 PHP28647 的核苷酸序列, PHP28647 是用于玉米自交来源品系的目的载体。 attR1 位点位于核苷酸 2289-2413; attR2 位点位于核苷酸 3869-3993。

[0035] SEQ ID NO: 10 是 attB1 位点的核苷酸序列。

[0036] SEQ ID NO: 11 是 attB2 位点的核苷酸序列。

[0037] SEQ ID NO: 12 是 At3g44620-5' attB 正向引物的核苷酸序列, 包含 attB1 序列, 用于扩增一部分 At3g44620 蛋白编码区。

[0038] SEQ ID NO: 13 是 At3g44620-3' attB 反向引物的核苷酸序列, 包含 attB2 序列, 用于扩增一部分 At3g44620 蛋白编码区。

[0039] SEQ ID NO: 14 对应于编码拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶蛋白的核苷酸序列 (基因座 At3g44620)。

[0040] SEQ ID NO: 15 对应于 NCBI GI No.79432726, 它是由 SEQ ID NO: 14 编码的拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶的氨基酸序列。

[0041] 表 1

[0042] 编码蛋白酪氨酸磷酸酶的 cDNA

[0043]

植物	克隆命名*	SEQ ID NO: (核苷酸)	SEQ ID NO: (氨基酸)
玉米	cielc.pk001.n13 (FIS)	16	17
大豆	重叠群: sl1.pk0004.c12 (FIS) & GI No. 17401417	18	19
大豆	sdr1f.pk003.c1 (FIS)	20	21
大豆	嵌合基因: SEQ ID NO:18 的 nt 6-26 & SEQ ID NO:20 的 nt 3-707	22	23
糖用甜菜	ebs1c.pk003.k14 (FIS)	24	25
野苋菜	eas1c.pk002.d7 (FIS)	39	40
葡萄	重叠群: vmb1na.pk001.i3 (FIS) ; vdb1c.pk011.h24 (EST)	42	43

[0044] * 将完整的 cDNA 插入序列称为“全长插入序列”(“FIS”)。

[0045] SEQ ID NO : 26 对应于 NCBI GI No.29367340, 它是编码来自大米的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白的 cDNA 片段的核苷酸序列。

[0046] SEQ ID NO : 27 对应于 NCBI GI No.29367341, 它是由 SEQ ID NO : 26 编码的大米蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白的氨基酸序列。

[0047] SEQ ID NO : 28 是在美国专利公布 US20040214272 的 SEQ IDNO : 366863 中示出的氨基酸序列, 它对应于玉米蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白。

[0048] SEQ ID NO : 29 是在美国专利公布 US20040031072-A1 的 SEQ IDNO : 277487 中示出的氨基酸序列, 它对应于大豆蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白。

[0049] SEQ ID NO : 30 是 VC062 引物的核苷酸序列, 它包含 T3 启动子和 attB1 位点, 用于扩增克隆进 Bluescript[®] II SK(+) 载体 (Stratagene) 的 cDNA 插入序列。

[0050] SEQ ID NO : 31 是 VC063 引物的核苷酸序列, 它包含 T7 启动子和 attB2 位点, 用于扩增克隆进 Bluescript[®] II SK(+) 载体 (Stratagene) 的 cDNA 插入序列。

[0051] SEQ ID NO : 32 是入门克隆 PHP33257 的核苷酸序列, 并且包含来自 cDNA 克隆 cielc.pk001.n13 的玉米蛋白酪氨酸磷酸酶的编码区。

[0052] SEQ ID NO : 33 对应于 SEQ ID NO : 15 的氨基酸 63-239。

[0053] SEQ ID NO : 34 对应于 SEQ ID NO : 17 的氨基酸 89-274。

[0054] SEQ ID NO : 35 对应于 SEQ ID NO : 19 的氨基酸 59-240。

[0055] SEQ ID NO : 36 对应于 SEQ ID NO : 21 的氨基酸 54-235。

- [0056] SEQ ID NO : 37 对应于 SEQ ID NO : 25 的氨基酸 77-255。
- [0057] SEQ ID NO : 38 对应于 SEQ ID NO : 27 的氨基酸 84-268。
- [0058] SEQ ID NO : 41 对应于 SEQ ID NO : 40 的氨基酸 41-219。
- [0059] SEQ ID NO : 44 对应于 SEQ ID NO : 43 的氨基酸 65-246。
- [0060] SEQ ID NO : 45 对应于 NCBI GI No.225436307, 它是葡萄蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白的氨基酸序列。
- [0061] SEQ ID NO : 46 对应于来自美国专利公开 7214786 的 SEQ IDNO : 112865, 它是小麦蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白的氨基酸序列。
- [0062] SEQ ID NO : 47 对应于 SEQ ID NO : 45 的氨基酸 65-246。
- [0063] SEQ ID NO : 48 对应于 SEQ ID NO : 46 的氨基酸 81-265。
- [0064] SEQ ID NO : 49 对应于 SEQ ID NO : 28 的氨基酸 89-274。
- [0065] SEQ ID NO : 50 对应于 SEQ ID NO : 29 的氨基酸 59-240。
- [0066] 序列描述以及关联的序列表遵循如 37 C.F.R. § 1.821-1.825 中所列出的管理专利申请中的核苷酸和 / 或氨基酸序列公开的规则。
- [0067] 序列表包含核苷酸序列字符的单字母码以及氨基酸的三字母码, 如遵照 IUPAC-IUBMB 标准所定义的, 该标准在 *Nucleic Acids Res.*13 : 3021-3030 (1985) 以及在 *Biochemical J.*219 (No.2) : 345-373 (1984) 中有所描述, 这两篇文献以引用的方式并入本文。用于核苷酸和氨基酸序列数据的符号和格式遵循在 37C.F.R. § 1.822 中列出的规则。
- [0068] 发明详述
- [0069] 本文中所列出的每篇参考文献的公开内容的全文均以引用的方式并入本文。
- [0070] 如本文所用的并在所附权利要求书中的单数形式“一个”和“所述”包括复数涵义, 除非上下文中清楚地另有指明。因此, 例如, “一株植物”的涵义包括多株该类植物。“一个细胞”的涵义包括一个或多个细胞及其本领域的技术人员已知的等同物, 等等。
- [0071] 如本文所用:
- [0072] 蛋白酪氨酸磷酸酶 (“PTP” 或 “PTPase”) 属于一类从蛋白的磷酸化的酪氨酸残基上除去磷酸基团的酶。包括蛋白酪氨酸磷酸酶的植物蛋白磷酸酶已经由 Luan (2003 *Annual Rev.Plant Biol.*54 : 63-92) 描述。
- [0073] 除非另外指明, “拟南芥属” 和 “拟南芥” 本文互换使用。
- [0074] “表达序列标签” (“EST”) 是得自 cDNA 文库的 DNA 序列, 并且因此是已经被转录的序列。EST 通常通过 cDNA 插入序列单程测序获取。将完整的 cDNA 插入序列称为“全长插入序列” (“FIS”)。“重叠群”序列是由选自但不限于 EST、FIS 和 PCR 序列的两个或更多个序列装配成的序列。将编码完整或功能性蛋白的序列称为“完全基因序列” (“CGS”), 该序列可得自 FIS 或重叠群。
- [0075] “农学特性” 是可测量的参数, 包括但不限于绿度、产量、生长速率、生物量、成熟时的鲜重、成熟时的干重、果实产量、种子产量、总植物含氮量、果实含氮量、种子含氮量、营养组织含氮量、总植物游离氨基酸含量、果实游离氨基酸含量、种子游离氨基酸含量、营养组织游离氨基酸含量、总植物蛋白质含量、果实蛋白质含量、种子蛋白质含量、营养组织蛋白质含量、耐旱性、氮摄取、根倒伏、收获指数、茎倒

伏、植株高度、穗高、穗长、在低温胁迫下的早期幼苗活力和幼苗出苗率。

[0076] “转基因”指其基因组因异源核酸（如重组 DNA 构建体）的存在而发生改变的细胞、细胞系、愈伤组织、组织、植物部分或植物，包括那些最初的转基因事件以及从最初的转基因事件通过有性杂交或无性生殖而产生的那些。如本文所用的术语“转基因”不涵盖通过常规植物育种方法或通过诸如随机异花受精、非重组病毒感染、非重组细菌转化、非重组转座或自发突变之类的自然发生事件导致的基因组（染色体基因组或染色体外基因组）改变。

[0077] “基因组”在用于植物细胞时不仅涵盖存在于细胞核中的染色体 DNA，而且还包括存在于细胞的亚细胞组分（如线粒体、质粒）中的细胞器 DNA。

[0078] “植物”包括整个植株、植物器官、植物组织、种子和植物细胞以及同一植株的子代。植物细胞包括但不限于得自下列物质的细胞：种子、悬浮培养物、胚、分生区域、愈伤组织、叶、根、芽、配子体、孢子体、花粉和小孢子。

[0079] “子代”包括植物的任何后续世代。

[0080] “转基因植物”包括在其基因组内包含异源多核苷酸的植物。例如异源多核苷酸被稳定地整合进基因组中，使得该多核苷酸传递至连续的世代。异源多核苷酸可单独地或作为重组 DNA 构建体的部分整合进基因组中。

[0081] 针对序列而言的“异源”意指来自外来物种的序列，或者如果来自相同物种，则指通过蓄意的人为干预而从其天然形式发生了组成和/或基因座的显著改变的序列。

[0082] “多核苷酸”、“核酸序列”、“核苷酸序列”或“核酸片段”可互换使用并且是任选含有合成的、非天然的或改变的核苷酸碱基的单链或双链 RNA 或 DNA 聚合物。核苷酸（通常以它们的 5' - 单磷酸形式存在）通过如下它们的单个字母名称来指代：“A”为腺苷酸或脱氧腺苷酸（分别对应 RNA 或 DNA），“C”表示胞苷酸或脱氧胞苷酸，“G”表示鸟苷酸或脱氧鸟苷酸，“U”表示尿苷酸，“T”表示脱氧胸苷酸，“R”表示嘌呤（A 或 G），“Y”表示嘧啶（C 或 T），“K”表示 G 或 T，“H”表示 A 或 C 或 T，“I”表示肌苷，并且“N”表示任何核苷酸。

[0083] “多肽”、“肽”、“氨基酸序列”和“蛋白质”在本文中可互换使用，指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学类似物的氨基酸聚合物，以及适用于天然存在的氨基酸聚合物。术语“多肽”、“肽”、“氨基酸序列”和“蛋白质”还可包括修饰形式，包括但不限于糖基化、脂质连接、硫酸盐化、谷氨酸残基的 γ 羧化、羟化和 ADP-核糖基化。

[0084] “信使 RNA (mRNA)”指无内含子并且可通过细胞翻译成蛋白质的 RNA。

[0085] “cDNA”指与 mRNA 模板互补并且利用逆转录酶从 mRNA 模板合成的 DNA。cDNA 可为单链的或者可用 DNA 聚合酶 I 的 Klenow 片段转化成双链形式。

[0086] “成熟”蛋白质指经翻译后加工的多肽；即已经去除了存在于初级翻译产物中的任何前肽或原肽的多肽。

[0087] “前体”蛋白质指 mRNA 的翻译初级产物；即具有仍然存在的前肽和原肽。前肽和原肽可为并且不限于细胞内定位信号。

[0088] “分离的”指物质，例如核酸和/或蛋白质，该物质基本上不含在天然存在的环境中通常伴随该物质或与其反应的组分，或者说是该物质被从所述组分移出。分离的多

核苷酸可从它们天然存在的宿主细胞中纯化。技术人员已知的常规核酸纯化方法可用于获得分离的多核苷酸。该术语也涵盖重组多核苷酸和化学合成的多核苷酸。

[0089] “重组体”指(例如)通过化学合成或者通过用基因工程技术操纵分离的核酸片段来实现的两个原本分离的序列片段的人工组合。“重组体”也包括指已经通过引入异源核酸而进行了修饰的细胞或载体,或源于经这样修饰的细胞的细胞,但不涵盖由天然发生的事件(如自发突变、自然转化/转导/转座)对细胞或载体的改变,例如没有蓄意人为干扰而发生的那些。

[0090] “重组 DNA 构建体”指在自然界中通常不会一起存在的核酸片段的组合。因此,重组 DNA 构建体可包含源于不同来源的调控序列和编码序列,或源于相同来源但以不同于通常天然存在的方式排列的调控序列和编码序列。

[0091] 术语“入门克隆”和“入门载体”本文可互换使用。

[0092] “调控序列”指位于编码序列的上游(5'非编码序列)、中间或下游(3'非编码序列),并且影响相关编码序列的转录、RNA 加工或稳定性或者翻译的核苷酸序列。调控序列可包括但不限于启动子、翻译前导序列、内含子和多腺苷酸化识别序列。术语“调控序列”和“调控元件”在本文中可互换使用。

[0093] “启动子”指能够控制另一核酸片段转录的核酸片段。

[0094] “植物启动子功能”是能够控制植物细胞中的转录的启动子,无论其是否来源于植物细胞。

[0095] “组织特异性启动子”和“组织优选启动子”可互换使用,并且指主要但非必须专一地在一种组织或器官中表达,而是也可在一种特定细胞中表达的启动子。

[0096] “发育调控启动子”指其活性由发育事件决定的启动子。

[0097] 术语“可操作地连接”指核酸片段连接成单一片段,使得其中一个核酸片段的功能受到另一个核酸片段的调控。例如,在启动子能够调节核酸片段的转录时,该启动子与该核酸片段进行了可操作地连接。

[0098] “表达”指功能产物的产生。因此,核酸片段的表达可指核酸片段的转录(如生成 mRNA 或功能 RNA 的转录)和/或 RNA 翻译成前体或成熟蛋白质。

[0099] “表型”意指细胞或生物体的可检测的特征。

[0100] 有关将核酸片段(例如重组 DNA 构建体)插入细胞内的“导入”是指“转染”或“转化”或“转导”,并且包括指将核酸片段整合进真核或原核细胞中,在该细胞中核酸片段可整合进细胞的基因组(如染色体、质粒、质体或线粒体 DNA)内,转变成自主的复制子或瞬时表达(如转染的 mRNA)。

[0101] “转化细胞”是将核酸片段(如重组 DNA 构建体)导入其中的任何细胞。

[0102] 本文所用的“转化”指稳定转化和瞬时转化两者。

[0103] “稳定转化”指将核酸片段导入宿主生物体的基因组中,导致基因稳定遗传。一旦稳定转化,核酸片段稳定地整合进宿主生物体和任何连续世代的基因组中。

[0104] “瞬时转化”指将核酸片段导入宿主生物体的核中或包含 DNA 的细胞器中,引起基因表达而没有基因稳定遗传。

[0105] “等位基因”是占据染色体上给定位点的基因的几种供选择形式的其中一种。当二倍体植物中一对同源染色体上给定基因座上存在的等位基因相同时,该植物在该基

因座处是纯合的。如果二倍体植物中一对同源染色体上给定基因座上存在的等位基因不同,则该植物在该基因座处是杂合的。如果转基因存在于二倍体植物中一对同源染色体中的其中之一上,则该植物在该基因座处是半合子的。

[0106] “叶绿体转运肽”是与蛋白协同翻译并将蛋白导向叶绿体或在其中制备蛋白的细胞中存在的其它质体类型。“叶绿体转运序列”指编码叶绿体转运肽的核苷酸序列。“信号肽”是一种与蛋白协同翻译并将蛋白导向分泌器官体系的氨基酸序列(Chrispeels, M.(1991) Ann.Rev.Plant Phys.Plant Mol.Biol.42: 21-53)。如果将所述蛋白导向液泡,可另外加上液泡靶向信号(同上),或者如果将所述蛋白导向内质网,可加上内质网驻留信号(同上)。如果将蛋白导向细胞核,将移除任何存在的信号肽并用核定位信号替代(Raikhel(1992) Plant Phys.100: 1627-1632)。“线粒体信号肽”是引导前体蛋白进入线粒体的氨基酸序列(Zhang 和 Glaser(2002) Trends Plant Sci 7: 14-21)。

[0107] 序列比对和同一性百分比可用设计用于检测同源序列的多种比较方法来测定,这些方法包括但不限于LASERGENE[®]生物信息计算包(DNASTAR[®] Inc., Madison, WI)的Megalign[®]程序。除非另外说明,本文提供的序列的多重比对用Clustal V 比对方法(Higgins 和 Sharp, 1989, CABIOS.5: 151-153)采用默认参数(空位罚分=10,空位长度罚分=10)执行。用Clustal V 方法进行成对比对和蛋白质序列的同一性百分比计算的默认参数为KTUPLE=1、空位罚分(GAP PENALTY)=3、窗口(WINDOW)=5并且DIAGONALS SAVED=5。而对于核酸,这些参数为KTUPLE=2,空位罚分=5,窗口=4并且DIAGONALS SAVED=4。用Clustal V 程序比对序列后,可通过查看同一程序中的“序列距离”表来获得“同一性百分比”和“趋异”值。除非另外说明,本文提供的和申明的同一性百分比和趋异度是以该方式计算。

[0108] 本文使用的标准重组DNA和分子克隆技术是本领域所熟知的并且在如下文献中有更全面的描述:Sambrook, J., Fritsch, E.F.和Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, 1989(下文称为“Sambrook”)。

[0109] 现在转向实施方案:

[0110] 实施方案包括分离的多核苷酸和多肽、用于提供耐旱性的重组DNA构建体、包含这些重组DNA构建体的组合物(例如植物或种子),以及利用这些重组DNA构建体的方法。

[0111] 分离的多核苷酸和多肽:

[0112] 本发明包括如下分离的多核苷酸和多肽:

[0113] 分离的多核苷酸,其包括:(i)编码多肽的核酸序列,所述多肽具有的氨基酸序列基于Clustal V 比对方法在与SEQ ID NO: 17、21、25、34、36、37、40、41、43或44进行比较时具有至少50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%的序列同一性;或者(ii) (i)的核酸序列的全长互补序列,其中所述全长互补序列和(i)的核酸序列由相同数目的核苷酸组成并且是

100%互补的。任一上述分离的多核苷酸可用于本发明的任何重组 DNA 构建体（包括抑制 DNA 构建体）。所述多肽优选地是蛋白酪氨酸磷酸酶。

[0114] 分离的多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：17、21、25、34、36、37、40、41、43 或 44 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 的序列同一性。所述多肽优选地是蛋白酪氨酸磷酸酶。

[0115] 分离的多核苷酸，其包括：(i) 基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ IDNO：16、20、24、39 或 42 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 的序列同一性的核酸序列；或 (ii) (i) 的核酸序列的全长互补序列。任一上述分离的多核苷酸可用于本发明的任何重组 DNA 构建体（包括抑制 DNA 构建体）。分离的多核苷酸优选地编码蛋白酪氨酸磷酸酶。

[0116] 重组 DNA 构建体和抑制 DNA 构建体：

[0117] 在一个方面，本发明包括重组 DNA 构建体（包括抑制 DNA 构建体）。

[0118] 在一个实施方案中，重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（如，在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸包括 (i) 核酸序列，所述核酸序列编码的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：17、21、25、34、36、37、40、41、43 或 44 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性；或 (ii) (i) 的核酸序列的全长互补序列。

[0119] 在另一个实施方案中，重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（如，在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸包括 (i) 核酸序列，所述核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：16、20、24、39 或 42 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性；或 (ii) (i) 的核酸序列的全长互补序列。

[0120] 在另一个实施方案中，重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（如，在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码蛋白酪氨酸磷酸酶。蛋白酪氨酸磷酸酶可来自拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、玉米 (*Zea mays*)、

大豆 (Glycine max)、烟豆 (Glycine tabacina)、野大豆 (Glycine soja) 和短绒野大豆 (Glycine tomentosa)。

[0121] 在另一方面, 本发明包括抑制 DNA 构建体。

[0122] 抑制 DNA 构建体可包含至少一种调控序列 (例如在植物中有功能的启动子), 该调控序列可操作地连接至: (a) 以下序列的全部或部分: (i) 编码多肽的核酸序列, 所述多肽具有的氨基酸序列基于 ClustalV 比对方法在与 SEQ ID NO: 17、21、25、34、36、37、40、41、43 或 44 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 的序列同一性, 或者 (ii) (a) (i) 的核酸序列的全长互补序列; 或者 (b) 源自所关注的靶基因的有义链或反义链的区域, 所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性, 并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶; 或 (c) 以下序列的全部或部分: (i) 核酸序列, 所述核酸序列基于 ClustalV 比对方法在与 SEQ ID NO: 16、20、24、39 或 42 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性, 或 (ii) (c) (i) 的核酸序列的全长互补序列。抑制 DNA 构建体可包含共抑制构建体、反义构建体、病毒抑制构建体、发夹抑制构建体、茎环抑制构建体、产生双链 RNA 的构建体、RNAi 构建体或小 RNA 构建体 (如, siRNA 构建体或 miRNA 构建体)。

[0123] 应当理解 (正如本领域技术人员将会理解的), 本发明不仅仅涵盖这些具体的示例性序列。导致给定位点处产生化学上等价的氨基酸但不影响所编码多肽的功能特性的核酸片段中的改变是本领域众所周知的。因此, 氨基酸丙氨酸 (一种疏水性氨基酸) 的密码子可被编码另一个疏水性较弱的残基 (例如甘氨酸) 或疏水性较强的残基 (例如缬氨酸、亮氨酸或异亮氨酸) 的密码子取代。类似地, 导致一个带负电荷的残基替换为另一个带负电荷的残基 (例如, 天冬氨酸替代谷氨酸) 或者一个带正电荷的残基替换为另一个带正电荷的残基 (例如, 赖氨酸替换精氨酸) 的改变也可预期产生功能上等价的产物。导致多肽分子的 N-末端和 C-末端部分改变的核苷酸变化也将预计不会改变多肽的活性。所提出的修饰中的每一种均完全在本领域常规技术内, 如测定所编码的产物的生物活性的保留。

[0124] “抑制 DNA 构建体” 是在转化或稳定整合进植物基因组时, 导致该植物中的靶

基因“沉默”的重组 DNA 构建体。对该植物来说,该靶基因可为内源性的或是转基因的。如本文针对靶基因所使用的,“沉默”通常指在由靶基因表达的 mRNA 或蛋白质/酶的水平上的抑制,和/或在酶活性或蛋白质功能性的水平上的抑制。本文中可交换使用的术语“抑制”、“抑制性”以及“沉默”包括降低、减少、减退、减小、抑制、消除或防止。“沉默”或“基因沉默”不确定机理并且包括但不限于反义、共抑制、病毒-抑制、发夹抑制、茎-环抑制、基于 RNAi 的方法以及基于小 RNAi 的方法。

[0125] 抑制 DNA 构建体可包含源自所关注的靶基因的区域并且可包含所关注的靶基因的有义链(或反义链)的核酸序列的全部或部分。取决于所要利用的方法,该区域可与所关注基因的有义链(或反义链)的全部或部分 100%相同或者具有少于 100%同一性的同一性(如,具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%的同一性)。

[0126] 抑制 DNA 构建体是本领域所熟知的,一旦选定所关注的靶基因就很容易构建,并且包括但不限于共抑制构建体、反义构建体、病毒-抑制构建体、发夹抑制构建体、茎-环抑制构建体、产生双链 RNA 的构建体,以及更通常的是, RNAi(RNA 干扰)构建体和小 RNA 构建体,例如 siRNA(短干扰 RNA)构建体和 miRNA(微 RNA)构建体。

[0127] “反义抑制”指产生能够抑制靶基因或基因产物表达的反义 RNA 转录物。“反义 RNA”指与靶初级转录物或 mRNA 的全部或部分互补,并阻断分离的靶核酸片段表达的 RNA 转录物(美国专利号 5,107,065)。反义 RNA 可与特定基因转录物的任何部分,即 5' 非编码序列、3' 非编码序列、内含子或编码序列互补。

[0128] “共抑制”指产生能够抑制靶基因或基因产物表达的有义 RNA 转录物。“有义”RNA 指包括 mRNA 并且可在细胞内或体外翻译成蛋白质的 RNA 转录物。此前,已通过着眼于以有义方向过表达与内源 mRNA 具有同源性的核酸序列(其导致与过表达的序列具有同源性的所有 RNA 减少)设计出了植物中的共抑制构建体(参见 Vaucheret 等人, Plant J., 16 : 651-659(1998); 以及 Gura, Nature 404 : 804-808(2000))。

[0129] 另一种变型描述了将植物病毒序列用于引导对近端 mRNA 编码序列的抑制(于 1998 年 8 月 20 日公开的 PCT 公开 WO 98/36083)。

[0130] RNA 干扰是指由短干扰性 RNA(siRNA)介导的动物中序列特异性转录后基因沉默的过程(Fire 等人, Nature 391 : 806 1998)。在植物中的对应过程通常称为转录后基因沉默(PTGS)或 RNA 沉默,并且在真菌中也称为阻抑作用(quelling)。据信转录后基因沉默过程是用于防止外来基因表达的进化保守性细胞防御机制,并且通常由不同植物区系和门所共有(Fire 等人, Trends Genet.15 : 358(1999))。

[0131] 小 RNA 在控制基因表达中起重要作用。很多发育过程(包括开花)的调节是由小 RNA 控制的。现在有可能通过使用在植物中产生小 RNA 的转基因构建体来以工程手段改变植物基因的基因表达。

[0132] 小 RNA 似乎是通过与互补 RNA 或 DNA 靶序列碱基配对来行使功能的。当与 RNA 结合时,小 RNA 或者引发靶序列的 RNA 裂解或者引发翻译抑制。当与 DNA 靶序

列结合时, 据信小 RNA 可介导靶序列的 DNA 甲基化。无论具体机制是什么, 这些事件的后果是基因表达受到抑制。

[0133] 微 RNA(miRNA) 是长度为约 19 至约 24 个核苷酸(nt) 的已经在动物和植物中鉴定出的非编码 RNA(Lagos-Quintana 等人, Science294: 853-858 2001, Lagos-Quintana 等人, Curr.Biol.12: 735-739(2002); Lau 等人, Science 294: 858-862(2001); Lee 和 Ambros, Science294: 862-864(2001); Llave 等人, Plant Cell 14: 1605-1619(2002); Mourelatos 等人, Genes.Dev.16: 720-728(2002); Park 等人, Curr.Biol.12: 1484-1495(2002); Reinhart 等人, Genes.Dev.16: 1616-1626(2002))。它们是由大小为大约 70 至 200nt 的较长的前体转录物加工生成的, 并且这些前体转录物能够形成稳定的发夹结构。

[0134] 微 RNA(miRNA) 看起来通过与位于由这些基因产生的转录物中的互补序列结合来调节靶基因。看起来有可能 miRNA 可进入至少两条靶基因调控途径: (1) 翻译抑制; 和 (2) RNA 裂解。进入 RNA 裂解途径的微 RNA 类似于在动物中的 RNA 干涉作用(RNAi) 和植物中的转录后基因沉默(PTGS) 期间生成的 21-25nt 的短干涉 RNA(siRNA), 并且可能掺入了 RNA 诱导沉默复合物(RISC), 该复合物与 RNAi 相似或相同。

[0135] 调控序列:

[0136] 本发明的重组 DNA 构建体(包括抑制 DNA 构建体)可包含至少一种调控序列。

[0137] 调控序列可为启动子。

[0138] 多种启动子可用于本发明的重组 DNA 构建体中。可根据所需结果来选择启动子, 并且可包括用于在宿主生物体中表达的组成型启动子、组织特异性启动子、诱导型启动子或其他启动子。

[0139] 一般将引起基因在多数细胞类型中在多数情况下表达的启动子称为“组成型启动子”。

[0140] 虽然候选基因当通过组成型启动子驱动表达时可预测其效应, 但候选基因在 35S 或 UBI 启动子控制下的高水平、组成型表达可具有多重效应。使用组织特异和/或胁迫特异启动子可消除不需要的效应但保留耐旱性的能力。在拟南芥属中已经观察到了该效应(Kasuga 等人(1999) Nature Biotechnol.17: 287-91);

[0141] 适用于植物宿主细胞的组成型启动子包括(例如)Rsyn7 启动子的核心启动子和在 WO 99/43838 和美国专利 6,072,050 中公开的其他组成型启动子; CaMV 35S 核心启动子(Odell 等人, Nature 313: 810-812(1985)); 稻肌动蛋白(McElroy 等人, Plant Cell 2: 163-171(1990)); 泛素启动子(Christensen 等人, Plant Mol.Biol.12: 619-632(1989) 和 Christensen 等人, Plant Mol.Biol.18: 675-689(1992)); pEMU(Last 等人, Theor.Appl. Genet.81: 581-588(1991)); MAS(Velten 等人, EMBO J.3: 2723-2730(1984)); ALS 启动子(美国专利 5,659,026) 等。其他组成型启动子包括例如在美国专利 5,608,149、5,608,144、5,604,121、5,569,597、5,466,785、5,399,680、5,268,463、5,608,142 和 6,177,611 中公开的那些启动子。

[0142] 在选择启动子用于本发明方法时, 可能有利的是使用组织特异性启动子或发育调节启动子。

[0143] 组织特异性启动子或发育调节启动子是这样的 DNA 序列, 其调节 DNA 序列选

择性地在对雄穗发育、结籽或两者重要的植物细胞 / 组织中表达, 并限制这种 DNA 序列只在植物的雄穗发育或种子成熟期间表达。任何引起所需时空表达的可鉴定启动子均可用于本发明的方法中。

[0144] 种子或胚特异性的并且可用于本发明的启动子包括大豆 Kunitz 胰蛋白酶抑制剂 (Kti3, Jofuku 和 Goldberg, Plant Cell 1 : 1079-1093(1989))、patatin(马铃薯块茎)(Rocha-Sosa, M. 等人, 1989, EMBOJ.8 : 23-29)、convicilin、豌豆球蛋白和球蛋白(豌豆子叶)(Rerie, W.G. 等人, 1991, Mol.Gen.Genet.259 : 149-157 ; Newbigin, E.J. 等人, 1990, Planta 180 : 461-470 ; Higgins, T.J.V. 等人, 1988, Plant.Mol.Biol.11 : 683-695)、玉米蛋白(玉米胚乳)(Schemthaner, J.P. 等人, 1988, EMBO J.7 : 1249-1255)、菜豆蛋白(菜豆子叶)(Segupta-Gopalan, C. 等人, 1985, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.82 : 3320-3324)、植物血球凝集素(菜豆子叶)(Voelker, T. 等人, 1987, EMBO J.6 : 3571-3577)、B-伴球蛋白和大豆球蛋白(大豆子叶)(Chen, Z-L 等人, 1988, EMBOJ.7 : 297-302)、谷蛋白(稻胚乳)、大麦醇溶蛋白(大麦胚乳)(Marris, C. 等人, 1988, Plant Mol.Biol.10 : 359-366)、麦谷蛋白和麦醇溶蛋白(小麦胚乳)(Colot, V. 等人, 1987, EMBO J.6 : 3559-3564)和甘薯贮藏蛋白(sporamin)(甘薯块根)(Hattori, T. 等人, 1990, Plant Mol.Biol.14 : 595-604)。可操作地连接至嵌合基因构建体异源编码区的种子特异性基因的启动子在转基因植物中保持它们的时空表达模式。这样的实施例包括在拟南芥和甘蓝型油菜(Brassica napus)种子中表达脑啡肽的拟南芥属 2S 种子储藏蛋白基因启动子(Vanderkerckhove 等人, Bio/Technology 7 : L929-932(1989))、表达荧光素酶的菜豆凝集素和 β -菜豆蛋白启动子(Riggs 等人, Plant Sci.63 : 47-57(1989)), 以及表达氯霉素乙酰转移酶的小麦谷蛋白启动子(Colot 等人, EMBO J.6 : 3559-3564(1987))。

[0145] 可诱导启动子响应内源性或外源性刺激的存在, 例如, 通过化合物(化学诱导剂), 或响应环境、激素、化学信号和 / 或发育信号而选择性表达可操纵连接的 DNA 序列。可诱导的或受调控的启动子包括(例如)受光、热、胁迫、水涝或干旱、植物激素、创伤或诸如乙醇、茉莉酮酸酯、水杨酸或安全剂之类的化学品调控的启动子。

[0146] 用于本发明的启动子包括以下启动子: 1) 胁迫诱导型 RD29A 启动子(Kasuga 等人, 1999, Nature Biotechnol.17 : 287-91); 2) 大麦启动子 B22E; B22E 的表达是发育中的玉米籽粒中的柄所特异性的(“Primary Structure of a Novel Barley Gene Differentially Expressed in Immature Aleurone Layers(在未成熟糊粉层中差异表达的新大麦基因的一级结构)”。Klemsdal, S.S. 等人, Mol.Gen.Genet.228(1/2) : 9-16(1991)); 和 3) 玉米启动子, Zag2(“Identification and molecular characterization of ZAG1, the maize homolog of the Arabidopsis floral homeotic gene AGAMOUS”, Schmidt, R.J. 等人, Plant Cell 5(7) : 729-737(1993); “Structural characterization, chromosomal localization and phylogenetic evaluation of two pairs of AGAMOUS-like MADS-box genes from maize”, Theissen 等人, Gene 156(2) : 155-166(1995); NCBI GenBank 登录号 X80206))。Zag2 转录物可在授粉前 5 天至授粉后(DAP)7 至 8 天被检测到, 并且引导 Cim1 在发育中的雌花序的心皮中表达, Cim1 对发育中的玉米籽粒的籽仁而言是特异性的。Cim1 转录物在授粉前 4 至 5 天至授粉后 6 至 8 天被检测到。其他可用的启动子包括可源自其表达与发育中的雌小花母系

相关的基因的任何启动子。

[0147] 用于调控本发明的核苷酸序列在植物中表达的启动子是茎特异性启动子。这种茎特异性启动子包括苜蓿 S2A 启动子 (GenBank 登录号: EF030816; Abrahams 等人, *Plant Mol.Biol.*27: 513-528(1995)) 和 S2B 启动子 (GenBank 登录号: EF030817) 等等, 这些文献以引用的方式并入本文。

[0148] 启动子可以整个源于天然基因, 或者由源于不同的天然存在的启动子的不同元件组成, 或者甚至包括合成的 DNA 片段。

[0149] 用于本发明的启动子可包括以下启动子: RIP2、mLIP15、ZmCOR1、Rab17、CaMV 35S、RD29A、B22E、Zag2、SAM 合成酶、泛素、CaMV19S、nos、Adh、蔗糖合成酶、R- 等位基因、维管组织优选启动子 S2A (Genbank 登录号 EF030816) 和 S2B (Genbank 登录号 EF030817) 及来自玉米的组成型启动子 GOS2。其他启动子包括根优选的启动子, 例如玉米 NAS2 启动子、玉米 Cyclo 启动子 (US 2006/0156439, 公开于 2006 年 7 月 13 日)、玉米 ROOTMET2 启动子 (WO05063998, 公开于 2005 年 7 月 14 日)、CRIBIO 启动子 (WO06055487, 公开于 2006 年 5 月 26 日)、CRWAQ81 (WO05035770, 公开于 2005 年 4 月 21 日) 和玉米 ZRP2.47 启动子 (NCBI 登录号: U38790; GI No.1063664)、

[0150] 本发明的重组 DNA 构建体也可包括其他调控序列, 包括但不限于翻译前导序列、内含子和多腺苷酸化识别序列。在本发明的另一个实施方案中, 本发明的重组 DNA 构建体还包括增强子或沉默子。

[0151] 内含子序列可加至 5' 非翻译区、蛋白编码区或 3' 非翻译区以增加积聚在胞浆中的成熟信息的量。已经显示, 在植物和动物两者的表达构建体的转录单位中包含可剪接内含子可使基因表达在 mRNA 和蛋白质水平上均增强高达 1000 倍。参见 Buchman 和 Berg, *Mol.Cell Biol.*8: 4395-4405(1988); Callis 等人, *Genes Dev.*1: 1183-1200(1987)。

[0152] 任何植物都可以选择用来鉴定将用于本发明重组 DNA 构建体的调控序列和蛋白酪氨酸磷酸酶基因。适用于分离基因和调控序列的靶植物的实例应该包括但不限于苜蓿、苹果、杏、拟南芥属、洋蓟、芝麻菜、芦笋、鳄梨、香蕉、大麦、豆类、甜菜、黑莓、蓝莓、西兰花、抱子甘蓝、卷心菜、卡诺拉、香瓜、胡萝卜、木薯、蓖麻、菜花、芹菜、樱桃、菊苣、芜荑、柑桔类、克莱门氏小柑橘类、三叶草、椰子、咖啡、玉米、棉、蔓越莓、黄瓜、花旗松、茄子、菊苣、茅菜、桉树、茴香、无花果、大蒜、葫芦、葡萄、柚子树、白兰瓜、豆薯、猕猴桃、生菜、韭葱、柠檬、酸橙、火炬松、亚麻子、芒果、甜瓜、蘑菇、油桃、坚果、燕麦、油棕、油菜、秋葵、橄榄树、洋葱、橙、观赏植物、棕榈、木瓜树、欧芹、欧洲防风草、豌豆、桃树、花生、梨树、胡椒、柿树、松树、菠萝、大蕉、李树、石榴树、白杨、马铃薯、南瓜、温柏、辐射松、红菊苣、萝卜、油菜、树莓、稻、黑麦、高粱、南方松、大豆、菠菜、南瓜、草莓、甜菜、甘蔗、向日葵、甘薯、枫香树、柑橘、茶、烟草、蕃茄、黑小麦、草皮草、芜菁、葡萄树、西瓜、小麦、薯蓣和西葫芦。

[0153] 组合物:

[0154] 本发明的组合物是其基因组中包含本发明的任何重组 DNA 构建体 (包括任何抑

制 DNA 构建体)(例如上面所讨论的任何一种构建体)的植物。组合物也包括任何植物的子代,以及获取自植物或其子代的任何种子,其中所述子代或种子在其基因组中包含重组 DNA 构建体(或抑制 DNA 构建体)。子代包括通过植物的自花授粉或异型杂交而获得的连续世代。子代也包括杂交种和自交系。

[0155] 在杂交种子繁殖的农作物中,成熟的转基因植物可自花授粉而产生纯合的自交系植物。该自交系植物产生含有新导入的重组 DNA 构建体(或抑制 DNA 构建体)的种子。这些种子可生长而产生将会表现出改变的农学特性(例如,任选地在水限制条件下农学特性增加)的植物,或者可用于育种程序以产生杂交种子,这些杂交种子可生长而产生将会表现出如改变的农学特性的植物。所述种子可为玉米种子。

[0156] 植物可为单子叶植物或双子叶植物,例如玉米或大豆植物,如玉米杂种植物或玉米自交系植物。植物还可为向日葵、高粱、卡诺拉(canola)、小麦、苜蓿、棉花、水稻、大麦或黍。

[0157] 重组 DNA 构建体可稳定地整合进植物的基因组中。

[0158] 实施方案尤其包括但不限于以下实施方案:

[0159] 1. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物(例如玉米或大豆植物),所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码多肽,所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性,并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。在与该对照植物比较时,该植物还可表现出至少一种农学特性的改变。

[0160] 2. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物(例如玉米或大豆植物),该重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码蛋白酪氨酸磷酸酶,并且其中在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时,所述植物表现出增加的耐旱性。在与该对照植物比较时,该植物还可表现出至少一种农学特性的改变。

[0161] 3. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物(在例如玉米或大豆植物),该重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码蛋白酪氨酸磷酸酶,并且其中在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时,所述植物表现出至少一种农学特性的改变。

[0162] 4. 在基因组中包含重组 DNA 构建体的植物(例如玉米或大豆植物),所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控元件的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码多肽,所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、

58 %、59 %、60 %、56 %、62 %、63 %、64 %、65 %、66 %、67 %、68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %或 100 %的序列同一性，并且其中所述植物在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出至少一种农学特性的改变。

[0163] 5. 在基因组中包含抑制 DNA 构建体的植物（例如玉米或大豆植物），所述抑制 DNA 构建体包含至少一种可操作地连接至源自所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域的调控元件，所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 %、59 %、60 %、56 %、62 %、63 %、64 %、65 %、66 %、67 %、68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %或 100 %的序列同一性，并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶，并且其中在与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时，所述植物表现出至少一种农学特性的改变。

[0164] 6. 在基因组中包含抑制 DNA 构建体的植物（例如玉米或大豆植物），所述抑制 DNA 构建体包含至少一个可操作地连接以下序列的全部或部分的调控元件：(a) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 %、59 %、60 %、56 %、62 %、63 %、64 %、65 %、66 %、67 %、68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %或 100 %的序列同一性，或者 (b) (a) 的核酸序列的全长互补序列，并且其中在与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时，所述植物表现出至少一种农学特性的改变。

[0165] 7. 上述实施方案 1-6 中的植物的任何子代、上述实施方案 1-6 中的植物的任何种子、上述实施方案 1-6 中的植物的子代的任何种子以及来自上述实施方案 1-6 中的植物以及它们的子代的细胞。

[0166] 在上述实施方案 1-7 或本发明的任一其他实施方案中的任一项中，蛋白酪氨酸磷酸酶可来自拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、玉米 (*Zeamays*)、大豆 (*Glycine max*)、烟豆 (*Glycine tabacina*)、野大豆 (*Glycinesoja*) 或短绒野大豆 (*Glycine tomentella*)。

[0167] 在上述实施方案 1-7 或本发明的任一其他实施方案中的任一项中，重组 DNA 构建体（或抑制 DNA 构建体）可包含至少一种在植物中有功能的启动子作为调控序列。

[0168] 在上述实施方案 1-7 或本发明的任一其他实施方案中的任一项中，至少一种农学特性的改变是增加或减少。

[0169] 在任一前述的实施方案 1-7 或本发明的任一其他实施方案中，至少一种农学特性可选自：绿度、产量、生长速率、生物量、成熟时的鲜重、成熟时的干重、果实产量、种子产量、总植物含氮量、果实含氮量、种子含氮量、营养组织中的含氮量、总植

物游离氨基酸含量、果实游离氨基酸含量、种子游离氨基酸含量、营养组织游离氨基酸含量、总植物蛋白质含量、果实蛋白质含量、种子蛋白质含量、营养组织蛋白质含量、耐旱性、氮摄取、根倒伏、收获指数、茎倒伏、植株高度、穗高、穗长、在低温胁迫下的早期幼苗活力和幼苗出苗率。例如，至少一种农学特性的改变可为产量、绿度或生物量的增加。

[0170] 在任一上述实施方案 1-7 或本发明的任一其他实施方案中，在与不包含所述重组 DNA 构建体（或所述抑制 DNA 构建体）的对照植物在水限制条件下进行比较时，植物可表现出至少一种农学特性的改变。

[0171] “干旱”指植物可利用的水不足，尤其是当时间延长时，能够引起植物损伤或阻止其正常发育（例如限制植物生长或种子产量）。

[0172] “耐旱性”指植物在干旱条件下存活较长时间并且基本上不表现出生理或物理退化的特性。

[0173] 植物的“耐旱性增加”相对于参比植物或对照植物进行测量，它是植物在干旱条件下存活较长时间，并且相对于在相似干旱条件下生长的参比或对照植物基本上不表现出相同程度的生理或物理退化的特性。通常当转基因植物在其基因组中包含重组 DNA 构建体或抑制 DNA 构建体时，它相对于参比或对照植物表现出增加的耐旱性，所述参比或对照植物在其基因组中不包含重组 DNA 构建体或抑制 DNA 构建体。

[0174] 本领域的普通技术人员熟悉模拟干旱条件并评价植物耐旱性的规程，所述植物已经遭受了模拟的或天然存在的干旱条件。例如，技术人员可通过向植物提供比正常需求较少的水或在一定时期内不提供水来模拟干旱条件，并且技术人员可通过寻找在生理和 / 或物理条件上的差异来评价耐旱性，包括但不限于活力、生长、大小、或根长、或具体地讲叶片颜色或叶片面积大小。用于评价耐旱性的其他技术包括测量叶绿素荧光、光合作用速率和换气速率。

[0175] 干旱胁迫实验可涉及慢性胁迫（即缓慢干燥）和 / 或可涉及两种急性胁迫（即突然除去水），它们由一天或两次恢复分开。慢性胁迫可持续 8-10 天。急性胁迫可持续 3-5 天。在对转基因植物和相应对照植物进行干旱胁迫以及良好灌溉处理期间可测量以下变量：

[0176] 变量“%面积 chg_ 慢性开始 - 急性 2”是介于慢性胁迫第一天和第二次急性胁迫那一天之间的、通过远可见光谱成像测定的总面积百分比变化的量度

[0177] 变量“%面积 chg_ 慢性开始 - 慢性结束”是介于慢性胁迫第一天和慢性胁迫最后一天之间的、通过远可见光谱成像测定的总面积百分比变化的量度

[0178] 变量“%面积 chg_ 慢性开始 - 收获”是介于慢性胁迫第一天和收获那一天之间的、通过远可见光谱成像测定的总面积百分比变化的量度

[0179] 变量“%面积 chg_ 慢性开始 - 恢复 24 小时”是介于慢性胁迫第一天和恢复 24 小时（急性胁迫 2 之后 24 小时）之间的、通过远可见光谱成像测定的总面积百分比变化的量度

[0180] 变量“psii_ 急性 1”是在第一次急性胁迫末期的光系统 II (PSII) 效率的量度。它提供对 PSII 天线吸光效率的评估，并且直接涉及叶片内部的二氧化碳同化。

[0181] 变量“psii_ 急性 2”是在第二次急性胁迫末期的光系统 II (PSII) 效率的量度。

它提供对 PSII 天线吸光效率的评估，并且直接涉及叶片内部的二氧化碳同化。

[0182] 变量“fv/fm_急性 1”是在第一次急性胁迫末期的最佳量子产率 (Fv/Fm) 的量度 - (最大和最小荧光之间的可变荧光差值 / 最大荧光)

[0183] 变量“fv/fm_急性 2”是在第二次急性胁迫末期的最佳量子产率 (Fv/Fm) 的量度 - (最大和最小荧光之间的可变荧光差值 / 最大荧光)

[0184] 变量“叶片卷曲_收获”是在收获日的顶部图像对侧面图像的比率的量度。

[0185] 变量“叶片卷曲_恢复 24 小时”是恢复 24 小时顶部图像对侧面图像的比率的量度。

[0186] 变量“比生长速率 (SGR)”指植物总表面积经过单独一天的变化 (通过 Lemna Tec Instrument 测量) ($Y(t) = Y_0 * e^{rt}$)。 $Y(t) = Y_0 * e^{rt}$ 等同于在 $Y/\Delta t$ 中的 % 变化，其中的单个术语如下所述： $Y(t)$ = 在 t 时的总表面积； Y_0 = 初始总表面积 (估计的)； r = 比生长速率 天^{-1} ，并且 t = 种植后的天数 (“DAP”)

[0187] 变量“苗干重”是将苗置于 104°C 烘箱 96 小时后的苗重量的量度

[0188] 变量“苗鲜重”是从植物切除后立即称重的苗重量的量度

[0189] 下文实例描述一些用于模拟干旱条件和 / 或评价耐旱性的代表性规程和技术。

[0190] 也可通过在田间测试中比较植物在模拟的或天然存在的干旱条件下 (例如通过测量与非干旱条件下相比，在干旱条件下基本等等的产量，或测量与对照或参比植物相比，在干旱条件下更少的产量损失) 保持足够产量 (至少 75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 % 或 100 % 产量) 的能力来评价耐旱性。

[0191] 在评估或测量其中利用了对照或参照植物的本发明任何实施方案 (如，如本文描述的组合物或方法) 中的转基因植物的农学特性或表型时，本领域的普通技术人员将很容易认识到要利用的合适对照植物。例如，通过如下非限制性示例来说明：

[0192] 1. 转化的植物的子代，该植物对于重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 来说是半合子的，使得该子代分离成包含或不包含该 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 的植株：包含该重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 的子代将通常相对于不包含该重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 的子代来进行测量 (即，不包含该重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 的子代是对照或参照植株)。

[0193] 2. 重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 基因掺入至自交系中，例如在玉米中，或基因掺入进变体中，例如在大豆中：基因掺入品系将通常相对于亲本自交系或变种品系进行测量 (即，亲本自交系或变种品系是对照或参照植物)。

[0194] 3. 双杂交系，其中第一杂交系由两个亲本自交系产生，而第二杂交系由相同的两个亲本自交系产生，不同的是其中一个亲本自交系含有重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体)：第二杂交系通常将相对于第一杂交系进行测量 (即第一杂交系为对照植物或参照植物)。

[0195] 4. 包含重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体) 的植株：该植株可相对于这样的对照植株进行评估或测量，该对照植株不包含重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA 构建体)，但具有与该植株相当的遗传背景 (例如，与包含重组 DNA 构建体 (或抑制 DNA

构建体)的植株相比较,核遗传物质具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列同一性)。存在许多可用于分析、比较和表征植物遗传背景的基于实验室的技术;其中这些技术是同工酶电泳、限制性片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性DNA(RAPD)、任何引物聚合酶链反应(AP-PCR)、DNA扩增指纹(DAF)、序列特异扩增区域(SCAR)、扩增片段长度多态性(AFLP[®])和也称为微卫星的简单序列重复(SSR)。

[0196] 此外,本领域的普通技术人员将容易认识到,评估或测量转基因植物的农学特性或表型时合适的对照或参照植物将不包括先前已经针对所需的农学特性或表型,通过诱变或转化而选择的植物。

[0197] 方法:

[0198] 方法包括但不限于:用于提高植物耐旱性的方法、用于评价植物耐旱性的方法、用于改变植物农学特性的方法、用于测定植物农学特性改变的方法、和用于制备种子的方法。所述植物可为单子叶或双子叶植物,例如玉米或大豆植物。植物还可为向日葵、高粱、卡诺拉、小麦、苜蓿、棉花、水稻、大麦或黍。所述种子可为玉米或大豆种子,例如玉米杂交种子或玉米自交系种子。

[0199] 方法包括但不限于如下方法:

[0200] 用于转化细胞的方法包括用本发明的任何分离的多核苷酸转化细胞。也包括通过这种方法转化的细胞。在具体实施方案中,所述细胞是真核细胞,例如酵母、昆虫或植物细胞,或原核,例如细菌。

[0201] 生产转基因植物的方法包括用本发明的任何分离的多核苷酸或重组DNA构建体来转化植物细胞并从转化过的植物细胞中再生转基因植物。本发明也涉及由该方法制备的转基因植物,以及从该转基因植物中获取的转基因种子。

[0202] 用于从细胞或细胞培养基中分离本发明的多肽的方法,其中所述细胞包含重组DNA构建体,所述DNA构建体包含可操作地连接至少一种调控序列的本发明的多核苷酸,并且其中所述转化过的宿主细胞在适于重组DNA构建体表达的条件下生长。

[0203] 改变本发明多肽在宿主细胞中的表达水平的方法包括:(a)用本发明的重组DNA构建体来转化宿主细胞;以及(b)使转化过的细胞在适于表达所述重组DNA构建体的条件下生长,其中重组DNA构建体的表达导致转化过的宿主细胞中产生的本发明多肽水平的改变。

[0204] 增加植物耐旱性的方法,所述方法包括:(a)将重组DNA构建体引入到可再生的植物细胞中,所述重组DNA构建体包含可操作地连接至少一种调控序列(例如在植物中有功能的启动子)的多核苷酸,其中所述多核苷酸编码多肽,所述多肽具有的氨基酸序列基于Clustal V比对方法在与SEQ ID NO:15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49和50进行比较时具有至少50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列同一性;和(b)在步骤(a)之后,从所述可再生的植物细胞再

生出转基因植物，其中所述转基因植物在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体并且在与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。所述方法可进一步包括 (c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含重组 DNA 构建体并且在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物比较时表现出增加的耐旱性。

[0205] 增加植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接以下序列的全部或部分：(i) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，或者 (ii) (a) (i) 的核酸序列的全长互补序列；和 (b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体并且在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。所述方法可进一步包括 (c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含抑制 DNA 构建体并且在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物比较时表现出增加的耐旱性。

[0206] 增加植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接源自所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域，所述区域的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶；和 (b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体并且在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时表现出增加的耐旱性。所述方法可进一步包括 (c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中所述子代植物在其基因组中包含抑制 DNA 构建体并且在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物比较时表现出增加的耐旱性。

[0207] 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有

至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在基因组中包含所述重组 DNA 构建体；以及 (c) 评价该转基因植物在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (e) 评价该子代植物在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0208] 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接以下序列的全部或部分：(i) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的序列同一性，或者 (ii) (a) (i) 的核酸序列的全长互补序列；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (c) 评价该转基因植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性；该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (e) 评价该子代植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0209] 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，该抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），该调控序列可操作地连接至来源于所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域，所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的序列同一性，并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (c) 评价该转基因植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性；该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组

中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (e) 评价该子代植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0210] 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在基因组中包含所述重组 DNA 构建体；(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (d) 评价该子代植物在与不包含该重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0211] 评估植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接以下序列的全部或部分：(i) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，或者 (ii) (a) (i) 的核酸序列的全长互补序列；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (d) 评价该子代植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0212] 评价植物耐旱性的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，该抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），该调控序列可操作地连接至来源于所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域，所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，并且其中所

述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；(c) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (d) 评价该子代植物在与不包含该抑制 DNA 构建体的对照植物进行比较时的耐旱性。

[0213] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在基因组中包含所述重组 DNA 构建体；以及 (c) 测定所述转基因植物任选地在水限制条件下与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (e) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0214] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接以下序列的全部或部分：(i) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，或者 (ii) (i) 的核酸序列的全长互补序列；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (c) 测定所述转基因植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (e) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0215] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到

可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接源自所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域，所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (c) 测定所述转基因植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。该方法可进一步包括：(d) 获得源自该转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (e) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0216] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将重组 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述重组 DNA 构建体包含可操作地连接至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子）的多核苷酸，其中所述多核苷酸编码多肽，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性；(b) 在步骤 (a) 之后，从所述可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中所述转基因植物在基因组中包含所述重组 DNA 构建体；(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该重组 DNA 构建体；以及 (d) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0217] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接以下序列的全部或部分：(i) 编码多肽的核酸序列，所述多肽具有的氨基酸序列基于 Clustal V 比对方法在与 SEQ ID NO：15、17、19、21、23、25、27、28、29、33、34、35、36、37、38、40、41、43、44、45、46、47、48、49 和 50 进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，或者 (ii) (i) 的核酸

序列的全长互补序列；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (d) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0218] 测定植物农学特性改变的方法，所述方法包括：(a) 将抑制 DNA 构建体引入到可再生的植物细胞中，所述抑制 DNA 构建体包含至少一种调控序列（例如在植物中有功能的启动子），所述调控序列可操作地连接源自所关注的靶基因的有义链或反义链的全部或部分的区域，所述区域具有的核酸序列基于 Clustal V 比对方法在与所述区域所来源的有义链或反义链的全部或部分进行比较时具有至少 50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、56%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，并且其中所述所关注的靶基因编码蛋白酪氨酸磷酸酶；(b) 在步骤 (a) 之后，从该可再生的植物细胞再生出转基因植物，其中该转基因植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；(c) 获得源自所述转基因植物的子代植物，其中该子代植物在其基因组中包含该抑制 DNA 构建体；以及 (d) 测定所述子代植物任选地在水限制条件下与不包含所述抑制 DNA 构建体的对照植物比较时是否表现出至少一种农学特性的改变。

[0219] 产生种子（例如可作为提供耐旱性的产品销售的产品销售的种子）的方法，该方法包括任一上述的方法，并且还包括从所述子代植物获得种子，其中所述种子在其基因组中包含所述重组 DNA 构建体（或抑制 DNA 构建体）。

[0220] 在任一前述方法或本发明方法的任一其他实施方案中，在所述导入步骤中所述可再生的植物细胞可包括愈伤组织细胞、胚胎愈伤组织细胞、配子细胞、分生细胞或未成熟胚芽细胞。可再生的植物细胞可来自近交系玉米植物。

[0221] 在任意上述方法或本发明方法的任意其他实施方案中，所述再生步骤可包括以下步骤：(i) 在包含促进胚发生的激素的培养基中培育所述转化的植物细胞直至观察到愈伤组织；(ii) 将所述步骤 (i) 的转化的植物细胞转移至包含促进组织机体形成的激素的第一培养基；以及 (iii) 在第二培养基上传代培养步骤 (ii) 后的所述转化的植物细胞，以允许嫩芽伸长、根发育或这两者同时发生。

[0222] 在任一上述方法或本发明方法的任一其他实施方案中，至少一种农学特性优选选自：绿度、产量、生长速率、生物量、成熟时的鲜重、成熟时的干重、果实产量、种子产量、总植物氮含量、果实氮含量、种子氮含量、营养组织中的氮含量、总植物游离氨基酸含量、果实游离氨基酸含量、种子游离氨基酸含量、营养组织中的氨基酸含量、总植物蛋白质含量、果实蛋白质含量、种子蛋白质含量、营养组织中的蛋白质含量、耐旱性、氮摄取、根倒伏、收获指数、茎倒伏、植物高度、穗高、穗长、在低温胁迫下的早期幼苗活力和幼苗出苗率。至少一种农学特性的改变可为产量、绿度或生物量的增加。

[0223] 在任一上述方法或本发明的任一其他方法中，在与不包含所述重组 DNA 构建体

(或所述抑制 DNA 构建体)的对照植物在水限制条件下进行比较时,植物可表现出至少一种农学特性的改变。

[0224] 在任一前述方法或本发明方法的任何其他实施方案中,存在供选择的替代方案用于将包含可操作地连接至少一种调控序列的多核苷酸的重组 DNA 构建体导入可再生的植物细胞中。例如,可将调控序列(例如一种或多种增强子、任选地作为转位因子的部件)引入到可再生的植物细胞中,然后筛选其中将所述调控序列可操作地连接至编码本发明多肽的内源基因的事件。

[0225] 将本发明的重组 DNA 构建体导入植物可通过任何合适的技术来进行,这些技术包括但不限于引导 DNA 摄取、化学处理、电穿孔、微注射、细胞融合、感染、载体介导的 DNA 转移、轰击或农杆菌 *Agrobacterium* 介导的转化。植物转化和再生的技术已经在国际专利公布 WO2009/006276 中进行了描述,其内容以引用方式并入本文。

[0226] 含有编码所关注蛋白质的外来的外源性分离的核酸片段的植物的发育或再生是本领域所熟知的。可将再生的植物进行自花授粉以产生纯合的转基因植物。或者,将得自再生植物的花粉与农学上重要的品系的产生种子的植株进行杂交。相反,将来自这些重要品系的植物用于给再生植物授粉。利用本领域技术人员所熟知的方法培育含有所需多肽的本发明的转基因植物。

实施例

[0227] 本发明将在下面的实施例中进一步说明,其中份数和百分比是以重量计并且度数是摄氏度,除非另外说明。应该理解,尽管这些实施例说明了本发明的实施方案,但仅是以例证的方式给出的。根据上面的论述和这些实施例,本领域的技术人员可以确定本发明的基本特征,并在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可对本发明做出多种改变和修饰,以使其适用于多种用法和条件。因此,除了那些本文所示和描述的那些之外,根据前文所述,本发明的各种修改形式对本领域的技术人员来说将是显而易见的。这些修改形式也旨在属于附加的权利要求书的范围内。

[0228] 实施例 1

[0229] 制备具有激活标记基因的拟南芥属种群

[0230] 构建 18.5kb 的 T-DNA 基二元构建体, pHSbarENDs2 (SEQ ID NO : 1) 包含四个来源于花椰菜花叶病毒 35S 启动子的四个多聚增强子元件(对应于序列 -341 至 -64, 如 Odell 等人 Nature 313 : 810-812 所述(1985))。该构建体也包含允许质粒救援的载体序列(pUC9)和多接头、再动员 T-DNA 的转座子序列(Ds)、以及允许草胺磷选择转基因植物的 bar 基因。原则上,仅将从右边界(RB)至左边界(LB)包含的 10.8kb 片段转移到寄主植物基因组中。因为增强子元件位于靠近 RB 处,它们可诱导 T-DNA 整合后的基因组位点顺式激活。

[0231] 通过整个植株的农杆菌转化制备拟南芥属激活标记种群。将 pHSbarENDs2 构建体转化到根癌农杆菌菌株 C58 中,在 25℃ 下在 LB 中培养至 OD600 ~ 1.0。然后离心沉淀细胞,并重悬在相等体积的 5% 蔗糖 / 0.05% Silwet L-77 (OSI Specialties, Inc) 中。在早期抽薹时,培育拟南芥生态型 Col-0 的土壤使用农杆菌悬浮液进行顶部灌溉。一周后,相同植株再次用在蔗糖 / Silwet 中的相同农杆菌菌株进行顶部灌溉。然后将该植物的种子

设为标准。所得 T1 种子在土壤中播种，通过喷洒草胺磷（**FINALE[®]**；AgrEvo；Bayer Environmental Science）选择转基因幼苗。选择了总计 100,000 个草胺磷抗性 T1 幼苗。分开保存来自每个品系的 T2 种子。

[0232] 实施例 2

[0233] 筛选以鉴定耐旱性增加的品系

[0234] 定量的干旱筛选：将来自 96,000 个单独的 T1 激活标记品系的九个草胺磷抗性 T2 植物每个播种在单个罐中，在 **Scotts[®] Metro-Mix[®] 200** 土壤上生长。每个浅箱配置 8 个方形罐。每个方形罐装满土壤至顶部。以 3×3 的阵列在每个罐（或小隔间）中播种以制备 9 个草胺磷抗性幼苗。

[0235] 土壤浇水至饱和，然后植物在标准条件下生长（即，16 小时光照，8 小时黑暗的循环；22℃；~ 60% 的相对湿度）。不提供附加的水。

[0236] 在可见的干旱胁迫症状出现时拍摄植物的数字图像。每天拍摄图像一次（在每天的相同时间），直至植物变干。通常收集连续四天的数据。

[0237] 使用颜色分析鉴定潜在的耐旱性品系。可使用颜色分析测量进入黄色区的叶片面积百分比的增加。使用色调、饱和度和强度数据（“HSI”），黄色区由色调 35 至 45 组成。

[0238] 叶片面积的保持也被用作鉴定潜在耐旱性品系的另一个标准，因为拟南芥属叶片在干旱胁迫期间萎蔫。叶片面积的保持可用莲座型叶丛面积随时间的减少来测量。

[0239] 叶片面积根据使用 LemnaTec 成像系统获取的绿色像素数目进行测量。激活标记和对照（例如野生型）植物在浅箱中并列生长，浅箱包含 72 株植物（9 株 / 罐）。当萎蔫开始时，拍摄图像多日以监控萎蔫过程。基于连续四天获取的绿色像素数，从这些数据中测定激活标记植物和伴随的对照植物的萎蔫特征图。该特征图选自发生最大程度萎蔫的四天中的一系列测量结果。耐旱能力通过激活标记植物与对照植物相比的抗萎蔫倾向来测量。

[0240] 使用 LemnaTec HTSBonitUV 软件分析 CCD 图像。根据绿色像素数目获取对拟南芥属植物的叶片面积的评估。对每张图像的数据进行平均化以获取对激活标记植物和对照植物的绿色像素值的平均值和标准偏差的评估。噪声函数的参数通过对平均像素数平方偏差的线性回归获得，使用同一批中的所有图像数据。平均像素数数据的误差估计使用噪声函数的拟合参数进行计算。激活标记植物和野生型植物的平均像素数相加以获得每张图像的总叶片面积的评估。具有最大萎蔫的四天间隔通过选择对应于植物生长最大差异的间隔获得。激活标记植物和野生型植物的单个萎蔫响应通过归一化使用间隔第一天的绿色像素数值的数据获得。激活标记植物与野生型植物相比的耐旱性通过相加经过两天至四天的激活标记植物和野生型植物间的萎蔫响应的加权差值来评分；加权数通过传递数据误差进行评估。耐旱性评分为正，对应于激活标记植物与野生型植物相比萎蔫更慢。激活标记植物和野生型植物之间的萎蔫响应的差异显著性从平方偏差的加权和获取。

[0241] 将在与整个浅箱的平均值进行比较时具有黄色积聚显著延迟和 / 或莲座型叶丛面积显著保持的品系命名为 Phase 1 hits。在相同分析条件下进行 Phase 1 hits 的重复试样再筛选。当 Phase 2 平行测定的其中一个或全部显示与整个浅箱的平均值有显著差异时

(评分大于 0.9), 则认为该品系是经验证的耐旱性品系。

[0242] 实施例 3

[0243] 鉴定激活标记基因

[0244] 使用下述两个标准程序中的一个或两个鉴定侧接导致耐旱性的 T-DNA 插入序列的基因: (1) 热不对称交错 (TAIL) PCR (Liu 等人, (1995), Plant J.8: 457-63); 以及 (2) SAIFF PCR (Siebert 等人, (1995) Nucleic Acids Res.23: 1087-1088)。至于复杂的多聚 T-DNA 插入序列, TAIL PCR 和 SAIFF PCR 可能均不足以鉴定候选基因。在这些情况下, 可使用包括反式 PCR、质粒拯救和 / 或基因组文库构建在内的其他程序。

[0245] 成功的结果是其中单个 TAIL 或 SAIFF PCR 片段包含 T-DNA 边界序列和拟南芥属基因组序列。

[0246] 一旦获取侧接 T-DNA 插入序列的基因组序列标记, 通过与公开可用的拟南芥属基因组的序列比对来鉴定候选基因。

[0247] 具体地讲, 最靠近 35S 增强子元件 /T-DNA RB 的注释基因是激活的基因的候选基因。

[0248] 为了验证鉴定的基因真的靠近 T-DNA 并排除 TAIL/SAIFF 片段是嵌合伪克隆的可能性, 用一个 T-DNA 中的寡核苷酸和一个候选基因特异性的寡核苷酸进行对基因组 DNA 的诊断 PCR。将提供 PCR 产品的基因组 DNA 样本理解为表示 T-DNA 插入序列。该分析也验证了其中一种以上的插入事件发生在相同品系中的情况, 例如, 在 TAIL 和 / 或 SAIFF PCR 分析中鉴定是否有多个不同基因组片段。

[0249] 实施例 4A

[0250] 鉴定带激活标记的蛋白酪氨酸磷酸酶基因

[0251] 还分析了显示耐旱性的激活标记品系 (No.116089)。提取来自该品系的 DNA, 并且在突变品系中侧接 T-DNA 插入序列的基因通过 SAIFFPCR (Siebert 等人, Nucleic Acids Res.23: 1087-1088 (1995)) 进行鉴定。鉴定一个 PCR 扩增的片段, 它包含 T-DNA 边界序列和拟南芥属基因组序列。获取侧接 T-DNA 插入序列的基因组序列, 并且通过与完全拟南芥属基因组的序列比对鉴定候选基因。就给定的 T-DNA 整合事件而言, 最靠近 35S 增强子元件 /T-DNA RB 的注释基因是品系中的活化候选基因。在品系 116089 的情况下, T-DNA 插入基因 At3g44610 中。将在整合位点的 35S 增强子导向 At3g44620 (SEQ ID NO: 14), 编码蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO: 15; NCBI GI No.79432726)。

[0252] 实施例 4B

[0253] 候选耐旱性基因表达水平的测定

[0254] 功能性的激活标记等位基因将导致在其中它正常表达的组织中的候选基因上调、在其中它通常不表达该基因的组织中异常表达、或者两种情况都发生。

[0255] 比较在同源突变品系和野生型品系中的候选基因的表达水平。使用标准 RT-PCR 程序如 QuantiTect[®] Reverse Transcription 试剂盒, 购自 Qiagen[®]。使用肌动蛋白基因的 RT-PCR 作为对照物以显示来自突变品系和野生型的样本的扩增和载入是相似的。

[0256] 最优化各个基因的测定条件。在成熟的莲座型叶中检查表达水平。如果激活标记等位基因导致在其他组织 (例如根) 中的异常表达, 通过该检测分析法它不被检出。同样地, 阳性结果是有用的, 但是阴性结果不排除基因不需要进行进一步的分析。

[0257] 实施例 5

[0258] 经由转化到拟南芥属中验证拟南芥属候选基因 At3g44620 (蛋白酪氨酸磷酸酶)

[0259] 可将候选基因转化到拟南芥属中并在 35S 启动子作用下过表达。如果在转基因品系中观察到与亲本激活标记品系相同或相似的表型, 则将该候选基因认为是拟南芥属中验证过的“前导基因”。

[0260] 用以下方法测试候选拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶基因 (At3g44620; SEQ ID NO: 14) 赋予耐旱性的能力。

[0261] 用紧接 Invitrogen™ Gateway® C1 转化插入序列上游的 1.3-kb 的 35S 启动子构建 16.8-kb 的 T-DNA 基二元载体, 称为 pBC-yellow (SEQ ID NO: 4)。该载体也包含 RD29a 启动子, 该启动子驱动基因表达 ZS-Yellow (INVITROGEN™), 它赋予转化过的种子黄色荧光。

[0262] 通过 RT-PCR 扩增 At3g44620cDNA 蛋白编码区的 534 个核苷酸的片段, 使用以下引物:

[0263] (1) At3g44620-5' attB 正向引物 (SEQ ID NO: 12): TTAAACAAGTTTGTACAAAAAGCAGGCTCAACAATGGCGACTCCTCCTCCGACG

[0264] (2) At3g44620-3' attB 反向引物 (SEQ ID NO: 13): TTAAACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTTCAACTTTGCGCAGTGATACT

[0265] 将通过以上引物扩增的 534 个核苷酸的片段命名为 Δ At3g44620, 它编码由 SEQ ID NO: 15 的氨基酸 63-239 组成的截短的蛋白酪氨酸磷酸酶。该截短蛋白的 177 个氨基酸的序列如 SEQ ID NO: 33 所示, 并且它缺失全长拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO: 15) 的氨基末端的 62 个氨基酸。

[0266] 正向引物包含 attB1 序列 (ACAAGTTTGTACAAAAAGCAGGCT; SEQ ID NO: 10) 和共有的 Kozak 序列 (CAACA) 邻近蛋白编码区的 21 个核苷酸 (以位于 SEQ ID NO: 14 的核苷酸 216 的 ATG 密码子开头)。

[0267] 反向引物包含 attB2 序列 (ACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGT; SEQ ID NO: 11), 该序列邻近 SEQ ID NO: 14 蛋白编码区的反向互补序列的后 21 个核苷酸 (以终止密码子的反向互补序列开头)。

[0268] 使用 Invitrogen™ Gateway® CLONASE™ 技术, 用 pDONRTM/Zeo (SEQ ID NO: 2) 进行 BP 重组反应。这种方法将细菌致死 ccdB 基因以及氯霉素抗性基因 (CAM) 从 pDONRTM/Zeo 移除并定向地克隆了该在旁侧具有 attB1 和 attB2 位点的 PCR 产物而得到入门克隆 (entry clone) PHP30192。该入门克隆与目的载体一起用于随后的 LR 重组反应如下。

[0269] 用紧接 INVITROGEN™ GATEWAY® C1 转化插入序列上游的 1.3-kb 35S 启动子构建称为 pBC-yellow (SEQ ID NO: 4) 的 16.8-kb T-DNA 基的二元载体 (目的载体), 所述插入序列包含 ccdB 细菌致死基因以及侧接 attR1 和 attR2 序列的氯霉素抗性基因 (CAM)。该载体也包含 RD29a 启动子, 该启动子驱动基因表达 ZS-Yellow (INVITROGEN™), 它赋予转化过的种子黄色荧光。使用 Invitrogen™ Gateway® 技术, 对包含定向克隆 PCR 产物和 pBC-yellow 的 PHP30192 入门

克隆进行 LR 重组反应。这允许迅速地定向克隆在 pBC-yellow 中的 35S 启动子后的候选基因以制备 35S 启动子 :: Δ At3g44620 表达构建体, pBC-Yellow- Δ At3g44620。

[0270] 申请人然后使用如实施例 1 所述的相同农杆菌介导转化程序, 将 35S 启动子 : Δ At3g44620 表达构建体导入野生型拟南芥属生态型 Col-0。转基因 T1 种子通过黄色荧光进行选择, 并且将 T1 种子紧邻着野生型种子种植并在水限制条件下生长。生长条件和成像分析如实施例 2 所述。发现来自激活标记的初始耐旱性表型可在用其中 Δ At3g44620 通过 35S 启动子直接表达的构建体转化过的野生型拟南芥属植物中重现。通过实施例 2 的方法测定的耐旱性评分是 4.3。

[0271] 实施例 6

[0272] cDNA 文库的制备和 cDNA 克隆的分离和测序

[0273] cDNA 文库可通过许多可用的方法中的任一种制备。将扩增的 DNA 插入序列或质粒 DNA 在引物标记法测序反应 (dye-primer sequencing reaction) 中进行测序, 以产生部分 cDNA 序列 (表达序列标记或 “EST”; 参见 Adams 等人, 1991, Science 252 : 1651-1656)。

[0274] 用改进的转座规程来产生全长插入序列 (FIS) 数据。

[0275] 将确认的模板通过基于酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) Ty1 转座因子 (Devine 和 Boeke, 1994, Nucleic Acids Res.22 : 3765-3772) 的 Primer Island 转座试剂盒 (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) 进行转座。随后将转座的 DNA 用于通过电穿孔转化 DH10B 电 - 感受态细胞 (Gibco BRL/Life Technologies, Rockville, MD)。转座因子含有另外的可选标记 (称为 DHFR; Fling 和 Richards, 1983, Nucleic Acids Res.11 : 5147-5158), 使得能在琼脂平板上仅双重筛选含有整合的转座子的那些亚克隆。从每次转座反应随机地选择多个亚克隆, 通过碱性裂解制备质粒 DNA, 并用对转座子内的结合位点特异性的独特引物从转座事件位点向外进行测序 (ABI PRISM[®] dye-terminator ReadyReaction mix)。

[0276] 收集序列数据 (ABI Prism Collections) 并用 Phred 和 Phrap (Ewing, 等人, 1998, Genome Res.8 : 175-185; Ewing 和 Green, 1998, Genome Res.8 : 186-194) 进行装配。通过 Consed 序列编辑器 (Gordon 等人, 1998, Genome Res.8 : 195-202) 检查装配序列。

[0277] 在一些克隆中, cDNA 片段可对应基因的 3' - 端的一部分并且不会涵盖整个开放阅读框。为了获得上游信息, 使用两种不同规程中的一者。这两种方法中的第一种方法导致产生含有所需基因序列的部分的 DNA 片段, 而第二种方法导致产生含有整个开放阅读框的片段。这两种方法均使用两轮 PCR 扩增以从一个或多个文库获得片段。有时基于以前的知识 (特定的基因应该存在于某些组织中) 选择文库, 有时则进行随机地选择。获得相同基因的反应可平行地在若干文库中进行, 或者在文库池中进行。文库池通常用 3 至 5 个不同的文库制备并且使其归一化而成为一致的稀释度。在第一轮扩增中, 两种方法均使用载体特异性的 (正向) 引物, 同时还使用基因特异性的 (反向) 引物, 该正向引物对应位于克隆 5' - 端处的载体的一部分。— 第一种方法使用与已知基因序列的一部分互补的序列, 而第二种方法使用与 3' - 非翻译区 (也称为 UTR) 的一部分互补的基因特异性引物。在第二轮扩增中, 两种方法均使用套式引物组。按照生产商的说明书, 用市售试剂盒将所得 DNA 片段连接进 pBLUESCRIPT[®] 载体中。该

试剂盒选自可得自包括 Invitrogen™ (Carlsbad, CA)、Promega Biotech (Madison, WI) 和 Gibco-BRL (Gaithersburg, MD) 在内的一些供应商的许多试剂盒。如上所述, 将质粒 DNA 通过碱性裂解方法分离并进行测序和用 Phred/Phrap 进行装配。

[0278] 实施例 7

[0279] cDNA 克隆的鉴定

[0280] 编码受关注的多肽的 cDNA 克隆能通过 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; Altschul 等人 (1993) J. Biol. 215: 403-410; 还可参见国立卫生研究院国家医学图书馆的国家生物技术信息中心的万维网址上对 BLAST 算法的解释) 进行鉴定, 寻找与 BLAST “nr” 数据库中所包含氨基酸序列 (包括所有非冗余 GenBank CDS 翻译序列、源自 3- 维结构 Brookhaven 蛋白质数据库 (Protein Data Bank)、SWISS-PROT 蛋白质序列数据库的最新的版本、EMBL 和 DDBJ 数据库的序列) 的相似性。在所有的阅读框中翻译来自克隆的 DNA 并用 NCBI 提供的 BLASTX 算法 (Gish 和 States, 1993, Nat. Genet. 3: 266-272) 比较与 “nr” 数据库中包含的所有可公开获得的蛋白质序列的相似性。采用国家生物技术信息中心 (NCBI) 提供的 BLASTP 算法, 分析 cDNA 序列编码的多肽与包含在 “nr” 数据库中的所有可公开获得的氨基酸序列的相似性。为方便起见, 通过 BLAST 计算仅仅偶然观察到 cDNA 序列与所搜索的数据库中所包含序列的匹配的 P 值 (概率) 或 E 值 (期望值), 在本文报导为 “pLog” 值, 它代表所报导的 P 值或 E 值的负对数。— 因此, pLog 值越大, cDNA 编码的序列和 BLAST 的 “匹配” 代表同源蛋白的可能性就越大。

[0281] EST 序列能与如上所述的 Genbank 数据库进行比较。通过使用 BLASTn 算法 (Altschul 等人, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)) 对杜邦专利数据库比较具有序列同源共有区域或重叠区域的核苷酸序列, 可找到含更 5' 端或 3' 端序列的 EST。在两个或更多个核酸片段之间存在共有或重叠序列时, 该序列可装配成单一的连续核苷酸序列, 从而使最初的片段在 5' 或 3' 初始方向上延伸。一旦确定了最 5' 的 EST 后, 可以如上所述, 通过全长插入序列来确定其完整的序列。可用 tBLASTn 算法, 通过将已知基因 (来自专有来源或公开数据库的已知基因) 的氨基酸序列对 EST 数据库进行比较, 可找到属于不同物种的同源基因。tBLASTn 算法对所有 6 个阅读框都翻译了的核苷酸数据库进行氨基酸查询的搜索。该搜索允许不同物种之间的核苷酸密码子使用的差异, 并且允许密码子简并。

[0282] 实施例 8

[0283] 表征编码蛋白酪氨酸磷酸酶的 cDNA 克隆

[0284] 制备提供来自玉米、大豆、糖用甜菜、野苋菜 (Amaranthus retroflexus) 和葡萄的不同组织的 mRNA 的 cDNA 文库, 并且鉴定编码蛋白酪氨酸磷酸酶的 cDNA 克隆。下面描述了该文库的特征。

[0285] 表 2

[0286] 来自玉米、大豆、糖用甜菜、野苋菜和葡萄的 cDNA 文库

[0287]

文库	描述	克隆
cie1c	玉米未成熟穗，来自非消减 cie1 文库	cie1c.pk001.n13
sl1	大豆两周龄发育幼苗	sl1.pk0004.c12
sdr1f	大豆 (<i>Glycine max</i> , Wye) 10 日龄根	sdr1f.pk003.c1
ebs1c	糖用甜菜，苗和韧皮部特定基因	ebs1c.pk003.k14
eas1c	反枝苋 (<i>Amaranthus retroflexus</i>) 幼种	eas1c.pk002.d7
vmb1na	葡萄 (<i>Vitis</i> sp.) 中期果实，归一化的*	vmb1na.pk001.i3
vdb1c	葡萄 (<i>Vitis</i> sp.) 发育芽	vdb1c.pk011.h24

[0288] * 这些文库基本上如美国专利 5,482,845 所述进行归一化

[0289] 将克隆 sl1.pk0004.c12 的 FIS 序列命名为 sl1.pk0004.c12 : fis，并且发现它缺失大豆蛋白酪氨酸磷酸酶的前三十七个氨基酸的编码区。因此制备了在 GI No.17401417 的公开 EST 序列的 5' - 末端和 sl1.pk0004.c12 : fis 的 3' - 末端之间的重叠群，如 SEQ ID NO : 18 所示。由 SEQ ID NO : 18 编码的氨基酸序列如 SEQ ID NO : 19 所示。

[0290] 发现 cDNA 克隆 sdr1f.pk003.c1 编码第二种大豆蛋白酪氨酸磷酸酶。将克隆 sdr1f.pk003.c1 的 FIS 序列命名为 sdr1f.pk003.c1 : fis (SEQ ID NO : 20)，并且发现它缺失大豆蛋白酪氨酸磷酸酶的前七个氨基酸的编码区。因此装配了嵌合大豆序列，它由 SEQ ID NO : 18 的 5' - 末端核苷酸 6-26 与 SEQ ID NO : 20 的 3' - 末端核苷酸 3-707 连接组成，如 SEQ ID NO : 22 所示。由 SEQ ID NO : 22 编码的氨基酸序列如 SEQ ID NO : 23 所示。

[0291] 发现 cDNA 克隆 vmb1na.pk001.i3 : fis 缺失蛋白酪氨酸磷酸酶起始密码子。因此制备了在 vmb1na.pk001.i3 : fis 的 FIS 序列和 vdb1c.pk011.h24 的 EST 序列的前 25 个核苷酸之间的重叠群，如 SEQ ID NO : 42 所示。由 SEQ ID NO : 42 编码的氨基酸序列如 SEQ ID NO : 43 所示。

[0292] 使用来自表 2 中列出的克隆的序列进行 BLAST 搜索，结果揭示了由来自不同生物的蛋白酪氨酸磷酸酶 cDNA 编码的多肽的相似性。如表 3 和图 1A-1C 所示，cDNA 编码的多肽类似于以下蛋白：来自拟南芥属的蛋白酪氨酸磷酸酶 (NCBI GI No.79432726 ; SEQ ID NO : 15)；来自大米的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白 (NCBI GI No.29367341 ; SEQ ID NO : 27 ; Cooper 等人，2003, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.100 : 4945-4950)；来自玉米的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白 (SEQ ID NO : 28 ; US20040214272)；来自大豆的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白 (SEQ ID NO : 29 ; US20040031072-A1)、来自葡萄的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白 (SEQ ID NO : 45 ; NCBI GI No.225436307)、和来自小麦的蛋白酪氨酸磷酸酶样蛋白 (SEQ ID NO : 46 ; US7214786)。

[0293] 表 3 (非专利文献) 和表 4 (专利文献) 中所示的分别是单独的 EST (“EST”) BLAST 结果、包含标明的 cDNA 克隆的整个 cDNA 插入物的序列 (“FIS”)、由两个或更多个 EST、FIS 或 PCR 序列装配而成的重叠群序列 (“Contig”)、或编码源自 FIS 或重叠群的完整蛋白或功能性蛋白的序列 (“CGS”)。表 3 和表 4 也显示了使用 Clustal V 比对方法、使用默认参数计算的每对氨基酸序列的序列同一性百分比值：

[0294] 表 3

[0295] 蛋白酪氨酸磷酸酶的 BLASTP 结果

[0296]

序列 (植物)	状况	NCBI GI (SEQ ID NO)	BLASTP pLog E 值	百分比 序列 同一性
SEQ ID NO:17 (玉米)	CGS	29367341 (SEQ ID NO:27)	97.4	67.9
SEQ ID NO:19 (大豆)	CGS	29367341 (SEQ ID NO:27)	73.7	58.8
SEQ ID NO:21 (大豆)	FIS	79432726 (SEQ ID NO:15)	72.7	58.7
SEQ ID NO:23 (大豆嵌合体)	CGS	79432726 (SEQ ID NO:15)	72.7	57.7
SEQ ID NO:25 (糖用甜菜)	CGS	79432726 (SEQ ID NO:15)	74.7	60.3
SEQ ID NO: 40 (野苋菜)	FIS	225436307 (SEQ ID NO:45)	75	65.3
SEQ ID NO:43 (葡萄)	CGS	225436307 (SEQ ID NO:45)	140	99.2

[0297] 表 4

[0298] 蛋白酪氨酸磷酸酶的 BLASTP 结果

[0299]

序列 (植物)	状况	参照序列 (SEQ ID NO)	BLASTP E 值的 pLog	百分比 序列 同一性
SEQ ID NO:17 (玉米)	CGS	SEQ ID NO:366863; US20040214272 (SEQ ID NO:28)	152	98.9
SEQ ID NO:19 (大豆)	CGS	SEQ ID NO:277487; US20040031072-A1 (SEQ ID NO: 29)	136	100
SEQ ID NO:21 (大豆)	FIS	SEQ ID NO:277487; US20040031072-A1 (SEQ ID NO: 29)	120	89.4
SEQ ID NO:23 (大豆嵌合体)	CGS	SEQ ID NO:277487; US20040031072-A1 (SEQ ID NO: 29)	123	90.4
SEQ ID NO:25 (糖用甜菜)	CGS	SEQ ID NO:277487; US20040031072-A1 (SEQ ID NO: 29)	74.3	58.3
SEQ ID NO: 40 (野苋菜)	FIS	SEQ ID NO:112865; US7214786 (SEQ ID NO:46)	68.4	57.5
SEQ ID NO:43 (葡萄)	CGS	SEQ ID NO:112865; US7214786 (SEQ ID NO:46)	72.2	54.5

[0300] 图 1A-1C 给出了如 SEQ ID NO: 15、17、19、21、23、25、27、28、29、40、43、45 和 46 所示的蛋白酪氨酸磷酸酶的氨基酸序列的比对。图 2 给出图 1A-1C 中给出的每对序列的序列同一性百分比和趋异值。

[0301] 用 LASERGENE[®] 生物信息计算包 (DNASTAR[®] Inc., Madison, WI) 的 MEGALIGN[®] 程序进行序列比对和同一性百分比计算。序列多重比对是用 Clustal V 比对方法 (Higgins 和 Sharp, 1989, CABIOS.5: 151-153) 采用默认参数 (缺口罚分 = 10, 缺口长度罚分 = 10) 来进行。使用 Clustal 方法的成对比对的默认参数为 KTUPLE = 1, 空位罚分 = 3, 窗口 = 5, DIAGONALS SAVED = 5。

[0302] 序列比对和 BLAST 打分以及概率显示包含本发明 cDNA 克隆的核酸片段编码蛋

白酪氨酸磷酸酶。

[0303] 拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO : 15) 似乎是叶绿体定向多肽。SEQ ID NO : 15 的氨基末端的 60 个氨基酸具有叶绿体转运肽的特性。在图 1A-1C 中, 甲硫氨酸残基出现在 SEQ ID NO : 15 的位点 63, 正好紧接着推定的转运肽区域。SEQ ID NO : 33 对应于 SEQ ID NO : 15 的氨基酸 63-239, 并且潜在地编码细胞质中的拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶。甲硫氨酸残基出现在如图 1A-1C 所示的各个蛋白酪氨酸磷酸酶的前体多肽和相应的潜在胞质蛋白之间的关系。下表 5 给出图 1A-1C 的蛋白酪氨酸磷酸酶前体多肽和相应的潜在胞质蛋白之间的关系。

[0304] 表 5

[0305] 潜在的细胞质蛋白酪氨酸磷酸酶

[0306]

前体 (SEQ ID NO)	细胞质 (SEQ ID NO)	存在于细胞质中的 氨基酸前体
15	33	63-239
17	34	89-274
19	35	59-240
21	36	54-235
25	37	77-255
27	38	84-268
28	49	89-274
29	50	59-240
40	41	41-219
43	44	65-246
45	47	65-246
46	48	81-274

[0307] 进行了如 SEQ ID NO : 33, 34, 35, 36, 37, 38, 41, 44, 47, 48, 49 和 50 所示的潜在细胞质蛋白酪氨酸磷酸酶的氨基酸序列的多重比对。图 3 示出了潜在的细胞质蛋白酪氨酸磷酸酶的每对序列的序列同一性百分比和趋异值。

[0308] 实施例 9

[0309] 制备包含拟南芥属前导基因同源物的植物表达载体

[0310] 与由拟南芥属前导基因编码的多肽同源的序列能使用序列比较算法如 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool ; Altschul 等人, J.Mol.Biol.215 : 403-410, 1993 ; 也参见美国国家卫生研究院 (National Institutes of Health) 国立医学图书馆 (National Library of Medicine) 的国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information) 的万维网网址上对 BLAST 算法的解释) 进行鉴定。编码同源前导基因多肽的序列能通过以下任一种方法进行 PCR 扩增。

[0311] 方法 1(基于 RNA 的方法): 如果编码前导基因多肽同源物的基因的蛋白编码区的 5' 和 3' 序列信息是可用的, 能够如实施例 5 所述设计基因特异性引物。可将 RT-PCR 用于植物 RNA 来获得含有蛋白编码区的核酸片段, 该 EXST 蛋白编码区旁侧为 attB1 (SEQ ID NO: 10) 和 attB2 (SEQ ID NO: 11) 序列。引物可含有起始密码子上游的共有 Kozak 序列 (CAACA)。

[0312] 方法 2(基于 DNA 的方法): 作为另外一种选择, 如果编码前导基因多肽同源物的基因的 cDNA 克隆是可用的, 可以 PCR 扩增完整 cDNA 插入序列 (含有 5' 和 3' 非编码区)。可设计正向引物和反向引物, 使它们分别或者含有 attB1 序列和在该 cDNA 插入序列前面的载体特异性序列或者含有 attB2 序列和在该 cDNA 插入序列后面的载体特异性序列。对于克隆进载体 pBulescript SK+ 中的 cDNA 插入序列, 可使用正向引物 VC062 (SEQ ID NO: 30) 和反向引物 VC063 (SEQ ID NO: 31)。

[0313] 方法 1 和方法 2 可根据本领域技术人员已知的步骤进行修改。例如, 方法 1 的引物可含有限制性酶切位点而不是 attB1 和 attB2 位点, 用于后来将 PCR 产物克隆进含有 attB1 和 attB2 位点的载体内。另外, 方法 2 可涉及从 cDNA 克隆、 λ 克隆、BAC 克隆或基因组 DNA 扩增。

[0314] 可利用 BP 重组反应将通过任一种上述方法获得的 PCR 产物与 Gateway[®] 供体载体 (例如 pDONRTM/Zeo (Invitrogen[™]; SEQ ID NO: 2) 或 pDONRTM221 (Invitrogen[™]; SEQ ID NO: 3) 组合。这种方法将细菌致死 ccdB 基因以及氯霉素抗性基因 (CAM) 从 pDONRTM221 移除并定向地克隆了该在旁侧具有 attB1 和 attB2 位点的 PCR 产物而得到入门克隆 (entry clone)。使用 INVITROGEN[™] GATEWAY[®] CLONASE[™] 技术, 然后可将来自入门克隆的编码同源前导基因多肽的序列转移到合适的目的载体中 (如 pBC-Yellow (SEQ ID NO: 4)、PHP27840 (SEQ ID NO: 5)、或 PHP23236 (SEQ ID NO: 6)) 以获得植物表达载体, 所述载体分别用于拟南芥、大豆、和玉米。

[0315] 供体载体 pDONRTM/Zeo 或 pDONRTM 221 的 attP1 和 attP2 位点分子如 SEQ ID NO: 2 和 3 所示。目的载体 pBC-Yellow、PHP27840 和 PHP23236 的 attR1 和 attR2 位点分别如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示。

[0316] 作为另外一种选择, 可进行多个入门克隆和合适的目的载体之间的 MultiSite Gateway[®] LR 重组反应以产生表达载体。

[0317] 实施例 10

[0318] 制备大豆表达载体并用验证过的拟南芥属前导基因转化大豆

[0319] 为了检查所得表型, 可将大豆植株转化以过表达验证过的拟南芥属前导基因或来自不同物种的对应同源物。

[0320] 可将实施例 5 中所述的相同 Gateway[®] 入门克隆用于将每个基因定向克隆进 PHP27840 载体 (SEQ ID NO: 5) 中, 使得该基因的表达处于 SCP1 启动子的控制下。

[0321] 然后可用包含编码本多肽的序列的表达载体转化大豆胚。大豆转化和再生的技术已经在国际专利公布 WO 2009/006276 中进行了描述, 其内容以引用方式并入本文。

[0322] T1 植物可经受土壤基的干旱胁迫。使用图像分析, 可在干旱胁迫之前和期间进行多次植物面积、体积、生长速率和颜色分析。导致萎蔫或叶片面积减少推迟、黄色积

聚和 / 或在干旱胁迫期间生长速率提高的超表达构建体将被认为是拟南芥属基因在大豆中发挥功能以提高耐旱性的证据。

[0323] 然后可在较严格的大田基研究条件下检测分析用验证过的基因转化的大豆植物以研究在灌溉良好和水限制条件下的产量增加和 / 或稳定性。

[0324] 实施例 11

[0325] 使用粒子轰击法用验证过的拟南芥属前导基因转化玉米

[0326] 为了检查所得表型, 可将玉米植株转化以过表达验证过的拟南芥属前导基因或来自不同物种的对应同源物。

[0327] 可以将实施例 5 中所述的相同 Gateway[®] 入门克隆用于将每种基因定向克隆进玉米转化载体中。在玉米转化载体中的基因的表达可处于组成型启动子的控制下, 例如玉米泛素启动子 (Christensen 等人, (1989) Plant Mol.Biol.12 : 619-632 和 Christensen 等人, (1992) Plant Mol.Biol.18 : 675-689)

[0328] 然后可通过粒子轰击法将上述重组 DNA 构建体引入玉米细胞中。通过粒子轰击进行玉米转化和再生的技术已经在国际专利公布 WO2009/006276 中进行了描述, 其内容以引用方式并入本文。

[0329] T1 植物可经受土壤基的干旱胁迫。使用图像分析, 可在干旱胁迫之前和期间进行多次植物面积、体积、生长速率和颜色分析。导致萎蔫或叶片面积减少推迟、黄色积累和 / 或在干旱胁迫期间生长速率提高的超表达构建体将被认为是拟南芥属基因在玉米中发挥功能以提高耐旱性的证据。

[0330] 实施例 12

[0331] 电穿孔根癌农杆菌 LBA4404

[0332] 将电穿孔感受态细胞 (40 μ L), 例如含有 PHP10523 的根癌农杆菌 LBA4404 (SEQ ID NO : 7) 在冰上解冻 (20-30 分钟)。PHP10523 含有用于 T-DNA 转移的 VIR 基因、农杆菌属的低拷贝数质粒复制起始区、四环素抗性基因以及用于体内 DNA 生物分子重组的 cos 位点。同时, 将电穿孔管 (electroporation cuvette) 在冰上冷却。将该电穿孔仪的设置调节至 2.1kV。将 DNA 等分试样 (0.5 μ L 亲代 DNA, 在低盐缓冲液或双蒸 H₂O 中的浓度为 0.2 μ g-1.0 μ g) 与解冻的根癌农杆菌 LBA4404 细胞混合, 同时仍然保持在冰上。将该混合物转移至电穿孔管的底部并静止保持在冰上 1-2 分钟。通过按下 “pulse (脉冲)” 键两次 (理想的是获得 4.0 毫秒的脉冲) 对细胞进行电穿孔 (Eppendorf 电穿孔仪 2510)。随后, 将 0.5mL 室温下的 2xYT 培养基 (或 SOC 培养基) 加入到电穿孔管并转移至 15mL 按压盖管 (例如 FALCON[™] 管) 中。将细胞在 28-30°C、200-250rpm 下培养 3 小时。

[0333] 将 250 μ L 的等分试样散布在包含 YM 培养基和 50 μ g/mL 奇放线菌素的板上并在 28-30°C 下培养三天。为了增加转化体的数目, 可进行如下两个可选步骤中的其中一个:

[0334] 选择 1: 用 30 μ L 15mg/mL 的利福平覆盖平板。LBA4404 具有针对利福平的染色体抗性基因。这种附加的选择消除了在使用较差的 LBA4404 感受态细胞制备物时观察到的一些污染克隆。

[0335] 选择 2: 进行两次重复的电穿孔以补偿较差的电感受态细胞。

[0336] 转化体的鉴定:

[0337] 选取四个独立的克隆并划痕接种在包含 AB 基本培养基和 50 μ g/mL 奇放线菌素的平板上用于分离单个克隆。将平板在 28℃ 下孵育二至三天。对于每个推定的共整合体选取单个克隆并将其接种在 4mL 的 10g/L 细菌蛋白胨, 10g/L 酵母提取物, 5g/L 氯化钠, 和 50mg/L 奇放线菌素中。将该混合物在 28℃ 下摇动培养 24 小时。采用 QIAGEN Miniprep 和可选的 PB 缓冲液洗涤, 从 4mL 培养物分离出质粒 DNA。DNA 在 30 μ L 中洗提。如上所述, 将 2 μ L 的等分试样用于电穿孔 20 μ L DH10b+20 μ L 双蒸 H₂O。任选地可将 15 μ L 等分试样用于转化 75-100 μ L 的 INVITROGEN™ LIBRARY EFFICIENCY DH5 α 。将细胞散布在包含 LB 培养基和 50 μ G/ML 奇放线菌素的平板上并将其在 37℃ 下培养过夜。

[0338] 对于每个推定的共整合体选取三至四个独立克隆并将其接种在 4ML 的 2xYT 培养基 (10G/L 细菌蛋白胨, 10G/L 酵母提取物, 5G/L 氯化钠) 和 50 μ G/ML 奇放线菌素中。将细胞在 37℃ 下摇晃培养过夜。接下来, 使用 QIAPREP® MINIPREP, 用任选 PB 缓冲液洗涤液 (洗脱成 50 μ L) 从 4ML 培养物中分离质粒 DNA。8 μ L 质粒 DNA 用 SALI (使用亲本 DNA 和 PHP10523 作对照物) 进行消化。对于 4 个质粒, 利用限制性内切酶 BAMHI、ECORI 和 HINDIII 再进行三次消化 (使用亲代 DNA 和 PHP10523 作为对照), 这 4 个质粒代表 2 种具有正确 SALI 消化模式的推定共整合体。推荐电凝胶 (ELECTRONIC GEL) 用于比较。

[0339] 实施例 13

[0340] 使用农杆菌属 (Agrobacterium) 细菌转化玉米

[0341] 为了检查所得表型, 可将玉米植株转化以过表达验证过的拟南芥属前导基因或来自不同物种的对应同源物。

[0342] 农杆菌介导的玉米转化基本上按照以下文献中描述的方法进行: Zhao 等人, 在 Meth.Mol.Biol.318: 315-323 (2006) 中描述的方法进行 (还可参见 Zhao 等人, Mol. Breed.8: 323-333 (2001) 和 1999 年 11 月 9 日公布的美国专利 5,981,840, 以引用的方式将该文献并入本文)。该转化过程涉及细菌接种、共培养、静止期、选择以及植株再生。

[0343] 1. 未成熟胚芽制备:

[0344] 将未成熟胚芽从颖果上切下来, 并且放置在含有 2mL PHI-A 培养基的 2mL 微管中。

[0345] 2. 未成熟胚芽的农杆菌感染和共培养:

[0346] 2.1 感染步骤:

[0347] 用 1mL 微吸移管将 (1) 的 PHI-A 培养基取出, 并且加入 1mL 农杆菌属细菌悬浮液。将该管轻轻地倒置以混合。将该混合物在室温下培养 5 分钟。

[0348] 2.2 共培养步骤:

[0349] 用 1mL 微吸移管将农杆菌属细菌悬浮液从感染步骤中取出。使用无菌刮刀将胚从管中刮出并转移到 100×15mm 培养皿中的 PHI-B 培养基的平板中。确定胚的朝向, 使得胚轴在培养基表面上朝下。将具有胚芽的平板在 20℃ 于黑暗中培养 3 天。L-半胱氨酸可用于共培养阶段。采用标准二元载体, 补充有 100-400mg/L L-半胱氨酸的共培养培养基对于回收稳定的转基因事件是至关重要的。

[0350] 3. 选择推定的转基因事件:

[0351] 向在 100×15mm 培养皿中的 PHI-D 培养基的平板中转移 10 个胚芽，保持朝向，并且用石蜡膜将培养皿密封。将平板在黑暗中于 28℃ 下培养。预计在六至八周将看见作为黄色胚芽组织的主动生长推定事件。不产生事件的胚可能是棕色和坏死的，并且几乎看不见脆性组织生长。以 2-3 周的间隔将推定的转基因胚芽组织转移到新鲜的 PHI-D 平板上进行传代培养，时间间隔取决于生长速度。记录事件。

[0352] 4.T0 植株的再生：

[0353] 将在 PHI-D 培养基上繁殖的胚芽组织转移到在 100×25mm 培养皿中的 PHI-E 培养基（体细胞胚芽成熟培养基）中进行传代培养，在 28℃ 下于黑暗中培养直至体细胞胚芽成熟，培养大约 10-18 天。将具有良好限定的盾片和胚芽鞘的个体成熟体细胞胚芽转移到 PHI-F 胚芽发芽培养基中，并且在 28℃ 下于光中（约 80 μ E，来自冷光灯或同等荧光灯）培养。在 7-10 天，将约 10cm 高的再生的植株置于盆中的园艺混合物中，并且使用标准园艺方法进行耐寒锻炼（hardened-off）。

[0354] 用于植物转化的培养基：

[0355] 1.PHI-A：4g/L CHU 基础盐，1.0mL/L 1000×Eriksson' s 维生素混合物，0.5mg/L 盐酸硫胺，1.5mg/L 2, 4-D，0.69g/L L- 脯氨酸，68.5g/L 蔗糖，36g/L 葡萄糖，pH5.2。加入 100 μ M 乙酰丁香酮（过滤灭菌的）。

[0356] 2.PHI-B：PHI-A，不含有葡萄糖，将 2, 4-D 增加至 2mg/L，将蔗糖降低至 30g/L，并且补充 0.85mg/L 硝酸银（过滤灭菌的），3.0g/L Gelrite[®]，100 μ M 乙酰丁香酮（过滤灭菌的），pH5.8。

[0357] 3.PHI-C：PHI-B，不含 Gelrite[®]和乙酰丁香酮，将 2, 4-D 降低至 1.5mg/L，并且补充 8.0g/L 琼脂，0.5g/L 2-[N- 吗啉代] 乙烷 - 磺酸 (MES) 缓冲液，100mg/L 羧苄西林（过滤灭菌的）。

[0358] 4.PHI-D：PHI-C 补充 3mg/L 双丙氨磷（过滤灭菌的）。

[0359] 5.PHI-E：4.3g/L Murashige and Skoog (MS) 盐 (Gibco, BRL11117-074)，0.5mg/L 烟酸，0.1mg/L 盐酸硫胺，0.5mg/L 盐酸吡哆醇，2.0mg/L 甘氨酸，0.1g/L 肌醇，0.5mg/L 玉米素 (Sigma, Cat.No.Z-0164)，1mg/L 吲哚乙酸 (IAA)，26.4 μ g/L 脱落酸 (ABA)，60g/L 蔗糖，3mg/L bialaphos (过滤灭菌的)，100mg/L 羧苄西林（过滤灭菌的），8g/L 琼脂，pH5.6。

[0360] 6.PHI-F：不含玉米素、IAA、ABA 的 PHI-E；将蔗糖降低至 40g/L；用 1.5g/L GELRITE[®]替代琼脂；pH 为 5.6。

[0361] 可通过以下方法由愈伤组织再生出植物：首先将组织簇转移到 N6 培养基中，所述培养基补充了 0.2mg 2, 4-D/ 升。两周后，可将组织转移至再生培养基中 (Fromm 等人, Bio/Technology 8: 833-839(1990))。

[0362] 转基因 T0 植株可再生，并且可确定其表型。可收集 T1 种子。

[0363] 此外，可通过直接转化或者从单独转化的品系基因掺入而将含有证实的拟南芥属基因的重组 DNA 构建体导入优良玉米自交系内。

[0364] 自交或杂交的转基因植物可通过更严苛的大田试验来研究在水限制条件下和不限水条件下的产量增加和 / 或稳定性。

[0365] 随后可进行产量分析以测定包含验证过的拟南芥属前导基因的植物在与不包含

验证过的拟南芥属前导基因的对照植物（或参比植物）进行比较时是否具有产量改善（在水限制条件下和不限水条件下）。具体地讲，可在包含验证过的拟南芥属前导基因的植物和对照植物的开花期和 / 或结实期施加水限制条件。包含验证过的拟南芥属前导基因的植物相对于对照植物将具有更少的产量损失，例如在水限制条件下产量损失减少至少 25%，或在不限水条件下相对于对照植物将具有提高的产量。

[0366] 实施例 14A

[0367] 制备拟南芥属前导基因 (At3g44620) 表达载体用于转化玉米

[0368] 使用 INVITROGEN™ GATEWAY® 技术，用入门克隆 (PHP30192) 和目的载体 (PHP28647) 进行 LR 重组反应以制备前体质粒 PHP30197。载体 PHP30197 包含以下表达盒：

[0369] 1. 泛素启动子 ::moPAT::PinII 终止子；表达用于在转化过程中的选择的 PAT 抗除草剂性基因的表达盒。

[0370] 2. LTP2 启动子 ::DS-RED2::PinII 终止子；表达用于种子分选的 DS-RED 颜色标记基因的表达盒。

[0371] 3. 泛素启动子 :: Δ At3g44620::PinII 终止子；过表达受关注基因的表达盒，该基因是 177 个氨基酸的截短拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO : 33)。

[0372] 实施例 14B

[0373] 使用农杆菌用拟南芥属前导基因 (At3g44620) 转化玉米

[0374] 使用如实施例 12 和 13 所述的农杆菌介导转化，可将存在于载体 PHP30197 中的 177 个氨基酸的截短蛋白酪氨酸磷酸酶表达盒导入玉米自交系或来源于优良玉米自交系的可转化玉米品系。

[0375] 可将载体 PHP30197 电穿孔导入包含载体 PHP10523 (SEQ ID NO : 7) 的 LBA4404 农杆菌属菌株中以制备共整合载体 PHP30204。共整合载体是通过 2 个质粒、PHP30197 与 PHP10523 的重组（通过每个载体上含有的 COS 重组位点）而形成。共整合载体 PHP30204 除包含农杆菌属菌株和农杆菌介导转化所需的其他基因 (TET、TET、TRFA、ORI 终止子、CTL、ORI V、VIR C1、VIR C2、VIR G、VIR B) 之外，还包含同上（实施例 14A）的 3 个表达盒。

[0376] 实施例 15

[0377] 制备目的载体 PHP23236 用于转化 Gaspe Flint 来源的玉米品系

[0378] 目的载体 PHP23236 (SEQ ID NO : 6) 是通过用质粒 PHP23235 (SEQ ID NO : 8) 转化包含质粒 PHP 10523 (SEQ ID NO : 7) 的农杆菌菌株 LBA4404 并分离所得的共整合产物而获得。目的载体 PHP23236 可被用于如实施例 16 所述的与入门克隆的重组反应，以产生用于转化 GaspeFlint 衍生的玉米品系的玉米表达载体。

[0379] 实施例 16

[0380] 制备转化到 Gaspe Flint 来源的玉米品系中的质粒

[0381] 使用如实施例 9 所述的方法，将来自拟南芥属 PCR 生成的克隆 custom6.pk306.e1 的插入序列定向克隆到目的载体 PHP23236 (SEQ ID NO : 6) 中以制备表达载体 PHP30853。该表达载体包含受关注的 PCR 片段，该片段在 UBI 启动子的控制下编码 177 个氨基酸的截短拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO : 33)，并且是由农杆菌介导转

化到玉米中的 T-DNA 二元载体，该载体如本文所述实施例所述但不受其限制。

[0382] 实施例 17

[0383] 用验证过的拟南芥属前导基因转化 Gaspe Flint 来源的玉米品系

[0384] 为了检查所得表型，可将玉米植株转化以过表达拟南芥属前导基因或来自其他物种的对应同源物。

[0385] 受体植株：

[0386] 受体植株细胞可来自具有短的生活周期（“快速循环”）、大小减少以及转化潜能高的单一玉米品系。对玉米典型的这些植株细胞是来自可公开获得的 Gaspe Flint (GBF) 品系品种的植株细胞。一种可能的候选植株品系品种是 GBF×QTM (Quick Turnaround Maize (快速周转玉米)，选择用于在温室条件下生长的 Gaspe Flint 的可公开获得形式) 的 F1 杂交种，其在 Tomes 等人的美国专利申请公开 2003/0221212 中有所公开。从该品系获得的转基因植株具有如此小的尺寸使得它们可在 4 英寸的盆中生长（是正常大小的玉米植株所需空间的 1/4）并且它们在少于 2.5 个月时间内成熟。（传统上，一旦转基因植株适应温室后需要 3.5 个月来获得转基因 T0 种子。）另一合适的品系是 GS3（高度可转化的品系）× Gaspe Flint 的双单倍体品系。还有另一种合适的品系是携带引起较早开花、高度减小或这两者的转基因的可转化的优良近交系。

[0387] 转化规程：

[0388] 任何合适的方法可用于将转基因导入玉米细胞中，包括但不限于利用基于农杆菌载体的接种类型的步骤。转化可在受体（靶标）植株的未成熟胚上进行。

[0389] 精确的生长和植株跟踪：

[0390] 将由转化的玉米胚产生的转基因 (T0) 植株的事件群体在受控的温室环境中栽培，该温室使用改良的随机分块 (block) 设计以降低或消除环境误差。随机分块设计是这样一种植株布局，在该布局中，实验植株被分成组（如，每组 30 株植株），称为块，而每株植株随块被随机分配一个位置。

[0391] 对于一组 30 株植株，24 株转化的实验植株和 6 株对照植株（具有设定好的表型的植株）（总起来说称为“重复组”）被置于盆中，这些盆在位于温室内的桌子上布置成阵列（也叫做重复组或块）。每株植株（对照植株或实验植株）随块被随机分配一个位置，所述的块映射一个唯一的、温室物理位置以及映射该重复组。在单次实验中多个 30 株植株的重复组中的每一个可栽培在相同的温室中。应该确定重复组的布局（布置方式）以使对空间的要求最小以及温室内的环境影响最小。这样一种布局可称为压缩的温室布局。

[0392] 对于加入特定的对照组的一种替代方法是鉴定不表达所关注基因的那些转基因植株。可将诸如 RT-PCR 之类的多种技术应用于定量评估导入基因的表达水平。可将不表达转基因的 T0 植株与表达转基因的那些植株进行比较。

[0393] 在整个评价过程中鉴定和跟踪事件群体中的每株植株，并且从那些植株收集的数据自动与那些植株相关联，使得所搜集的数据可与由该植株携带的转基因关联。例如，每个植株容器具有机器可读的标签（例如通用货单代码 (UPC) 条形码），该标签包含了关于植物身份的信息，身份信息继而又与温室位置相关，使得从植物获得的数据可自动与该植物相关联。

[0394] 作为另外一种选择,可使用任何有效的、机器可读的植物识别系统,例如二维矩阵代码或甚至是射频识别标签(RFID),其中数据被接收并由射频接收器/处理器进行翻译。参见美国公布的专利申请 2004/0122592,其以引用方式并入本文。

[0395] 利用三维成像进行表型分析:

[0396] 对 T0 事件群体中的每株温室植株(包括任何对照植株)分析所关注的农学特性,并且以这样一种方式记录或存储每株植株的农学数据,该方式使得数据与该植株的辨识数据(见上面)相关联。可利用与上述类似的实验设计,可在 T1 代中完成对表型(基因效应)的确认。

[0397] 在植物的整个温室生活周期中,利用定量的非破坏性成像技术在表型水平上来分析 T0 植株以评估所关注的性状。可将数字成像分析仪用于整株植物的自动多维分析。成像可在温室内进行。将两个摄像系统(位于顶部和侧面)和用于旋转植物的装置用于从所有侧面观察植物和成像。从每株植物的顶部、前面和侧面采集图像。所有的三个图像一起提供了足够的信息用于评价每株植物的生物量、大小和形态。

[0398] 由于植物在第一片叶片从土壤显现出来时到植物处于它们发育的末期时大小的改变,最好是从顶部以较高的放大倍率记录植物发育的早期。这可通过利用完全由成像软件控制的自动变焦镜头系统来完成。

[0399] 在单次成像分析操作中,进行如下事件:(1)将植株传送至分析仪区域内,旋转 360 度以便其机器可读标签可被读取,并且让其保持静止直至其叶片停止移动;(2)获取侧面图像并将其输入数据库;(3)将植株旋转 90 度并再次让其保持静止直至其叶片停止移动,以及(4)将该植株传送出分析仪。

[0400] 每 24 小时的周期让植物至少 6 个小时处于黑暗以便具有正常的白天/黑夜周期。

[0401] 成像仪器:

[0402] 可使用任何合适的成像仪器,包括但不限于可从 LemnaTec GmbH(Wurselen, Germany)商购获得的光谱数字成像仪。获取图像并用具有 1/2" IT Progressive Scan IEE CCD 成像设备的 LemnaTec ScanalyzerHTS LT-0001-2 进行分析。该成像照相机可配备有自动变焦、自动调节光圈和自动聚焦。可利用 LemnaTec 软件设定所有的照相机设置。例如对于主要组成成像分析仪的仪器差异小于约 5%,对于次要组成成像分析仪的仪器差异小于约 10%。

[0403] 软件:

[0404] 成像分析系统包括用于颜色和构造分析的 LemnaTec HTS Bonit 软件程序和用于存储约 500,000 次分析的数据(包括分析数据)的服务器数据库。原始图像和分析过的图像储存在一起以允许用户根据需要进行再次分析。可将数据库连接至成像硬件用于自动的数据收集和存储。可将多种市售的软件系统(如 Matlab 等)用于定量判读成像数据,并且这些软件系统中的任何一种均可应用于图像数据集。

[0405] 传送系统:

[0406] 具有植物旋转装置的传送系统可用于将植物传送至成像区域并在成像过程中选择植物。例如,将最多 4 株植物(每株最高高度为 1.5m)装上小车,该小车在循环的传送系统上行进并通过成像测量区域。在这种情况下,该单位(成像分析仪和传送环线)

的总占有面积为约 5m×5m。

[0407] 可扩大传送系统以同时容纳更多植物。将植物沿传送环线传送至成像区域并对每株植物分析最多 50 秒。获取植物的三个视图。传送系统以及成像设备应该能够用于温室环境条件。

[0408] 照明：

[0409] 任何合适的照明模式可用于图像采集。例如，可在暗背景上使用顶部照明。作为另外一种选择，可采用使用白色背景的顶部照明和背部照明的组合。应该将被照亮的区域围起来以确保恒定的照明条件。遮蔽物应该长于测量区域使得能保持恒定的光条件而不需要打开和关闭门。作为另一种选择，可变化照明以引起转基因（如，绿色荧光蛋白（GFP）、红色荧光蛋白（RFP））的激发或者引起内源性（如叶绿素）荧光基团的激发。

[0410] 基于三维成像的生物量估计：

[0411] 为了更好地估计生物量，应该从至少三个轴（例如顶部视图和两个侧面（侧面 1 和侧面 2）视图）获取植物图像。然后分析这些图像以将植物从背景（盆和花粉控制袋（如果适用的话））分离。可通过如下计算来评价植物的体积：

[0412]

$$\text{体积 (体素)} = \sqrt{\text{顶部面积 (像素)}} \times \sqrt{\text{侧面1面积 (像素)}} \times \sqrt{\text{侧面2面积 (像素)}}$$

[0413] 在上面的等式中，体积和面积的单位是“任一单位”。在该体系中，任一单位完全足以检测基因对植物大小和生长影响，因为所需的是检测与实验平均值或对照平均值的差值（正 - 较大和负 - 较小两者）。大小（如面积）的任意单位可通过将物理参照加入到成像过程而轻易地转化成物理量度。例如，可在顶部成像过程和侧面成像过程两者中均包括已知面积的物理参照。基于这些物理参照的面积，可测定转换因子以允许从像素转换为面积单位，例如平方厘米（cm²）。物理参照可以是或可以不是独立的样本。例如，具有已知直径和高度的盆足可用作物理参照。

[0414] 颜色分类：

[0415] 成像技术还可用于确定植物颜色以及用于将植物颜色归为各种衍生类型。将图像颜色归属于颜色类型是 LemnaTec 软件的固有特色。使用其他图像分析软件系统，可通过多种计算方法确定颜色分类。

[0416] 对于植物大小和生长参数的测定，一种有用的分类方案是定义一种单一颜色方案，包括绿色的两种或三种色调，此外，还有关于缺绿病、坏死和漂白（在这些条件出现时）的颜色类型。还使用了背景颜色类型，其包括图像中的非植物颜色（例如盆和土壤颜色），并将这些像素特别地从测定大小中排除。在受控的恒定照明下分析植物，使得可以定量一株植物内随时间推移的任何改变，或者植物之间或植物不同分枝之间的任何改变（如季节差异）。

[0417] 除了其在测定植物的大小、生长中的有效性，颜色分类还可用于评估其他产量构成性状。对于这些其他产量构成性状，可使用另外的颜色分离方案。例如，称为“保绿度 (staygreen)”的性状（已经将其与产量的提高相关联）可通过颜色分类来评估，该颜色分类将绿色色调与黄色和棕色色调（其指示老化的组织）相分离。通过将这种颜色分类应用于在 T0 或 T1 植物生活周期末获取的图像，可鉴定绿色的量相对于黄色和棕色（例如，可表示为绿色 / 黄色比率）增加的植物。这种绿色 / 黄色比率具有显著差异的植物

可被鉴定为携带影响这种重要农学特性的转基因。

[0418] 熟练的植物学家将认识到可以指示植物健康或应激反应的其他植物颜色（花青素）的出现，以及认识到其他颜色分类方案可提供对基因在与这些响应相关的性状方面的作用的进一步度量。

[0419] 植物结构分析：

[0420] 改变植物结构参数的转基因也可用本发明鉴定，包括诸如最大高度和宽度、节间距离、叶与茎之间的角度、在节处开始的叶片数以及叶片长度。LemnaTec 系统软件可如下用于确定植物构造。在第一成像步骤中将植物简化至其主要的几何构造，并且随后基于该图像可进行不同构造参数的参数化鉴定。或者是单独地或者是组合地修改任何这些构造参数的转基因可通过应用此前所述的统计方法来鉴定。

[0421] 花粉脱落日期：

[0422] 花粉脱落日期是转基因植物中要分析的一个重要参数，并且可通过活性雄花第一次出现在植物上来确定。为了找到雄花目标，通过颜色对茎的上端进行分类以检测黄色或紫色花药。然后将这种颜色分类分析用于定义活性花，活性花继而可用于计算花粉脱落日期。

[0423] 作为另外一种选择，花粉脱落日期和其他易于在视觉上检测到的植物属性（如授粉日期、第一穗丝日期）可由负责进行植物看护的工作人员来记录。为了使数据完整性和过程效率最大化，通过利用相同的由 LemnaTec 光谱数字分析设备利用的条形码来跟踪该数据。可将具有条形码阅读器的电脑、掌上设备或笔记本电脑用于使记录观察时间、植物标识符的数据捕捉变得容易，并且使捕捉数据的操作者感觉舒适。

[0424] 植物的取向：

[0425] 以接近商业栽培的密度种植的成熟玉米植物通常具有平面的结构。也就是说，植物具有一可清晰分辨的宽的侧面和窄的侧面。对来自植物宽侧的图像进行测定。对于每株植物，给予其赋予一个明确界定的基本取向以获得宽侧图像与窄侧（edgewise）图像之间的最大差别。将顶部图像用于确定植物的主轴，而将额外的旋转装置用于在开始主图像采集前将植物转至合适的取向。

[0426] 实施例 18A

[0427] 评价 Gaspe Flint 来源的玉米品系的耐旱性

[0428] 可用以下方法筛选具有耐旱性的含候选基因的转基因 Gaspe Flint 来源的玉米品系。

[0429] 转基因玉米植物经受供水良好条件（对照）和干旱胁迫条件。在 T1 阶段或更晚的时期筛选转基因玉米植物。

[0430] 就植物生长而言，土壤混合物由 1/3 TURFACE[®]、1/3 SB300 和 1/3 沙土组成。所有罐装满相同量的土壤 ±10 克。手动浇水使得罐达到最多 100% 的罐体容量（“FC”）。使用 20-10-20 (N-P-K) 125ppm N 营养物质溶液使所有植物保持在 60% FC。在整个实验过程中每个表监控 pH 每周至少三次。开始于种植后 13 天 (DAP)，可将该实验分为两个处理组，足量水组和非足量水组。所有进行非足量水处理的植物保持 40% FC，而足量水处理的植物保持 80% FC。非足量水的植物在慢性干旱胁迫条件下 (40% FC) 生长 10 天。在整个慢性胁迫期间对所有植物每天拍照。在慢性干旱胁迫的

末期 (22DAP) 采集植物样本进行代谢特征分析。在慢性胁迫结束时将所有植物拍照并测量其叶绿素荧光。非足量水处理的植物经过一个严重的干旱胁迫时期, 随后是一个恢复期, 分别是 23-31DAP 和 32-34DAP。在严重干旱胁迫期间, 限制水和营养物质直至植物达到 8% FC。在严重胁迫和恢复期结束时将所有植物再次拍照并测量其叶绿素荧光。计算更大的 Student' s t 检验的概率用于比较每个转基因平均值与合适的无效转基因平均值 (分离无效转基因或构建体无效转基因)。使用最小值 ($P < t$) 0.1 作为具有统计意义上显著性的结果的临界值。

[0431] 实施例 18B

[0432] 转化并评估用 PHP30853 转化过的 Gaspe Flint 来源的玉米品系

[0433] Gaspe Flint 来源的玉米品系使用编码拟南芥属蛋白酪氨酸磷酸酶 (At-PTPase) 的质粒 DNA PHP30853 经由农杆菌属进行转化。基本上如实施例 18A 所述评估质粒构建体五个转化事件的耐旱性。

[0434] 表 6-7 显示每个转基因事件的变量, 所述事件与无效分离相比发生了显著改变。将“正效应”定义为转基因事件的变量相对于无效对照植物发生了具有统计意义上的显著性的改善。将“负效应”定义为无效对照植物相对于转基因事件的变量发生了具有统计意义上的显著性的改善。表 6 提供了单个事件具有显著性改变的变量的数目, 所述事件用质粒 DNA 构建体进行转化。表 7 提供了每个构建体的事件数目, 其显示每个变量的显著改变。

[0435] 表 6

[0436] 每个事件具有显著变化的变量的数目 * 用编码 At-PTPase (At3g44620) 的 PHP30853 转化过的

[0437]

事件	减少水		足够水	
	正效应	负效应	正效应	负效应
EA2391.453.1.2	2	1	0	4
EA2391.453.1.3	3	2	1	4
EA2391.453.1.6	0	1	2	0
EA2391.453.1.7	6	0	0	0
EA2486.033.1.2	0	0	0	0

[0438] *P 值小于或等于 0.1

[0439] 表 7

[0440] 用编码 At-PTPase (At3g44620) 的 PHP30853 转化过的、单个变量具有显著变化的事件的数目 *

[0441]

变量	减少水		足够水	
	正效应	负效应	正效应	负效应
% 面积 chg_慢性开始-慢性末期	0	0	0	1
% 面积 chg_慢性开始-严重末期	0	0	0	0
% 面积 chg_慢性开始-恢复 48 小时	1	0	0	0
fv/fm_严重末期	1	0	2	0
fv/fm_恢复 48 小时	2	0	0	1
fv/fm_严重开始	1	1	0	2
叶片卷曲_恢复 48 小时	1	0	0	1
psii_严重末期	1	1	1	0
psii_恢复 48 小时	3	0	0	0
psii_严重开始	0	0	0	2
sgr - r2 > 0.9	1	1	0	0
苗干重	0	1	0	1
苗鲜重	0	0	0	0

[0442] *P 值小于或等于 0.1

[0443] 就评估的构建体 PHP30853 而言, 与每个改善的变量相关联的统计值在图 4A、4B、5A 和 5B 中示出。显著正效应具有小于或等于 0.1 的 P 值。每个转化过的玉米品系的结果在图 4A-4B 中示出。构建体 PHP30853 的综合评估在图 5A-5B 中示出。

[0444] 实施例 19A

[0445] 具有拟南芥属前导基因的玉米品系的产量分析

[0446] 可通过直接转化或者从单独转化的品系基因掺入而将含有证实的拟南芥属基因的重组 DNA 构建体导入优良玉米自交系内。

[0447] 自交或杂交的转基因植物可通过更严苛的大田试验来研究在水限制条件下和水充分条件下的产量增加和 / 或稳定性。

[0448] 随后可进行产量分析以测定包含验证过的拟南芥属前导基因的植物在与不包含验证过的拟南芥属前导基因的对照植物进行比较时是否具有产量改善 (在水限制条件下)。具体地讲, 可在包含验证过的拟南芥属前导基因的植物和对照植物的开花期和 / 或结实期施加干旱条件。可测得这两种植物的产量都有所减少。包含验证过的拟南芥属前导基因的植物相对于对照植物具有更低的产量, 例如至少 25% 的产量损失。

[0449] 可使用以上方法选择在水限制条件下和 / 或水充分条件下, 与不包含所述重组 DNA 构建体的对照植物进行比较时具有增加产量的转基因植物。

[0450] 实施例 19B

[0451] 用编码拟南芥属前导基因 AT3G44620 的 PHP30204 转化过的玉米品系的产量分析

[0452] 如实施例 14A-14B 所述将存在于载体 PHP30204 中的蛋白酪氨酸磷酸酶基因表达盒导入来源于优良玉米自交系的可转化玉米品系中。

[0453] 在 2008 年，八个转基因事件在 Johnston、IA(“JH”)、York、NE(“YK”)、和 Woodland, CA(“WO”) 进行田间测试。在 Woodland, CA 位置，在开花期间(“FS”；开花胁迫)和籽粒灌浆期间(“GFS”；籽粒灌浆胁迫)施加干旱条件。在籽粒灌浆期间在 JH 位置提供足量水，在 YK 位置经历轻度干旱。在转基因事件和无转基因分离子之间的产量差异用蒲式耳/英亩(“产量增益”)表示。双尾检验的统计学显著性报道为 $P < 0.1$ 。在 WO FS 环境中三个事件具有正效应，在 YK 位置三个事件具有正效应；这些事件中的两个是两个位置共有的。一个事件在四个位置中的三个具有显著的负效应。事件 E7587.105.2.1 显示 15.7bu/ac 的跨位置平均增益，而事件 E7587.105.1.35 的平均增益是 12.8bu/ac。

[0454] 表 8

[0455] 用 PHP30204 转化过的玉米的 2008 田间测试

事件	产量增益 (bu/ac)			
	WO-FS	WO-GFS	JH	YK
E7587.105.1.10	4.1	-10.7	-9.2	12.0*
E7587.105.1.12	16.1*	-1.8	-4.8	11.0*
E7587.105.1.19	-7.7	0.6	-5.3	5.3
E7587.105.1.35	16.6*	10.8	14.2	9.6
E7587.105.1.7	4.8	0.9	7.5	2.2
E7587.105.1.8	-9.1	-18.6**	-11.6	3.0
E7587.105.2.1	15.5*	4.9	21.6	20.9*
E7587.105.4.2	1.8	-42.4**	-31.3**	-20.4**

[0457] * 显著产量增益

[0458] ** 显著产量损失

[0459] 实施例 20A

[0460] 制备玉米蛋白酪氨酸磷酸酶前导基因表达载体用于玉米的转化

[0461] 克隆 cie1c.pk001.n13 编码命名为 ZM-TYR-PPASE1 的玉米蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO : 17)。将克隆 cie1c.pk001.n13 的蛋白编码区导入 INVITROGEN™ 载体 pENTR/D-TOPO® 以制备入门克隆 PHP33257 (SEQ ID NO : 32)。

[0462] 使用 INVITROGEN™ GATEWAY® 技术，用入门克隆 (PHP33257) 和目的载体 (PHP28647) 进行 LR 重组反应以制备前体质粒 PHP33271。载体 PHP33271 包含以下表达盒：

[0463] 1. 泛素启动子 ::moPAT::PinII 终止子；表达用于在转化过程中的选择的 PAT 抗除草剂性基因的表达盒。

[0464] 2. LTP2 启动子 ::DS-RED2::PinII 终止子；表达用于种子分选的 DS-RED 颜色标记基因的表达盒。

[0465] 3. 泛素启动子 ::ZM-TYR-PPASE1::PinII 终止子；过表达受关注基因玉米蛋白酪

氨酸磷酸酶的表达盒。

[0466] 实施例 20B

[0467] 使用农杆菌、用玉米蛋白酪氨酸磷酸酶前导基因转化玉米

[0468] 使用如实施例 12 和 13 所述的农杆菌介导转化，可将存在于载体 PHP33271 中的 ZM-TYR-PPASE1 表达盒导入玉米自交系或来源于优良玉米自交系的可转化玉米品系。

[0469] 可将载体 PHP33271 电穿孔导入包含载体 PHP10523 (SEQ ID NO : 7) 的 LBA4404 农杆菌属菌株中以制备共整合载体 PHP33272。共整合载体是通过 2 个质粒 PHP33271 与 PHP10523 的重组 (通过每个载体上含有的 COS 重组位点) 而形成。共整合载体 PHP33272 除包含农杆菌属菌株和农杆菌介导转化所需的其他基因 (TET、TET、TRFA、ORI 终止子、CTL、ORI V、VIR C1、VIR C2、VIR G、VIR B) 之外，还包含同上 (实施例 14A) 的 3 个表达盒。

[0470] 实施例 21

[0471] 制备玉米表达质粒用于转化到 Gaspe Flint 来源的玉米品系中

[0472] 克隆 cie1c.pk001.n13 编码命名为 ZM-TYR-PPASE1 的玉米蛋白酪氨酸磷酸酶 (SEQ ID NO : 17)。使用如实施例 9 所述的 INVITROGEN™ GATEWAY® 重组技术，将编码玉米蛋白酪氨酸磷酸酶同源物的克隆 cie1c.pk001.n13 定向克隆到目的载体 PHP23236 (SEQ ID NO : 6) 中以制备表达载体。该表达载体包含在 UBI 启动子控制下的受关注 cDNA，并且是 T-DNA 二元载体，用于通过如本文所述实施例所述 (但不限于) 的农杆菌介导转化到玉米中。

[0473] 实施例 22

[0474] 转化和评价具有验证过的前导基因的大豆同源物的大豆

[0475] 基于同源性搜索，可鉴定验证过的拟南芥属前导基因的一个或若干个候选大豆同源物，并且还可评估它们增加大豆耐旱性的能力。载体构建、植物转化和表型分析将类似于上文实施例所述的规程。

[0476] 实施例 23

[0477] 转化和评价具有验证过的前导基因的玉米同源物的玉米

[0478] 基于同源性搜索，可鉴定验证过的拟南芥属前导基因的一个或若干个候选玉米同源物，并且还可评估它们增加玉米耐旱性的能力。载体构建、植物转化和表型分析将类似于上文实施例所述的规程。

[0479] 实施例 24

[0480] 用验证过的前导基因的玉米和大豆同源物转化拟南芥

[0481] 可将验证过的拟南芥属前导基因的大豆和玉米同源物在 35S 启动子控制下转化到拟南芥中并评估它们增加拟南芥耐旱性的能力。载体构建、植物转化和表型分析将类似于上文实施例所述的规程。

[0482] 实施例 25A

[0483] 在低温胁迫下筛选出苗幼苗

[0484] 可在 4℃ 低温胁迫后测试来自拟南芥属激活标记突变品系的种子的出苗率。每个试验可由包含 MS/ GELRITE® 培养基的 96 孔板组成，每个孔中有一粒种子。MS/ GELRITE® 培养基如下制备：每 100mL 培养基 0.215g PHYTOTECNOLOGY

LABORATORIES™ Murashige and Skoog (MS) 基础盐混合物，用 KOH 将 pH 调节至 5.6，0.6%的GELRITE®;培养基高压灭菌 30 分钟。 每块板的行 “A” 放置拟南芥 *Colombia* 野生型种子作为对照物。 将种子用 20%的漂白剂 (20%漂白剂 ; 0.05%TWEEN® 20) 灭菌并置于 1%琼脂糖中。 用铝覆盖已灭菌的种子并置于 4℃挂墙冰箱中三天。 在寒冷黑暗条件下分层处理后，将种子放置在 96 孔板上并置于暗处的 4℃生长室中。 用唯一的板编号标记每块板。 在放置后第三天，使用解剖显微镜进行发芽计数。 然后将板从 4℃下取出并放置在 22-25℃的实验工作台上。 允许幼苗在板中生长至双叶期 (3-4 天)，并且喷洒草胺磷除草剂 (例如 0.002%的FINALE®除草剂)。 在非转基因的幼苗已经死于喷洒的除草剂后 (大约三天)，评估发芽的激活标记转基因种子的数目。

[0485] 实施例 25B

[0486] 在低温胁迫条件下的拟南芥属激活标记品系 116089 (At3g44620) 的出苗幼苗

[0487] 在如实施例 25A 所述的低温胁迫条件下筛选出苗的拟南芥属激活标记品系 116089。 结果如图 9 所示。

[0488] 表 9

[0489] 在低温胁迫下的幼苗出苗

[0490]

品系 ID	平均% 发芽	标准偏差	平均% 激活标记种子	标准偏差
116089	44	6	44	6
野生型	21	4	---	---

[0491] 表 7 中的结果证明以前选作耐旱性表型的拟南芥属激活标记品系 116089 在低温胁迫条件下也表现出提高的幼苗出苗率。

[0001]

序列表

<110> E. I. du Pont de Nemours and Company
 Allen, Stephen M
 Luck, Stanley
 Mullen, Jeffrey
 Sakai, Hajime
 Sivasankar, Shoba
 Tingey, Scott V
 Williams, Robert W

<120> 涉及编码蛋白酪氨酸磷酸酶的基因的耐旱植物以及相关的构建体和方法

<130> BB1604PCT

<150> US 61/047213

<151> 2008-04-23

<160> 50

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 18491

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> pHSbarENDs2 激活标签载体

<400> 1

catgaatcaa acaaacatac acagcgactt attcacacga gctcaaatta caacggtata	60
tatcctgcgc tcgacaacca tggctctagac aggatccccg ggtaccgagc tcgaatttgc	120
aggtcgactg cgtcctccct tacgtcagtg gagatatcac atcaatccac ttgctttgaa	180
gacgtggttg gaacgtcttc tttttccacg atgctcctcg tgggtggggg tccatctttg	240
ggaccactgt cggcagagge atcttgaacg atagcctttc ctttatcgca atgatggcat	300
ttgtaggtgc cacccttcctt ttctactgtc cttttgatga agtgacagat agctgggcaa	360
tggaatccga ggaggtttcc cgatattacc ctttgttgaa aagtctcaat tgccctttgg	420
tctttctgaga ctgttgcgtc atcccttacg tcagtggaga tatcacatca atccacttgc	480
tttgaagacg tggttggaac gtcttctttt tccacgatgc tcctcgtggg tgggggtcca	540
tctttgggac cactgtcggc agaggeatct tgaacgatag cctttccttt atcgcaatga	600
tggcatttgt aggtgccacc ttccctttct aotgtccttt tgatgaagtg acagatagct	660
gggcaatgga atccgaggag gtttcccgat attacccttt gttgaaaagt ctcagttaac	720
cccgatcct gcgtcatecc ttacgtcagt ggagatatca catcaatcca cttgctttga	780

[0002]

agacgtgggtt ggaacgtctt ctttttccac gatgtcctc gtgggtgggg gtccatcttt	840
gggaccactg teggcagagg catcttgaa gatagccttt cctttatcgc aatgatggca	900
tttgtaggtg ccaccttctt tttctactgt ccttttgatg aagtgcaga tagctgggca	960
atggaatccg aggaggttcc cccatattac cctttgttga aaagtctcaa ttgccctttg	1020
gtcttctgag actgttgctt catcccttac gtcagtggag atatcacatc aatccacttg	1080
ctttgaagac gtggttgaa cgtcttcttt ttccacgatg ctctcgtgg gtgggggtcc	1140
atctttggga ccaactgtcg cagaggcatc ttgaacgata gcccttccctt tatcgcaatg	1200
atggcaattg taggtgccac ctctctttt tactgtcctt ttgatgaagt gacagatagc	1260
tgggcaatgg aatccgagga ggtttccga tattaccctt tgttgaaaag tctcagttaa	1320
cccgaattc actggcctc gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct ggcggtacc	1380
aacttaatcg ccttgacga catccctctt tcccgactg gcgtaatagc gaagaggccc	1440
gcaccgatc cccctccaa cagttgcga gccggaatg cgaatggatc gatccgtcga	1500
tccaccaaag cggccatctt gctccctcac tctgcagtt cgggggcagc gatgcgcgga	1560
tagcgcctc tggtttctg gatgcgcagc gatttgcact gccggtagaa ctccgcgagg	1620
tctccagcc tcaggcagca gctgaaccaa ctccgcaggc gatccagccc ctgctgagcc	1680
tccacatgtt gtcgcaaaat tccctctgga cccgcccac gatttgcctt cactgtcaag	1740
gtttgacctg cacttcattt ggggcccaca tacacaaaa aaatgctgca taattctcg	1800
ggcagcaagt cgggtaccg gccgcctgc tggaccgggt tgaatggtgc ccgtaacttt	1860
cggtagagc gacggccaat actcaactc aaggaatctc acccatgcgc gccggcggg	1920
aaccggagtt cccttcagt aacgttatta gtccgcctt cgggtgtctg tagatactag	1980
ccctggggc cttttgaaat ttgaataaga tttatgtaat cagtctttta ggtttgaccg	2040
gttctgcgc tttttttaa attggattt taataataa acccaattgt ttgttattgt	2100
ggcgtctat catagatgc gctataaac tttcagcac aatatttgt tttcatttta	2160
atattgtaca tataagtagt aggttacaat cagtaaattg aacggagaat attattcata	2220
aaaatacga agtaacgggt gatatttca ttagaatgaa ccgaaaccg cggtaaggat	2280
ctgagctaca catgctcagg ttttttaca cgtgcacaa agaattgaaa gcaaatatca	2340
tgcgatcata ggctctctc atatctcatt aaagcagggg gtgggcgaag aactccagca	2400
tgagatcccc gcgttgagg atcatccagc cggcgtccg gaaaacgatt ccgaagccca	2460
acctttcata gaaggcggc gtggaatcga aatctcgtga tggcaggtt ggctcgtctt	2520

[0003]

ggtcgggtcat ttcgaacccc agagtccgc tcagaagaac tcgtcaagaa ggcgatagaa	2580
ggcgatgcgc tgcgaatcgg gagcggcgat accgtaaage acgaggaagc ggtcagccca	2640
ttcgccgcca agctcttcag caatatcacg ggtagccaac gctatgtcct gatagcggtc	2700
cgcacacccc agccggccac agtcgatgaa tccagaaaag cggccatttt ccaccatgat	2760
attcggcaag caggcatcgc catgggtcac gacgagatcc tcgccgtcgg gcatgcccc	2820
caattcactg gccgtcgttt tacaacgtcg tgactgggaa aaccttggcg ttaccaact	2880
taatgcctt gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt aatagcgaag aggccgcac	2940
cgatgcctt tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggcgctga tgcggtat	3000
tctccttacg catctgtcgc gtatttcaca ccgcatatgg tgcactctca gtacaatctg	3060
ctctgatgcc gcatagttaa gccagccccg acaccgcga acaccgctg acgcgcctg	3120
acgggcttgt ctgctcccg catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg	3180
catgtgtcag aggttttcac cgtcatcacc gaaacgcgcg agacgaaagg gcctcgtgat	3240
acgcctattt ttataggta atgtcatgat aataatggtt tcttagacgt cagggtgcac	3300
ttttcgggga aatgtgcgcg gaaccctat ttgtttat	3360
gtatccgctc atgagacaat aacctgata aatgcttcaa taatattgaa aaaggaagag	3420
tatgagtatt caacatttc gtgtgcctt tattcccttt tttgcggcat tttgccttc	3480
tgTTTTTgct caccagaaa cgtgggtgaa agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc	3540
acgagtgggt tacatcgaa tggatctcaa cagcggtaag atccttgaga gttttcgccc	3600
cgaagaacgt tttccaatga tgagcacttt taaagttctg ctatgtggcg cgttattatc	3660
ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgccgata cactattctc agaatgaatt	3720
ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca tcttacggat ggcatgacag taagagaatt	3780
atgcagtgtt gccataacca tgagtataa cactgcggcc aacttacttc tgacaacgat	3840
cggaggaccg aaggagetaa ccgctttttt gcacaacatg ggggatcatg taactgcct	3900
tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat	3960
gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggcgaaactac ttactctagc	4020
ttcccgga caattaatag actggatgga ggcgataaa gttgcaggac cacttctgcg	4080
ctcgccctt ccggtggtt ggtttattgc tgataaatct ggagccggtg agcgtgggtc	4140
tcgggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaaagcc tccgatatc tagttatcta	4200
cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgtg agataggtgc	4260

[0004]

ctcactgatt aagcattggt aactgtcaga ccaagtttac tcatatatac tttagattga	4320
tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctaggtgaag atcctttttg ataatctcat	4380
gaccaaaate cettaacgtg agttttcgtt ccaactgagcg tcagaccccg tagaaaagat	4440
caaaggatct tcttgagatc ctttttttct gcgcgtaate tgetgcttgc aaacaaaaaa	4500
accaccgcta ccagcgggtg tttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa	4560
ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtc cttctagtgt agccgtagtt	4620
aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctcgctctgc taatcctgtt	4680
accagtggct gctgccagtg gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata	4740
gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg aacggggggt tcgtgcacac agcccagctt	4800
ggagcgaacg acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagcattgag aaagcggcac	4860
gcttcccga gggagaaagg cggacaggta tccgtaagc ggcagggtcg gaacaggaga	4920
gcgcacgagg gagcttcag ggggaaacgc ctggtatctt tatagtcctg tcgggttctg	4980
ccacctctga cttgagcgtc gatttttgtg atgctcgtca ggggggcgga gcctatggaa	5040
aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggccttt tgetggcctt ttgtcacat	5100
gttctttcct gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct ttgagtgage	5160
tgataccgct cgcgcagcc gaacgaccga gcgcagcgag tcagtgageg aggaagcgga	5220
agagcgccea atacgcaaac cgcctctccc cgcgcgttgg ccgattcatt aatgcagctg	5280
gcacgacagg tttcccgact ggaaagcggg cagtgagegc aacgcaatta atgtgagtta	5340
gctcactcat taggcacccc aggetttaca ctttatgctt ccggctcgta tgttgtgtgg	5400
aattgtgagc ggataacaat ttcacacagg aaacagctat gaccatgatt acgccaagct	5460
ttctaggggg ggggtaccga tetgagatcg gtaacgaaaa cgaacgggta gggatgaaaa	5520
cggtcggtaa cggtcggtaa aatacctcta ccgttttcat tttcatattt aacttgcggg	5580
acggaaacga aaacgggata taccggtaac gaaaacgaac gggataaata cggtaatcga	5640
aaaccgatac gatccggtcg ggttaaagtc gaaatcggac gggaaccggt atttttgttc	5700
ggtaaaatca cacatgaaaa catatatcca aaacttaaaa acaaataata aaaattgtaa	5760
acacaagtct taatgatcac tagtggcgcg cctaggagat ctcgagtagg gataacaggg	5820
taatacatag ataaaatcca tataaatctg gagcacacat agtttaaatgt agcacataag	5880
tgataagtct tgggtctctg gctaacataa gaagccatat aagtctacta gcacacatga	5940
cacaatataa agtttaaaac acatatctcat aatcacttgc tcacatctgg atcacttagc	6000

[0005]

atgctacagc tagtgcaata ttagacactt tccaatatit ctcaaacttt tcactcattg	6060
caacggccat tectactaatg acaaattttt catgaacaca ccattgggtca atcaaatcct	6120
ttatctcaca gaaacctttg taaaataaat ttgcagtggga atattgagta ccagatagga	6180
gttcagttag atcaaaaaac ttcttcaaac acttaaaaag agttaatgcc atcttccact	6240
cctcggcttt aggacaaatt gcctcgtacc tacaataatt gacatttgat taattgagaa	6300
tttataatga tgacatgtac aacaattgag acaaacatac ctgcgaggat cacttgtttt	6360
aagccgtggt agtgcaggct tataatataa ggcatccctc aacatcaaat aggttgaatt	6420
ccatctagtt gagacatcat atgagatecc tttagattta tccaagtcac attcactage	6480
acacttcatt agttcttccc actgcaaagg agaagatttt acagcaagaa caatcgcttt	6540
gattttctca attgttctcg caattacage caagccatcc tttgcaacca agttcagtat	6600
gtgacaagca cacctcatat gaaagaaagc accatcaca actagatttg aatcagtgtc	6660
ctgcaaatcc tcaattatat cgtgcacage tacttcattt gcactagcat tatccaaaga	6720
caaggcaaac aattttttct caatgttcca cttaaccatg attgcagtga aggtttgtga	6780
taacctttgg ccagtgtgga gcccttcaac atgaaaaaag ccaacaattc ttttttgag	6840
acaccaatca tcatcaatcc aatggatggt gacacacatg tatgacttat ttgacaaga	6900
tgtccacata tccatagttg tactgaagcg agactgaaca tcttttagtt ttccatacaa	6960
cttttctttt tcttccaaat acaaatccat gatatatit ctgacagtga cacgggactt	7020
tattggaaag tgaggcgcca gagacttaac aaactcaaca aagtactcat gttctacaat	7080
attgaaagga tattcatgca tgattattgc caaatgaagc ttcttttaggc taaccacttc	7140
atcgtactta taaggctcaa tgagatttat gtctttgcca tgatcctttt cactttttag	7200
acacaactga cttttaacta aactatgtga tgttctcaag tgatttcgaa atccgcttgt	7260
tccatgatga ccttcagccc tatacttagc cttgcaatta ggaaagttgc aatgtcccca	7320
tacctgaacg tatttcttcc catcgacctc cacttcaatt tcttctttgg tgaaatgctg	7380
ccatacatcc gatgtgcaat tctttgccct cttctgtggt gcttcttctt cgggttcagg	7440
ttgtggctgt ggttgtggtt ctggttgtgg ttgtggttgt ggttgtggtt catgaacaat	7500
agccatatca tcttgactcg gatctgtagc tgtaccattt gcattactac tgcttacaat	7560
ctgaataaaa tgccctctcg cctcagctgt tgatgatgat ggtgatgtgc ggccacatcc	7620
atgccacgc gcacgtgcac gtacattctg aatccgacta gaagaggctt cagcttttct	7680
tttcaacctt gttataaaca gatttttctg attattctac agtcaatatg atgcttccca	7740

[0006]

atctacaacc aattagtaat gctaattgcta ttgctactgt ttttctaata tataccttga	7800
gcataatgcag agaatacggga atttgttttg cgagtagaag gcgctcttgt ggtagacatc	7860
aacttggcca atcttatggc tgagcctgag ggaggattat ttccaaccgg aggcgtcatc	7920
tgaggaatgg agtcgtagcc ggctagccga agtggagagc agagccctgg acagcaggtg	7980
ttcagcaatc agcttggtgc tglactgctg tgacttgtga gcacctggac ggctggacag	8040
caatcagcag gtgttgacaga gcccttgac agcacacaaa tgacacaaca gcttggtgca	8100
atgggtgctga cgtgctgtac tgctaagtgc tgtgagcctg tgagcagccg tggagacagg	8160
gagaccgegg atggccggat gggcgagcgc cgagcagtgg aggtctggag gaccgctgac	8220
cgcagatggc ggatggcgga tggcgggacc gcggatgggc gagcagtgga gtggaggtct	8280
ggcgggatgg gcggaccgcg gcgcggatgg gcgagtcgcg agcagtggag tggagggcgg	8340
accgtggatg gcggcgtctg cgtccggcgt gccgcgtcac ggccgtcacc gcgtgtggtg	8400
cctggtgcag cccagcggcc ggccggctgg gagacaggga gagtoggaga gagcaggcga	8460
gagcgagacg cgtcgccggc gtccggcgtgc ggctggcggc gtccggactc cggcgtgggc	8520
gcgtggcggc gtgtgaatgt gtgatgctgt tactcgtgtg gtgcctggcc gcctgggaga	8580
gaggcagagc agcgttcgct aggtatttct tacatgggct gggcctcagt ggttatggat	8640
gggagttgga gctggccata ttgcagtcac ccgaattag aaaatacgtt aacgaaacgg	8700
gatcatcccg attaaaaacg ggatcccggt gaaacggctg ggaaactagc tctaccgttt	8760
ccgtttccgt ttaccgtttt gtatatcccg tttccgttcc gttttcgttt ttacctcgg	8820
gttcgaaatc gatcgggata aaactaaca aatcggttat acgataacgg tcggtacggg	8880
attttcccat cctactttca tccctgagat tattgtcgtt tctttcgcag atcggtaacc	8940
ccccctaga gtgcacatcg atctagtaac atagatgaca ccgcgcgcga taatttatcc	9000
tagtttgcgc gctatatttt gttttctatc gcgtattaaa tgtataattg cgggactcta	9060
atcataaaaa cccatctcat aaataacgtc atgcattaca tgttaattat tacatgctta	9120
acgtaattca acagaaatta tatgataatc atcgcaagac cggcaacagg attcaatctt	9180
aagaaacttt attgccaaat gtttgaacga tctgcttoga cgcactcctt ctttaggtac	9240
ggactagatc tcggtgacgg gcaggaccgg acggggcggt accggcaggc tgaagtccag	9300
ctgccagaaa cccacgtcat gccagtccc gtgcttgaag ccggccgcgc gcagcatgcc	9360
gcggggggca tatccgagcg cctcgtgcat gcgcacgtc gggtcgttgg gcagcccgat	9420
gacagcgacc acgctcttga agccctgtgc ctccaggac ttcagcaggt gggtgtagag	9480

[0007]

cgtggagccc agtcccgtcc gctgggtggcg gggggagacg tacacggtcg actcggccgt	9540
ccagtcgtag gcgttgcggtg ccttcacagg gcccgcgtag gcgatgccgg cgacctcgcc	9600
gtccacctcg gcgacgagcc agggatagcg ctcccgcaga cggacgaggt cgtccgtcca	9660
ctcctgcggt tcctgcggtc cggtagcgaa gttgaccgtg cttgtctcga tgtagtggtt	9720
gacgatgggt cagaccgcgc gcatgtccgc ctccgttgca cggcggatgt cggccgggcg	9780
tcgttctggg ctcatggatc tggattgaga gtgaatatga gactctaatt ggataccgag	9840
gggaatttat ggaacgtcag tggagcattt ttgacaagaa atatttgcta gctgatagtg	9900
acottaggcg acttttgaac gcgcaataat ggtttctgac gtatgtgctt agctcattaa	9960
actccagaaa cccgcggctg agtggctcct tcaatcgttg cggttctgtc agttccaaac	10020
gtaaaacggc ttgtcccgcg tcatcggcgg gggtcataac gtgactcctt taattctcgc	10080
ctcatgatcc ccgggtaccg agctcgaatt gcggtgagtg ggctccttca atcgttgcgg	10140
ttctgtcagt tccaaacgta aaacggcttg tcccgcgtca tcggcggggg tcataacgtg	10200
actcccttaa ttctccgctc atgatcttga tcccctgcgc catcagatcc ttggcggcaa	10260
gaaagccatc cagtttactt tgcagggtct cccaacctta ccagaggcgc cccagctgg	10320
caattccggt tcgcttgctg tatcgatatg gtggatttat cacaaatggg acccgccgcc	10380
gacagaggtg tgatgttagg ccaggacttt gaaaatttgc gcaactatcg tatagtggcc	10440
gacaaattga cgcgagttg acagactgcc tagcatttga gtgaattatg tgaggtaatg	10500
ggctacactg aattggtagc tcaaactgtc agtatattatg tatatgagtg tatattttcg	10560
cataatctca gaccaatctg aagatgaaat gggatatctg gaatggcgaa atcaaggcat	10620
cgatcgtgaa gtttctcatc taagccccca tttggacgtg aatgtagaca cgtcgaaata	10680
aagatttccg aattagaata atttgtttat tgccttcgcc tataaatacg acggatcgta	10740
at ttgtcgtt ttatcaaaat gtactttcat ttataataa cgctgcggac atctacattt	10800
ttgaattgaa aaaaaattgg taattactct ttctttttct ccatattgac catcactc	10860
attgctgate catgtagatt tcccggacat gaagccattt acaattgaat atactctgcc	10920
gccgtgcgcg ctttgcaccc ggtggagctt gcatgttggt ttctacgcag aactgagccg	10980
gttaggcaga taatttccat tgagaactga gccatgtgca ccttcccccc aacacggtga	11040
gcgacggggc aacggagtga tccacatggg actttttaaac atcatccgtc ggatggcggt	11100
gcgagagaag cagtcgatcc gtgagatcag ccgacgcacc gggcaggcgc gcaacacgat	11160
cgcaaagtat ttgaacgcag gtacaatcga gcgacgttc accgtcaccg tggatgctgt	11220

[0008]

aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga	11280
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agegetatat gcgttgatgc aattttctatg	11340
cgcacccggt cteggagcac tgcgcgaccg ctttggcgcg cgcacagtc tgcctccttc	11400
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acacccgctc tgttggtccaa	11460
ccccctcgct gctatagtgc agtcggcttc tgacgttcag tgcagccgctc ttctgaaaac	11520
gacatgtcgc acaagtcta agttacgcga caggctgccg cctgcccctt ttctggcgt	11580
tttcttgctc cgtgttttag tcgcataaag tagaatactt gcgactagaa ccggagacat	11640
tacgccatga acaagagcgc cgcgcgtggc ctgctgggct atgcccgcgt cagcacgcac	11700
gaccaggact tgaccaacca acgggcgcga ctgcacgcgg ccggtgcac caagctgttt	11760
tccgagaaga tcaccggcac caggcgcgac cgcgcggagc tggccaggat gcttgaccac	11820
ctaagccctg gcgacgttgt gacagtgcac aggctagacc gcctggcccg cagcacccgc	11880
gacctactgg acattgcga gcgcattcag gaggcggcg cgggcctgcg tagcctggca	11940
gagccgtggg ccgacaccac cagcccgcc ggccgcattg tgttgaccgt gttcccggc	12000
attgccgagt tcgagcgttc cctaatacgc gacgcaccc ggagcggcg cgaggccgc	12060
aaggcccgag gcgtgaagtt tggcccccgc cctaccctca ccccggcaca gatcgcgcac	12120
gcccgcgagc tgatcgacca ggaaggcgc accgtgaaag aggcggctgc actgcttggc	12180
gtgcatcgct cgacctgta ccgcgcactt gagcgcagcg aggaagtgc gccaccgag	12240
gccaggcggc gcggtgcctt ccgtgaggac gcattgaccg aggcgcagc cctggcgcc	12300
gccgagaatg aacgccaaga ggaacaagca tgaaaccgca ccaggacggc caggacgaac	12360
cgtttttcat taccgaagag atcgaggcgg agatgatgc gcccggtac gtgttcgagc	12420
cgcgcgcga cgtctcaacc gtgcggctgc atgaaatcct gcccggttg ttgatgcca	12480
agctggcggc ctggccggcc agcttgccg ctgaagaaac cgagcgcgc cgtctaaaaa	12540
ggtgatgtgt atttgagtaa aacagcttgc gtcattcggt cgtgcgtat atgatgcgt	12600
gagtaaataa acaatacgc aagggaacgc atgaagttat cgtgtactt aaccagaaag	12660
gcgggtcagg caagacgacc atcgcaaccc atctagcccg cgcctgcaa ctgcggggg	12720
ccgatgttct gttagtcat tccgatcccc agggcagtc cgcgattgg gcggccgtgc	12780
gggaagatca accgctaacc gttgtcggca tcgaccgcc gacgattgac cgcgacgtga	12840
aggccatcgg ccggcgcgac ttctagtga tcgacggagc gcccaggcg gcggacttgg	12900
ctgtgtcgc gatcaaggca gcgacttgc tctgattcc ggtgcagcca agcccttacg	12960

[0009]

acatatgggc caccgcgcac ctggtggagc tggttaagca gcgcattgag gtcacggatg	13020
gaaggctaca agcggccttt gtctgtctgc gggcgatcaa aggcacgcgc atcggcgggtg	13080
agggttgcga ggcgtggcc gggtaacgagc tgccattct ttagtccgt atcacgcagc	13140
gcgtgagcta cccaggcact gccgcgcgc gcacaaccgt tcttgaatca gaacccgagg	13200
gcgacgctgc ccgcgaggtc caggcgttg ccgctgaaat taaatcaaaa ctcatattgag	13260
ttaatgaggt aaagagaaaa tgagcaaaag cacaacacg ctaagtgcgc gccgtccgag	13320
cgcacgcagc agcaaggctg caacgtttgc cagcctggca gacacgccag ccatgaagcg	13380
ggtcaacttt cagttgcgcg eggaggatca caccaagctg aagatgtacg cggtagcca	13440
aggcaagacc attaccgagc tgctatctga atacatcgcg cagctaccag agtaaattgag	13500
caaatgaata aatgagtaga tgaattttag cggctaaagg aggcggcatg gaaaatcaag	13560
aacaaccagg caccgacgcc gtggaatgcc ccatgtgtgg aggaacgggc ggttggccag	13620
gcgtaagcgg ctgggttctc tgccggccct gcaatggcac tggaaacccc aagcccagg	13680
aatcggcgtg agcggtcgca aaccatccgg ccggtacaa atcggcgcgc gcctgggtga	13740
tgacctggtg gagaagttga aggcgcgcga ggccgccag cggcaacgca tcgaggcaga	13800
agcacgcccc ggtgaatcgt ggcaagcggc cgtgatoga atccgcaaag aatcccggca	13860
accgcggca gccggtgcgc cgtcgattag gaagccgcc aaggcgacg agcaaccaga	13920
tttttctgtt ccgatctct atgacgtggg caccgcgat agtcgcagca tcatggacgt	13980
ggccgttttc cgtctgtcga agcgtgaccg acgagctggc gaggtgatcc gctacgagct	14040
tccagacggg cacgtagagg tttccgcagg gccggccggc atggccagtg tgtgggatta	14100
cgacctggtg ctgatggcgc tttcccatct aaccgaatcc atgaaccgat accgggaagg	14160
gaaggagac aagcccgccc gcgtgttcg tccacacgtt gcggacgtac tcaagttctg	14220
ccggcgagcc gatggcggaa agcagaaaga cgacctggtg gaaacctgca ttcggttaaa	14280
caccacgcac gttgccatgc agcgtacgaa gaaggccaag aacggccgcc tggtagcgtt	14340
atccgagggt gaagccttga ttagccgcta caagatcgtg aagagcgaaa ccgggcggcc	14400
ggagtacatc gagatcgagc tagctgattg gatgtaccgc gagatcacag aaggcaagaa	14460
cccggaactg ctgacggttc accccgatta ctttttgatc gatcccgca tcggccgttt	14520
tctctaccgc ctggcacgcc gcgcgcagg caaggcagaa gccagatggt tgttcaagac	14580
gatctacgaa cgcagtggca gcgcgggaga gttcaagaag ttctgtttca ccgtgcgcaa	14640
gctgacggg tcaaatgacc tgccggagta cgatttgaag gaggaggcgc ggcaggctgg	14700

[0010]

cccgatccta gtcatgcgct accgcaacct gatcgagggc gaagcatccg ccggttccta	14760
atgtacggag cagatgctag ggcaattgc cctagcaggg gaaaaaggtc gaaaaggctc	14820
ctttcctgtg gatagcacgt acattgggaa cccaaagcog tacattggga accggaaccc	14880
gtacattggg aacccaaage cgtacattgg gaaccggta cacatgtaag tgactgatat	14940
aaaagagaaa aaaggcgatt ttccgccta aaactcttta aaacttatta aaactcttaa	15000
aaccgcctg gcctgtgcat aactgtctgg ccagcgaca gccgaagagc tgcaaaaagc	15060
gcctaccctt cggtcgctgc gtcacctacg ccccgccgct tcgctcggc ctatcgcggc	15120
cgttgccgc tcaaaaatgg ctggcctacg gccaggcaat ctaccagggc ggggacaagc	15180
cgcgcgctg ccactcgacc gccggcgccc acatcaagge accctgcctc gcgcgtttcg	15240
gtgatgaagg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt	15300
aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcggtgtc	15360
ggggcgacg catgaccag tcacgtagcg atagcggagt gtatactggc ttaactatgc	15420
ggcatcagag cagattgtac tgagagtgc ccatatcgcg tgtgaaatac cgcacagatg	15480
cgtaaaggaga aaataccgca tcaggcgctc ttcgcttcc tcgctcactg actcgtcgc	15540
ctcggtcgtt cggctcggc gagcgtatc agctcactca aaggcggtaa tacggttacc	15600
cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag	15660
gaaccgtaaa aaggcccgct tgctggcggt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca	15720
tcacaaaaat cgacgtcaa gtcagagggt gcgaaccog acaggactat aaagatacca	15780
ggcgtttccc cctggaagct cctcgtgcg ctctcctgtt ccgacctgc cgttaccgg	15840
atacctgtcc gcctttctcc ctccgggaag cgtggcgctt tctcatagct cacgtgtag	15900
gtatctcagt tcgggtgtagg tcgttcgctc caagctgggc tgtgtgcacg aacccccgt	15960
tcagcccgac cgtcgcgct tatccggtaa ctatcgtctt gagtccaacc cggtaagaca	16020
cgacttatcg ccactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg	16080
cgggtctaca gagttcttga agtgggtggc taactacggc tacactagaa ggacagtatt	16140
tggtatctgc gctctgctga agccagttac ctccgaaaa agagttggta gctcttgatc	16200
cggcaaaaa accaccgctg gtagcggigg ttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg	16260
cagaaaaaaa ggatctcaag aagatccttt gatcttttct acggggtctg acgtcagtg	16320
gaacgaaaac tcacgttaag ggattttgt catgagatta tcaaaaagga tcttcacct	16380
gatcctttta aattaaaaat gaagttttta atcaatctaa agtatatatg agtaaacttg	16440

[0011]

gtctgacagt taccaatgct taatcagtga ggcacctatc tcagcgatct gtctatttcg	16500
ttcatccata gttgectgac tccccgtcgt gtagataact acgatacggg agggettacc	16560
atctggcccc agtgetgcaa tgataccgcg agacccacgc tcaccggetc cagattttatc	16620
agcaataaac cagccagccg gaagggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc	16680
ctccatccag tctattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc cagttaatag	16740
tttgcgcaac gttgttgcca ttgtacagg catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggtat	16800
ggcttcattc agctccggtt cccaacgata aaggcgagtt acatgatecc ccatgttggtg	16860
caaaaaagcg gttagctcct tcggtcctcc gatcgttgte agaagtaagt tggccgcagt	16920
gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt actgtcatgc catccgtaag	16980
atgcittttct gtgaactggg agtactcaac caagtcattc tgagaatagt gtatgcggcg	17040
accgagttgc tcttgcccgg cgtcaacacg ggataatacc gcgccacata gcagaacttt	17100
aaaagtgtc atcattggaa aagacctgca gggggggggg ggaaagccac gttgtgtctc	17160
aaaatctctg atgttacatt gcacaagata aaaatatatc atcatgaaca ataaaactgt	17220
ctgcttacat aaacagtaat acaaggggtg ttatgagcca tattcaacgg gaaacgtctt	17280
gtcgcaggcc gcgattaaat tccaacatgg atgctgattt atatgggtat aaatgggctc	17340
gcgataatgt cgggcaatca ggtgcgacaa tctatcgatt gtatgggaag cccgatgcgc	17400
cagagttggt tctgaaacat ggcaaaggta gcgttgccaa tgatgttaca gatgagatgg	17460
tcagactaaa ctggctgacg gaatttatgc ctcttcgcac catcaagcat tttatccgta	17520
ctcctgatga tgcattggtta ctccacctg cgatccccgg gaaaacagca ttccaggtat	17580
tagaagaata tctgattca ggtgaaaata ttgttgatgc gctggcagtg ttccctgcgc	17640
ggttgcatte gattcctgtt tgtaattgtc cttttaacag cgatcgcgta ttctgtctcg	17700
ctcaggcgca atcacgaatg aataacggtt tggttgatgc gagtgatttt gatgacgagc	17760
gtaatggetg gcctgttgaa caagtctgga aagaaatgca taagcttttg ccattctcac	17820
cggattcagt cgtcactcat ggtgatttct cacttgataa ccttatTTTT gacgagggga	17880
aattaatagg ttgtattgat gttggacgag tcggaatcgc agaccgatac caggatcttg	17940
ccatcctatg gaactgcctc ggtgagtttt ctcttcatt acagaaacgg ctttttcaaa	18000
aatatggtat tgataatcct gatatgaata aattgcagtt tcatttgatg ctogatgagt	18060
ttttctaate agaattggtt aattggttgt aacactggca gagcattacg ctgacttgac	18120
gggacggcgg ctttgttgaa taaatcgaac ttttctgag ttgaaggatc agatcacgca	18180

[0012]

tcttcccgac aacgcagacc gtccgtggc aaagcaaaag ttcaaaatca ccaactggtc	18240
cacctacaac aaagctctca tcaaccgtgg ctcctcaact ttctggctgg atgatggggc	18300
gattcaggcc tggatgagt cagcaacacc ttcttcacga ggcagacctc agcgcccccc	18360
ccccctgca ggtcaattcg gtgatatgg ctattacgaa gaaggctcgt gcgcggagtc	18420
cctgaactt tcccacgcaa caagtgaacc gcaccgggtt tgccggaggc catttcgtta	18480
aaatgcgcag c	18491

<210> 2

<211> 4291

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Gateway 供体载体 pDONR-Zeo

<400> 2

ctttcctgcg ttatccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga	60
taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga	120
gcgccaata cgcaaaccgc ctctccccgc gcgttgcccg attcattaat gcagctggca	180
cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaata cgcgtaccgc	240
tagccaggaa gagttttag aaacgcaaaa aggccatccg tcaggatggc cttctgtta	300
gtttgatgcc tggcagttta tggcgggcgt cctgcccgc accctccggg ccgttgcttc	360
acaacgttca aatccgctcc cggcggattt gtcctactca ggagagcggt caccgacaaa	420
caacagataa aacgaaagge ccagtcttcc gactgagcct ttcgttttat ttgatgcctg	480
gcagttccct actctcgcgt taacgctagc atggatgttt tccagtcac gacgttgtaa	540
aacgacggcc agtcttaagc tcgggcccc aataatgatt ttattttgac tgatagtac	600
ctgttcgttg caacacattg atgagcaatg cttttttata atgccaactt tgtacaaaaa	660
agctgaacga gaaacgtaaa atgatataaa tatcaatata ttaaattaga ttttgcataa	720
aaaacagact acataatact gtaaacaca acatatccag tcactatgaa tcaactactt	780
agatgggtatt agtgacctgt agtcgaccga cagccttcca aatgtttctt cgggtgatgt	840
gccaacttag tcgaccgaca gccttccaaa tgttcttctc aaacggaatc gtctatcca	900
gcctactcgc tattgtcttc aatgccgtat taaatcataa aaagaaataa gaaaaagagg	960
tgcgagcctc ttttttgtgt gacaaaataa aaacatctac ctattcatac acgctagtgt	1020
catagtccgt aaaatcatct gcatcaagaa caatttcaca actcttatac ttttctctta	1080

[0013]

caagtcgttc ggcttcatct ggattttcag cctctatact tactaaacgt gataaagttt	1140
ctgtaatttc tactgtatcg acctgcagac tggtgtgtga taaggagacc tgacatttat	1200
attccccaga acatcagggt aatggcggtt ttgatgtcat ttctcggtg gctgagatca	1260
gccacttett ccccgataac ggagaccggc aactggcca tatcggtggt catcatgcgc	1320
cagctttcat cccgatatg caccaccggg taaagttcac gggagacttt atctgacagc	1380
agacgtgcac tggccagggg gatcaccatc cgtcgccgg gcgtgtcaat aatatcactc	1440
tgtacatcca caaacagacg ataacggctc tctcttttat aggtgtaaac cttaaactgc	1500
atttcaccag cccctgttct cgtcagcaaa agagccgttc attcaataa accgggogac	1560
ctcagccatc ccttctgat ttctcgctt ccagcgttcg gcacgcagac gacgggcttc	1620
attctgcatg gttgtgtta ccagaccgga gatattgaca tcatatatgc cttgagcaac	1680
tgatagctgt cgtgtcaac tgtcactgta atacgtgtc tcatagcata cctcttttg	1740
acatacttcg ggtatacata tcagtatata ttcttatacc gcaaaaatca gcgcgcaaat	1800
acgcatactg ttatctggt ttagtaagc cggatccacg cggcgtttac gccccgcct	1860
gccactcatc gcagtactgt tgtaattcat taagcattct gcgcacatgg aagccatcac	1920
agacggcatg atgaacctga atcgccagcg gcacagcac cttgtgcct tgcgtataat	1980
atttgcctat ggtgaaaacg ggggogaaga agttgtccat attggccacg tttaaataca	2040
aactggtgaa actcaccag ggattggctg agacgaaaa catattctca ataaaccctt	2100
tagggaaata ggccaggtt tcaccgtaac acgccacatc ttgcgaatat atgtgtagaa	2160
actgccgga atcgtcgtgg tttcactcc agagcgatga aaacgtttca gtttgctcat	2220
ggaaaacggt gtaacaagg tgaacactat cccatatac cagctcacg tctttcattg	2280
ccatacggaa ttccgatga gcattcatca ggccggcaag aatgtgaata aaggccggat	2340
aaaacttgtg cttatttttc tttacggtct ttaaaaagc cgtaatatcc agctgaacgg	2400
tctggttata ggtacattga gcaactgact gaaatgcctc aaaatgttct ttacgatgcc	2460
attgggatat atcaacggtg gtatatccag tgattttttt ctccatttta gcttccttag	2520
ctcctgaaaa tctcgataac tcaaaaaata cgcgcggtag tgatcttatt tcattatggt	2580
gaaagttgga acctcttacg tgccgatcaa cgtctcattt tcgcaaaag ttggcccagg	2640
gcttcccggt atcaacaggg acaccaggat ttattttatc tgcaagtga tcttcgtca	2700
caggatatta ttggcgcaa agtgcgtcgg gtgatgtgc caacttagtc gactacaggt	2760
cactaatacc atctaagtag ttgattcata gtgactggat atgttgtgtt ttacagtatt	2820

[0014]

```

atgtagtctg ttttttatgc aaaatcetaat ttaatatatt gatatttata tcattttacg      2880
ttttctgttc agctttcttg tacaaagttg gcattataag aaagcattgc ttatcaattt      2940
gttgcaacga acaggtcact atcagtcaaa ataaaatcat tatttgccat ccagctgata      3000
tcccctatag tgagtcgtat tacatggtea tagctgtttc ctggcagctc tggcccggtg      3060
ctcaaaatct ctgatgttac attgcacaag ataaaataat atcatcatga tcagtcctgc      3120
tcctcggcca cgaagtgcac gcagttgccg gccgggtcgc gcagggcgaa ctcccgcgcc      3180
cacggtgct cgcgatctc ggatcatggc gccccggagg cgtcccgaa gtctgtggac      3240
acgacctccg accactcggc gtacagctcg tccaggccgc gcacccacac ccaggccagg      3300
gtgttgctcg gcaccacctg gtcctggacc gcgtgatga acagggtcac gtcgtcccg      3360
accacaccgg cgaagtctc ctccacgaag tcccgggaga acccgagccg gtccgtccag      3420
aactcgaccg ctccggcgac gtccgcgcgc gtgagcaccg gaacggcact ggtcaacttg      3480
gccatggttt agttcctcac cttgtcgtat tatactatgc cgatatacta tgccgatgat      3540
taattgtcaa cagtgctga tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagttac gcgtcgttc      3600
actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct tttttctgc      3660
gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgtacc agcgttggtt tgtttgcgg      3720
atcaagagct accaactctt ttccgaagg taactggctt cagcagagcg cagataccaa      3780
atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct gtagcaccgc      3840
ctacatacct cgtctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtgc gataagtgt      3900
gtcttacccg gttggactca agacgatagt taccggataa ggccgcagcg tcgggctgaa      3960
cgggggggtc gtgcacacag cccagcttg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc      4020
tacagcgtga gctatgagaa agcgcacgc ttccgaagg gagaaaggcg gacaggtatc      4080
cggtaaagcg cagggtcgga acaggagagc gcacgagga gcttcagggg ggaaacgcct      4140
ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga ttttgtgat      4200
gtcgtcagg ggggaggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt ttacggttc      4260
tggccttttg ctggcctttt gtcacatgt t      4291

```

<210> 3

<211> 4762

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Gateway 供体载体 pDONR221

[0015]

<400> 3	
ctttcctgcg ttatccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg agtgagctga	60
taccgctgcg cgcagccgaa cgacogagcg cagcgagtca gtgagcgagg aagcggaaga	120
gcgcccataa cgcaaacgc ctctccccgc gogttggcgg attcattaat gcagctggca	180
cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaata cgcgtaccgc	240
tagccaggaa gagttttag aaacgcaaaa aggccatccg tcaggatggc cttctgctta	300
gtttgatgcc tggcagtta tggcgggggt cctgccccgc accctccggg cgtttgcttc	360
acaacgttca aatccgctcc cggcggattt gtctactca ggagagcgtt caccgacaaa	420
caacagataa aacgaaaggc ccagtcttcc gactgagcct ttctgtttat ttgatgcctg	480
gcagttccct actctcggt taacgctagc atggatgttt tcccagtcac gacgttgtaa	540
aacgacggcc agtcttaagc tcgggcccc aataatgatt ttattttgac tgatagtgc	600
ctgttcgttg caacacattg atgagcaatg cttttttata atgccaactt tgtacaaaaa	660
agctgaacga gaaacgtaaa atgatataaa tatcaatata tttaaattaga ttttgcataa	720
aaaacagact acataatact gtaaaacaca acatatccag tcaactatgaa tcaactactt	780
agatgggtatt agtgacctgt agtcgaccga cagccttcca aatgtttcttc gggatgatgc	840
gccaaacttag tcgaccgaca gccttccaaa tgtttctctc aaacggaatc gtctgtatcca	900
gcctactgcg tattgtctctc aatgcggtat taaatcataa aaagaaataa gaaaaagagg	960
tgcgagcctc ttttttgtgt gacaaaataa aaacatctac ctattcatat acgctagtgt	1020
catagtccctg aaaatcatct gcataagaa caatttcaca actcttatac tttctcttta	1080
caagtcgttc ggcttcatct ggattttcag cctctatact tactaaacgt gataaagttt	1140
ctgtaatttc tactgtatcg acctgcagac tggtgtgta taaggagacc tgacatttat	1200
attccccaga acatcaggtt aatggcgttt ttgatgtcat ttctcggtg gctgagatca	1260
gccacttctt ccccgataac ggagaccggc aactggcca tatcggtggt catcatgcgc	1320
cagctttcat cccgatatg caccaccggg taaagttcac gggagacttt atctgacagc	1380
agacgtgcac tggccagggg gatcaccatc cgtcgccgg gcgtgtcaat aatatcactc	1440
tgtacatcca caaacagacg ataacggctc tctcttttat aggtgtaaac cttaaactgc	1500
atttcaccag cccctgttct cgtcagcaaa agagccgttc atttcaataa accggggcagc	1560
ctcagccatc cttctgat tttccgttt ccagcgttcg gcacgcagac gacgggcttc	1620
attctgcatg gttgtgctta ccagaccgga gatattgaca tcatatatgc cttgagcaac	1680

[0016]

tgatagctgt cgctgtcaac tgctactgta atacgtctgt tcatagcata cctctttttg	1740
acatacttcg ggtatacata tcagtatata ttcttataacc gcaaaaatca gcgcgcaaat	1800
acgcatactg ttatctggct tttagtaagc cggatccacg cggcgtttac gccccgcct	1860
gccactcacc gcagtactgt tgtaattcat taagcattct gccgacatgg aagccatcac	1920
agacggcatg atgaacctga atcgccagcg gcacagcac cttgtgcct tgcgtataat	1980
atttgcccat ggtgaaaacg ggggcgaaga agttgtccat attggccacg tttaaataaa	2040
aactggtgaa actcaccacg ggattggctg agacgaaaaa catattctca ataaaccctt	2100
tagggaaata ggccagggtt tcaccgtaac acgccacatc ttgcgaatat atgtgtagaa	2160
actgccggaa atcgtcgtgg tattcactcc agagcgatga aaacgtttca gtttgcctcat	2220
ggaaaacggt gtaacaaggg tgaacactat cccatatacc cagctcaccg tctttcattg	2280
ccatacggaa ttccggatga gcattcatca ggcgggcaag aatgtgaata aaggccggat	2340
aaaacttgtg cttatttttc tttacggctc ttaaaaaggc cgtaatatcc agctgaacgg	2400
tctgggtata ggtacattga gcaactgact gaaatgcctc aaaatgttct ttacgatgcc	2460
attgggatat atcaacggtg gtatatccag tgattttttt ctccatttta gcttccttag	2520
ctcctgaaaa tctcgataac tcaaaaaata cgcgccgtag tgatcttatt tcattatggt	2580
gaaagttgga acctcttaag tgcgatcaa cgtctcattt tcgccaaaag ttggcccagg	2640
gcttcccgtg atcaacaggg acaccaggat ttattttatc tgcgaagtga tcttccgtca	2700
caggatattt ttgcgcgcaa agtgcgctgg gtgatgtgc caacttagtc gactacaggt	2760
cactaatacc atctaagtag ttgattcata gtgactggat atgttgtgtt ttacagtatt	2820
atgtagcttg ttttttatgc aaaatctaata ttaatatatt gatatttata tcattttaag	2880
tttctcgttc agctttcttg tacaagttg gcattataag aaagcattgc ttatcaattt	2940
gttgcaacga acaggtcact atcagtcaaa ataaaatcat tatttgccat ccagctgata	3000
tcccctatag tgagtcgtat tacatgggtc tagctgtttc ctggcagctc tggcccgtgt	3060
ctcaaaatct ctgatgttac attgcacaag ataaaataat atcatcatga acaataaaac	3120
tgtctgctta cataaacagt aatacaaggg gtgttatgag ccatattcaa cgggaaacgt	3180
cgaggccgcg attaaattcc aacatggatg ctgatttata tgggtataaa tgggctcgcg	3240
ataatgtcgg gcaatcaggt gcgacaatct atcgtttgta tgggaagccc gatgcgccg	3300
agttgtttct gaaacatggc aaaggtagcg ttccaatga tgttacagat gagatgggtca	3360
gactaaactg gctgacggaa tttatgcctc ttccgaccat caagcatttt atccgtactc	3420

[0017]

ctgatgatgc atggttactc accactgcga tccccggaaa aacagcattc caggtattag	3480
aagaatatcc tgattcaggt gaaaatattg ttgatgogct ggcagtggtc ctgcgccggt	3540
tgcattcgat tctgtttgt aattgtcett ttaacagcga tcgcgtatct cgtctcgctc	3600
aggcgcaatc acgaatgaat aacggtttgg ttgatgcgag tgattttgat gacgagcgta	3660
atggctggcc tgttgaacaa gtctggaaag aaatgcataa acttttgcca ttctcacggg	3720
attcagtcgt cactcatggt gatttctcac ttgataacct tatttttgac gaggggaaat	3780
taataggttg tattgatgtt ggacgagtcg gaatgcaga ccgataccag gatcttgcca	3840
tcctatggaa ctgcctcggt gagttttctc cttcattaca gaaacggctt ttcaaaaaat	3900
atggtattga taatcctgat atgaataaat tgcagtttca tttgatgctc gatgagtttt	3960
tetaatcaga attggttaat tggttgtaac actggcagag cattacgctg acttgacggg	4020
acggcgcaag ctcatgacca aaatccctta acgtgagtta cgcgtcgttc cactgagcgt	4080
cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct	4140
gtgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcgggtgt ttgtttgccg gatcaagagc	4200
taccaactct ttttcogaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgttc	4260
ttctagtgtg gcgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc	4320
tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttacgg	4380
ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggtt	4440
cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga cctacacga actgagatac ctacagcgtg	4500
agctatgaga aagcgccacg cttccogaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggttaagcg	4560
gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttcacgg gggaaacgcc tggatatctt	4620
atagtccctgt cgggtttcgc cactctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgcctgtcag	4680
gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcgcctt ttacgggttc ctggcctttt	4740
gtgggccttt tgcacacatg tt	4762

<210> 4

<211> 16843

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于拟南芥属的 pBC-yellow 目的载体

<400> 4

ccgggctggt tgcctcgcc gctgggctgg cggcgtcta tggcctgca aacgcgccag

60

[0018]

aaacgcgcgc gaagccgtgt gcgagacacc gcggccgcgc gcgtttgtgga tacctcgcgc	120
aaaaattggc cctcactgac agatgagggg cggacgttga cacttgaggg gccgactcac	180
ccggcgcgcgc gttgacagat gaggggcagg ctgcatttgc gccggcgacg tggagctggc	240
cagcctcgca aatcggcgaa aacgcctgat ttacgcgag ttccacag atgatgtgga	300
caagcctggg gataagtgc ctgcgttatt gacacttgag gggcgcgact actgacagat	360
gagggcgcg atccttgaca cttgaggggc agagtgtga cagatgaggg gcgcacctat	420
tgacatttga gggcgtgtcc acaggcagaa aatccagcat ttgcaagggt ttcgcgcgt	480
ttttcggcca ccgctaacct gtcttttaac ctgcttttaa accaatattt ataaaccttg	540
tttttaacca gggtgcgcgc ctgtgcgcgt gaccgcgcac gccgaagggg ggtgcccccc	600
cttctcgaa cctcccgccc cgctaaccgc gccctcccat cccccaggg gctgcgcgcc	660
tcggcgcgca acggcctcac cccaaaaatg gcagcgttg cagtccttgc cattgcggg	720
atcggggcag taacgggatg ggcgatcgc ccgagcgcga cgcgcggaag cattgacgtg	780
cgcaggtgc tggcatcgc attcagcgc caggtgcgcg gcagtgaggg cggcggcctg	840
ggtggcggcc tgcccttcac ttcggcgcgc ggggcattca cggacttcat ggcggggcgc	900
gcaattttta ccttgggcat tcttggcata gtggtcgcgc gtgcgcgtgt cgtgttcggg	960
ggtgcgataa acccagcgaa ccatttgagg tgataggtaa gattataccg aggtatgaaa	1020
acgagaattg gacctttaca gaattactct atgaagcgc atatttataa agctaccaag	1080
acgaagagga tgaagaggat gaggaggcag attgccttga atatattgac aatactgata	1140
agataatata tcttttatat agaagatata gccgtatgta aggatttcag ggggcaaggc	1200
ataggcagcg cgttatcaa tatactata gaatgggcaa agcataaaaa cttgcatgga	1260
ctaattgctg aaaccagga caataacctt atagcttgta aattctatca taattgggta	1320
atgactccaa cttattgata gtgttttatg ttcagataat gccgatgac tttgtcatgc	1380
agctccaccg attttgagaa cgacagcgc ttcgcgccca gccgtgccag gtgctgcctc	1440
agattcaggt tatgcgcgc aattcgcgc gtatatcgt tgcgtattac gtgcagcttt	1500
cccttcaggc gggattcata cagcggccag ccatccgtca tccatatac cagtcaaag	1560
ggtgacagca ggctcataag acgccccagc gtgcctatag tgcgttcacc gaatacgtgc	1620
gcaacaaccg tcttcggag actgtcatac gcgtaaaaca gccagcgtg gcgcgattta	1680
gccccgacat agccccactg ttcgtccatt tcgcgcgaga cgatgacgc actgccccgc	1740
tgtatgcgcg aggttaccga ctgcggcctg agttttttaa gtgacgtaaa atcgtgttga	1800

[0019]

ggccaacgcc cataatgcgg gctgttgccc ggcatccaac gccattcatg gccatatcaa	1860
tgatttttctg gtgcgtaccg ggttgagaag cgggtgtaagt gaactgcagt tgccatgttt	1920
tacggcagtg agagcagaga tagcgtgat gtccggcggg gcttttgccg ttacgcacca	1980
ccccgtcagt agctgaacag gagggacagc tgatagacac agaagccact ggagcacctc	2040
aaaaacacca tcatacacta aatcagtaag ttggcagcat caccataat tgttggtttca	2100
aaatcggctc cgctgatact atgttatacg ccaactttga aaacaacttt gaaaaagctg	2160
ttttctggta ttttaagttt tagaatgcaa ggaacagtga attggagtgc gtcttgttat	2220
aattagcttc ttgggggtatc tttaaatact gtagaaaaga ggaaggaaat aataaatggc	2280
taaaatgaga atatcacccg aattgaaaaa actgatcgaa aaataccgct gcgtaaaaga	2340
tacggaagga atgtctctcg ctaaggtata taagctggcg ggagaaaatg aaacctata	2400
tttaaaaatg acggacagcc ggtataaagg gaccacctat gatgtggaac gggaaaagga	2460
catgatgcta tggctggaag gaaagctgcc tgttccaaag gtcctgcact ttgaacggca	2520
tgatggctgg agcaatctgc tcatgagtga ggccgatggc gtcctttgct cggaagagta	2580
tgaagatgaa caaagccctg aaaagattat cgagctgtat ggggagtgc tcaagctott	2640
tcactccatc gacatatcgg attgtcccta tacgaatagc ttagacagcc gcttagccga	2700
attggattac ttactgaata acgatctggc cgatgtggat tgcgaaaact gggaagaaga	2760
cactccattt aaagatccgc gcgagctgta tgatttttta aagacggaaa agcccgaaga	2820
ggaacttgtc ttttcccacg gcgacctggg agacagcaac atctttgtga aagatggcaa	2880
agtaagtggc ttatttgatc ttgggagaag cggcagggcg gacaagtgg atgacattgc	2940
cttctgcgtc cggctgatca gggaggatat cggggaagaa cagtatgtcg agctatttt	3000
tgaactactg gggatcaagc ctgattggga gaaaataaaa tattatattt tactggatga	3060
attgttttag tacctagatg tggcgcaacg atgccggcga caagcaggag cgcaccgact	3120
tcttcgcgat caagtgtttt ggctctcagg ccgaggccca cggcaagtat ttgggcaagg	3180
ggctcgtggg attcgtgcag ggcaagattc ggaataccaa gtacgagaag gacggccaga	3240
cggctctacgg gaccgacttc attgccgata aggtggatta tctggacacc aaggcaccag	3300
gcgggtcaaa tcaggaataa gggcacattg ccccgccgtg agtcggggca atcccgaag	3360
gagggtgaat gaatcggacg tttagaccga aggcatacag gcaagaactg atcgacgcgg	3420
ggttttccgc cgaggatgcc gaaaccatcg caagccgcac cgtcatgcgt gcgccccgcg	3480
aaaccttcca gtccgtcggc tcgatgggtcc agcaagctac ggccaagatc gagcgcgaca	3540

[0020]

gogtgcaact ggctccccct gccctgcccg cgcacatoggc cgcogtgagg cgttcogctc	3600
gtctcgaaca ggaggcggca ggtttggcga agtcgatgac catcgacacg cgaggaacta	3660
tgacgaccaa gaagcgaaaa accgccggcg aggacctggc aaaacaggtc agcgaggcca	3720
agcaggccgc gttgctgaaa cacacgaagc agcagatcaa ggaaatgcag ctttccttgt	3780
tcgatattgc gccgtggcgc gacacgatgc gagcgatgcc aaacgacacg gcccgctctg	3840
ccctgttcac cacgcgcaac aagaaaatcc cgcgcgagge gctgcaaaac aaggtcattt	3900
tccacgtcaa caaggacgtg aagatcacct acaccggcgt cgagctgogg gccgacgatg	3960
acgaactggt gtggcagcag gtgttgaggt acgcgaagcg caccctatc ggcgagccga	4020
tcaccttcac gttctacgag ctttgccagg acctgggctg gtogatcaat ggccggtatt	4080
acacgaagcg cgaggaatgc ctgtcgcgc tacaggcgac ggcgatgggc ttacgctcgc	4140
accgcgttgg gcacctggaa tcgggtgtgc tgetgcaccg ctccgcgtc ctggaccgtg	4200
gcaagaaaac gtcccgctgc caggctcctga tcgacgagga aatcgctgtg ctgtttgtctg	4260
gggaccacta cgcgaaatc atatgggaga agtaccgcaa gctgtgcgcg accgcccagc	4320
ggatgttcga ctatttcagc tcgcaccggg agccgtaccg gctcaagctg gaaaccttc	4380
gcctcatgtg cggatcggat tcaccccgcg tgaagaagtg gcgcgagcag gtccggcgaag	4440
cctgcgaaga gttgcgagge agcggcctgg tggaacacgc ctgggtcaat gatgacctgg	4500
tgcattgcaa acgctagggc cttgtgggggt cagttccggc tgggggttca gcagccagcg	4560
ctttactggc atttcaggaa caagcgggca ctgctcgacg caettgcttc gctcagtatc	4620
gctcgggacg cagcgcgcg tctacgaact gccgataaac agaggattaa aattgacaat	4680
tgtgattaag gctcagattc gacggcttgg agcggccgac gtgcaggatt tccgcgagat	4740
ccgattgtcg gccctgaaga aagctccaga gatgttcggg tccgtttacg agcacgagga	4800
gaaaaagccc atggaggcgt tcgctgaacg gttgcgagat gccgtggcat tcggcgccca	4860
cacgacggc gagatcattg ggctgtcggc cttcaaacag gaggacggcc ccaaggacgc	4920
tcacaaggcg catctgtccg gcgttttcgt ggagcccgaa cagcgaggcc gaggggtcgc	4980
cggtatgtcg ctgcgggcgt tgccggcggg ttatttgcgc gtgatgatcg tccgacagat	5040
tccaacggga atctggtgga tgcgcattct cactctcggc gcacttaata ttctctatt	5100
ctggagcttg ttgtttattt cggctctacc cctgcggggc ggggtcgcgg cgacggtagg	5160
cgtgtgcag ccgctgatgg tcgtgttcat ctctgcgcgt ctgctaggta gcccgatacg	5220
attgatggcg gtcctggggg ctatttgcgg aactgcgggc gtggcgctgt tgggtgtgac	5280

[0021]

accaaaacgca gcgctagatc ctgtcggcgt cgcagcgggc ctggcggggg cggtttccat	5340
ggcgttcgga accgtgctga cccgcaagtg gcaacctccc gtgcctctgc tcacctttac	5400
cgcctggcaa ctggcggcog gaggacttct gctcgttcca gtagctttag tgtttgatcc	5460
gccaatcccg atgcctacag gaaccaatgt tctcggcctg gcgtggctcg gcctgatcgg	5520
agcgggttta acctacttcc tttggttccg ggggatctcg cgactcgaac ctacagttgt	5580
ttccttactg ggcttttctca gcccagatc tggggtcgat cagccgggga tgcatacaggc	5640
cgacagtcgg aacttcgggt ccccgacctg taccattcgg tgagcaatgg ataggggagt	5700
tgatatcgtc aacgttcaact tetaaagaaa tagegccact cagcttcctc agcggcttta	5760
tccagcgatt tctattatg tcggcatagt tctcaagatc gacagcctgt caccggttaag	5820
cgagaaatga ataagaagc tgataattcg gatctctgcg agggagatga tatttgatca	5880
caggcagcaa cgtctgtca tcgttacaat caacatgcta cctccgcga gatcatccgt	5940
gtttcaaacc cggcagctta gttgcggttc ttccgaatag catcggtaac atgagcaaag	6000
tctgcgcct tacaacggct ctcccgtga cgcgctccg gactgatggg ctgcctgtat	6060
cgagtgggta ttttgtccg agctgcgggt cggggagctg ttggetggct ggtggcagga	6120
tatatgtgg tgtaacaaa ttgacgctta gacaacttaa taacacattg cggacgtttt	6180
taatgtactg ggggtggttt tcttttccac agtgagacgg gcaacagctg attgcccttc	6240
accgcctggc cctgagagag ttgcagcaag cggtcacgc tggtttgccc cagcaggcga	6300
aaatcctgtt tgatggtggt tccgaaatcg gaaaaatccc ttataaatca aaagaatagc	6360
ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg	6420
actccaacgt caaagggcga aaaaccgtct atcagggcga tggcccacta cctgtatggo	6480
cgcattcgca aaacacacct agactagatt tgttttgcta acccaattga tattaattat	6540
atatgattaa tatttatatg tatatggatt tggttaatga aatgcatctg gttcatcaaa	6600
gaattataaa gacacgtgac attcatttag gataagaaat atggatgac tctttctctt	6660
ttattcagat aactagtaat tacacataac acacaacttt gatgccaca ttatagtgat	6720
tagcatgtca ctatgtgtgc atccttttat ttcatacatt aattaagttg gccaatccag	6780
aagatggaca agtctaggtt aacctgtgg tacctacgcg ttcgaaatgc catgggcgcg	6840
ttcaggccag ggcgctgggg aaggcgatgg cgtgctcggc cagctgccac ttctggttct	6900
tggcgtcgt cgggtectcc cgcagcagct tgtctggat gaagtgccac tcgggcattc	6960
tgttgggcac gctcttggcc ttgtacacgg tctgaactg gcaccggtac cggcgcgcgt	7020

[0022]

ccttcagcag caggtacatg ctcacgtcgc ccttcaggat gccctgctta ggcacgggca	7080
tgatcttctc gcagctggcc tcccagttgg tggatcatctt cttcatcacg gggccgtogg	7140
cggggaagtt cagccggttg aagatgctct tgtggtagat gcagttctcc ttcacgctca	7200
cgggtgatgtc caggttacag atgcacacgg cgcctcctc gaacaggaag ctccggcccc	7260
agggtgtagcc ggcggggcag ctgttcttga agtagtccac gatgtcctgg ggggtactcgg	7320
tgaagatccg gtgcgcgtac ttgaagccgg cgctcaggat gtccctcgtg aagggcaggg	7380
ggccgcctc gatcacgcac aggttgatgg tctgcttgcc cttgaagggg tagccgatgc	7440
cctcgccggt gatcacgaac ttgtggcgt tcacgcagcc ctccatgtgg tacttcatgg	7500
tcatctctc cttcaggccg tcttgcgtg gggccatggg ggcgaccggt gaattcgagc	7560
tcgggtaccg gggatcctga gtaaacaga ggagggtctc actaagtta tagagagact	7620
gagagagata aaggacacg tatgaagcgt ctgttttctg ggtgtgacgt caaagtcatt	7680
ttgctctcta cgcgtgtctg tgcggcttg atctttttt ttgcttttg gaactcatgt	7740
cggtagtata tcttttattt attttttctt tttttccctt ttctttcaa ctgatgtcgg	7800
tatgatattt attccatcct aaaatgtaac ttactattat tagtagtcgg tccatgtcta	7860
ttggcccatc atgtggatcat ttacgttta cgtcgtgtgg ctgtttatta taacaaacgg	7920
cacatccttc tcattcgaat tgtatttctc cttaatcgtt ctaataggtg tgatctttta	7980
ttttatacgt aaaattaaaa ttgaatgatg tcaagaacga aaattaattt gtatttaca	8040
aggagctaaa tattgtttat tcctctactg gtagaagata aaagaagtag atgaaataat	8100
gatcttacta gagaatatc ctcatttaca ctagtcaa at ggaaatcttg taaactttta	8160
caataattta tcctgaaaat atgaaaaaat agaagaaaat gtttacctcc tctctctct	8220
taattcacct acgatecgtg cgggcctctt cgtattacg ccagctggcg aaagggggat	8280
gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa	8340
cgaaggccag tgaattcgag ctccgtaccc ggggatcctc tagagtcgac ctgcaggcat	8400
gcaagcttgt tgaacatcc ctgaagtgtc tcattttatt ttattttatc ttgctgata	8460
aaaaaataaa ataaaagaag ctaagcacac ggtaaccat tgctctactg ctaaaagggt	8520
tatgtgtagt gttttactgc ataaattatg cagcaaaca gacaactcaa attaaaaaat	8580
ttcctttgct tgttttttg ttgtctctga ctgacttcc ttgtggaagt tggttgtata	8640
aggattggga cacaccattg tccttcttaa tttaatttta tttctttgct gataaaaaaa	8700
aaaaatttca tatagtgtta aataataatt tgtaaataa ccaaaaagtc aaatatgttt	8760

[0023]

actctcgttt aaataattga gagtcgtcca gcaaggetaa acgattgtat agatttatga	8820
caatatattac ttttttatag ataaatgta tattataata aatttatata catatattat	8880
atgttatitaa ttatttatta ttattttaaa tccttcaata ttttatcaaa ccaactcata	8940
atTTTTTTTT tatctgtaag aagcaataaa attaaataga cccactttta ggatgatcca	9000
acctttatac agagtaagag agttcaaata gtaccctttc atatacatat caactaaaat	9060
attagaaata tcatggatca aaccttataa agacattaaa taagtggata agtataatat	9120
ataaatgggt agtatataat atataaatgg atacaaactt ctctctttat aattgttatg	9180
tctccttaac atcctaatat aatacataag tgggtaatat ataatatata aatggagaca	9240
aacttcttcc attataattg ttatgtcttc ttaacactta tgtctcgttc acaatgctaa	9300
agttagaatt gtttagaaag tcttatagta cacatttggt tttgtactat ttgaagcatt	9360
ccataagccg tcacgattca gatgatttat aataataaga ggaaatttat catagaacaa	9420
taaggtgcat agatagagtg ttaatatatc ataacatcct ttgtttattc atagaagaag	9480
tgagatggag ctacgttatt atactgttac atggtcggat acaatattcc atgctctcca	9540
tgagctctta cactacatg cattttagtt catacttcat gcacgtggcc atcacageta	9600
gctgcagcta catatttaca ttttacaaca ccaggagaac tgccctgtta gtgcataaca	9660
atcagaagat ggccgtgget actcgagtta tcgaaccact ttgtacaaga aagctgaacg	9720
agaaacgtaa aatgatataa atatcaatat attaaattag attttgcata aaaaacagac	9780
tacataatac tgtaaaacac aacatatcca gtcactatgg tcgacctgca gactggctgt	9840
gtataaggga gcctgacatt tatattcccc agaacatcag gttaatggcg tttttgatgt	9900
cattttcgcg gtggctgaga tcagccactt ctccccgat aacggagacc ggcacactgg	9960
ccatatcggg ggtcatcatg cgcagcttt catecccgat atgcaccacc gggtaaagtt	10020
cacgggagac tttatctgac agcagacgtg cactggccag ggggatcacc atccgtcgcc	10080
cgggcgtgtc aataatatca ctctgtacat ccacaaacag acgataacgg ctctctcttt	10140
tataggtgta aaccttaaac tgcatttcac cagtcctgt tctcgtcagc aaaagagccg	10200
ttcatttcaa taaaccgggc gacctcagcc atcccttcct gattttccgc ttccagcgt	10260
tcggcacgca gacgacgggc ttcatctgac atggttgtgc ttaccagacc ggagatatg	10320
acatcatata tgccctgagc aactgatagc tgcctgtgc aactgtcact gtaatacgt	10380
gcttcatagc acacctcttt ttgacatact tcgggtatac atatcagtat atattcttat	10440
accgcaaaaa tcagcgcgca aatacgcata ctgttatctg gcttttagta agccggatcc	10500

[0024]

tctagattac gccccgccct gccactcatc gcagtactgt tgtaattcat taagcattct	10560
gccgacatgg aagccatcac agacggcatg atgaacctga atcgccagcg gcatcagcac	10620
cttgtcgect tgcgtataat atttgcccat ggtgaaaacg ggggcgaaga agttgtccat	10680
attggccacg tttaaataca aactggtgaa actcaccag ggattggctg agacgaaaaa	10740
catattctca ataaaccctt tagggaaata ggccaggttt tcaccgtaac acgccacatc	10800
ttgcgaatat atgtgtagaa actgccgaa atcgctgtgg tattcactcc agagcgatga	10860
aaacgtttca gtttgetcat ggaaaacggt gtaacaaggg tgaacactat cccatatcac	10920
cagctcaccg tctttcattg ccatacggaa ttccggatga gcattcatca ggccggcaag	10980
aatgtgaata aaggccggat aaaacttgtg cttatttttc ttacggctct ttaaaaaggc	11040
cgtaatatcc agctgaacgg tctgggtata ggtacattga gcaactgact gaaatgcctc	11100
aaaatgttct ttacgatgcc attgggatat atcaacggtg gtatatccag tgattttttt	11160
ctccatttta gcttccttag ctctgaaaa tctcgccgga tctaactca aaatccacac	11220
attatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaattggg ccgccatagt	11280
gactggatat gttgtgtttt acagtattat gtagtctgtt ttttatgcaa aatctaattt	11340
aatatattga tatttatatc attttacgtt tctcgttcag cttttttgta caaacttgtt	11400
tgataaccgg tactagtgtg cacgctgagc gtgtcctctc caaatgaaat gaacttcctt	11460
atatagagga agggctcttc gaaggatagt gggattgtgc gtcacccctt acgtcagtgg	11520
agatgtcaca tcaatccact tgctttgaag acgtggttg aacgtctctt tttccaoga	11580
tgctcctcgt ggggtgggggt ccatctttgg gaccactgtc ggcagaggca tcttgaatga	11640
tagcctttcc tttatcgcaa tgatggcatt tgtaggagcc accttccttt tctactgtcc	11700
tttcgatgaa gtgacagata gctgggcaat ggaatccgag gaggtttccc gaaattatcc	11760
tttgttgaaa agtctcaata gccctttggt cttctgagac tgtatctttg acatttttgg	11820
agtagaccag agtgtcgtgc tccaccatgt tgacgaagat tttctctttg tcattgagtc	11880
gtaaaagact ctgtatgaac tgttcgccag tcttcacggc gagttctgtt agatcctcga	11940
tttgaatctt agactccatg catggcctta gattcagtag gaactacctt tttagagact	12000
ccaatctcta ttacttgcc tggtttatga agcaagcctt gaatcgcca tactggaata	12060
gtactcttga tcttgagaaa tatgtcttct tctgtgttct tgatgcaatt agtctgaat	12120
cttttgactg catctttaac cttcttggga aggtatttga tctcctggag attgttactc	12180
gggtagatcg tcttgatgag acctgctgcg taggcctctc taaccatctg tgggtcagca	12240

[0025]

ttctttctga aattgaagag gctaaccttc tcattatcag tggngaacat agtgcgtca	12300
ecttcacctt cgaacttcc tctagatcg taaagataga ggaaatcgtc cattgtaate	12360
tccggggcaa aggagatctc ttttggggct ggatcactgc tgggcctttt ggttctage	12420
gtgagccagt gggctttttg ctttgggtggg cttgttaggg ccttagcaaa gctcttgggc	12480
ttgagttgag cttctccttt ggggatgaag ttcaacctgt ctgtttgctg acttgttgtg	12540
tacgcgtcag ctgctgctct tgcctctgta atagtggcaa atttcttgtg tgcaactccg	12600
ggaacgcctt ttgttgcgc ctttgtacaa cccagtcac cgtatatacc ggcatgtgga	12660
ccgttataca caacgtagta gttgatatga ggggtgtgaa taccgatctc tgctctgaga	12720
ggagcaactg tgetgttaag ctcagatctt tgtgggatlg gaattggatc ctctagagca	12780
aagcttggcg taatcatggt catagctgtt tctgtgtga aattgttate cgtcacaa	12840
tccacacaac atacgagccg gaagcataaa gtgtaaagcc tggggctgct aatgagtgag	12900
ctaactcaca ttaattgctg tgcgtcact gccgcttctc cagtcgggaa acctgtcgtg	12960
ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc ggggagaggc ggtttgcgta ttgggcaaaa	13020
gacaaaaggc cgacattcaa cagattgagg gaggaagggt aaatattgac ggaaattatt	13080
cattaaaggt gaattatcac cgtcacgcac ttgagccatt tgggaattag agccagcaaa	13140
atcaccagta gcaccattac cattagcaag gccggaaaag tcaccaatga aaccatcctc	13200
tagtaacata gatgacaccg cgcgcgataa tttatcctag tttgcgcgt atattttgtt	13260
ttctatcgcg tattaaatgt ataattgagg gactctaate ataaaaaccc atctcataaa	13320
taacgtcatg cattacatgt taattattac atgcttaacg taattcaaca gaaattatat	13380
gataatcctc gcaagaccgg caacaggatt caatcttaag aaactttatt gccaatgtt	13440
tgaacgatct gcttcgacgc actccttctt taggtacgga ctagatctcg gtgacgggca	13500
ggaccggacg gggcggtacc ggcaggctga agtcagctg ccagaaaccc acgtcatgcc	13560
agttcccgctg cttgaagccg gccgcccga gcatgccgcg gggggcatat ccgagcgct	13620
cgtgcatgcg cacgctcggg tcgttgggca gccgatgac agcgaccacg ctcttgaagc	13680
cctgtgcctc cagggaactc agcagggtggg tgtagagcgt ggagcccagt ccgctccgt	13740
ggtggcgggg ggagacgtac acggtcgact cgcccgcca gtcgtaggcg ttgcgtgcct	13800
tccaggggccc cgcgtaggcg atgccggcga cctcgccgct cacctcggcg acgagccagg	13860
gatagcgctc ccgcagacgg acgaggctgt ccgtccactc ctgcggttcc tgccgctcgg	13920
tacggaagtt gaccgtgctt gtctcgatgt agtggttgac gatggtgcag accgcgggca	13980

[0026]

tgtccgcctc ggtggcacgg cggatgtcgg cggggcgtcg ttctgggctc atggatctgg	14040
attgagagtg aatatgagac tctaattgga taccgagggg aatttatgga acgtcagtgg	14100
agcatttttg acaagaaata ttgctagct gatagtacc ttaggcgact ttgaaacgcg	14160
caataatggt ttctgacgta tgtgttagc tcattaaact ccagaaaccc gcggtgagt	14220
ggctccttca acgttgcggt tctgtcagtt ccaaactaa aacggcttgt cccgcgtcat	14280
cggcgggggt cataacgtga ctcccttaat tctccgtca tgatcagatt gtcgtttccc	14340
gccttcagtt taaactatca gtgtttgaca ggatatattg gcgggtaaac ctaagagaaa	14400
agagcggtta ttagaataat cggatattta aaaggcggtg aaaagggtta tccgttcgtc	14460
catttgtatg tgcattgcaa ccacagggtt cccagatct ggccgcggcc agcgagacga	14520
gcaagattgg ccgccgccg aaacgatccg acagcgccg cagcacaggt gcgcaggcaa	14580
attgcaccaa cgcatacagc gccagcagaa tgccatagtg ggccgtgacg tcgttcgagt	14640
gaaccagatc gcgcaggagg cccggcagca ccggcataat caggccgatg ccgacagcgt	14700
cgagcgcgac agtgctcaga attacgatca ggggtatgtt gggtttcacg tctggcctcc	14760
ggaccagcct ccgttggtcc gattgaacgc gcggattctt tatcactgat aagtttgttg	14820
acatattatg ttatcagtg ataaagtgtc aagcatgaca aagttgcagc cgaatacagt	14880
gatccgtgcc gccctggacc tgttgaacga ggtcggcgta gacggtctga cgacacgcaa	14940
actggcgga cggttggggg ttcagcagcc ggcgctttac tggcacttca ggaacaagcg	15000
ggcgtgctc gacgcactgg ccgaagccat gctggcggag aatcatacgc attcgtgcc	15060
gagagccgac gacgactggc gtcattttct gatcgggaat gcccgagct tcaggcaggc	15120
gctgctgcc taccgcgatg gcgcgcgat ccatgccggc acgogaccgg gcgcacgcga	15180
gatggaaacg gcgcagcgc agcttcgctt cctctgcgag gcgggttttt cggccgggga	15240
cgcctcaat gcgtgatga caatcagcta cttcactgtt ggggcctgct ttgaggagca	15300
ggccggcgac agcgatgcc gcgagcgcg cggcacggtt gaacaggctc cgtctcgc	15360
gctgttgccg gcccgatag acgccttcga cgaagccggt ccggacgcag cgttcgagca	15420
gggactcgcg gtgattgtcg atggattggc gaaaaggagg ctcgttgtca ggaacgttga	15480
aggaccgaga aagggtgacg attgatcagg accgctgccg gagcgcaacc cactcactac	15540
agcagagcca ttagacaaac atccctccc cctttccacc gcgtcagacg cccgtagcag	15600
cccgtacgg gctttttcat gccctgccct agcgtccaag cctcacggcc gcgtcggcc	15660
tctctggcgg ccttttggeg ctcttcgct tcctcgtca ctgactcgt gcgtcggtc	15720

[0027]

gttcggctgc ggcgagcggg atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa	15780
tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaagge caggaaccgt	15840
aaaaaggcgg cgttgctggc gtttttccat aggcctccgc cccctgacga gcatcacaaa	15900
aatcgacgt caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt	15960
ccccctggaa gctccctcgt gcgctctcct gtcccgaccc tgcgcgttac cggatacctg	16020
tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg cttttccgt gcataaccct gcttcggggg	16080
cattatagcg attttttcgg tatatccatc ctttttcgca cgatatacag gattttgcca	16140
aagggttcgt gtagacttcc cttgggtgtat ccaacggcgt cagccgggca ggataggtga	16200
agtaggcccc cccgcgagcg ggtgttcctt cttcactgtc ccttattcgc acctggcggt	16260
gtccaacggg aatcctgctc tgcgaggtg gccggctacc gccggcgtaa cagatgaggg	16320
caagcggatg gctgatgaaa ccaagccaac caggaagggc agcccaccta tcaagggtga	16380
ctgccttcca gacgaacgaa gagcgattga ggaaaaggcg gcggcggcgg gcatgagcct	16440
gtcggcctac ctgctggcgg tcggccaggg ctacaaaatc acgggcgtcg tggactatga	16500
gcacgtccgc gagctggccc gcatcaatgg cgacctgggc cgcctgggcg gcctgctgaa	16560
actctggctc accgacgacc cgcgcacggc gcggttcggt gatgccacga tctcgcct	16620
gctggcgaag atcgaagaga agcaggacga gcttggcaag gtcattgatg gcgtggctcg	16680
cccgagggca gagccatgac ttttttagcc gctaaaacgg ccgggggggtg cgcgtgattg	16740
ccaagcacgt ccccatgcgc tccatcaaga agagcgactt cgcggagctg gtgaagtaca	16800
tcaccgacga gcaaggcaag accgagcgcc tttgcgacgc tca	16843

<210> 5

<211> 9142

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于大豆的 PHP27840 目的载体

<400> 5

ctagttatct gaataaaaga gaaagagatc atccatattt cttatcctaa atgaatgtca	60
cgtgtcttta taattctttg atgaaccaga tgcatttcat taaccaaate catatacata	120
taaatattaa tcatatataa ttaatatcaa ttgggttagc aaaacaaate tagtctaggt	180
gtgttttgcg aattcgatat caagcttgat gggtagcggc gcgcccgcgc atccggatat	240
agttcctcct ttcagcaaaa aaccctcaa gaccggttta gagggcccaa ggggttatgc	300

[0028]

tagttattgc tcagcggtag cagcagccaa ctcagcttcc ttccgggctt tgtagcage	360
cgcatcgatc caagctgtac ctcactattc ctttgccctc ggacgagtgc tggggcgctc	420
gtttccacta tcggcgagta cttctacaca gccatcggtc cagacggccg cgtttctgcg	480
ggcgatttgt gtacgcccga cagtcgccgc tcgggatcgg acgattgcgt cgcacgacc	540
ctgcgcccaa gctgcatcat cgaaattgcc gtcaaccaag ctctgataga gttggtcaag	600
accaatcgcg agcatatacg cccggagccg cggcgatcct gcaagctccg gatgcctccg	660
ctcgaagtag cgcgtctgct gctccataca agccaaccac ggctccaga agaagatgtt	720
ggcgacctcg tattgggaat ccccgaaat cgcctcgctc cagtcaatga ccgctgttat	780
goggccattg tcgctcagga cattgttggg gccgaaatcc gcgtgcacga ggtgcgggac	840
ttcggggcag tctcggccc aaagcatcag ctcacgaga gcctgcgca cggacgact	900
gacggtgtcg tccatcacag tttgccagt atacacatgg ggatcagcaa tcgcgcatat	960
gaaatcacgc catgtagtgt attgaccgat tccctgggt ccgaatgggc cgaaccgct	1020
cgtctggcta agatcgccg cagcgatcgc atccatagcc tcgcgaccg gctgcagaa	1080
agcgggcagt tcggtttcag gcaggtcttg caacgtgaca ccctgtgcac ggccggagat	1140
gcaataggtc aggcctctgc tgaattcccc aatgtcaagc acttcggaa tcgggagcgc	1200
ggccgatgca aagtgcgat aaacataacg atctttgtag aaaccatcg cgcagctatt	1260
taccgcagg acatatccac gccctcctac atcgaagctg aaagcacgag attcttcgcc	1320
ctccgagagc tgcacaggt cggagacgct gtccaaactt tcgatcagaa actctcgac	1380
agacgtcgc gtgagttcag gcttttccat gggatatct ccttcttaa gttaaacaaa	1440
attatttcta gagggaaacc gttgtggtct ccctatagtg agtcgtatta atttcgggg	1500
atcgagatct gatcaacctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc	1560
gtattgggcg ctcttcgct tctcgcctca ctgactcgt gcgtcggtc gttcggctgc	1620
ggcgagcgg atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata	1680
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg	1740
cgttctggc gtttttccat aggtccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgt	1800
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccctggaa	1860
gtccctcgt gcgtctcct gtccgaccc tgcgcttac cggatacctg tccgctttc	1920
tcccttcggg aagcgtggcg cttctcaat gctacgctg taggtatct agttcgggtg	1980
aggctgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccc cgttcagccc gaccgtgcg	2040

[0029]

ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggttaag acacgaetta tgcceaotgg	2100
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcgggtget acagagtctt	2160
tgaagtgggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttgggtatc tgcgctctgc	2220
tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg	2280
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc	2340
aagaagatcc ttgatctttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt	2400
aagggatttt ggatcatgaca ttaacctata aaaataggcg tatcacgagg ccttttcgtc	2460
tgcgcggttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtea	2520
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg	2580
ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc	2640
accatattga catattgtcg ttagaacgcg gctacaatta atacataacc ttatgtatca	2700
tacacatacg atttaggtga cactatagaa cggcgcgcga agctgggtct agaactagaa	2760
acgtgatgcc acttgttatt gaagtcgatt acagcateta ttctgtttta ctatttataa	2820
ctttgccatt tctgactttt gaaaactatc tctggatttc ggtatcgctt tgtgaagatc	2880
gagcaaaaga gacgttttgt ggacgcaatg gtccaaatcc gttctacatg aacaaattgg	2940
tcacaatttc cactaaaagt aaataaatgg caagttaaaa aaggaatatg cattttaactg	3000
attgcctagg tgagctccaa gagaagttga atctacacgt ctaccaaccg ctaaaaaaag	3060
aaaaacattg aatatgtaac ctgattccat tagcttttga cttcttcaac agattcteta	3120
cttagatttc taacagaaat attattacta gcacatcatt ttcagttctca ctacagcaaa	3180
aatccaacg gcacaatata gacaacagga gatatcagac tacagagata gatagatget	3240
actgcatgta gtaagttaaa taaaaggaaa ataaaatgtc ttgctaccaaa aactactaca	3300
gactatgatg ctcaccacag gccaaatcct gcaactagga cagcattatc ttatatatat	3360
tgtacaaaac aagcatcaag gaacatttgg tctaggcaat cagtacctcg ttctaccatc	3420
acctcagtt atcacatcct tgaaggatcc attactggga atcatcggea acacatgctc	3480
ctgatggggc acaatgacat caagaaggta ggggccaggg gtgtccaaca ttctctgaat	3540
tgcgctctca agctcttctt tcttcgtcac tcgcgtgcg ggtatcccaac aagcatcagc	3600
aaacttgagc atgtttggga atatctcgtt ctcgtctagac ggatctccaa gataggtgtg	3660
agctctattg gacttgtaga acctatctc caactgaacc accataccca aatgctgatt	3720
gttcaacaac aatatcttaa ctgggagatt ctccactctt atagtggcca actcctgaac	3780

[0030]

attcatgatg aaactaccat ccccatcaat gtcaaccaca acagccccag ggtagcaac	3840
agcagcacca atagccgcag gcaatccaaa acccatggct ccaagacccc ctgaggtcaa	3900
ccactgcctc ggtctcttgt acttgtaaaa ctgcgcagcc cacatttgat gctgcccac	3960
cccagtacta acaatagcat ctccattagt caactcatca agaacctega tagcatgtg	4020
eggagaaate gcgtcctgga atgtcttgta acccaatgga aacttggtt tctgcacatt	4080
aatctcttct ctccaacctc caagatcaaa ctacacctc actcctttct cctccaaaat	4140
catattaatt cccttcaagg ccaacttcaa atccgcgcaa accgacacgt gcgcctgctt	4200
gttcttccca atctcggcag aatcaatata aatgtgaaca atcttagccc tactagcaaa	4260
agcctcaage ttcccagtaa cacggtcctc aaaccttacc ccaaaggcaa gcaacaaatc	4320
actattgtca acagcatagt tagcataaac agtaccatgc ataccagca tctgaaggga	4380
atattcatca ccaataggaa aagttccaag acccattaaa gtgctagcaa cggaataacc	4440
agtgagttca acaaagegcc tcaattcagc actggaattc aaactgccac cgccgacgta	4500
gagaacgggc ttttgggcct ccatgatgag tctgacaatg tgttccaatt gggcctcggc	4560
ggggggcctg ggcagcctgg cgaggtaacc ggggaggtta acgggctcgt cccaattagg	4620
cacggcgagt tgctgtgaa cgtctttggg aatgtcgatg aggaccggac cgggcgggcc	4680
ggaggtggcg acgaagaaag cctcggcgac gacgcggggg atgtcgtcga cgtcgaggat	4740
gaggtagttg tgcttcgtga tggatctgct cacctccacg atcggggttt cttggaagge	4800
gtcgtgccc atcatccgc gggcgacctg gccggtgatg gcgacgactg ggacgtgtc	4860
cattaaagcg tcggcgaggc cgtcacgag gttggtggcg ccggggccgg aggtggcaat	4920
gcagacgcg gggaggccgg aggaacgcgc gtagccttcg gcggcgaaga cgcgcctg	4980
ctcgtggcgc gggagcacgt tgcggatggc ggccgagcgc gtgagcgctt ggtggatctc	5040
catcgacgca ccgcgggggt acgcgaacac cgtcgtcacg ccctgcctct ccagcgctc	5100
cacaaggatg tccgcgcct tgcgaggttc gccggaggcg aaccgtgaca cgaagggtc	5160
cgtggtcggc gcttccttgg tgaagggcgc cgcgtgggg ggtttggaga tggaacattt	5220
gattttgaga gcgtggttgg gtttggtag gttttgatga gagagaggga ggttgatct	5280
agtaatcgt ttggggaagg tggggtgtga agaggaagaa gagaatcggg tggttctgga	5340
agcggtgccc gccatttgt tgtgtggcat gttatactt caaaaactgc acaacaagcc	5400
tagagttagt acctaaacag taaatttaca acagagagca aagacacatg caaaaatttc	5460
agccataaaa aaagttataa tagaatttaa agcaaaagtt tcatttttta aacatatata	5520

[0031]

caaacaaact ggatttgaag gaagggatta attccctgc tcaaagtttg aattcctatt	5580
gtgacctata ctgaataaa attgaagcct aaggaatgta tgagaaacaa gaaaacaaaa	5640
caaaactaca gacaaacaag tacaattaca aaattcgcta aaattctgta atcaccaaac	5700
cccatctcag tcagcacaaag gcccaaggtt tattttgaaa taaaaaaaaa gtgattttat	5760
ttctcataag ctaaaagaaa gaaaggcaat tatgaaatga ttctgactag atctgaaagt	5820
caaacgcgta ttccgcagat attaaagaaa gagtagagtt tcacatggat cctagatgga	5880
cccagttgag gaaaaagcaa ggcaaagcaa accagaagtg caagatccga aattgaacca	5940
cggaatctag gatttggttag agggagaaga aaagtacctt gagaggtaga agagaagaga	6000
agagcagaga gatatatgaa cgagtgtgtc ttggtctcaa ctctgaagcg atacgagttt	6060
agagggggagc attgagttcc aatttatagg gaaaccgggt ggcaggggtg agttaatgac	6120
ggaaaagccc ctaagtaacg agattggatt gtgggttaga ttcaaccgtt tgcaccccg	6180
gcttagattg gggaagtcag agtgaatctc aaccgttgac tgagttgaaa attgaatgta	6240
gcaaccaatt gagccaaccc cagcctttgc cctttgattt tgatttgttt gttgcatact	6300
ttttatttgt cttctgggtc tgaactctctt totctcgttt caatgccagg ttgcctactc	6360
ccacaccact cacaagaaga ttctactgtt agtattaaat attttttaat gtattaaatg	6420
atgaatgctt ttgtaaacag aacaagacta tgtctaataa gtgtcttgca acatttttta	6480
agaaattaaa aaaaatatat ttattatcaa aatcaaatgt atgaaaaatc atgaataata	6540
taattttata cattttttta aaaaatcttt taatttttta attaatatct taaaaataat	6600
gattaatatt taacccaaaa taattagtat gattggtaag gaagatatcc atgttatgtt	6660
tggatgtgag ttgatctag agcaaagctt actagagtcg acctgcagcc cctccacgc	6720
ggtggcgccc gctctagaga tccgtcaaca tgggtggagca cgacactctc gtctactcca	6780
agaatatcaa agatacagtc tcagaagacc aaagggtat tgagactttt caacaaggg	6840
taatateggg aaacctctc ggattccatt gccagctat ctgtcacttc atcaaaagga	6900
cagtagaaaa ggaaggtggc acctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggctatcg	6960
ttcaagatgc ctctgccgac agtgggtcca aagatggacc cccaccacg aggagcatcg	7020
tggaaaaaga agacgttcca accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatgatccta	7080
tgcgtatggt atgacgtgtg ttcaagatga tgacttcaaa cctacctatg acgtatggt	7140
tgacgtgtgt cgactgatga cttagatcca ctgagcggc tataaatacg tacctacgca	7200
cctgegeta ceatccctag agctgcagct tatttttaca acaattacca acaacaaca	7260

[0032]

acaacaaaca acattacaat tactatTTTtac aattacagtc gacccatcaa caagtttTgta	7320
caaaaaagct gaacgagaaa cgtaaaatga tataaatatc aatatattaa attagatttt	7380
gcataaaaaa cagactacat aatactgtaa aacacaacat atccagtcac attggcggcc	7440
gcattaggca ccccgagctt tacactttat gcttccgct cgtataatgt gtggattttg	7500
agttaggatc cgtecgagatt ttcaggagct aaggaagcta aaatggagaa aaaaatcact	7560
ggatatacca ccgttgatat atcccaatgg catcgtaaag aacattttga ggcatttcag	7620
tcagttgctc aatgtacctc taaccagacc gttcagctgg atattacggc ctttttaaag	7680
accgtaaaga aaaataagca caagttttat ccggccttta ttcacattct tgcccgcctg	7740
atgaatgctc atccggaatt ccgtatggca atgaaagacg gtgagctggg gatatgggat	7800
agtgttcacc cttgttacac cgttttccat gagcaaacTg aaacgttttc atcgctctgg	7860
agtgaatacc acgacgattt ccggcagttt ctacacatat attcgcaaga tgtggcggtg	7920
tacggtgaaa acctggccta tttccctaaa gggtttatTg agaatatgtt tttcgtctca	7980
gccaatccct gggtgagttt caccagtttt gatttaaacg tggccaatat ggacaacttc	8040
ttcgcccccg ttttcaccat gggcaaatat tatacgcaag gcgacaaggT gctgatgcg	8100
ctggcgattc aggttcatca tgcggtttgt gatggttcc atgtcggcag aatgcttaat	8160
gaattacaac agtactgcga tgagtggcag ggccggggcgT aaagatctgg atccggctta	8220
ctaaaagcca gataacagta tgcgtattTg cgcgctgatt tttcggttat aagaatatat	8280
actgatatgt ataccgaag tatgtcaaaa agaggTatgc tatgaagcag cgtattacag	8340
tgacagttga cagcgacagc tatcagttgc tcaaggcata tatgatgtca atatctccgg	8400
tctggtaagc acaaccatgc agaatgaagc ccgtcgtctg cgtgccgaac gctggaaagc	8460
ggaaaatcag gaagggatgg ctgaggTgc ccggtttatt gaaatgaacg gctcttttgc	8520
tgacgagAAC aggggctggT gaaatgcagT ttaaggTtta cacctataaa agagagagcc	8580
gttatcgtct gtttgtggat gtacagagTg atattattga cacgcccggg cgacggatgg	8640
tgatccccct ggccagTgca cgtctgctgt cagataaagT ctcccgTgaa ctttacccgg	8700
tggtgcatat cggggatgaa agctggcgca tgatgaccac cgatatggcc agtgtgccgg	8760
tctccgttat cggggaagaa gtggctgacT tcagccaccg cgaaaatgac atcaaaaacg	8820
ccattaacct gatgttctgg ggaatataaa tgtcaggctc ccttatacac agccagTctg	8880
caggTgacc atagtgaCTg gatatgtTgt gttttacagT attatgtagT ctgtttttta	8940
tgcaaaatct aatttaatat attgatattt atatcatttt acgtttctcg ttcagctttc	9000

[0033]

ttgtacaaag tggttgataa cctagacttg tccatcttct ggattggcca acttaattaa	9060
tgtatgaaat aaaaggatgc acacatagt acatgetaat cactataatg tgggcatcaa	9120
agttgtgtgt tatgtgtaat ta	9142

<210> 6

<211> 49911

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于 Gaspe Bay Flint 来源的玉米品系的 PHP23236 目的载体

<400> 6

gtgcagcgtg acccggtcgt gccctctct agagataatg agcattgcat gtctaagtta	60
taaaaaatta ccacatattt tttttgtcac acttgtttga agtgcagttt atctatcttt	120
atacatatat ttaaacttta ctctacgaat aatataatct atagtactac aataatatca	180
gtgttttaga gaatcatata aatgaacagt tagacatggc ctaaaggaca attgagtatt	240
ttgacaacag gactctacag ttttatcttt ttagtgtgca tgtgttctcc ttttttttg	300
caaatagctt cacctatata ataacttcat cattttatta gtacatccat ttagggttta	360
gggttaatgg tttttataga ctaatTTTT tagtacatct attttattct attttagcct	420
ctaaattaag aaaactaaaa ctctatttta gtttttttat ttaataattt agatataaaa	480
tagaataaaa taaagtgact aaaaattaaa caaataccct ttaagaaatt aaaaaacta	540
aggaaacatt tttcttgttt cgagtagata atgccagcct gttaaagcc gtcgacgagt	600
ctaaggaca ccaaccagcg aaccagcagc gtcgcgtcgg gccaaagcaa gcagacggca	660
cggcatctct gtcgtgcct ctggaccct ctcgagagtt ccgtccacc gttggacttg	720
ctccgtgtc ggcatccaga aattgcgtgg oggagcggca gacgtgagcc ggcacggcag	780
gggcctcct cctcctctca cggcacggca gctacggggg attcctttcc caccgtcct	840
tcgtttccc ttctcgecc gccgtaataa atagacaccc cctccacacc ctctttccc	900
aacctcgtgt tgttcggagc gcacacacac acaaccagat ctccccaaa tccaccgtc	960
ggcacctccg ctcaaggta cgcgcgtcgt cctccccccc cccctctc tacctctct	1020
agatcggcgt tccggtccat ggtagggcc cggtagttct actctgttc atgtttgtgt	1080
tagatccgtg tttgtgtag atccgtgctg ctacggttcg tacacggatg cgacctgtac	1140
gtcagacacg ttctgattgc taacttgcca gtgtttctct ttggggaatc ctgggatggc	1200
tctagccgtt ccgcagacgg gatcgatttc atgatttttt ttgtttcgtt gcatagggtt	1260

[0034]

tggtttgccc ttttccttta tttcaatata tgccgtgcac ttgtttgtcg ggcatctttt	1320
tcatgctttt ttttgtcttg gtttgtatga tgtggtctgg ttgggcggtc gttctagatc	1380
ggagtagaat tctgtttcaa actacctggt ggatttatta attttggatc tgtatgtgtg	1440
tgccatacat attcatagtt acgaattgaa gatgatggat ggaaatatcg atctaggata	1500
ggtatacatg ttgatgcggg ttttactgat gcatatacag agatgctttt tgttcgcttg	1560
gttgtgatga tgtggtgtgg ttgggcggtc gttcatctgt tctagatcgg agtagaatac	1620
tgtttcaaac tacctggtgt atttattaat tttggaactg tatgtgtgtg tcatacatct	1680
tcatagttac gagtttaaga tggatggaaa tatcgatcta ggataggat acatgttgat	1740
gtgggtttta ctgatgcata tacatgatgg catatgcagc atctattcat atgctctaac	1800
cttgagtacc tatctattat aataaacaag tatgttttat aattattttg atcttgatat	1860
acttgatga tggcatatgc agcagctata tgtggatttt tttagccctg ccttcatacg	1920
ctatttattt gcttggctact gtttcttttg tcgatgctca ccctgttggt ttggtgttact	1980
tctgcaggtc gactctagag gatccacaag tttgtacaaa aaagctgaac gagaaacgta	2040
aatgatata aatatcaata tattaaatta gattttgcat aaaaaacaga ctacataata	2100
ctgtaaaaca caacataacc agtcaactat gggcccgcat taggcacccc aggcattaca	2160
ctttatgctt ccggtctgta taatgtgtgg attttgagtt aggatttaaa tacgcgttga	2220
tccggettac taaaagccag ataacagtat gcgtatttgc gcgctgattt ttgcggtata	2280
agaatatata ctgatatgta taccogaagt atgtcaaaaa gaggtatgct atgaagcagc	2340
gtattacagt gacagttgac agcgacagct atcagttgct caaggcatat atgatgtcaa	2400
tatctccggt ctggtaagca caaccatgca gaatgaagcc cgtcgtctgc gtgccgaacg	2460
ctggaaagcg gaaaatcagg aagggatggc tgaggtcgcc cggtttattg aaatgaacgg	2520
ctcttttgct gacgagaaca ggggctggtg aaatgcagtt taaggtttac acctataaaa	2580
gagagagccg ttatcgtctg tttgtggatg tacagagtga tatcattgac acgcccggtc	2640
gacggatggt gatccccctg gccagtgcac gtctgctgtc agataaagtc tcccgtgaac	2700
tttaccgggt ggtgcataac ggggatgaaa gctggcgcat gatgaccacc gatatggcca	2760
gtgtgccggt ctccgttacc ggggaagaag tggtgatct cagccaccgc gaaaatgaca	2820
tcaaaaacgc cattaacctg atgttctggg gaatataaat gtcaggtccc cttatacaca	2880
gccagtctgc aggtcgacca tagtgactgg atatgttgtg ttttacagta ttatgtagtc	2940
tgttttttat gcaaaatcta atttaatata ttgatattta tatcatttta cgtttctcgt	3000

[0035]

tcagctttct tgtacaaagt ggtgttaacc tagacttgtc catcttctgg attggccaac	3060
ttaattaatg tatgaaataa aaggatgcac acatagtgc atgctaata ctataatgtg	3120
ggcatcaaag ttgtgtgtta tgtgttaatta ctagttatct gaataaaaga gaaagagatc	3180
atccatattt cttatcctaa atgaatgtca cgtgtcttta taattctttg atgaaccaga	3240
tgcattlcat taaccaaatc catatacata taaatattaa tcatatataa ttaatatcaa	3300
ttgggttagc aaaacaaatc tagtctaggt gtgttttgcg aattgcggcc gccaccggg	3360
tggagctcga attccgggtc gggtcacctt tgtccaccaa gatggaactg cggccgctca	3420
ttaattaagt caggcgcgcc tctagttgaa gacacgttca tgtcttcac gtaagaagac	3480
actcagtagt cttcggccag aatggccatc tggattcagc aggcctagaa ggccatttaa	3540
atcctgagga tctggtcttc ctaaggaccc gggatatcgg accgattaaa ctttaattcg	3600
gtccgaagct tgcattgcctg cagtgcagcg tgacccggtc gtgccccctc ctagagataa	3660
tgagcattgc atgtctaagt tataaaaaat taccacatat tttttttgtc acacttgttt	3720
gaagtgcagt ttatctatct ttatacatat atttaaacct tactctacga ataataaat	3780
ctatagtact acaataatat cagtgtttta gagaatcata taaatgaaca gttagacatg	3840
gtctaaagga caattgagta ttttgacaac aggactctac agttttatct ttttagtgtg	3900
catgtgttct cctttttttt tgcaaatagc ttcacctata taatacttca tccattttat	3960
tagtacatcc atttagggtt tagggttaat ggtttttata gactaatttt tttagtacat	4020
ctattttatt ctattttagc ctctaaatta agaaaactaa aactctatct tagttttttt	4080
atttaataat ttagatataa aatagaataa aataaagtga ctaaaaatta aacaaatacc	4140
ctttaagaaa ttaaaaaaac taaggaaaca tttttcttgt ttogagtaga taatgccage	4200
ctgttaaacg ccgtcgacga gtctaacgga caccaaccag cgaaccagca gcgtcgcgc	4260
gggccaagcg aagcagacgg caccgcatct ctgtcgcgtc ctctggacct ctctcgagag	4320
ttccgtcca ccgttggaact tgcctcgtcg tcggcatcca gaaattgcgt ggccggagcg	4380
cagacgtgag ccggcacggc agggcgctc ctctctctct caccgcaccg gcagctacgg	4440
gggattcctt tccacccgct ccttcgcttt ccttctctcg ccgcccgtaa taaatagaca	4500
ccccctccac accctctttc cccaacctcg tgttgctcgg agcgcacaca cacacaacca	4560
gatctcccc aaatccacce gtggcacct ccgttcaag gtaacccgct cgtctctccc	4620
ccccccctc tetaccttct ctagatcggc gttccggtcc atgcatggtt agggcccggt	4680
agttctactt ctgttcatgt ttgtgttaga tccgtgtttg tgtagatcc gtgctgctag	4740

[0036]

cgttcgtaca cggatgcgac ctgtacgtca gacacgttot gattgctaac ttgccagtgt	4800
ttctcttttg ggaatccctgg gatggctcta gccgttcocg agacgggacg gatttcatga	4860
ttttttttgt ttcgttgcat aggggtttggt ttgccctttt cctttatttc aatatatgcc	4920
gtgcacttgt ttgtcgggtc atcttttcat gctttttttt gtcttggttg tgatgatgtg	4980
gtctggttgg gcggtcgttc tagatcggag tagaattctg ttcaaaacta cctggtggat	5040
ttattaattt tggatctgta tgtgtgtgcc atacatattc atagttacga attgaagatg	5100
atggatggaa atatcgatct aggataggtg tacatgttga tgcgggtttt actgatgcat	5160
atacagagat gctttttgtt cgtttggttg tgatgatgtg gtgtggttgg gcggtcgttc	5220
attcgttcta gatcggagta gaatactgtt tcaaaactac tgggtgtattt attaattttg	5280
gaactgtatg tgtgtgtcat acatcttcat agttacgagt ttaagatgga tggaaatata	5340
gatctaggat aggtatacat gttgatgtgg gttttactga tgcataatac tgatggcata	5400
tgcagcatct attcatatgc tctaaccttg agtacctata tattataata aacaagtatg	5460
ttttataatt attttgatct tgatatactt ggatgatggc atatgcagca gctatatgtg	5520
gattttttta gccctgcctt catacgetat ttatttgctt ggtactgttt cttttgtcga	5580
tgtcaccctt gttgtttggt gttacttctg caggtcgaat ttaacttagc ctaggatcca	5640
cacgacacca tgtccccga gcgcgcgcgc gtcgagatcc gcccgccac cgcgcgcgac	5700
atggcgcgcg tgtgcgacat cgtgaaccac tacatcgaga cctccaccgt gaacttcgcg	5760
accgagccgc agaccccgca ggagtggatc gacgacctg agcgcctcca ggaccgtac	5820
ccgtggctcg tggccgaggt ggagggcgtg gtggccggca tcgcctacgc cggcccgtgg	5880
aaggcccgca acgcctacga ctggaccgtg gagtccaccg tgtacgtgtc ccaccgccac	5940
cagcgcctcg gcctcggctc caccctctac acccacttcc tcaagagcat ggaggcccag	6000
ggcttcaagt ccgtggtggc cgtgatcggc ctcccgaaag acccgtcgtt ggcctccac	6060
gaggccctcg gctacaccgc ccgcggcacc ctccgcgcgc ccggtacaaa gcacggcggc	6120
tggaacgacg tcggttcttg gcagcgcgac ttcgagctgc cggccccgcc gcgcccgttg	6180
cgcgcggtga cgcagatctg agtcgaaacc tagacttgtc catcttcttg attggccaac	6240
ttaattaatg tatgaaataa aaggatgcac acatagtac atgctaatac ctataatgtg	6300
ggcatcaaag ttgtgtgtta tgtgtaatta ctagttatct gaataaaaga gaaagagatc	6360
atccatattt cttatcctaa atgaatgtca cgtgtcttta taattctttg atgaaccaga	6420
tgcatttcat taaccaaata catatacata taaatattaa tcatatataa ttaatataca	6480

[0037]

ttgggttagc aaaacaaatc tagtctaggt gtgttttgcg aattgoggcc gccaccggcg	6540
tggagctoga attcattccg attaatcgtg gcctcttgct cttcaggatg aagagctatg	6600
tttaaactgt caagcgtac tagacaatc agtacattaa aaacgtccgc aatgtgttat	6660
taagttgtct aagcgtcaat ttggtttaca ccacaatata tcttgccacc agccagccaa	6720
cagctccccg accggcagct cggcacaaaa tcaccactcg atacaggcag cccatcagtc	6780
cgggacggcg tcagcgggag agccgttgta aggcggcaga ctttgctcat gttaccgatg	6840
ctattcggaa gaacggcaac taagctgccg gggttgaaac acggatgac tcgcggaggg	6900
tagcatgttg attgtaacga tgacagagcg ttgctgcctg tgatcaaata tcctctccct	6960
cgcagagatc cgaattatca gccttcttat tcattctcgc cttaaccgtg acaggtgtgc	7020
gatcttgaga actatgccga cataatagga aatcgtgga taaagccgt gaggaagctg	7080
agtggcgcta tttctttaga agtgaacgtt gacgatcgc gaccgtacc cgatgaatta	7140
attcggacgt acgttctgaa cacagctgga tacttacttg ggcgattgtc atacatgaca	7200
tcaacaatgt acccgtttgt gtaaccgtct cttggagggt cgtatgacac tagtggttcc	7260
cctcagcttg cgactagatg ttgaggccta acattttatt agagagcagg ctagttgctt	7320
agatacatga tcttcaggcc gttatctgtc agggcaagcg aaaattggcc atttatgacg	7380
accaatgccc cgcagaagct cccatctttg ccgccataga cgcgcgccc ccttttggg	7440
gtgtagaaca tctttttgcc agatgtggaa aagaagttcg ttgtccatt gttggcaatg	7500
acgtagtagc cggcgaaagt gcgagaccca tttgcctat atataagcct acgatttccg	7560
ttgcgactat tgctgtaatt ggatgaacta ttatcgtagt tgctctcaga gttgtcgtaa	7620
tttgatggac tattgtcgta attgcttatg gagttgtcgt agttgcttgg agaaatgtcg	7680
tagttggatg gggagtagtc atagggaaga cgagcttcat ccactaaaac aattggcagg	7740
tcagcaagtg cctgccccga tgccatcgca agtacgagc ttagaaccac ctccaacaga	7800
tcgcgcatag tcttccccag ctctctaacg cttgagttaa gcgcgcgc gaagcggcgt	7860
cggcttgaac gaattgtag acattatttg ccgactacct tggatgctc gcctttcacg	7920
tagtgaacaa attcttccaa ctgatctgcg cgcgaggcca agcgatcttc ttgtccaaga	7980
taagcctgcc tagcttcaag tatgacgggc tgatactggg ccggcaggcg ctccattgcc	8040
cagtcggcag cgacatcctt cggcgcgatt ttgccgtta ctgcgctgta ccaaatgcgg	8100
gacaacgtaa gcactacatt tcgctcatcg ccagccagc cgggcggcga gttccatagc	8160
gttaaggttt catttagcgc ctcaaataga tctgttcag gaaccggatc aaagagttcc	8220

[0038]

tccgccgtg gacctacca ggcaacgcta tgttctcttg cttttgtcag caagatagcc	8280
agatcaatgt cgategtggc tggctcgaag atacctgcaa gaatgtcatt gcgctgccat	8340
tctccaaatt gcagttcgcg cttagctgga taacgccacg gaatgatgtc gtcgtgcaca	8400
acaatggtga cttctacagc gccggagaatc tcgctctctc caggggaagc cgaagtttcc	8460
aaaaggctgt tgatcaaagc tcgccgcgtt gtttcatcaa gccttacagt caccgtaacc	8520
agcaaatcaa tatcactgtg tggtttcagg ccgccatcca ctgcggagcc gtacaaatgt	8580
acggccagca acgtcgttgc gagatggcgc tcgatgaagc caactacctc tgatagtgtg	8640
gtcgatactt cggcgatcac cgttccctc atgatgttta actcctgaat taagccgcgc	8700
cgcgaagcgg tgtcggcttg aatgaattgt taggcgtcat cctgtgctcc cgagaaccag	8760
taccagtaca tcgctgttcc gtccgagact tgaggtctag ttttatacgt gaacaggtca	8820
atgccgcga gagtaaagcc acattttgcg tacaaattgc aggcaggtac attgttcgtt	8880
tgtgtctcta atcgtatgcc aaggagctgt ctgcttagtg cccacttttt cgcaaattcg	8940
atgagactgt gcgcgactcc tttgcctcgg tgcgtgtgcg acacaacaat gtgttcgata	9000
gaggctagat cgttccatgt tgagttgagt tcaatcttcc cgacaagctc ttggtcgatg	9060
aatgcgccat agcaagcaga gtcttcatca gagtcatcat ccgagatgta atccttcggg	9120
taggggctca cacttctggt agatagttca aagccttggt cggataggtg cacatogaac	9180
acttcacgaa caatgaaatg gttctcagca tccaatgttt ccgccacctg ctcagggatc	9240
accgaaatct tcatatgacg cctaacgcct ggcacagcgg atcgcaaacc tggcgcggct	9300
tttggcacia aaggcgtgac aggtttgcga atccgttget gccacttggt aacccttttg	9360
ccagatttgg taactataat ttatgttaga ggogaagtct tgggtaaaaa ctggcctaaa	9420
attgttgggg atttcaggaa agtaaacatc accttcgggc tcgatgtcta ttgtagatat	9480
atgtagtgtg tctacttgat cgggggatct gctgcctcgc gcgtttcggg gatgacgggtg	9540
aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgcgc	9600
ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggcgcagcca	9660
tgaccagtc acgtagcgat agcggagtgt atactggctt aactatgcgg catcagagca	9720
gattgtactg agagtgcacc atatgcggtg tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa	9780
ataccgcate aggcgtctct ccgttccctc gctcactgac tcgctgcgct cggctgttcg	9840
gtcgcggcga gcggtatcag ctcaactcaa gccggtaata cggttatcca cagaatcagg	9900
ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggcagcaa aaggccagga accgtaaaaa	9960

[0039]

ggccgcgttg ctggcgtttt tccatagget cgcgcgcct gacgagcatc acaaaaatcg	10020
acgtcaagt cagaggtgga gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc	10080
tggaagctcc ctgctgctct ctctgttcc gacctgcgcg cttaccggat acctgtccgc	10140
ctttctccct tcgggaagcg tggcgcttcc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc	10200
ggtgtaggtc gtctgctcca agctgggctg tgtgcacgaa ccccccgttc agcccagccg	10260
ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccgc gtaagacacg acttatcgcc	10320
actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga	10380
gttcttgaag tggtagccta actacggeta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc	10440
tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac	10500
caccgctggt agcgttggtt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg	10560
atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc	10620
acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa	10680
ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggc ctgacagtta	10740
ccaatgetta atcagtgcgc cacttatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt	10800
tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag	10860
tgtgcgaatg ataccgcgcg acccagctc accggtcca gatttatcag caataaacca	10920
gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tctgcaact ttatccgcct ccatccagtc	10980
tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt	11040
tggtgccatt gctgcagggg gggggggggg gggggacttc cattgttcat tccacggaca	11100
aaaacagaga aaggaaacga cagaggccaa aaagcctcgc tttcagcacc tgctgttcc	11160
tttcttttca gaggtatatt taaataaaaa cattaagtta tgacgaagaa gaacggaaac	11220
gccttaaacc ggaaaatttt cataaatagc gaaaaccgcg gaggtcgccg ccccgtaacc	11280
tacctgtcgg atcaccggaa aggaccgta aagtgataat gattatcatc tacatatcac	11340
aacgtgcgtg gaggccatca aaccacgtca aataatcaat tatgacgcag gtatcgtatt	11400
aattgatctg catcaactta acgtaaaaaa aacttcagac aatacaaate agcgacactg	11460
aatacggggc aacctcatgt ccccccccc cccccccctg caggcatcgt ggtgtcacgc	11520
tcgtcgtttg gtatggttcc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga	11580
tccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt tgcagaagt	11640
aagttggccg cagtgttata actcatggtt atggcagcac tgcataatte tcttactgtc	11700

[0040]

atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa	11760
tagtgtatgc ggcgaccgag ttgtctttgc cggcggtcaa caggggataa taccgcgcc	11820
catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca	11880
aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaacca ctcgtgcacc caactgatct	11940
tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct ggggtagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc	12000
gcaaaaaagg gaataagggc gacacgaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa	12060
tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt	12120
tagaaaaata aacaaatagg ggttcgcgc acatttcccc gaaaagtgc acctgacgtc	12180
taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac gaggccttt	12240
cgtcttcaag aattcggagc ttttgccatt ctcaccggat tcagtcgtca ctcatggtga	12300
ttctcactt gataacctta tttttgacga ggggaaatta ataggttgta ttgatgttg	12360
acgagtcgga atcgcagacc gataccagga tcttgccatc ctatggaact gcctcgggtga	12420
gtttctcct tcattacaga aacggctttt tcaaaaatat ggtattgata atcctgatat	12480
gaataaattg cagtttcatt tgatgctega tgagtttttc taatcagaat tggttaattg	12540
gttgtaacac tggcagagca ttaacgtgac ttgacgggac ggcggctttg ttgaataaat	12600
cgaacttttg ctgagttgaa ggatcagatc acgcatcttc ccgacaacgc agaccgttc	12660
gtggcaaagc aaaagttcaa aatcaccaac tgggtccact acaacaaagc tctcatcaac	12720
cgtggctccc tcactttctg gctggatgat ggggcgattc aggcctggta tgagtcagca	12780
acaccttctt cagaggcag acctcagcgc cagaaggccg ccagagaggc cgagcgcggc	12840
cgtgaggett ggacgctagg gcaggcatg aaaaagcccg tagcgggctg ctacgggctg	12900
ctgacgcggt ggaaagggg aggggatgtt gtctacatgg ctctgctgta gtgagtgggt	12960
tgcgtccgg cagcgtcct gatcaatcgt caccctttct cggtccttca acgttctga	13020
caacgagcct ccttttcgcc aatccatcga caatcacgc gagtcctgc tcgaacgtg	13080
cgtccggacc ggcttcgtcg aaggcgtcta tcgcggcccg caacagcggc gagagcggag	13140
cctgttcaac ggtgcgcgc cgctcgcgc catcgtgtc gccggcctgc tcctcaagca	13200
cgcccccaac agtgaagtag ctgattgtca tcagcgcatt gacggcgtcc ccggccgaaa	13260
aaccgcctc gcagaggaag cgaagctgc cgctggcctg ttccatctgc ggtgcgcgc	13320
gtcgcgtgcc ggcattgatg cgcgcgccat cgcggtaggc gagcagcgc tgctgaagc	13380
tgcgggcatt ccgatcaga aatgagcgc agtcgtctgc ggctctcggc accgaatgcg	13440

[0041]

tatgattctc cgccagcatg gcttoggcca gtgcgtogag cagcgcccg ttgttctga	13500
agtgccagta aagcgccggc tgetgaaccc ccaaccgttc cgccagtttg cgtgtcgtca	13560
gaccgtctac gccgacctcg ttcaacaggt ccaggcgggc acggatcaact gtattcggct	13620
gcaactttgt catgcttgac actttatcac tgataaacat aatatgtcca ccaacttato	13680
agtgataaag aatccgcgcg ttcaatcgga ccagcggagg ctgggtccgga ggccagacgt	13740
gaaacccaac ataccctga tcgtaattct gagcactgtc gcgctcgacg ctgtcggcat	13800
cggcctgatt atgcgggtgc tgccgggcct cctgcgcgat ctggttcact cgaacgacgt	13860
caccgcccac tatggcattc tgctggcgct gtatgcgttg gtgcaatttg cctgcgcacc	13920
tgtgtctgggc gcgctgtcgg atcgtttcgg gcggcggcca atcttgcctg tctcgtggc	13980
cggcgccact gtgcactacg ccatcatggc gacagcgcc ttcctttggg ttctctatat	14040
cggcgggatc gtggccggca tcaccggggc gactggggcg gtagccggcg cttatattgc	14100
cgatatcaact gatggcgatg agcgcgcgcg gcacttcggc ttcatgagcg cctgtttcgg	14160
gttcgggatg gtgcgggac ctgtgtcggc tgggctgatg ggcggtttct cccccacgc	14220
tccgtttctc gccgcggcag ccttgaacgg cctcaatttc ctgacggget gtttcctttt	14280
gccggagtgc cacaaaggcg aacgcggcc gttacgcgg gaggtctctc acccgctcgc	14340
ttcgttcggc tgggcccggg gcatgaccgt cgtgcgcgc ctgatggcgg tcttcttcat	14400
catgcaactt gtcggacagg tgccggccgc gctttgggtc attttcggcg aggatcgctt	14460
tcactgggac gcgaccacga tcggcatttc gcttgccga tttggcattc tgcaattcaact	14520
cggccaggca atgateacgc gccctgtagc cggccggctc ggcgaaagge ggccactcat	14580
gtcgggaatg attgcgcgc gcacaggcta catcctgctt gccttcgcga cacggggatg	14640
gatggcgctc ccgatcatgg tctgtcttgc ttcgggtggc atcggaatgc cgcgctgca	14700
agcaatgttg tccaggcagg tggatgagga acgtcagggg cagctgcaag gctcactggc	14760
ggcgctcacc agcctgacct cgatcgtcgg accctctctc ttcacggcga tctatcggc	14820
ttctataaca acgtggaacg ggtgggcatg gattgcagge gctgccctct acttgcctg	14880
cctgcggcg ctgcgtcgc ggctttggag cggcgcaggg caacgagccg atcgtgatc	14940
gtggaacga taggcctatg ccatgcgggt caaggcgact tccggcaagc tatacgcgc	15000
ctaggagtgc ggttgaacg ttggcccagc cagatactcc cgatcacgag caggacgcgc	15060
atgatttgaa gcgcactcag cgtctgatcc aagaacaacc atcctagcaa cagggcggtc	15120
ccgggctga gaaagcccag taaggaaaca actgtaggtt cgagtgcga gatccccgg	15180

[0042]

aaccaaagga agtaggttaa acccgctccg atcaggccga gccacgccag gccagagaaca	15240
ttggttcctg taggcacatcg gattggcgga tcaaacaacta aagctactgg aacgagcaga	15300
agtccctccg ccgccagttg ccaggcggtta aaggtgagca gaggcacggg aggttgccac	15360
ttgcgggtca gcacggttcc gaacgccatg gaaaccgccc ccgccaggcc cgtgcgacg	15420
ccgacaggat ctagecgtgc gtttggtgtc aacaccaaca gcgccacgcc cgcagttccg	15480
caaatagccc ccaggaccgc catcaatcgt atcgggctac ctagecagagc ggcagagatg	15540
aacacgacca tcagcggctg cacagcgccct accgtcgccg cgaccccgcc cggcaggcgg	15600
tagaccgaaa taaacaacaa gtcacagaat agcgaaatat taagtgcgcg gaggatgaag	15660
atgcgcatec accagattcc cgttggaatc tgtcggaaga tcatcacgag caataaaccc	15720
gccggcaacg ccgcgcagcag cataccggcg acccctcgcc ctcgctgttc gggctccacg	15780
aaaacgccgg acagatgcgc cttgtgagcg tccttggggc cgtccctcctg tttgaagacc	15840
gacagcccaa tgatctcgcc gtcgatgtag gcgcgaatg ccacggcacc tcgcaaccgt	15900
tcagcgaacg cctccatggg cttttctctc tcgtgctcgt aaacggaccc gaacatctct	15960
ggagctttct tcagggcoga caatcgatc tcgggaaat cctgcacgtc ggccgctcca	16020
agccgtcgaa tctgagcctt aatcacaatt gtcaatttta atcctctgtt tatcggcagt	16080
tcgtagagcg cgccgtcgt ccgagcgat actgagcgaa gcaagtgcgt cgagcagtgc	16140
ccgcttgctc ctgaaatgcc agtaaagcgc tggctgctga acccccagcc ggaactgacc	16200
ccacaaggcc ctagecgttg caatgcacca ggcatcatt gaccagcg tggtccacca	16260
ggccgctgcc tcgcaactct tcgcaggctt cgccgacctg ctcgcgccac ttcttcacgc	16320
gggtggaatc cgatccgcac atgaggcgga aggtttccag cttgagcggg taaggctccc	16380
ggtgcgagct gaaatagtcg aacatccgtc ggcccgctcg cgacagcttg cggtaactct	16440
cccatatgaa ttctgtgtag tggtcgccag caaacagcac gacgatttcc tcgtcgatca	16500
ggacctggca acgggacgtt ttcttgccac ggccaggac gcggaagcgg tgcagcagcg	16560
acaccgattc caggtgccc acgcggctcg acgtgaagcc catcgccgtc gcctgtaggc	16620
gcgacaggca ttctcggcc ttctgttaat accggccatt gatcgaccag cccaggtcct	16680
ggcaaagctc gtagaacgtg aaggtgatcg gctcgccgat aggggtgcgc ttgcgtaact	16740
ccaacacctg ctgccacacc agttcgatc cgtcgcccg cagctcgacg ccggtgtagg	16800
tgatcttcac gtcttgttg acgtggaaaa tgacctgtt ttgcagcgcc tcgcgcggga	16860
ttttctgtt gcgcgtggtg aacagggcag agcgggccgt gtcgtttggc atcgctcgca	16920

[0043]

tcgtgtccgg ccacggcgca atategaaca aggaaagctg catttccttg atctgtctgt	16980
tcgtgtgttt cagcaacgog gcctgcttgg cctcgctgac ctgttttgcc aggtcctcgc	17040
cgggcggttt tegettcttg gtgcgtcatag ttctcgcgt gtcgatggtc atcgacttcg	17100
ccaaaacctgc cgcctcctgt tcgagacgac gogaacgctc cacggcggcc gatggcgcgg	17160
gcagggcagg gggagccagt tgcaacgtgt cgcgctcgat cttggccgta gcttgctgga	17220
ccatcgagcc gacggactgg aaggtttcgc ggggcgcacg catgacgggtg cggcttgcca	17280
tggtttcggc atcctcggcg gaaaaccccg cgtcgatcag ttcttgctg tatgccttcc	17340
ggtcaaacgt ccgattcatt caccctcctt gcgggattgc cccgactcac gccggggcaa	17400
tgtgccctta ttctgattt gaccgcctg gtgccttgggt gtccagataa tccaccttat	17460
cggeaatgaa gtcggtcccg tagacgtct ggccgtcctt ctctacttg gtattccgaa	17520
tcttgccctg cacgaatacc agcgaccctt tgcccaaata cttgccgtgg gcctcggcct	17580
gagagccaaa acacttgatg cggaagaagt cgggtgcgctc ctgcttgctg ccggcatcgt	17640
tgcgccactc ttcattaacc gctatatcga aaattgcttg cggcttgcta gaattgccat	17700
gaogtacctc ggtgtcacgg gtaagattac cgataaacgt gaactgatta tggctcatat	17760
cgaagtctc cttgagaaag gagactctag tttagctaaa cattgggttc gctgtcaaga	17820
acttagcgg ctaaaatttt gcgggcgcg accaaagggtg cgaggggcgg cttccgctgt	17880
gtacaaccag atatttttca ccaacatcct tcgtctgctc gatgagcggg gcatgacgaa	17940
acatgagctg tcggagaggg caggggttcc aatttcgttt ttatcagact taaccaacgg	18000
taaggccaac ccctcgttga aggtgatgga ggccattgcc gacgccctgg aaactccct	18060
acctcttctc ctggagtcca ccgacctga ccgcgaggca ctgcgggaga ttgcgggtca	18120
tcctttcaag agcagcgtgc cgcgcggata cgaacgcac agtgtggttt tgcgctcaca	18180
taaggcgttt atcgtaaaga aatggggcga cgacaccga aaaaagctgc gtggaaggct	18240
ctgacgcaa gggttagggc ttgcacttcc ttcttttagcc gctaaaacgg ccccttctct	18300
gcgggcgcgc ggctcgcgca tcatatcgac atcctcaacg gaagccgtgc cgcgaatggc	18360
atcgggcggg tgcgcttga cagttgttt ctatcagaac ccctacgtcg tgcggttcga	18420
ttagctgttt gtcttgacgg ctaaacactt tcggtatata gtttgccgt gcgataatgt	18480
tgctaatgat ttgttgctga ggggttactg aaaagtgcgc gggaaagaag agtttcagac	18540
catcaaggag cgggccaagc gcaagctgga acgcgacatg ggtgcggacc tgttgccgc	18600
gctcaacgac ccgaaaaccg ttgaagtcac gctcaacgcg gacggcaagg tgtggcacga	18660

[0044]

acgccttggc gagccgatgc ggtacatctg cgacatgcgg ccagccagc cgcaggcgat	18720
tatagaaacg gtggccggat tccacggcaa agaggtcacg cggcattcgc ccatcctgga	18780
aggcgagttc cccttggatg gcagccgctt tgccggccaa ttgcgcggc tegtggccgc	18840
gccaaccttt gcgatccgca agcgcgcggt cgcctcttc acgctggaac agtacgtcga	18900
ggcgggcac atgacccgcg agcaatacga ggtcattaaa agcgcgcgc cggcgcatcg	18960
aaacatcctc gtcattggcg gtactggctc gggcaagacc acgctcgtca acgcgatcat	19020
caatgaaatg gtgccttca acccgctctga gcgcgtcgtc atcatcgagg acaccggcga	19080
aatccagtgc gcgcagaga acgcgctca ataccacacc agcatcgacg tctcgatgac	19140
gctgctgctc aagacaacgc tgcgtatgcg ccccgaccgc atcctggctg gtgaggtacg	19200
tgccccgaa gcccttgatc tgttgatggc ctggaacacc gggcatgaag gaggtgcgc	19260
cacctgcac gcaacaacc ccaaagcggg cctgagccgg ctgcctatgc ttatcagcat	19320
gcacccggat tcaccgaaac ccattgagcc gctgattggc gagcggttc atgtggctgt	19380
ccatategcc aggacccta gcggcgcgc agtgcaagaa attctcgaag ttcttggta	19440
cgagaacggc cagtacatca ccaaaacct gtaaggagta ttccaatga caacggctgt	19500
tccgttcctg ctgacctga atcgcgcat tttgttctac cttgcctgt tcttcgtct	19560
cgtctcgcg ttatccgcgc atccggcgat ggccctcgaa ggcaccggcg gcagcttgc	19620
atatgagagc tggctgacga acctgcgcaa ctccgtaacc ggcccggtgg ccttcgcgt	19680
gtccatcacg ggcacgtcg tcgcggcgg cgtgctgac ttccggcgcg aactcaacgc	19740
cttcttcga acctgatct tcttggttct ggtgatggcg ctgctggctg gcgcgcagaa	19800
cgtgatgagc acctctctcg gtcgtggctc cgaaatcgcg gccctcgca acggggcgct	19860
gcaccaggtg caagtcgcgg cggcggtatgc cgtgcgtcg gtagcggctg gacggctcgc	19920
ctaactatgg ctctgcgcac gatcccatc cgtcgcgcag gcaaccgaga aaacctgttc	19980
atgggtggtg atcgtgaact ggtgatgttc tcgggcctga tggcgtttgc gctgattttc	20040
agcgcceaag agctgcgggc caccgtggtc ggtctgatcc tgtggttcgg ggcgctctat	20100
gcgttcgaa tcatggcgaa ggccgatccg aagatgcggt tcgtgtacct gcgtcacgc	20160
cggtaacaag cgtattaccc ggcccgctcg acccgttcc gcgagaacac caatagccaa	20220
gggaagcaat accgatgac caagcaattg cgattgcaat cgcgggcctc ggcgccttc	20280
tgttttcat cctctttgcc cgcctcgcg cggctgatgc cgaactgaaa ctgaaaaagc	20340
atcgttccaa ggacgcggc ctggccgatc tgetcaacta cgcgcgtgtc gtcgatgacg	20400

[0045]

gcgtaatcgt gggcaagaac ggcagcttta tggtgcctg gctgtacaag ggcgatgaca	20460
acgcaagcag caccgaccag cagcgcgaag tagtgtccgc ccgcatcaac caggccctcg	20520
cgggcctggg aagtgggtgg atgatccatg tggacgccgt ggggcgtcct gctccgaact	20580
acgcggagcg gggcctgtcg gcgttcctg accgtctgac ggcagcgatt gaagaagagc	20640
gctcggctctt gccttgctcg tcggtgatgt acttcaccag ctccgcgaag tcgctcttct	20700
tgatggagcg catggggacg tgcttgcaa tcacgcgcac ccccgggcgg ttttagcggc	20760
taaaaaagtc atggtcttgc cctcgggcgg accacgccc tcatgacctt gccaaagctcg	20820
tcctgcttct cttegatctt cgcagcagg gcgaggatcg tggcatcacc gaaccgcgcc	20880
gtgcgcgggt cgtcggtag ccagagtttc agcaggccgc ccaggcggcc caggtcgcca	20940
ttgatgcggg ccagctcgcg gacgtgctca tagtccacga cggcgtgat tttgtagccc	21000
tgcccgacgg ccagcaggta ggccgacagg ctcatgcgg ccgcgcgcgc cttttctca	21060
atcgtcttct gtctgtctgg aaggcagtac accttgatag gtgggctgcc cttcctggtt	21120
ggcttggttt catcagccat ccgcttgccc tcctctgtta cgcgcggcgt agccggccag	21180
cctcgcagag caggattccc gttgagcacc gccaggtagc aataagggac agtgaagaag	21240
gaacacccgc tcgcgggtgg gcctacttca cctatcctgc ccggtgacg ccgttgata	21300
caccaaggaa agtctacacg aacccttgg caaatcctg tatatcgtgc gaaaaaggat	21360
ggatataccg aaaaaatcgc tataatgacc ccgaagcagg gttatgcagc ggaaaagcgc	21420
tgcttccclg ctgttttgtg gaatatctac cgactggaaa caggcaaatg caggaaatta	21480
ctgaactgag gggacaggcg agagacgatg ccaaagagct acaccgacga gctggccgag	21540
tgggttgaat ccgcgcggc caagaagcgc cggcgtgatg aggotgcggg tgcgttctg	21600
gcggtgaggg cggatgtcga ggccgcgtta gcgtccggct atgcgctcgt caccatttgg	21660
gagcacatgc gggaaacggg gaaggtaag ttctcctacg agacgttccg ctgcacgcc	21720
aggcggcaca tcaaggccaa gccgcggat gtgccgcac cgcaggccaa ggetgcggaa	21780
ccgcgcggc caccgaagac gccggagcca cggcggccga agcagggggg caaggtgaa	21840
aagccggccc ccgtgcggc ccgacggc ttcacctca acccaacacc ggacaaaaag	21900
gatctactgt aatggcgaaa attcacatgg ttttgaggg caaggcgagg gtcggcaagt	21960
cggccatcgc cgcgatcatt gcgcagtaac agatggacaa ggggcagaca cctttgtgca	22020
tcgacaccga cccggtgaac gcgacgttcg agggctacaa ggccctgaac gtccgcggc	22080
tgaacatcat ggccggcgac gaaattaact cgcgcaactt cgacacctg gtcgagctga	22140

[0046]

ttgcgccgac caaggatgac gtggtgatcg acaacgggtgc cagctcggtc gtgcctctgt	22200
cgcattacct catcagcaac caggtgccgg ctctgctgca agaaatgggg catgagctgg	22260
tcatccatac cgtctcacc ggcgccagg ctctcctgga caggtgagc ggcttcgccc	22320
agctcgccag ccagttcccg gccgaagcgc ttttcgtggt ctggctgaac ccgtattggg	22380
ggcctatcga gcatgagggc aagagctttg agcagatgaa ggcttacacg gccacaagg	22440
cccgcgtgtc gtccatcatc cagattccgg ccctcaagga agaaacctac ggccgcgatt	22500
tcagcgacat gctgcaagag cggctgacgt tcgaccaggc gctggccgat gaatcgctca	22560
cgatcatgac gcggcaacgc ctcaagatcg tgcggcgagg cctgtttgaa cagctcgacg	22620
cggcgccggt gctatgagcg accagattga agagctgac cgggagattg cggccaagca	22680
cggcctcgcc gtgcgcgcg acgacccggg gctgacctg cataccatca acgcccggct	22740
catggccgac agtgcggcca agcaagagga aatccttgcc gcgttcaagg aagagctgga	22800
agggatcgcc catcgttggg gcgaggacgc caaggccaaa gcggagcggg tgcgtaacgc	22860
ggccctggcg gccagcaagg acgcaatggc gaaggtaatg aaggacagcg ccgcgcaggc	22920
ggccgaagcg atccgcaggg aaatcgacga cgcccttgcc cgccagctcg cggccaagg	22980
cgcggacgcg cggcgctgg cgatgatgaa catgatcgcc ggcgccatgg tgttgctgc	23040
ggcgccctg gtggtgtggg cctcgttatg aatcgagag gcgcagatga aaaagcccg	23100
cgttgccggg ctttgttttt gcgttagctg ggcttggtt acaggcccaa gctctgactg	23160
cgcgcgcgt cgcgctcctg ggctgtttc ttctcctgct cctgcttgcg catcagggcc	23220
tgggtgcgtc gggctgcttc acgcatcgaa tccagtcgc cggccagctc gggatgctcc	23280
gcgcgcatct tgcgcgtcgc cagttcctcg atcttggcg cgtgaatgcc catgccttc	23340
ttgatttgc gcacctgtc cagccgctg tgcagggtct gcaagcgggc ttgctgttgg	23400
gcctgctgct gctgccagge ggctttgta cgcggcaggg acagcaagcc gggggcattg	23460
gactgtagct gctgcaaag cgctgctga cggctctaga gctgttctag gcggtcctcg	23520
atgcgtcca cctggtcatg ctttgctgc acgtagagcg caagggtctg ctggtaggtc	23580
tgctcgatgg gcgcggatc taagagggcc tgcgtttccg tctcgccctc ctgggccgcc	23640
tgtagcaaat cctcgccgct gttgcgctg gactgcttta ctgccggga ctgctgttgc	23700
cctgctcgcg ccgtcgtcgc agttcggtt gccccactc gattgactgc ttcatttcga	23760
gcgcagcga tgcgatctcg gattgcgtca acggacgggg cagcgcggag gtgtccggt	23820
tctccttggg tgagtcggtc gatgccatag ccaaaggtt cttccaaaa tgcgtccatt	23880

[0047]

gctggaccgt gtttctcatt gatgcccga agcatcttcg gcttgaccgc caggtcaagc	23940
gcgccttcat gggcggtcat gacggagcc gccatgacct tgcgcggtt gttctcgatg	24000
tagccgcgta atgaggcaat ggtgcgcgcc atcgtcagcg tgtcatcgac aacgatgtac	24060
ttctggccgg ggatcacctc cccctcgaaa gtccgggtga acgccaggcg atgatctgaa	24120
ccggctccgg ttcgggcgac cttctcccgc tgcacaatgt ccgtttcgac ctcaaggcca	24180
aggcggtcgg ccagaacgac cgccatcatg gccggaatct tgttgttccc cgccgcctcg	24240
acggcgagga ctggaacgat gcggggcttg tcgtcgccga tcagcgtctt gagctgggca	24300
acagtgtcgt ccgaaatcag gcgtcgacc aaattaagcg ccgttccgc gtgcacctgc	24360
ttcgcagcct ggtattcagg ctctgttgtc aaagaaccaa ggtgcggtt gcgaaccacc	24420
ttcgggaagt ctccccacgg tgcgcgtcg gctctgctgt agctgctca gacgcctccc	24480
tttttagccg ctaaaactct aacgagtgcg ccgcgcactc aacttgacgc tttcggcaact	24540
tacctgtgcc ttgccacttg cgtcataggt gatgcttttc gcactccga tttcaggtac	24600
tttatcgaaa tctgaccggg cgtgcattac aaagttcttc ccacctggt ggtaaatgct	24660
gcgcctatct gcgtggacga tgcgtcgtc gtggcgctgc gacttatcgg ccttttgggc	24720
catatagatg ttgtaaatgc caggtttcag ggccccggt ttatctacct tctggttcgt	24780
ccatgcgcct tggttctcgg tctggacaat tctttgcca ttcatgacca ggaggcggtg	24840
tttcattggg tgactcctga cggttgcctc tgggtgttaa cgtgtcctgg tcgcttgccg	24900
gctaaaaaaa agccgacctc ggcagttcga ggccggcttt ccctagagcc gggcgcgta	24960
aggttgttcc atctatttta gtgaactgcg ttcgatttat cagttacttt cctcccgctt	25020
tgtgtttcct ccactcgtt tccgcgtcta gccgacct caacatagcg gcctcttctt	25080
gggctgcctt tgctcttgc cgcgttcgt cacgtcggc ttgcaccgc gtaaagcgt	25140
cggcctgcct ggccgcctct tgcgcgcca acttctttg ctctgggtgg gcctcggcgt	25200
cggcctgcgc cttegettcc accgtgcca actcgtgcg caaactctcc gcttcgcgc	25260
tgggtggcgc gcgtcgcgc cgaagcgcct gcatttctg gttggcgcg tccagggtct	25320
tgcggctctc ttctttgaat gcgcgggcgt cctggtgagc gtagtccagc tcggcgcgca	25380
gctcctgcgc tcgacgtcc acctcgtcgg ccgctgcgt cgccagcgc gcccgctgct	25440
cggtcctgc cagggcggtg cgtgcttcgg ccagggttg ccgtggcgt gcggccagct	25500
cgccgcctc ggccgcctgc tgcctagca atgtaacgc cgcctgggt tcttcagct	25560
cgcgggcctg cgcctegaag gcgtggcca gctccccgc caggcttcc aactcgttgc	25620

[0048]

gctcacgata ccagccgget tgcgtgcct gcaacgattc attggcaagg gcctgggcgg	25680
cttgccagag ggccggccacg gcctggttgc cggcctgctg caccgcgtcc ggcacctgga	25740
ctgccagcgg ggccggcctgc gccgtgcgt ggcgtcgcca ttcgcgatg ccggcgctgg	25800
cgtcgttcat gttgacgcgg gggcccttac gcaactgcata cacggtcggg aagttctccc	25860
ggtcgccttg ctggaacagc tcgtccgcag ccgcaaaaat gcggtcgcgc gtctctttgt	25920
tcagttccat gttggtccg gtaattggtg agaataataa tactcttacc taccttata	25980
gcgcaagagt ttagctgaac agttctcgac ttaacggcag gtttttttagc ggctgaaggg	26040
caggcaaaaa aagccccga cggtcggcgg gggcaaaggg tcagcgggaa ggggattagc	26100
gggcgtcggg cttcttcatg cgtcggggcc gcgttcttg ggatggagca cgacgaagcg	26160
cgcacgcgca tcgtctcctg ccctatcggc ccgcgtcgcg gtcaggaaact tgtcgcgcgc	26220
taggtcctcc ctggtgggca ccaggggcct gaactcggcc tgcctgatgt aggtccactc	26280
catgaccgca tcgcagtga gcccgcttc cttcacgcgc tcttcaggt ccggttacgc	26340
ccgtcgttg agcggctggt aacgggcca ttggtcgtaa atggctgtcg gccatgagcg	26400
gcctttcctg ttgagccagc agccgacgac gaagccggca atgcaggccc ctggcacaac	26460
caggccgacg ccggggggcag gggatggcag cagctcgcca accaggaaacc ccgcccgat	26520
gatgccgatg ccggtcaacc agcccttgaa actatccggc ccgaaacac ccctgcgcct	26580
tgcttgatg ctgcgcggga tagcttgcaa catcaggagc cgtttctttt gtctgtcagt	26640
catggtcgc cctcaccagt tgctgtatc ggtgtcggac gaactgaaat cgcaagagct	26700
gccgttatcg gtccagccgc tgctcgtgtc gctgtgcgcg aagcacggcg aggggtcgc	26760
gaacccgca gacggcgtat ccggccgcag cgcctgccc agcatggccc cggtcagcga	26820
gccgcggccc aggtagccca gcatggtgct gttggtcgcc ccggccacca gggccgacgt	26880
gacgaaatcg ccgtcattcc ctctggattg ttcgtgtctc ggccgggcag tgcgccgcgc	26940
ccggcgcgtc gtggatggt cgggttggt ggctgcgac ggccggcgaa aggtgcgcag	27000
cagctcgtta tcgaccggt gcggcgctcg ggccgcgcgc ttgcgtgcg gtcggtgttc	27060
cttcttcggc tcgcgcagct tgaacagcat gatcgggaa accagcagca acgccgcgc	27120
tacgcctccc gcgatgtaga acagcatcgg attcattctt cggctcctct tgtagcggaa	27180
ccgttgtctg tgcggcgcg gtggcccgcg ccgtgtctt tggggatcag cctcgatga	27240
gcgcgaccag tttaacgtcg gcaaggctcg cctcgaaactc ctggccgtcg tctcgtact	27300
tcaaccagcg atagccttc gccggcgccc gacggttag gataaggcgg gcaggcgct	27360

[0049]

cgctcgtgctc gacctggacg atggcctttt tcagcttgctc cgggtccggc tccttcgcgc	27420
ccttttccctt ggcgctcetta ccgtccctggg cgcgcgcctc gccgtccctgg ccgtcgcgcg	27480
cctccgcgctc acgctcggca tcagtctggc cgttgaaggc atcgacgggtg ttgggatcgc	27540
ggcccttctc gtccaggaac tcgcgcagca gcttgaccgt gccgcgcgtg atttcctggg	27600
tgctcgtcgc aagccacgcc tcgacttcct ccgggcgcctt cttgaaggcc gtcaccagct	27660
cgttcaccac gggtcacgtcg cgcacgcggc cgggtgttgaa cgcacgcgcg atcttctccg	27720
gcagggtccag cagcgtgacg tgctgggtga tgaacgccg cgaattgccg atttccttgg	27780
cgatatcgcc tttcttcttg cccttcgcca gctcgcggcc aatgaagtcg gcaatttcgc	27840
ggggggctcag ctcggttgcgt tgcaggttct cgataacctg gtcggcttcg ttgtagtctg	27900
tgctgatgaa cgcgggatg gacttcttgc cggcccactt cgagccacgg tagcggcggg	27960
cgcctgtatt gatgatatag cggcccggct gctcctgggtt ctgcgcacc gaaatgggtg	28020
acttcacccc gcgctctttg atcgtggcac cgatttcgc gatgctctcc ggggaaaagc	28080
cgggggttgc ggccgtccgc ggctgatgcg gatcttcgtc gatcaggtec aggtccagct	28140
cgatagggcc ggaaccgccc tgagacgcg caggagcgtc caggaggctc gacaggtcgc	28200
cgatgctatc caaccccagg ccggacggct gcgcgcgcgc tgcggcttcc tgagcggccg	28260
cagcgggtgtt tttcttgggtg gtcttggett gagccgcagt cattgggaaa tctccatctt	28320
cgtgaacacg taatcagcca gggcgcgaac ctctttcgat gccttgcgcg cggccgtttt	28380
cttgatcttc cagaccggca caccggatgc gagggcatcg gcgatgctgc tgccagggcc	28440
aacggtggcc ggaatcatca tcttggggta cgcggccagc agctcggctt ggtggcgcgc	28500
gtggcgcgga ttccgcgcct cgaccttgcg gggcaccatg ccaaggaatt gcagcttggc	28560
gttctctctg cgcacgttcg caatggctgt gaccatcttc ttgatgccct ggatgctgta	28620
cgcctcaagc tcgatggggg acagcacata gtcggccgcg aagagggcgg ccgccaggcc	28680
gacccaagg gtcggggccg tgctgatcag gcacacgtcg aagccttggg tcgccaggcc	28740
cttgatgttc gcccgaaca gctcgcgggc gtcgtccagc gacagccgtt cggcgttcgc	28800
cagtaccggg ttggactcga tgagggcgag gcgcgcggcc tggccgtcgc cggctgcggg	28860
tgccggttctg gtccagccgc cggcagggac agcgcgaac agcttgcttg catgcaggcc	28920
ggtagcaaag tccttgagcg tgtaggacgc attgccctgg ggggtccaggt cgaacaggc	28980
aacccgcaag ccgcgctcga aaaagtcgaa ggcaagatgc acaagggtcg aagtcttgc	29040
gacgcgcctt ttctgggttg ccgtgaccaa agttttcctc gtttggtttc ctgttttttc	29100

[0050]

ttggcgccg cttcccactt cggagcatg tacgcctgat gtccggcag aaccgcccgtt	29160
accgcccgt acccctcggg caagttcttg tctcgaacg cggccacac gcgatgcacc	29220
gcttgcgaca ctgcgccctt ggtagtccc agcgacgttg cgaacgtcgc ctgtggttc	29280
ccatcgacta agacgccccg cgtatctcgc atggtctgct gcccacttc cagccccgtg	29340
atgcctcctt ggaactggct ttggtaagc cgtttcttca tggataaac ccataatttg	29400
ctccgcccgt tgggtgaaca tagcggtgac agcccccagc acatgagaga agtttagcta	29460
aacatttctc gcacgtcaac acctttagcc gctaaaactc gtccttggcg taacaaaaca	29520
aaagcccggg aaccgggctt tcgtctcttg ccgttatgg ctctgcacc ggctccatca	29580
ccaacaggtc gcgcacgcgc ttactcgggt tgcggatcga cactgccagc ccaacaaagc	29640
cgggtgcgc gcgcgccagg atgcgcgcga tgatgcggc cacaccggc atgcgccacc	29700
aggtagccgc cttccggttc cattcctgct ggtactgctt cgcaatgctg gacctcggct	29760
caccataggc tgaccgctcgc atggcgtagt ccgtttctcc ccttggcgta aaaccagcg	29820
ccgcaggcgg cattgccatg ctgccgcgc ctttccgcac cagcagcgc gcaccaggct	29880
tgcgggtccag accttcggcc acggcgagct gcgcaaggac ataatcagcc gccgacttgg	29940
ctccacgcgc ctgcacgcgc ttctgcaact gcgcgaaatc cttggcctcc accgcccga	30000
tgaatcgcgc acgcggcgaa ggctccgcag ggccggcgct gtgatgcgc ccgagaatgc	30060
ccttcacca gttcgacgac acgaaaatca tgctgacggc tatcaccatc atgcagacgg	30120
atgcacgaa ccgctgaat tgaacacgag cagggcacc gcgaccacta tgccaagaat	30180
gcccaggta aaaattgcgc gccccgcat gaagtcgctg aatgccccga cggccgaagt	30240
gaagggcagg cgcaccaca ggccgcgcgc ctactgcgc ggcacctggt cgtgaatgt	30300
cgatgccagc acctgcggca cgtcaatgct tccggcgct gcgctcgggc tgatgcacca	30360
tccggttact gcccgcacgc cggcaatggc aaggactgcc agcgtgcca ttttggggt	30420
gaggccgttc gcggccgagg ggccgagccc ctggggggat gggaggccgc cgttagcggg	30480
ccgggagggt tcgagaagg ggggcacccc ccttcggcgt gcgcggtcac gcgcacaggg	30540
cgcagccctg gtaaaaaaca aggtttataa atattggttt aaaagcaggt taaaagacag	30600
gttagcgggt gccgaaaaac ggccggaaac ccttgcaaat gctggatttt ctgcctgtgg	30660
acagccctc aaatgtcaat aggtgcgcgc ctcatctgtc agcactctgc cctcaagtg	30720
tcaaggatcg cgcctctcat ctgtcagtag tcgcgcctc caagtgtcaa taccgcaggg	30780
caattatccc caggttgtc cacatcatct gtgggaaact cgcgtaaaat caggcgtttt	30840

[0051]

cgccgatttg cgaggetggc cagctccacg tcgccggccg aaatcgagcc tgcccccat	30900
ctgtcaacgc cgcgcgggt gagtcggccc ctcaagtgtc aacgtccgcc cctcatctgt	30960
cagtgagggc caagttttcc gcgaggatc cacaacgcc gcggccgcgg tgtctcgac	31020
acggcttcga cggcgtttct ggccggttg cagggccata gacggccgcc agcccagcg	31080
cgagggaac cagcccggtg agcgtcgga aggcgctgga agccccgtag cgacgcggag	31140
aggggcgaga caagccaagg gcgcaggctc gatgcgcagc acgacatagc oggttctgc	31200
aaggacgaga atttccctgc ggtgccccctc aagtgtcaat gaaagtttcc aacgcgagcc	31260
attcgcgaga gccttgagtc cacgctagat gagagctttg ttgtaggtgg accagttggt	31320
gattttgaac ttttgctttg ccaacgaacg gtctgcgttg tcgggaagat gcgtgatctg	31380
atccttcaac tcagcaaaag ttcgatttat tcaacaaagc cacgttgtgt ctcaaatct	31440
ctgatgttac attgcacaag ataaaaatat atcatcatga acaataaaac tgtctgctta	31500
cataaacagt aatacaagggt gtgttatgag ccatattcaa cgggaaacgt cttgctcgac	31560
tctagagctc gtctctcgag gaacggtacc tgcggggaag cttacaataa tgttgttgt	31620
taagtcttgt tgctgtcat cgtctgactg actttcgta taaatcccg cctccgtaac	31680
ccagcttttg gcaagctcac ggatttgatc cggcggaacg ggaatatcga gatgccggc	31740
tgaacgtgc agttccagct ttccctttcg ggacaggtae tccagctgat tgattatctg	31800
ctgaagggtc ttggttccac ctcttgccac aatgcgaatg attacttgag cgcgatcggg	31860
catccaattt tctcccgta ggtgcgtggt caagtgtac aaggcacctt tcagtaacga	31920
gcgacgtcg atccgtcgcc gggatacga caaatggag cgcagtagtc catcgagggc	31980
ggcgaaagcc tcgcaaaaag caatacgttc atctgcaca gcctccagat ccgatcgagg	32040
gtcttcggcg taggcagata gaagcatgga tacattgctt gagagtattc cgatggactg	32100
aagtatggct tccatctttt ctctgtgttc tgcatttatt tcgagaaagc ccccgatcg	32160
gcgcaccgca acgcgaattg ccatactatc cgaaagtcac agcaggcgcg cttgatagga	32220
aaaggtttca tactcgccgc atcgagacg ggcactcaag acctgaacc cttcaacttt	32280
cagggatcga tgcgtgttga tggtagctc actcgacgtg gctctggtgt gttttgacat	32340
agcttcctcc aaagaaagcg gaaggtctgg atactccagc acgaaatgtg cccgggtaga	32400
cggtatggaag tctagccctg ctcaatatga aatcaacagt acatttacag tcaatactga	32460
atatacttgc tacatttga attgtcttat aacgaatgtg aaataaaaaat agtgtaacaa	32520
cgttttact catcgataat caaaaaaca ttatacgaa caaaaataca aatgcactcc	32580

[0052]

ggtttcacag gataggcggg atcagaatat gcaacttttg acgttttggt ctttcaaagg	32640
gggtgctggc aaaaccacgc cactcatggg cctttgcgct gctttggcaa atgacggtaa	32700
acgagtggcc ctctttgatg ccgacgaaaa ccggcctctg acgcgatgga gagaaaacgc	32760
cttacaaagc agtactggga tcctcgctgt gaagtctatt ccgcgcacga aatgccctt	32820
cttgaagcag cctatgaaaa tgccgagctc gaaggatttg attatgcgtt ggccgatacg	32880
cgtggcggct cgagcgagct caacaacaca atcatcgcta gctcaaact gcttctgac	32940
cccaccatgc taacgcgcgt cgacatcgat gaggcactat ctacctaccg ctacgtcatc	33000
gagctgctgt tgagtgaaaa tttggcaatt cctacagctg ttttgcgcca acgcgtcccg	33060
gtcggccgat tgacaacatc gcaacgcagg atgtcagaga cgctagagag ccttccagtt	33120
gtaccgtctc ccatgcatga aagagatgca tttgccgcga tgaaagaacg cggcatgttg	33180
catcttacat tactaaacac gggaactgat ccgacgatgc gcctcataga gaggaatctt	33240
cggattgcga tggaggaagt cgtggtcatt tcgaaactga tcagcaaat cttggaggct	33300
tgaagatggc aattcgcaag ccgcattgt cggtcggcga agcacggcgg cttgctggtg	33360
ctcgaccga gateccaccat cccaaccga cacttgctcc ccagaagctg gacctccagc	33420
acttgctga aaaagccgac gagaaagacc agcaacgtga gcctctctc gccgatcaca	33480
tttacagtcc cgategacaa cttaaagctaa ctgtggatgc ccttagtcca cctccgtccc	33540
cgaaaaagct ccaggttttt ctttcagcgc gaccgccgc gcctcaagtg tcgaaaacat	33600
atgacaacct cgttcggcaa tacagtccct cgaagtcgct acaaatgatt ttaaggcgcg	33660
cgttggacga tttcgaaagc atgttggcag atggatcatt tcgcgtggcc ccgaaaagtt	33720
atccgatecc ttcaactaca gaaaaatccg ttctcgttca gacctcacgc atgttcccg	33780
ttcggttgc caggtcgct cgaagtcatt ttgatecgtt ggggttggag accgctcgag	33840
ctttcggcca caagctggct accgcgcgc tcgcgtcatt ctttgcgtga gagaagccat	33900
cgagcaattg gtgaagaggg acctatcgga acccctcacc aaatattgag tgtaggttg	33960
aggccgctgg ccgcgtctc agtcacctt tgagccagat aattaagagc caaatgcaat	34020
tggtcaggc tgccatcgtc ccccgctgcg aaacctgcac gtccgcgtca aagaaataac	34080
cggcacctct tgctgttttt atcagttgag ggcttgacgg atccgcctca agtttgcggc	34140
gcagccgcaa aatgagaaca tctatactcc tgtcgtaaac ctctcgtcg cgtactcgac	34200
tggcaatgag aagttgctcg cgcgatagaa cgtcgcgggg tttctctaaa aacgcgagga	34260
gaagattgaa ctacctgcc gtaagtttca cctcacgcc agcttcggac atcaagcgac	34320

[0053]

gttgccctgag attaagtgtc cagtcagtaa aacaaaaaga ccgtcggtct ttggagcgga	34380
caacgttggg ggcacgcgc aaggcaaccc gaatgcgtgc aagaaactct ctctactaa	34440
acggcttagc gataaaatca cttgtctcta gctcgagtgc aacaacttta tccgtctect	34500
caaggcggtc gccactgata attatgattg gaatatcaga ctttgccgcc agatttcgaa	34560
cgatctcaag cccatcttca cgacctaaat ttagatcaac aaccacgaca tcgaccgtcg	34620
cggaagagag tactctagtg aactgggtgc tgtcggctac cgcggtcact ttgaaggcgt	34680
ggatcgtaag gtattcgata ataagatgcc gcatagcgac atcgtcatcg ataagaagaa	34740
cgtgtttcaa cggtcacct ttcaatctaa aatctgaacc cttgttcaca gcgcttgaga	34800
aattttcacg tgaaggatgt acaatcatct ccagctaaat gggcagttcg tcagaattgc	34860
ggtgaccgc ggatgaagaa aatgcgaacc aagtatttca attttatgac aaaagttctc	34920
aatcgttggtt acaagtgaag cgcttcgagg ttacagctac tattgattaa ggagatcgcc	34980
tatggtctcg ccccgcgctc gtgcgtccgc cgcgagccag atctgccta cttcataaac	35040
gtctcatag gcacggaatg gaatgatgac atcgatcgcc gtagagagca tgtcaatcag	35100
tgtcgatct tccaagctag caccttgggc gctacttttg acaagggaag acagtttctt	35160
gaatccttgg attggattcg cgcgtgtat tgttgaaatc gatcccgat gtcccgagac	35220
gaattcactc agataagccc atgtgcacg gtcgcgcac tcgccagca atatccggtc	35280
cggccgcata cgcagacttg cttggagcaa gtgctcggcg ctcacagcac ccagcccage	35340
accgttcttg gagtagagta gtctaactg attatcgtgt ggaatgacga gttcgagcgt	35400
atcttctatg gtgattagcc ttctctgggg ggggatggcg ctgatcaagg tcttgctcat	35460
tgttgtcttg ccgcttcgg tagggccaca tagcaacatc gtcagtcggc tgacgacga	35520
tgcgtgcaga aacgcttcca aatccccgtt gtcaaatgc tgaaggatag ctccatcatc	35580
ctgatttttg cgtttcttcc gtgtctgcca ctggttccac ctgaagcat cataacggga	35640
ggagaattct ttaagaccag aaacacgcga gcttgccgt cgaatggtca agctgacggt	35700
gcccagaggga aoggtcggcg gcagacagat ttgtagtcgt tcaccaccag gaagttcagt	35760
ggcgcagagg gggttacgtg gtccgacatc ctgctttctc agcgcgcccg ctaaaatagc	35820
gatattctca agatcatcat aagagacggg caaaggcatc ttggtaaaaa tgccggcttg	35880
gcgcacaaat gcctctccag gtcgattgat cgcaatttct tcagtcttcg ggtcatcgag	35940
ccattccaaa atcggettca gaagaaagcg tagttcgga tccatttcca tttaaatgt	36000
atcctatctc taagcggaaa ttgtaattca ttaagagcgg cggttctctc cccgcgtggc	36060

[0054]

gcgcgcagtc aggcggagct ggtaaacacc aaagaaatcg aggtcccggtg ctacgaaaat	36120
ggaaaacgggtg tcaccctgat tcttcttcag gggtggcggt atgttgatgg ttgccttaag	36180
ggctgtctca gttgtctgct caccgttatt ttgaaagctg ttgaagctca tcccgccacc	36240
cgagctgccg gcgtaggtgc tagctgcctg gaaggcgct tgaacaacac tcaagagcat	36300
agctccgcta aaacgctgcc agaagtggct gtcgaccgag cccggcaatc ctgagcgacc	36360
gagttcgtec gcgcttggcg atgttaacga gatcatcgca tggtcaggtg tctcggcgcg	36420
atcccacaac acaaaaaacgc gcccatctcc ctgttgcaag ccacgctgta ttgcgcaac	36480
aacggtggtg ccacgatcaa gaagcaogat attgttcgtt gttccacgaa tatcctgagg	36540
caagacacac ttacatagc ctgcaaaatt tgtgtcgatt gcggtttgca agatgcacgg	36600
aattattgtc ccttgcgtta ccataaaatc ggggtgcggc aagagcgtgg cgtgctggg	36660
ctgcagctcg gtgggtttca tacgtatcga caaatcgttc tcgccggaca cttcgccatt	36720
cggcaaggag ttgtcgtcac gcttgccttc ttgtcttcgg ccggtgtgc cctgaatggc	36780
gcgtttgctg accccttgat cgcgctgct atatgcaaaa atcgggtgtt cttccggccg	36840
tggtctatgc cgtccgggt cgcctcctcg cggtagagga gcagcaggt gaacagcctc	36900
ttgaaccgct ggaggatccg gcggcacctc aatcggagct ggatgaaatg gcttggtgtt	36960
tgttgcatc aaagttgacg gcgatgcgtt ctcattcacc ttcttttggc gccacctag	37020
ccaaatgagg cttaatgata acgcgagaac gacacctcg acgatcaatt tctgagacco	37080
cgaaagacgc cggcgatgtt tgctggagac cagggatcca gatgcacaa cctcatgtgc	37140
cgttgctga ctatcgttat tcatcccttc gccccttca ggacgcgtt caccatgggc	37200
ctcacctgc ccgtttcgg cctttggcca acgggatcgt aagcgggtgt ccagatacat	37260
agtactgtgt ggccatccct cagacgcaa cctcgggaaa ccgaagaaat ctgcacatcg	37320
ctccctttaa ctgaatagtt ggcaacagct tccttgccat caggattgat ggtgtagatg	37380
gagggtatgc gtacattgcc cggaaagtgg aatacctcg taaatccatt gtogaagact	37440
tcgagtggca acagcgaaac atgccttgg gcgacgtagt gccattact gtccgcgca	37500
ccaagggctg tgacaggctg atccaataaa ttctcagctt tccgttgata ttgtgcttcc	37560
gcgtgtagtc tgtccacaac agccttctgt tgtgcctccc ttcgcgagc cgcgcacgc	37620
tcggcggggt aggcgaattg gacgtgtaa tagagatcg gctgctcttt atcgaggtgg	37680
gacagagtct tggaacttat actgaaaaca taacggcgca tcccgagtc gcttgcggtt	37740
agcaogatta ctggctgagg cgtgaggacc tggttgcct tgaaaaatag ataatttccc	37800

[0055]

cgcggtaggg ctgctagatc tttgctatct gaaacggcaa cegctgtcac cgtttcgttc	37860
gtggcgaaatg ttacgaccaa agtagctcca accgcgctcg agaggcgcac cacttgatcg	37920
ggattgtaag ccaaataacg catgcgcgga tctagcttgc cggccattgg agtgtcttca	37980
gcctccgcac cagtcgcagc ggcaaataaa catgctaaaa tgaaaagtgc ttttctgac	38040
atggttcgtc gtggcctacg tttgaaacgg tatcttccga tgtctgatag gaggtgacaa	38100
ccagacctgc cgggttggtt agtctcaatc tgccgggcaa gctggtcacc ttttcgtagc	38160
gaactgtcgc ggtccacgta ctcaccacag gcattttgcc gtcaacgacg agggctcctt	38220
tatagegaat ttgctgcgtg cttggagtta catcatttga agcgatgtgc tcgacctcca	38280
ccctgcgcg tttgccaaaga atgacttgag gcgaactggg attgggatag ttgaagaatt	38340
gctggtaatc ctggcgcaact gttggggcac tgaagtcca taccaggctc taggcgtact	38400
gagcgggtgc ggcatcataa ctctgcgca ggcaacgta ctcccacaat gaggcgttaa	38460
cgacggcctc ctcttgagtt gcaggcaatc gcgagacaga cacctcgtc tcaacggtgc	38520
cgtccggcgc tatccataga tatacgggca caagcctgct caacggcacc attgtggcta	38580
tagcgaacgc ttgagcaaca tttcccaaaa tcgcgatagc tgcgacagct gcaatgagtt	38640
tggagagacg tcgcgcgat ttcgctcgc cggtttgaaa ggtctctact tccttatagt	38700
gctcggcaag gctttcgcgc gccactagca tggcatatc aggcctcgtc atagcgtcca	38760
ccgaattgc cgagctgaag atctgacgga gtaggctgcc atcgccccc attcagcggg	38820
aagatcgggc ctttgacgct cgctaattgt tcgtttgtct ggcagccgct caaagcgaca	38880
actaggcaca gcaggcaata cttcatagaa ttctccattg aggcgaattt ttgcgcgacc	38940
tagcctcgtc caacctgagc gaagcgacgg tacaagctgc tggcagattg ggttgcgcgc	39000
ctccagtaac tgcctccaat gttgccggcg atcgccggca aagcgacaat gagegcatec	39060
cctgtcagaa aaaacatata gatttcgtaa agaccaatga tcttggcgc ggtcgtaccg	39120
gcgaaggtga ttacaccaag cataagggtg agcgcagtcg cttcggttag gatgacgac	39180
gttgccacga ggtttaagag gagaagcaag agaccgtagg tgataagttg ccgatccac	39240
ttagctgcga tgtcccgct gcgatcaaaa atatatccga cgaggatcag aggcctgac	39300
gcgagaagca ctttcgtgag aattccaacg gcgtcgtaaa ctccgaaggc agaccagagc	39360
gtgccgtaaa ggacctactg tgcccttgg aaagcaagga tgtcctggtc gttcatcgga	39420
cggatttcgg atgcgatttt ctgaaaaacg gcctgggtca cggcgaacat tgtatccaac	39480
tgtgccggaa cagtctgcag aggcaagcgc gttacactaa actgctgaac aaagtttggg	39540

[0056]

accgtctttt cgaagatgga aaccacatag tcttggtagt tagcctgccc aacaattaga	39600
gcaacaacga tggtagccgt gatcacccga gtgataccgc tacgggtatc gacttcgcgc	39660
cgtatgacta aaataccctg aacaataatc caaagagtga cacaggcgat caatggcgca	39720
ctcacgcct cctggatagt ctcaagcatc gagtccaagc ctgtcgtgaa ggctacatcg	39780
aagatcgtat gaatggccgt aaacggcgcc ggaatcgtga aattcatcga ttggacctga	39840
acttgactgg tttgtcgcgt aatgttggat aaaatgagct cgcattcggc gaggatgcgg	39900
gcggatgaac aaatcgccca gccttagggg agggcaccaa agatgacagc ggtcttttga	39960
tgtcccttgc gttgagcggc cgcctcttcc gcctcgtgaa ggccggcctg cgcggtagtc	40020
atcgtaata ggcttgctgc ctgtacattt tgaatcattg cgtcatggat ctgcttgaga	40080
agcaaaccat tggtaacggt tgccatgcgt atattgcgag atcgggaaag ctgagcagac	40140
gtatcagcat tcgcctcaa gcgtttgtcc atcgtttcca gattgtcagc cgcaatgcc	40200
gcgctgtttg cggaaccggt gatctgcgat cgcaacaggc ccgcttcagc atcactaccc	40260
acgactgcac gatctgtatc gctgggtgac gcacgtgccg tggtagacat tggcatcgc	40320
ggcgaaaaca ttctattgtc taggtccttc gtctgaaggat actgattttt ctggttgagc	40380
gaagtcatga gtccagtaac gccgtaggcc gacgtcaaca tcgtaacat cgtatatgtc	40440
tgagtgatg tctccgcagt cgcgagcgca gtccgcgagc tctcagcctc cgttgcggg	40500
tcgtaacaa caaactgcgc ccgcgcgggc tgaatatata gaaagctgca ggtcaaaact	40560
gttgcaataa gttgcgtcgt ctcatcgtt tctacetta tcaatcttct gcctcgtggt	40620
gacgggcat gaattcgtg agccagccag atgagttgcc ttcttggtcc tcgcgtatc	40680
gagttgaaa gcgcaccgtg ttggcacgcc ccgaaagcac ggcgacatat tcacgcatat	40740
ccgcagatc aaattcgcag atgaocctc cactttctcg tttaagaaga aacttacggc	40800
tgcgcaccgt catgtcttca cggatgcct gaaattcctt ttcggtacat ttcagtcct	40860
cgacataagc cgtatgatct gcggttggtg atggatagaa aatcttcgtc atacattgcg	40920
caaccaagct ggctcctagc ggcgattcca gaacatgctc tgggtgctgc gttgccagta	40980
ttagcatccc gttgtttttt cgaacgggtc ggaggaattt gtcgacgaca gtcgaaaatt	41040
tagggtttaa caaataggcg cgaaactcat cgcagctcat cacaaaacgg cgcccgctga	41100
tcattgctcc aatccgatgc aggagatatg ctgcagcggg agcgcatact tctcgtatt	41160
cgagaagatg cgtcatgtcg aagccggtaa tcgacggatc taactttact tcgtcaactt	41220
cgccgtcaaa tgcccagcca agcgcattgc ccggcacca gcgttgagc cgcgtcctg	41280

[0057]

cgccttcggc	gggcccacgc	aacaaaaatt	cacgtaaccc	cgcgattgaa	cgcatttgtg	41340
gatcaaacga	gagctgacga	tggataccac	ggaccagacg	gcggttctct	tccggagaaa	41400
tcccaccccg	accatcactc	togatgagag	ccacgatcca	ttcgcgcaga	aaatcgtgtg	41460
aggtctgtgt	gttttctagg	ccacgcaacg	gcgccaaccc	gctgggtgtg	cctctgtgaa	41520
gtgccaaata	tgcttcctct	gtggcgcgaa	ccagcaattc	gccaccccg	tccttgtcaa	41580
agaacacgac	cgtacctgca	cggtcgacca	tgtctgttct	gagcatggct	agaacaaaca	41640
tcatgagcgt	cgtcttacc	ctcccgatag	gccgaatat	tgcgcctatg	ccaacatcgt	41700
gtcatgcgg	gatatagtcg	aaaggcgttc	cgcatttgg	acgaaatcgg	gcaatcgcgt	41760
tgcccagtg	gcctgagctg	gcgcctctg	gaaagtcttc	gaaagagaca	aacctcgca	41820
aattgcgtga	agtgattgcg	ccaggcggtg	tgcgccactt	aaaattcccc	ggcaattggg	41880
accaatagge	cgtctccata	ccaatacctt	cttggacaac	cacggcacct	gcctccgcca	41940
ttcgtgtccg	agcccgcgcg	ccctgtccc	caagactatt	gagatcgtct	gcatagcgc	42000
aaaggctcaa	atgatgtgag	cccataacga	attcgttgc	cgcgaagtgc	tcctcagcct	42060
cggataatct	gcgatttga	gtcacggtt	tatgcgcga	actcagcctc	tggtctgatt	42120
tgaggctaag	tttcgcgtgc	gcttgcgggc	gagtcaggaa	cgaaaaactc	tgcgtgagaa	42180
caagtggaaa	atcgagggat	agcagcgctg	tgagcatgcc	cggcctgttt	tttgcagggt	42240
attcgcgaaa	cgaatagatg	gatccaacgt	aactgtcttt	tggcgttctg	atctcgagtc	42300
ctcgtctgcc	gcaaataact	ctgtcgggtat	aaatcgaagc	gccgagtgcg	cgcctgacga	42360
ccggaaccgg	tgtaacoga	ccagtcatga	tcaaccgtag	cgttcgcga	atttcgggtga	42420
agagcacacc	ctgcttctcg	cggatgccaa	gacgatgcag	gccatacgtc	ttaagagagc	42480
cagcgacaac	atgccaaaga	tcttccatgt	tcctgatctg	gcccgtaga	tgttttccc	42540
tttttccgct	tagcttgggtg	aacctcctct	ttacctccc	taaagccgcc	tgtgggtaga	42600
caatcaacgt	aaggaagtgt	tcattgcgga	ggagtgggcc	ggagagcacg	cgtgttcaa	42660
aagcttcgtt	caggttagcg	gcgaaaacac	tacggaagtg	tgcggcgccc	gatgatggca	42720
cgtcggcatg	acgtacgagg	tgagcatata	ttgacacatg	atcatcagcg	atattgcgca	42780
acagcgtgtt	gaacgcacga	caacgcgcct	tgcgcatttc	agtttctctc	agctcgaatg	42840
caacgccatc	aattctcgca	atggtcctga	togatccgtc	ttcaagaagg	acgatatggt	42900
cgtgaggtg	gccaatataa	gggagataga	tctcaccgga	tctttcggtc	gttccactcg	42960
cgcgcagcat	cacaccattc	ctctccctcg	tgggggaacc	ctaattggat	ttgggctaac	43020

[0058]

agtagcgccc ccccaactg cactatcaat gtttcttccc gcggtccgca aaaatagcag	43080
gacgacgctc gccgcattgt agtctcgctc cacgatgagc cgggctgcaa accataacgg	43140
cacgagaacg acttcgtaga ggggtttctg aacgataacg atgacaaagc cggcgaacat	43200
catgaataac cctgccaatg tcagtggcac cccaagaaac aatgcgggcc gtgtggctgc	43260
gaggtaaagg gtgcattctt ccaaacgac agccatcaac taccgccagt gagcgtttgg	43320
cggaggaagc tcgccccaaa catgataaca atgcgcgca cgacgcggc aaccagccca	43380
agcgaagccc gcccgacat ccaggagatc ccgatagcga caatgccgag aacagcgagt	43440
gactggccga acggaccaag gataaacgtg catatattgt taaccattgt ggcggggtca	43500
gtgccccac ccgcagattg cgctcgggcg ggtccgatg aggaaatgct ccatgcaatt	43560
gcaccgcaca agcttggggc gcagctcgat atcacgcga tcatgcatt cgagagcgag	43620
aggcgattta gatgtaaagc gtatctctca aagcatcgca tcaatgcga cctccttagt	43680
ataagtcgaa taagacttga ttgtcgtctg cggatttgcg gttgtcctgg tgtggcggtg	43740
gcggagcgat taaaccgcca gcgccatcct cctgcgagcg gcgctgatat gacccccaaa	43800
catcccagct ctcttcggat tttagcgct cgtgatcgct ttttgaggc tcgattaacg	43860
cgggcaccag cgattgagca gctgtttcaa cttttcgac gtagccgtt gcaaaaccgc	43920
cgatgaaatt accggtgttg taagcggaga tcgccgacg aagcgcaaat tgcttctcgt	43980
caatcgtttc gccgcctgca taacgacttt tcagcatgtt tgcagcggca gataatgatg	44040
tgcaacgctg gagcgaccg tcagggtgca gaccgagcat agaaaaattt cgagagtta	44100
tttgcagtag gccaacatcc agcgaatgcc gtgcacgag acggtgcctg acgactggg	44160
ttgcttggct gtgatcttgc cagtgaagcg tttcgccggt cgtgttgta tgaatcgta	44220
aaggatcaaa gcgactctcc accttagcta tcgccgcaag cgtagatgtc gcaactgatg	44280
gggcacactt gcgagcaaca tggtaaaact cagcagatga gagtggcgtg gcaaggctcg	44340
acgaacagaa ggagaccatc aaggcaagag aaagcgacc cgatctctta agcatacctt	44400
atctccttag ctgcgaacta acaccgcctc tccggttga agaagtgcgt tgttttatgt	44460
tgaagattat cgggagggtc ggttactcga aaattttcaa ttgcttcttt atgatttcaa	44520
ttgaagcgag aaacctgcc cggcgtcttg gaaogcaaca tggaccgaga accgcgcac	44580
catgactaag caaccgacg gacctattca ggccgcagtt ggtcaggta ggctcagaac	44640
gaaaatgctc ggcgaggtta cgctgtctgt aaacccattc gatgaacggg aagcttcctt	44700
ccgattgctc ttggcaggaa tattggccca tgctgcttg cgctttgcaa atgctcttat	44760

[0059]

cgcgttggtgta tcatatgcct tgtccgccag cagaaacgca ctctaagcga ttatttgtaa	44820
aaatgtttcg gtcatgcggc ggtcatgggc ttgaccgct gtcagcgcaa gacggatcgg	44880
tcaaccgtcg gcatcgacaa cagcgtgaat cttggtggtc aaaccgccac gggaacgtcc	44940
catacagcea tcgtcttgat cccgctgttt cccgtcgccg catgttggtg gacgcggaca	45000
caggaactgt caatcatgac gacattctat cgaaagcctt ggaaatcaca ctcagaatat	45060
gateccagac gtctgcctca cgccatcgta caaagcgatt gtagcaggtt gtacaggaac	45120
cgtatcgatc aggaacgtct gccagggcg ggcccgtccg gaagcgccac aagatgacat	45180
tgatcacccg cgtcaacggc cggcacgca cgcggttat ttgggaacaa aggactgaac	45240
aacagtccat tcgaaatcgg tgacatcaaa gcggggacgg gttatcagt gctccaagt	45300
caagcctcaa tgaatcaaaa tcagaccgat ttgcaaacct gatttatgag tgtgcggcct	45360
aatgatgaa atcgctcttc tagatgcct ccggtgtgta gcaaacctc gcagtatcgc	45420
cgtgctgacc ttggccaggg aattgactgg caagggtgct ttcacatgac cgctcttttg	45480
gcgcgatag atgatttcgt tgctgctttg ggcacgtaga aggagagaag tcatatcgga	45540
gaaattcctc ctggcgcgag agcctgctct atcgcgacgg catcccactg tcgggaacag	45600
accggatcat tcacgaggcg aaagtcgtca acacatgcgt tataggcacc ttccttgaa	45660
ggatgatctt gttgctgcca atctggaggt gcggcagcgc caggcagatg cgatctcagc	45720
gcaacttgcg gcaaaacacc tcactcacct gaaaaccact agcgagtctc gcgatcagac	45780
gaaggccttt tacttaacga cacaatatcc gatgtctgca tcacaggcgt cgctatccca	45840
gtcaatacta aagcgtgca ggaactaaag attactgatg acttaggcgt gccacgaggc	45900
ctgagacgac gcgcgtagac agttttttga aatcattatc aaagtgatgg cctccgotga	45960
agcctatcac ctctgcgccg gtctgtcgga gagatgggca agcattatta cggctcttcg	46020
gcccgatcat gcattggaag attgcagggt caatggatct gagatcatcc agaggattgc	46080
cgccttacc ttccgtttcg agttggagcc agcccctaaa tgagacgaca tagtcgactt	46140
gatgtgacaa tgccaagaga gagatttgct taacccgatt tttttgctca agcgtaagcc	46200
tattgaagct tgccggcatg acgtccgcgc cgaaagaata tcctacaagt aaaacattct	46260
gcacaccgaa atgcttggtg tagacatcga ttatgtgacc aagatcctta gcagtttcgc	46320
ttggggaccg ctcgaccag aaataccgaa gtgaactgac gccaatgaca ggaatccctt	46380
ccgtctgcag ataggtacca tcgatagatc tgctgcctcg cgcgtttcgg tgatgacggt	46440
gaaaaacctct gacacatgca gctccggag acggtcacag cttgtctgta agcggatgcc	46500

[0060]

gggagcagac aagcccgctca gggcgcgctca gcggggtgttg gcggggtgtcg gggcgcgagcc	46560
atgaccagct caogtagoga tagcggagtg tatactggct taactatgcg gcacagagc	46620
agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa	46680
aataccgcat caggecgctct tccgcttctc cgtcactga ctcgctgcgc tcggctgttc	46740
ggctgcggcg agcgggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag	46800
gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa	46860
aggccgcggt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc	46920
gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccoga caggactata aagataccag gcgtttcccc	46980
ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgcc gcttaccgga tacctgtccg	47040
cctttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatactc acgctgtagg tatctcagtt	47100
cgggtgtagg cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc	47160
gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc	47220
cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag	47280
agttcttgaa gtgggtggct aactacggct acactagaag gacagtattt ggtatctgcg	47340
ctctgctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa	47400
ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaag	47460
gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggctctga cgtcagtggt aacgaaaact	47520
cacgttaagg gatcttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa	47580
attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt	47640
accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag	47700
ttgcctgact ccccgctgtg tagataacta cgatacggga gggettacca tctggcccca	47760
gtgctgcaat gataccgga gacccacgct caccggtcc agatttatca gcaataaacc	47820
agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtctgcaac tttatccgcc tccatccagt	47880
ctattaattg ttgcgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg	47940
ttgttgccat tgctgcaggg gggggggggg ggggggactt ccattgttca ttccacggac	48000
aaaaacagag aaaggaaacg acagaggcca aaaagcctcg ctttcagcac ctgtcgtttc	48060
cctttctttc agagggtatt ttaaataaaa acattaagtt atgacgaaga agaacggaaa	48120
cgccttaaac cggaaaattt tcataaatag cgaaaaccg cgaggtcgcc gccccgtagt	48180
cggatcaccg gaaaggaccc gtaaagtgat aatgattatc atctacatat cacaacgtgc	48240

[0061]

gtggaggcca tcaaaccacg tcaaataatc aattatgacg caggtatcgt attaattgat	48300
ctgcatcaac ttaacgtaaa aacaacttca gacaatacaa atcagecgaca ctgaatacgg	48360
ggcaacctca tgtccccccc ccccccccc ctgcaggcat cgtggtgtca cgctcgtcgt	48420
ttggtatggc ttcattcagc tccggttccc aacgatcaag gogagttaca tgatecccca	48480
tgttgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg gtctccgat cgttgtcaga agtaagttgg	48540
cgcagtggt atcactcatg gttatggcag cactgcataa ttctcttact gtcatgccat	48600
cogtaagatg cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa gtcattctga gaatagtga	48660
tgcggcgacc gaggttctct tgcccgcggt caacacggga taataccgcg ccacatagca	48720
gaactttaaa agtgcctac attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc tcaaggatct	48780
taccgtggt gagatccagt tcgatgtaac ccactcgtgc acccaactga tcttcagcat	48840
cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat gccgcaaaaa	48900
aggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa tactcatact ctctcttttt caatattatt	48960
gaagcattta tcagggttat tgtctcatga gggatacat atttgaatgt atttagaaaa	49020
ataaacaaat aggggttcg cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac gtctaagaaa	49080
ccattattat catgacatta acctataaaa ataggcgtat cagaggccc ttctgtcttc	49140
aagaattggt cgacgatctt gctgcgttcg gatattttog tggagttccc gccacagacc	49200
cggattgaag gcgagatcca gcaactcgcg ccagatcatc ctgtgacgga actttggcgc	49260
gtgatgactg gccaggacgt cgcccgaaag agcgacaagc agatcacgct ttctgacagc	49320
gtcggatttg cgategagga tttttcggcg ctgcgctacg tccgcgaccg cgttgaggga	49380
tcaagccaca gcagccact cgaccttcta gccgaccag acgagccaag ggatcttttt	49440
ggaatgctgc tccgtcgtca ggctttccga cgtttgggtg gttgaacaga agtcattatc	49500
gtacggaatg ccaagcactc ccgaggggaa ccctgtggtt ggcatgcaca tacaaatgga	49560
cgaacggata aaccttttca cgccctttta aatatccgtt attctaataa acgctctttt	49620
ctcttaggtt taccgcgcaa tatatcctgt caaacactga tagtttaaac tgaaggcggg	49680
aaacgacaat ctgatcatga gcggagaatt aaggagtcga cgttatgacc cccgccgatg	49740
acgcgggaca agccgtttta cgtttggaac tgacagaacc gcaacgttga aggagccact	49800
cagcaagctg gtacgattgt aatacgactc actatagggc gaattgagcg ctgtttaaac	49860
gctcttcaac tggaagagcg gttacccgga ccgaagcttg catgcctgca g	49911

[0062]

<210>	7	
<211>	36909	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	PHP10523 质粒	
<400>	7	
tctagagctc gttcctcgag gcctcgagge ctcgaggaac ggtacctgcg gggaagctta	60	
caataatgtg tgttgtaag tcttggtgcc tgtcatcgtc tgactgactt togtcataaa	120	
tcccggcctc cgtaaccag ctttgggcaa gctcacggat ttgatccggc ggaacgggaa	180	
tatcgagatg ccgggctgaa cgtcgcagtt ccagctttcc ctttcgggac aggtactcca	240	
gctgattgat tatctgctga agggctcttg ttccacctcc tggcacaatg cgaatgatta	300	
cttgagcgcg atcgggcctc caattttctc ccgtcaggtg cgtgggtcaag tgctacaagg	360	
cacctttcag taacgagcga ccgtcgatcc gtgcgcggga tacggacaaa atggagcgca	420	
gtagtccatc gagggcgcg aaagcctcgc caaaagcaat acgttcatct cgcacagcct	480	
ccagatccga tcgagggtct tcggcgtagg cagatagaag catggataca ttgcttgaga	540	
gtattccgat ggactgaagt atggcttcca tcttttctcg tgtgtctgca tctatttcga	600	
gaaagcccc gatcgggcgc accgcaacgc gaattgccat actatccgaa agtcccagca	660	
ggcgcgcttg ataggaaaag gtttcatact cgcccgatcg cagacgggca ctcacgacct	720	
tgaacccttc aactttcagg gatcgatgct ggttgatggt agtctcactc gacgtggctc	780	
tgggtgtgtt tgacatagct tcctccaaag aaagcggaag gtctggatac tccagcacga	840	
aatgtgcccg ggtagacgga tggaagtcta gcctgctca atatgaaac aacagtacat	900	
ttacagtcaa tactgaatat acttgctaca tttgcaattg tcttataacg aatgtgaaat	960	
aaaaatagtg taacaacgct tttactcatc gataatcaca aaaacattta tacgaacaaa	1020	
aatacaaatg cactccggtt tcacaggata ggccgggatca gaatatgcaa cttttgacgt	1080	
tttgttcttt caaagggggt gctggcaaaa ccaccgcact catgggcctt tgcgctgett	1140	
tggcaaatga cggtaaacga gtggcctctt ttgatgccga cgaaaaccgg cctctgacgc	1200	
gatggagaga aaacgcctta caaagcagta ctgggatcct cgctgtgaag tctattccgc	1260	
cgacgaaatg ccccttcttg aagcagccta tgaaaatgcc gagctcgaag gatttgatta	1320	
tgcgttggcc gatacgctg gcggctcgag cgagctcaac aacacaatca tcgctagctc	1380	
aaacctgett ctgatcccca ccatgctaac gccgctcgac atcgatgagg cactatctac	1440	
ctaccgctac gtcctcgagc tgcgttgtag tgaaaatttg gcaattccta cagctgtttt	1500	

[0063]

gcgccaacgc gtcccggtcg gccgattgac aacatcgcaa cgcaggatgt cagagacgct	1560
agagagcctt ccagttgtac cgtctcccat gcatgaaaga gatgcatttg ccgcgatgaa	1620
agaacgcggc atgttgcac ttacattact aaacacggga actgatccga cgatgcgcct	1680
catagagagg aatcttcgga ttgcgatgga ggaagtcgtg gtcatttcga aactgatcag	1740
caaaatcttg gaggttgaa gatggcaatt cgcaagcccg cattgtcggc cggcgaagca	1800
cggcggcttg ctggtgctcg acccgagatc caccatccca acccgacact tgttccccag	1860
aagctggacc tccagcactt gcctgaaaaa gccgacgaga aagaccagca acgtgagcct	1920
ctcgtcgccg atcacattta cagtccegat cgacaactta agctaactgt ggatgccctt	1980
agtcacctc cgtccccgaa aaagctccag gtttttcttt cagcgcgacc gcccggcct	2040
caagtgtoga aaacatatga caacctcgtt cggcaataca gtccctcgaa gtcgtacaa	2100
atgattttta ggccgcgctt ggacgatttc gaaagcatgc tggcagatgg atcatttcgc	2160
gtggccccga aaagttatcc gatcccttca actacagaaa aatccgttct cgttcagacc	2220
tcacgcatgt tcccggttgc gttgctcgag gtcgctogaa gtcattttga tccgttgggg	2280
ttggagaccg ctcgagcttt cggccacaag ctggtaccg ccgcgctcgc gtcattcttt	2340
gctggagaga agccatcgag caattggtga agagggaact atcggaacct ctcacaaaat	2400
attgagtgtg ggtttgagc cgttgccgc gtcctcagtc accttttgag ccagataatt	2460
aagagccaaa tgcaattggc tcaggctgcc atcgtcccc cgtgcgaaac ctgcacgtcc	2520
gcgtcaaaga aataaccggc acctcttgc gtttttatca gttgagggtc tgacggatcc	2580
gcctcaagtt tgcggcgcag ccgcaaaatg agaacatcta tactcctgtc gtaaacctcc	2640
tcgtcgctga ctcgactggc aatgagaagt tgctcgcgcg atagaacgtc gcgggggttc	2700
tctaaaaacg cgaggagaag attgaactca cctgccgtaa gtttcacctc accgccagct	2760
tcggacatca agcgacgttg cctgagatta agtgtccagt cagtaaaaca aaaagaccgt	2820
cggctcttgg agcggacaac gttggggcgc acgcgcaagg caaccggaat gcgtgcaaga	2880
aactctctcg tactaaacgg cttagcgata aaatcaattg ctctagctc gagtgaaca	2940
actttatccg tctctcaag gcggtcgcca ctgataatta tgattggaat atcagacttt	3000
gccgccagat ttcgaacgat ctcaagccca tottcacgac ctaaatttag atcaacaacc	3060
acgacatcga ccgtcgcgga agagagtact ctagtgaact ggggtgctgtc ggctaccgcg	3120
gtcactttga aggcgtggat cgttaaggtat tcgataataa gatcccgcat agcgacatcg	3180
tcacgataa gaagaacgtg tttaacggc tcaccttca atctaaaatc tgaacccttg	3240

[0064]

ttcacagcgc ttgagaaatt ttcacgtgaa ggatgtacaa tcctctccag ctaaattgggc	3300
agttcgtcag aattgcggct gacccgggat gacgaaaatg cgaaccaagt atttcaattt	3360
tatgacaaaa gttctcaatc gttgttacaa gtgaaacgtc tcgaggttac agctactatt	3420
gattaaggag atcgccatag gtctcgcccc ggcgctcgtc gtcgcgcgcg agccagatct	3480
cgcctacttc ataaacgtcc tcataggcac ggaatggaat gatgacatcg atcgccgtag	3540
agagcatgtc aatcagtggt cgatcttcca agctagcacc ttgggcgcta cttttgacaa	3600
gggaaaacag tttcttgaat ccttggattg gattcgcgcc gtgtattgtt gaaatcgatc	3660
cggatgtcc cgagacgact tcaatcagat aagcccatgc tgcctcgtcg cgcctctcgc	3720
caagcaatat ccggctccgc cgcatacgca gacttgcttg gagcaagtgc tcggcgctca	3780
cagcaccacg cccagcacgc ttcttggagt agagtagtct aacatgatta tcgtgtggaa	3840
tgacgagttc gacgctatct tctatggtga ttagccttcc ctgggggggg atggcgctga	3900
tcaaggctct gctcattgtt gtcttgcgcg ttccggtagg gccacatagc aacatcgtca	3960
gtcggctgac gacgcatgcg tgcagaaacg cttccaaatc ccggttgta aaatgctgaa	4020
ggatagcttc atcatcctga ttttggcgtt tccttcgtgt ctgccactgg ttccacctcg	4080
aagcatcata acgggaggag acttctttta gaccagaaac acgcgagctt ggccgctgaa	4140
tggtcaagct gacggtgccc gagggaacgg tcggcggcag acagatttgt agtcgttcac	4200
caccaggaag ttcagtggcg cagagggggg tacgtggtcc gacatcctgc tttctcagcg	4260
cgcctcgtta aatagcgata tcttcaagat catcataaga gacgggcaaa ggcatcttgg	4320
taaaaatgcc ggcttggcgc acaaatgcct ctccaggctg attgatcgca atttcttcag	4380
tcttcgggtc atcgagccat tccaaaatcg gcttcagaag aaagcgtagt tgccgatcca	4440
cttccattta caatgtatcc tatctetaag cggaaatttg aattcattaa gagcggcggt	4500
tcctcccccg cgtggcgccg ccagtcaggc ggagctggta aacaccaaag aaatcgaggt	4560
cccgctctac gaaaatggaa acggtgtcac cctgattctt cttcagggtt ggccggtatgt	4620
tgatgggtgc cttaagggtc gtctcagttg tctgctcacc gttattttga aagctgttga	4680
agctcatccc gccacccgag ctgcggcggt aggtgctagc tgcctggaag gcgccttgaa	4740
caacactcaa gagcatagct ccgtataaac gotgccagaa gtggctgtcg acgagcccg	4800
gcaatcctga gcgaccgagt tcgtccgcgc ttggcgatgt taacgagatc atcgcatggt	4860
cagggtgtct ggcccgatcc cacaacacaa aaacgcgcgc atctccctgt tgcaagccac	4920
gctgtatttc gccacaacg gtgggtgccac gatcaagaag cacgatattg ttogttgttc	4980

[0065]

cacgaatatc ctgaggcaag acacacttta catagcctgc caaatttgtg tegattgcgg	5040
tttgcaagat gcacggaatt attgtccctt gcgttaccat aaaatcgggg tgcggcaaga	5100
gcgtggcgct gctgggctgc agctcggtgg gtttcatacg tategacaaa tegtctctgc	5160
cggacacttc gccattcggc aaggagtgtg cgtcacgctt gccttcttgt ctteggcccg	5220
tgctgccctg aatggcgctg ttgtgaccc cttgatcgcc gctgctatat gcaaaaatcg	5280
gtgtttcttc cggcogtggc tcatgccgct ccggttcgcc cctcggcggg agaggagcag	5340
caggctgaac agcctcttga accgctggag gatccggcgg cacctcaatc ggagctggat	5400
gaaatggctt ggtgtttgtt gcgatcaaag ttgacggcga tgcgttctca ttcaccttct	5460
tttggcgcgc acctagccaa atgaggetta atgataacgc gagaacgaca cctccgacga	5520
tcaatttctg agaccccgaa agaocccggc gatgtttgtc ggagaccagg gatccagatg	5580
catcaacctc atgtgccgct tgctgactat cgttattcat cccttcgccc ccttcaggac	5640
gcgtttcaca tcgggcctca ccgtgccgct ttgcggcctt tggccaacgg gatcgtaaac	5700
ggtgttccag atacatagta ctgtgtggcc atccctcaga cgccaacctc gggaaaccga	5760
agaaatctcg acatcgctcc ctttaactga atagttagca acagcttccct tgccatcagg	5820
attgatggtg tagatggagg gtatgcgtac attgcccgga aagtgggaata ccgtcgtaaa	5880
tccattgtcg aagacttoga gtggcaacag cgaacgatcg ccttgggcga cgtagtcca	5940
attactgtcc gccgcaccaa gggctgtgac aggetgatcc aataaattct cagctttccg	6000
ttgatattgt gcttcgcgct gtagtctgtc cacaacagcc ttctgttgtg cctcccttcg	6060
ccgagccgcc gcacgtcggc cggggtaggc gaattggacg ctgtaataga gatcgggctg	6120
ctctttatcg aggtgggaca gagtcttga acttatactg aaaacataac ggcgcacccc	6180
ggagtcgctt gcggttagca cgattactgg ctgaggcgtg aggacctggc ttgccttgaa	6240
aaatagataa tttcccccgc gtagggetgc tagatctttg ctatttgaaa cggcaaccgc	6300
tgtaaccgtt tcgttcgtgg cgaatgttac gaccaaagta gctccaaccg ccgtcgagag	6360
ggcaccact tgatcgggat tgtaagccaa ataacgatg ccgggatcta gcttgcccgc	6420
cattggagtg tcttcagcct ccgcaccagt ccgagcggca aataaacatg ctaaaatgaa	6480
aagtgccttt ctgatcatgg ttcgctgtgg cctacgtttg aaacgggtatc ttccgatgtc	6540
tgataggagg tgacaaccag acctgccggg ttggttagtc tcaatctgcc gggcaagctg	6600
gtcacctttt cgtagcgaac tgtegggtc caegtactca ccacaggcat tttgccgtca	6660
acgacgaggg tccttttata gogaatttgc tgcgtgcttg gagttacatc atttgaagcg	6720

[0066]

atgtgctcga cctccaccct gccgcgtttg ccaagaatga cttgaggcga actgggattg	6780
ggatagttga agaattgctg gtaatcctgg cgcactgttg gggcactgaa gttegatacc	6840
aggtcgtagg cgtactgagc ggtgtcggca tcataactct cgcgcaggcg aacgtactcc	6900
cacaatgagg cgtaaocgac ggctctctct tgagttgcag gcaatcgca gacagacacc	6960
tcgctgtcaa cgggtgccgc cgcccgatc catagatata cgggcacaag cctgctcaac	7020
ggcaccattg tggctatagc gaacgcttga gcaacatttc ccaaaatcgc gatagctgcg	7080
acagctgcaa tgagtttga gagacgtgc gccgatttcg ctgcgcgggt ttgaaaggct	7140
tctacttctt tatagtgctc ggcaaggctt tcgcgcgcca ctagcatggc atattcagge	7200
cccgctcatag cgtccaccgc aattgccgag ctgaagatct gacggagtag gctgccatcg	7260
ccccacattc agcgggaaga tcgggccttt gcagctcgct aatgtgtcgt ttgtctggca	7320
gccgctcaaa gcgacaacta ggcacagcag gcaatacttc atagaattct ccattgaggc	7380
gaatttttgc gcgacctagc ctgctcaac ctgagcgaag cgacgggtaca agctgctggc	7440
agattgggtt gcgccgctcc agtaactgcc tccaatgttg ccggcgatcg ccggcaaagc	7500
gacaatgagc gcatccccg tcagaaaaaa catatcgagt tcgtaaagac caatgatctt	7560
ggccgcggtc gtaccggcga aggtgattac accaagcata agggtagagc cagtcgcttc	7620
ggttaggatg acgatcggtt ccaagaggtt taagaggaga agcaagagac cgtaggtgat	7680
aagttgccg atccacttag ctgcgatgtc ccgcgtgcga tcaaaaatat atccgacgag	7740
gatcagaggc ccgatcgca gaagcacttt cgtgagaatt ccaacggcgt cgtaaaactcc	7800
gaaggcagac cagagcgtgc cgtaaaggac ccactgtgcc ccttggaag caaggatgtc	7860
ctggtcgttc atcggaaccga tttcggtatgc gattttctga aaaacggcct gggtcacggc	7920
gaacattgta tccaactgtg ccggaacagt ctgcagaggc aagccggtta cactaaactg	7980
ctgaacaaag ttggggaccg tcttttcgaa gatggaaacc acatagtctt ggtagttagc	8040
ctgcccacaa attagagcaa caacgatggt gaccgtgac acccgagtga taccgctacg	8100
ggtatcgact tcgcccgcta tgactaaaat accctgaaca ataatccaaa gactgacaca	8160
ggcgatcaat ggcgactca ccgcctctg gatagtctca agcatcgagt ccaagcctgt	8220
cgtgaaggct acatcgaaga tcgtatgaat ggccgtaaag ggcccgga tcgtgaaatt	8280
catcgattgg acctgaactt gactggtttg tcgcataatg ttggataaaa tgagctcgca	8340
ttcggcgagg atcgggcg atgaacaaat cgcacagcct taggggaggg caccaaagat	8400
gacagcggtc ttttgatgct ccttgcggtg agcgccgc tcttcgcct cgtgaaggcc	8460

[0067]

ggcctgcgcg gtagtcatcg ttaataggct tgtgcctgt acattttgaa tcattgcgtc	8520
atggatctgc ttgagaagca aaccattggt cacggttgcc tgcattgatat tgcgagatcg	8580
ggaaagctga gcagacgtat cagcattcgc cgtcaagcgt ttgtccatcg tttccagatt	8640
gtcagccgca atgccagcgc tgtttgcgga accggtgacg tgcgatcgca acaggtccgc	8700
ttcagcatca ctaccacga ctgcacgacg tgtatcgctg gtgatcgcac gtgccgtggt	8760
cgacattggc attcgcggcg aaaacatttc attgtctagg tccttcgtcg aaggatactg	8820
atttttctgg ttgagcgaag tcagtagtcc agtaacccg taggccgacg tcaacatcgt	8880
aaccatcgct atagtctgag tgagattctc cgcagtcgag agcgcagtcg cgagcgtctc	8940
agcctccgtt gccgggtcgc taacaacaaa ctgcgccgcg gcgggctgaa tatatagaaa	9000
gtgcaggtc aaaactgttg caataagttg cgtcgtcttc atcgtttcct accttatcaa	9060
tcttctgcct cgtggtgacg ggccatgaat tcgctgagcc agccagatga gttgccttct	9120
tgtgcctcgc gtagtcgagt tgcaaagcgc accgtgttgg cacgccccga aagcacggcg	9180
acatattcac gcatatcccg cagatcaaat tcgcagatga cgttccact ttctcgttta	9240
agaagaaact tacggctgcc gaccgtcatg tcttcacgga tcgctgaaa ttcttttcg	9300
gtacatttca gtccatcgac ataagccgat cgatctgagg ttggtgatgg atagaaaaac	9360
ttcgtcatac attgcgaac caagctggct cctagcggcg attccagaac atgctctggt	9420
tgtgcggtt ccagtattag catcccggtt ttttttcgaa cggtcaggag gaatttgcg	9480
acgacagtcg aaaatttagg gttaacaaa taggcgcgaa actcatcgca gctcatcaca	9540
aaacggcggc cgtcgatcat ggctccaac ccatgcagga gatatgctgc agcgggagcg	9600
catacttct cgtattcgag aagatgcgtc atgtcgaagc cggtaatcga cggatctaac	9660
tttacttcgt caacttcgcc gtcaaatgcc cagccaagcg catggccccg gcaccagcgt	9720
tggagccgcg ctcttcgcc ttcggcgggc ccatgcaaca aaaattcacg taacccccgcg	9780
attgaacgca tttgtggatc aaacgagagc tgacgatgga taccacggac cagacggcgg	9840
ttctcttcg gagaaatccc accccgacca tcaactctga tgagagccac gatccattcg	9900
cgcagaaaat cgtgtgaggc tgcgtgtgtt tctaggccac gcaacggcgc caaccgctg	9960
ggtgtgcctc tgtgaagtgc caaatatgtt cctcctgtgg cgcgaaccag caattcgcca	10020
ccccggctct tgtcaagaa cagcaccgta cctgcacggt cgaccatgct ctgttcgagc	10080
atggtctaga caaacatcat gacgctcgtc ttaccctcc cgataggccc gaatattgcc	10140
gtcatgcca catcgtgctc atgcgggata tagtcgaaag gcgttcgcc attggtacga	10200

[0068]

aatcgggcaa tcgcgttgcc ccagtggcct gagctggcgc cctctggaaa gttttcgaaa	10260
gagacaaacc ctgcgaaatt gcgtgaagtg attgcgccag ggcggtgtgcg ccacttaaaa	10320
ttccccggca attgggacca ataggecgct tccataccaa taccttcttg gacaaccacg	10380
gcacctgcat ccgccattcg tgtccgagcc cgcgcgcccc tgtccccaag actattgaga	10440
tcgtctgcat agacgcaaag gctcaaatga tgtgagccca taacgaattc gttgctcgca	10500
agtgcgtcct cagcctcgga taatttgccg atttgagtca eggcctttatc gccggaactc	10560
agcatctggc tcgatttgag gctaaagtttc gcgtgcgctt gcgggcgagt caggaacgaa	10620
aaactctgcg tgagaacaag tggaaaatcg agggatagca gcgcgttgag catgcccggc	10680
cgtgtttttg cagggtattc gcgaaacgaa tagatggatc caacgtaact gtcttttggc	10740
gttctgatct cgagtcctcg cttgccgcaa atgactctgt cgggtataaat cgaagcgcg	10800
agtgagccgc tgacgaccgg aaccgggtgtg aaccgaccag tcatgatcaa ccgtagcgct	10860
tcgccaatth cgggtgaagag cacaccctgc ttctcgcgga tgccaagacg atgcaggcca	10920
tacgctttta gagagccagc gacaacatgc caaagatctt ccatgttctt gatctggccc	10980
gtgagatcgt tttccctttt tccgcttagc ttggtgaacc tcctctttac ctccctaaa	11040
gcgcctgtg ggtagacaat caacgtaagg aagtgttcat tgcggaggag ttggccggag	11100
agcaogcgt gttcaaaaagc ttctgtcagg ctageggcga aaacactacg gaagtgtcgc	11160
ggcgcgatg atggcacgtc ggcatgacgt acgaggtgag catatattga cacatgatca	11220
tcagcgatat tgcgcaacag cgtgttgaac gcacgacaac gcgcattgcg catttcagtt	11280
tcctcaagct cgaatgcaac gccatcaatt ctgcgaatgg tcatgatcga tccgtcttca	11340
agaaggacga tatggtcgtc gaggtggcca atataaggga gatagatctc accgatctt	11400
tcggtcgttc cactcgcgcc gagcatcaca ccattctctt cctcgtggg ggaaccctaa	11460
ttggatttgg gctaacagta gcgccccccc aaactgcact atcaatgctt cttcccgcgg	11520
tcgcgaaaaa tagcaggacg acgctcgccg cattgtagtc tcgctccacg atgagccggg	11580
ctgcaaacca taacggcacg agaacgactt cgtagagcgg gttctgaacg ataacgatga	11640
caaagccggc gaacatcatg aataaccctg ccaatgtcag tggcacccca agaaacaatg	11700
cgggcctgtt ggctgcgagg taaagggtcg attcttccaa acgatcagcc atcaactacc	11760
gccagtgage gtttgccga ggaagctgc cccaacatg ataacaatgc cgcgcagac	11820
gccggcaacc agcccaagcg aagcccgccc gaacatccag gagatccga tagcgacaat	11880
gccgagaaca gcgagtgact ggccgaacgg accaaggata aacgtgcata tattgttaac	11940

[0069]

cattgtggcg gggtcagtgc cgccacccgc agattgogct gggcggggtc cggatgagga	12000
aatgtcccat gcaattgcac cgcacaagct tggggcgag ctgatataca cgcgcacat	12060
cgcattcgag agcgagaggc gatttagatg taaacggtat ctctcaaagc atcgcatcaa	12120
tgcgcacctc cttagtataa gtogaataag acttgattgt cgtctgcgga tttgccgttg	12180
tcttggtgtg gcggtggcgg agcgattaaa ccgccagcgc catcctcctg cgagcggcgc	12240
tgatatgacc cccaacatc ccacgtctct tcggatttta gcgcctcgtg atcgtctttt	12300
ggaggctoga ttaacgcggg caccagcgat tgagcagctg tttcaacttt tcgcacgtag	12360
ccgtttgcaa aaccgccgat gaaattaccg gtgttgtaag cggagatcgc ccgacgaagc	12420
gcaaattgct tctcgtaaat cgtttcgccg cctgcataac gacttttcag catgtttgca	12480
gggcagata atgatgtgca cgcctggagc gcaccgtcag gtgtcagacc gagcatagaa	12540
aaatttcgag agtttatttg catgaggcca acatccagcg aatgccgtgc atcgagacgg	12600
tgcctgacga cttgggttgc ttggctgtga tcttgccagt gaagcgtttc gccggtcgtg	12660
ttgtcatgaa tcgctaaagg atcaaagcga ctctccacct tagctatcgc cgcaagcgta	12720
gatgtcgcaa ctgatggggc acacttgcca gcaacatggt caaactcagc agatgagagt	12780
ggcgtggcaa ggctcgacga acagaaggag accatcaagg caagagaaag cgaccccgat	12840
ctcttaagca taccttatct ccttagctcg caactaacac cgcctctccc gttggaagaa	12900
gtgcgttgtt ttatgttgaa gattatcggg agggctcggtt actcgaaaat tttcaattgc	12960
ttctttatga tttcaattga agcgagaaac ctgcgccggc gtcttggaac gcaacatgga	13020
ccgagaaccg cgcattccatg actaagcaac cggatcgacc tattcaggcc gcagttggtc	13080
aggtcaggct cagaacgaaa atgctcggcg aggttacgct gtctgtaaac ccattcgatg	13140
aacgggaagc ttccttcgga ttgctcttgg caggaatatt ggcccatgcc tgcttgcgct	13200
ttgcaaatgc tcttatcgcg ttggtatcat atgccttgtc cgccagcaga aacgcactct	13260
aagcgattat ttgtaaaaat gtttcggta tgcggcggtc atgggcttga ccgctgtca	13320
gcgcaagacg gatcgggtcaa ccgtcggcac cgacaacagc gtgaatcttg gtggtcaaac	13380
cgccacggga acgtcccata cagccatcgt cttgatcccg ctgtttcccg tcgcgcgatg	13440
ttggtggacg cggacacagg aactgtcaat catgacgaca ttctatcgaa agccttgga	13500
atcacactca gaatatgac ccagacgtct gcctcacgcc atcgtacaaa gcgattgtag	13560
caggttgta caggaaccgta tcgatcagga acgtctgccc agggcgggcc cgtccggaag	13620
cgccacaaga tgacattgat caaccgcgtc aacgcgggcc acgcgacgcg gcttatttgg	13680

[0070]

gaacaaagga ctgaacaaca gtccattoga aatcggtgac atcaaagcgg ggaacgggtta	13740
tcagtggcct ccaagtcaag cctcaatgaa tcaaaatcag accgatttgc aaacctgatt	13800
tatgagtgtg eggcctaaat gatgaaatcg tcctttetaga tegcctccgt ggtgtagcaa	13860
cacctcgcag tatcgccgtg ctgaccttgg ccagggaatt gactggcaag ggtgctttca	13920
catgaccgct cttttggcgg cgatagatga ttctgttgcg gctttgggca cgtagaagga	13980
gagaagtcac atcggagaaa ttccctcctgg cgcgagagcc tgctctatcg cgacggcacc	14040
ccactgtcgg gaacagaccg gatcattcac gaggcgaaaag tcgtcaacac atgcgttata	14100
ggcatcttcc cttgaaggat gatcttgttg ctgccaatct ggagggtcgg cagccgcagg	14160
cagatgcgat ctcagcgaac cttgcggcaa aacatctcac tcacctgaaa accactagcg	14220
agtctcgaga tcagacgaag gccttttact taacgacaca atatccgatg tctgcatcac	14280
aggcgtcgct atcccagtc aatactaaagc ggtgcaggaa ctaaagatta ctgatgactt	14340
aggcgtgcca cgaggcctga gacgacgcgc gtagacagtt ttttgaaatc attatcaaag	14400
tgatggcctc cgctgaagcc tatcacctct gcgccgtct gtcggagaga tgggcaagca	14460
ttattacggt cttegcgcgc gtacatgcat tggacgattg cagggtcaat ggatctgaga	14520
tcattccagag gattgcgcgc cttaacctcc gtttcgagtt ggagccagcc cctaaatgag	14580
acgacatagt cgacttgatg tgacaatgcc aagagagaga tttgcttaac ccgatttttt	14640
tgctcaagcg taagcctatt gaagcttgcc ggcatgacgt ccgcgcgcaa agaatactct	14700
acaagtaaaa cattctgcac accgaaatgc ttggtgtaga catcgattat gtgaccaaga	14760
tccttagcag ttctgcttgg ggaccgctcc gaccagaaat accgaagtga actgacgcca	14820
atgacaggaa tcccttccgt ctgcagatag gtaccatoga tagatctgct gcctcgcgcg	14880
tttcgggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg	14940
tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg	15000
gtgtcggggc gcagccatga cccagtcacg tagcgatagc ggagtgtata ctggcttaac	15060
tatgoggcat cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac	15120
agatgcgtaa ggagaaaata ccgcatcagg cgctcttccg ctccctcgct cactgactcg	15180
ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg	15240
ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag	15300
gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc atagctccg cccctctgac	15360
gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg actataaaga	15420

[0071]

taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc gtgcgtctct ctgttccgac cctgcccgtt	15480
accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgttttctca tagctcacgc	15540
tgtaggatct tcagttcgtt gtaggtcgtt cgtcccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc	15600
cccgttcagc ccgaccgtg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc caacccggtt	15660
agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag agcgaggat	15720
gtaggcgtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggtacac tagaaggaca	15780
gtatttggtt tctgcgtctt gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct	15840
tgatccggca aacaaaccac cgtcggtagc ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt	15900
acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct tttctacggg gtctgacgt	15960
cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggtt ttggctatga gattatcaaa aaggatcttc	16020
acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa	16080
acttggctg acagttacca atgcttaac agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta	16140
ttcgttcat ccatagttc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc	16200
ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgtcaccc ggctccagat	16260
ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gcgagcgca gaagtgggtc tgcaacttta	16320
tcgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt	16380
aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct gcaggggggg gggggggggg gttccattgt	16440
tcattccacg gacaaaaaca gagaaaggaa acgacagagg ccaaaaagct cgtttcagc	16500
acctgtcgtt tcttttctt tcagagggtt ttttaataa aaacattaag ttatgacgaa	16560
gaagaacgga aacgcctta accggaaaat tttcataaat agcgaacc cgcgaggctg	16620
ccgccccgta acctgtcgga tcaccgaaa ggaccgttaa agtgataatg attatcatct	16680
acatatcaca acgtgcgtgg aggcacata accacgtcaa ataataatt atgacgcagg	16740
tatcgtatta attgatctgc atcaacttaa cgtaaaaaca acttcagaca atacaaatca	16800
gcgacactga atacggggca acctcatgtc ccccccccc cccccctgc aggcacgtg	16860
gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga	16920
gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggctc tccgatcgtt	16980
gtcagaagta agttggccgc agtggtatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct	17040
cttaactgtc tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca	17100
ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaac acgggataat	17160

[0072]

accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcacattg gaaaaagttc ttggggcgca	17220
aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tegtgcaccc	17280
aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg	17340
caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc	17400
ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt	17460
gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gtccgcgca catttccccg aaaagtgcc	17520
cctgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg	17580
aggcccttcc gtcttcaaga attcggagct tttgccatc tcaccggatt cagtcgtcac	17640
tcatggtgat ttctcacttg ataaccctat ttttgacgag gggaaattaa taggttgat	17700
tgatgttggc cgagtcggaa tcgcagaccg ataccaggat cttgccatcc tatggaactg	17760
cctcggtagg tttctcctt cattacagaa acggcttttt caaaaatatg gtattgataa	17820
tcctgatatg aataaattgc agtttcattt gatgctcgat gagttttct aatcagaatt	17880
ggtaaatggg ttgtaacact ggcagagcat tacgctgact tgacgggacg gcggcttgt	17940
tgaataaato gaacttttgc tgagttgaag gatcagatca cgcattcttc cgacaacgca	18000
gacogttccg tggcaaagca aaagttcaaa atcaccaact ggtccaccta caacaagct	18060
ctcatcaacc gtggtccct cactttctgg ctggatgatg gggcgattca ggcctggtat	18120
gagtcagcaa caccttcttc acgaggcaga cctcagcgc agaaggccgc cagagaggcc	18180
gagcgcggcc gtgaggcttg gacgctaggg caggcatga aaaagccgt agcgggctgc	18240
tacggcgctc tgacgcggtg gaaaggggga ggggatgttg tctacatggc tctgctgtag	18300
tgagtgggtt gcgtccggc agcggctctg atcaatcgtc acccttctc ggtccttcaa	18360
cgttctgac aacgagctc cttttcgca atccatcac aatcacgcg agtcctgct	18420
cgaacgtgc gtccggaccg gttcgtcga agcgtctat cgcggccgc aacagcggcg	18480
agagcggagc ctgttcaacg gtgcgcgcg ctcgcgcgc atcgtgtcg ccggcctgct	18540
cctcaagcac ggccccaaca gtgaagtagc tgattgtcat cagcgcattg acggcgtccc	18600
cggcgaaaa acccgctcg cagaggaagc gaagctgcgc gtcggccgtt tccatctgcg	18660
gtgcgcccg tcgctgcg gcattgatgc gcgcgccatc gcgtaggcg agcagcgct	18720
gctgaagct gcgggcattc ccgacagaa atgagcgcca gtcgtcgtc gctctcgca	18780
ccgaatgcgt atgattctcc gccagcatgg ctccggccag tgcgtcagc agcggcgt	18840
tgttctgaa gtgccagtaa agcgcggct gctgaacccc caaccgttc gccagtttgc	18900

[0073]

gtgtcgtcag accgtctacg ccgacctcgt tcaacaggtc cagggcggca cggatcactg	18960
tattcggtg caactttgtc atgcttgaca ctttatcact gataaacata atatgtccac	19020
caacttatca gtgataaaga atccgcgcgt tcaatcggac cagcggaggc tggtcgggag	19080
gccagacgtg aaacccaaca taccctgat cgtaattctg agcactgtcg cgctcgacgc	19140
tgtcggcacg ggctgatta tgccggtgct gccgggcctc ctgcgcgacg tggttcactc	19200
gaacgacgtc accgcccact atggcattct gctggcgtg tatgcgttgg tgcaatttgc	19260
ctgcgcacct gtgtggggcg cgtgtcgga tegtttcggg cggcggccaa tottgcctgt	19320
ctcgttggtc ggccgcaactg tcgactaocg catcatggcg acagcgcctt tcctttgggt	19380
tctctatata gggcggatcg tggccggcat caccggggcg actggggcgg tagccggcgc	19440
ttatattgcc gatatactg atggcgatga gcgcgcgcgg cacttcggtt tcatgagcgc	19500
ctgtttcggg ttcgggatgg tcgcgggacc tgtgtcgtgt gggctgatgg gcggtttctc	19560
ccccacgct ccgtttctcg ccgcggcagc cttgaacggc ctcaatttcc tgacgggctg	19620
tttctttttg ccggagtgcg acaaaggcga acgcgggcgg ttacgcgggg aggcctctca	19680
cccgtcgtct tegtccggtt gggcccgggg catgaccgtc gtgcgcgccg tgatggcgtt	19740
cttcttcacg atgcaacttg tcggacaggt gccggccgcg ctttgggtca ttttcggcga	19800
ggatcgcttt cactgggacg cgaccacgat cggcatttct cttgcgcgat ttggcattct	19860
gcattcactc gcccaggcaa tgatcacggc ccctgtagcc gcccggtcgc gcgaaaggcg	19920
ggcactcatg ctcggaatga ttgcgcaggc cacaggtcac atcctgcttg ccttcgcgac	19980
acggggatgg atggcgttcc cgatcatggt cctgcttctt tcgggtggca tcggaatgcc	20040
ggcgtgcaa gcaatgttgt ccaggcaggt ggatgaggaa cgtcaggggc agctgcaagg	20100
ctcactggcg gcgtcacca gcctgacctc gatcgtcgga cccctcctct tcacggcgat	20160
ctatgcggct tctataacaa cgttgaaagg gtgggcatgg attgcaggcg ctgccctcta	20220
cttgcctctc ctgcggcgcg tgcgtcgcg gtcttggagc ggcgcagggc aacgagccga	20280
tcgtgatcg tggaaacgat aggcctatgc catgcgggtc aaggcgactt ccggcaagct	20340
atacgcgcgc taggagtgcg gttggaacgt tggcccagcc agatactccc gatcacgagc	20400
aggacgcga tgatttgaag cgcactcagc gtctgatcca agaacaacca tcctagcaac	20460
acggcgttcc ccgggtgag aaagcccagt aaggaaacaa ctgtaggttc gagtgcgag	20520
atcccccgga accaaaggaa gtaggttaaa ccgcctccga tcaggccgag ccacgccagg	20580
ccgagaacat tggttcctgt aggcacggg attggcggat caaacactaa agctactgga	20640

[0074]

acgagcagaa gtcctccggc cgccagttgc caggcggtaa aggtgagcag aggcacggga	20700
ggttgccact tgcgggtcag cagggttcg aacgccatgg aaaccgcccc cgccagcccc	20760
gctgcgaagc cgacaggatc tagcgctgcg tttggtgtca acaccaacag cgccaccccc	20820
gcagttccgc aaatagcccc caggaccgcc atcaatcgta tcgggctacc tagcagagcg	20880
gcagagatga acacgaccat cagcggctgc acagcgcta ccgtcgccgc gacccccccc	20940
ggcaggcggg agaccgaaat aaacaacaag ctccagaata gcgaaatatt aagtgcgcgc	21000
aggatgaaga tgcgcattca ccagattccc gttggaatct gtoggacgat catcacgagc	21060
aataaacccg ccggcaacgc ccgcagcagc ataccggcga cccctcggcc tcgctgttcg	21120
ggctccacga aaacgcggga cagatgcgcc ttgtgagcgt ccttggggcc gtcctcctgt	21180
ttgaagaccg acagcccaat gatctgcgcg tcgatgtagg cgccgaatgc caccgcatct	21240
cgcaaccgtt cagcgaacgc ctccatgggc tttttctcct cgtgctcgta aacggaccgc	21300
aacatctctg gagctttctt cagggcgcac aatcgatct ccgggaaatc ctgcacgtcg	21360
gccgtccaa gccgtcgaat ctgagcctta atcacaattg tcaattttaa tcctctgttt	21420
atcggcagtt cgtagagcgc gccgtgcgtc ccgagcgata ctgagcgaag caagtgcgtc	21480
gagcagtgcc cgttgttcc tgaaatgcca gtaaagcgtt ggtgctgaa cccccagccg	21540
gaactgaccc cacaaggccc tagcgtttgc aatgcaccag gtcacattg acccaggcgt	21600
gttccaccag gccgtgcct cgcaactctt cgcaggttc gccgacctgc tcgcgcact	21660
tcttcacgcg ggtggaatcc gatccgcaca tgaggcggaa ggtttccagc ttgagcgggt	21720
acggctcccg gtgcgagctg aaatagtcga acatccgtcg gcccgtcggc gacagcttgc	21780
ggtacttctc ccatatgaat ttctgtagt ggtgccagc aaacagcacg acgatttctt	21840
cgtcgatcag gacctggcaa cgggacgttt tcttgccacg gtccaggacg cggaagcggg	21900
gcagcagcga caccgattcc aggtgcccaa cgcggtcgga cgtgaagccc atcgccgtcg	21960
cctgtaggcg cgacaggcat tctcggcct tcgtgtaata ccggccattg atcgaccagc	22020
ccaggctcctg gcaaagctcg tagaacgtga aggtgatcgg ctgccgata ggggtgcgct	22080
tcgcgtactc caacacctgc tgccacacca gtctgtcatc gtccggccgc agctcgacgc	22140
cgggtgtaggt gatcttcacg tccttgttga cgtggaaaat gacctgttt tgcagcgctt	22200
cgcgcgggat tttcttgttg cgcgtggtga acagggcaga gggggccgtg tcgtttggca	22260
tcgctcgcat cgtgtccggc caccggcga tatcgaacaa ggaaagctgc atttccttga	22320
tctgctgctt cgtgtgtttc agcaacgcgg cctgcttggc ctgctgacc tgttttgcca	22380

[0075]

ggctcctgcc ggcggttttt cgcttcttgg tcgtcatagt tctcgcgtg tcgatggtea	22440
tcgacttegc caaacctgcc gcctcctgtt cgagacgaag cgaacgctcc acggcgccgc	22500
atggcgccgg cagggcaggg ggagccagtt gcacgctgtc gcgctcgatc ttggccgtag	22560
cttgetggac catcgagccg acggactgga aggtttcgcg ggcgccacgc atgacggtgc	22620
ggcttgcgat ggtttcggca tctcggcgg aaaacccgcg gtcgatcagt tcttgccgtg	22680
atgccttcgc gtcaaacgtc cgattcattc accctccttg cgggattgcc ccgactcaag	22740
ccggggcaat gtgcccttat tctgatttg acccgcttg tgccttggtg tccagataat	22800
ccaccttate ggcaatgaag tcggtcctcg agaccgtcg gcgctcctc tcgtacttgg	22860
tattccgaat cttgccctgc acgaatacca gcgacccctt gcccaatac ttgccgtggg	22920
cctcggcctg agagccaaaa cacttgatgc ggaagaagtc ggtgcgctcc tgcttgcgc	22980
cggcatcggt gcgccactct tcattaaccg ctatatcgaa aattgcttgc ggcttgtag	23040
aattgcatg acgtacctcg gtgtcacggg taagattacc gataaactgg aactgattat	23100
ggctcatatc gaaagtctcc ttgagaaagg agactctagt ttagctaaac attggttccg	23160
ctgtcaagaa ctttagcggc taaaattttg cgggcgcga ccaaagggtc gagggcggc	23220
ttccgctgtg tacaaccaga tatttttcac caacatcctt cgtctgctcg atgagcgggg	23280
catgacgaaa catgagctgt cggagagggc aggggtttca atttcgtttt tatcagaact	23340
aaccaacggt aaggccaacc cctcgttgaa ggtgatggag gccattgccg acgccctgga	23400
aactccccta cctcttctcc tggagtccac cgacctgac cgcgaggcac tcgaggagat	23460
tgccgggtcat cctttcaaga gcagcgtgcc gcccgatac gaacgcatca gtgtggtttt	23520
gcgctcacat aaggcgttta tcgtaaagaa atggggcgac gacaccgaa aaaagctgcg	23580
tggaaggctc tgacgccaaag ggttagggct tgcacttcct tcttagccg ctaaacggc	23640
cccttctctg cgggcgcgtc gctcgcgat catatcgaca tctcaacgg aagccgtgcc	23700
gcgaatggca tcgggcgggt gcgctttgac agttgttttc tatcagaacc cctacgtcgt	23760
gcggttcgat tagctgtttg tcttcaggc taaacacttt cggatatatc ttgcctgtg	23820
cgataatggt gctaatgatt tgttgcgtag gggttactga aaagtgcgc ggaaagaaga	23880
gtttcagacc atcaaggagc gggccaagcg caagctggaa cgcgacatgg gtgcggacct	23940
gttgccgcg ctcaacgacc cgaaaaccgt tgaagtcatg ctcaacgcgg acggcaaggt	24000
gtggcacgaa gcgcttggcg agccgatgcg gtacatctgc gacatgcggc ccagccagtc	24060
gcagcgatt atagaaacgg tgcccggtt ccacggcaaa gaggtcacgc ggcattcgcc	24120

[0076]

catcctggaa ggcgagttcc ccttggatgg cagccgcttt gccggccaat tgccgccggt	24180
cgtggccgcg ccaacctttg cgatccgcaa gcgcgcggtc gccatcttca cgttggaaca	24240
gtacgtcgag gggggcatca tgaccgcga gcaatacgag gtcattaaaa gcgccgtcgc	24300
ggcgcatcga aacatcctcg tcattggcgg tactggctcg ggcaagacca cgtcgtcaa	24360
cgcgatcadc aatgaaatgg tcgccttcaa cccgtctgag cgcgtcgtca tcacgagga	24420
caccggcgaa atccagtgcg ccgcagagaa cgcgcgtcaa taccacacca gcacgcagct	24480
ctcgatgacg ctgctgtca agacaacgct gcgtatgcgc cccgaccgca tcctggctcg	24540
tgaggtaagt ggcgccgaag cccttgatct gttgatggcc tggaacaccg ggcatgaagg	24600
aggtgccgc accctgcacg caaacaaccc caaagcgggc ctgagccgcg togccatgct	24660
tatcagcatg caccggatt caccgaaacc cattgagccg ctgattggcg aggcggttca	24720
tgtggctgc catatcgcca ggaccctag cggccgtcga gtgcaagaaa ttctcgaagt	24780
tcttggttac gagaacggcc agtacatcac caaacccctg taaggagtat ttccaatgac	24840
aacggctgtt ccgttcgctc tgaccatgaa tcgcggcatt ttgttctacc ttgccgtgtt	24900
cttcgttctc gctctcgcgt tatccgcga tcgcgcgatg gcctcggaag gcaccggcgg	24960
cagcttgcca tatgagagct ggtgacgaa cctgcgcaac tcgtaaccg gcccggtggc	25020
cttcgcgtg tccatcatcg gcacgtcgt cgcgcgcgcg gtgctgatct tcggcggcga	25080
actcaacgcc ttcttcgaa ccctgatctt cctggttctg gtgatggcgc tgcgtgctcg	25140
cgcgcagAAC gtgatgagca cctcttcgg tcgtggtgcc gaaatcgcgg ccctcggcaa	25200
cggggcgctg caccaggtgc aagtcgcgc ggccgatgcc gtgcgtgcgg tagcggctgg	25260
acggctcgcc taatcatggc tctgcgcacg atccccatcc gtcgcgcagg caaccgagaa	25320
aacctgttca tgggtgggta tcgtgaactg gtgatgttct cgggcctgat ggcgtttgcg	25380
ctgattttca gcgccaaga gctgcgggcc accgtggtcg gtctgatect gtggttcggg	25440
gcgtctatg cgttcggaat catggcgaag gccgatccga agatgcggtt cgtgtacctg	25500
cgtcaccgcc ggtacaagcc gtattaccgc gccgcctcga cccggttcgc cgagaacacc	25560
aatagccaag ggaagcaata ccgatgatcc aagcaattgc gattgcaatc gcgggcctcg	25620
gcgcgcttct gttgttcac cttttgccc gcacccgcgc ggtcgatgcc gaactgaaac	25680
tgaaaaagca tcgttccaag gacgcgggcc tggccgatct gctcaactac gccgctgtcg	25740
tcgatgacgg cgtaatcgtg ggcaagaacg gcagctttat ggctgcctgg ctgtacaagg	25800
gcgatgacaa cgcaagcagc accgaccagc agcgcgaagt agtgtccgc cgcacacacc	25860

[0077]

aggccctcgc gggcctggga agtgggtgga tgatccatgt ggacgccgtg cggcgctcctg	25920
ctccgaacta cggggagcgg ggccctgtcgg cgttccctga ccgtctgacg gcagcgattg	25980
aagaagagcg ctcgggtcttg ccttgctcgt cgggtgatgta cttcaccagc tccgcgaagt	26040
cgtctcttctt gatggagcgc atggggacgt gcttggcaat cacgcgcacc ccccggccgt	26100
tttagcggct aaaaaagtca tggctctgcc ctcgggcgga ccacgcccat catgacctg	26160
ccaagctcgt cctgcttctc ttcgatcttc gccagcaggg cgaggatcgt ggcatcaccg	26220
aaccgcgcgc tgcgcgggtc gtcggtgagc cagagtttca gcaggccgcc caggcggccc	26280
aggtcgccat tgatgcgggc cagctcgcgg acgtgctcat agtccacgac gcccgtagt	26340
ttgtagccct ggccgacggc cagcaggtag gccgacagge tcatgcggc cgcgcgcgc	26400
ttttcctcaa tcgtctctcg ttcgtctgga aggcagtaca ccttgatagg tgggctgccc	26460
ttcctggttg gcttggttcc atcagccatc cgttgcctt catctgttac gccggcggta	26520
gccggccagc ctcgcagagc aggatcccg ttgagcacgc ccaggtgcga ataagggaca	26580
gtgaagaagg aacaccgcgt cgcgggtggg cctacttcac ctatcctgcc cggtgacgc	26640
cgttgatac accaaggaaa gtctacacga accctttggc aaaatcctgt atatcgtgcg	26700
aaaaaggatg gatataccga aaaaatcgt ataataccc cgaagcaggg ttatgcagcg	26760
gaaaagcgt gcttccctgc tgttttgtgg aatatctacc gactggaaac aggcaaatgc	26820
aggaaattac tgaactgagg ggacaggcga gagacgatgc caaagagcta caccgacgag	26880
ctggccgagt gggttgaatc ccgcgcggcc aagaagcgc gccgtgatga ggctgcggtt	26940
gcgttccctgg cggtaggggc ggatgtcgag gcggcgtag cgtccggcta tgcgctcgtc	27000
accatttggg agcacatgcg ggaaacgggg aaggtcaagt tctcctacga gacgttccgc	27060
tcgcacgcca ggccgcacat caaggccaag ccgcgcgatg tgccgcacc gcaggccaag	27120
gtgcgggaac ccgcgcggc acccaagacg ccggagccac ggccggcgaa gcaggggggc	27180
aaggctgaaa agccggcccc cgtgcggcc ccgaccggt tcaccttcaa cccaacaccg	27240
gacaaaaagg atctactgta atggcgaaaa ttcacatggt tttgcagggc aagggcgggg	27300
tcggcaagtc ggccatgcc gcgatcattg cgcagtacaa gatggacaag ggccagacac	27360
ccttgtcat cgacaccgac ccggtgaacg cgacgttcga gggctacaag gccctgaacg	27420
tccgccggt gaacatcatg gccggcgacg aaattaactc gcgcaacttc gacacctg	27480
tcgagctgat tgcgcgacc aaggatgacg tgggtgatga caacgggtgc agctcgttcg	27540
tgcctctgtc gcattacctc atcagcaacc aggtgccggc tctgtgcaa gaaatggggc	27600

[0078]

atgagctggg catccatacc gtcgtcaccc gggccaggc tctcctggac acggtgagcg	27660
gttcgcccc gctcgccagc cagttcccgg ccgaagcgt tttcgtggtc tggctgaacc	27720
cgtattgggg gcctatcgag catgaggcca agagctttga gcagatgaag gcgtacacgg	27780
ccaacaaggc ccgcgtgtcg tccatcatcc agattccggc cctcaaggaa gaaacctacg	27840
gcgcgattt cagcgacatg ctgcaagagc ggctgacgtt cgaccaggcg ctggccgatg	27900
aatcgctcac gatcatgacg cggcaacgcc tcaagatgt gggcgccggc ctgtttgaac	27960
agctcgacgc ggcggccgtg ctatgagcga ccagattgaa gagctgatcc gggagattgc	28020
ggccaagcac ggcatcgccg tcggcccgca cgaccgggtg ctgacctgc ataccatcaa	28080
cgcgccgtc atggccgaca gtgcggccaa gcaagaggaa atccttgccg cgttcaagga	28140
agagctggaa gggatcgccc atcgttgggg cgaggacgcc aaggccaaag cggagcggat	28200
gctgaacgcg gccctggcgg ccagcaagga cgcaatggcg aaggtaatga aggacagcgc	28260
cgcgcaggcg gccgaagcga tccgcaggga aatcgacgac ggccctggcc gccagctcgc	28320
ggccaaggtc gcggacgcgc ggcgcgtggc gatgatgaac atgacgccg gcggcatggt	28380
gttgttcgcg gccgccctgg tgggtggggc ctcgttatga atcgagagg cgcagatgaa	28440
aaagcccgcc gttgcgggc tttgttttg cgttagctgg gcttgtttga caggcccaag	28500
ctctgactgc gcccgccgc gcgctcctgg gcctgtttct tctcctgctc ctgcttgccg	28560
atcagggcct ggtgccgtcg ggctgcttca cgcacgaat ccagtcgcc ggccagctcg	28620
ggatgctccg cgcgcattct gcgcgtgcc agttcctcga tcttgggcgc gtgaatgcc	28680
atgccttcct tgatttcgcg caccatgtcc agccgcgtgt gcagggtctg caagcgggct	28740
tgctgttggg cctgctgctg ctgccaggcg gcctttgtac gggcaggga cagcaagccg	28800
ggggcattgg actgtagctg ctgcaaacgc gcctgtgac ggtctacgag ctgttctagg	28860
cggctcctga tgcgtccac ctggatcgc tttgcctgca cgtagagcgc aagggtctgc	28920
tggtaggtct gctcgatggg cgcggattct aagaggccct gctgttccgt ctcgccctcc	28980
tgggcgcct gtagcaaatc ctgcgcgtg ttgccgtgg actgctttac tgccggggac	29040
tgctgttgcc ctgctcgcc cgtcgtcga gttcggcttg cccccactcg attgactgt	29100
tcatttcgag ccgcagcgt gcgatctcgg attgcgtcaa cggacggggc agcgcggagg	29160
gtcccggtt ctccctgggt gactcggtcg atgccatagc caaaggtttc cttccaaaat	29220
gcgtccattg ctggaccgtg tttctcattg atgccgcaa gcattctcgg cttgaccgcc	29280
aggteaagcg cgccttcatt ggcggtcatt acggacgcgc ccatgacctt gcgcgcttg	29340

[0079]

ttctcgatgt agccgcgtaa tgaggcaatg gtgcgcgcca tcgtcagcgt gtcctcgaca	29400
acgatgtact tctggccggg gatcacctcc ccctcgaaag tcgggttgaa cgccaggcga	29460
tgatctgaac cggctccggt tcgggcgacc ttctcccgt gcacaatgtc cgtttcgacc	29520
tcaaggccaa ggcggtcggc cagaacgacc gccatcatgg ccggaatctt gttgttcccc	29580
gccgcctega cggcgaggac tggaacgatg cggggcttgt cgtcgccgat cagcgtcttg	29640
agctgggcaa cagtgtcgtc cgaaatcagg cgtcgacca aattaagcgc cgttccgcg	29700
tcgccctgct tcgcagcctg gtattcaggc togttggtca aagaaccaag gtgcgcgttg	29760
cgaaccacct tcgggaagtc tccccagggt gcgcgctcgg ctctgctgta gctgctcaag	29820
acgcctccct ttttagccgc taaaactcta acgagtgcgc ccgcgactca acttgacgt	29880
ttcggeactt acctgtgctt tgccacttgc gtcataagggt atgcttttcg cactcccgat	29940
ttcaggtact ttatcgaaat ctgaccgggc gtgcattaca aagttcttcc ccacctgttg	30000
gtaaatgctg ccgctatctg cgtggacgat gctgccgtcg tggcgctgcg acttatcggc	30060
cttttgggcc atatagatgt tgtaaatgcc aggtttcagg gcccggcctt tatctacctt	30120
ctggttcgtc catgcgcctt ggttctcgggt ctggacaatt ctttgcccat tcatgaccag	30180
gaggcggtgt ttcatgggt gactcctgac ggttgccctt ggtgttaaac gtgtcctggt	30240
cgttgccgg ctaaaaaaaaa gccgacctcg gcagttcgag gccggttttc cctagagcgg	30300
ggcgcgtcaa ggttggtcca tctattttag tgaactcgt tcgatttate agttactttc	30360
ctcccgcttt gtgtttcttc ccactcgctt ccgcgtctag ccgacccctc aacatagcgg	30420
cctcttcttg ggctgccttt gcctcttgcc gcgttcgtc acgctcggt tgcaccgtcg	30480
taaagcgctc ggctgcctg gccgcctctt ggcgcgcca cttcctttgc tcttggtggg	30540
cctcggcgtc ggctgcgcc ttgcctttca ccgtgcca ctcgtgcgc aaactctccg	30600
cttcgcgctt ggtggcgctg cgtcgccgc gaagcgctg catttctgg ttggcgcgt	30660
ccagggtctt gggctctct tctttgaatg cgcggcgctc ctggtgagcg tagtccagct	30720
cggcgcgag ctctgogct cgacgtcca cctcgtcggc ccgtgcgtc gccagcgcgg	30780
cccgtgctc ggctcctgcc agggcggtgc gtgcttcggc cagggttgc cgtggcgtg	30840
cggccagctc ggccgcctcg gcggcctgct gctctagcaa tgtaacgcgc gcctgggctt	30900
cttcagctc gcgggcctgc gcctcgaagg cgtcgccag ctccccgcgc acggcttcca	30960
actcgttgcg ctcacgatec cagccggtt gcgtgcctg caacgattca ttggcaaggg	31020
cctgggcggc ttgccagagg gcggccacgg cctggttgcc ggctgctgc accgcgtccg	31080

[0080]

gcacotggac tgccagcggg ggggcctgag cgtgcgctg ggcgcgcac tcgcgcacgc	31140
cggcgctggc gtgcctcatg ttgacgagg cgcccttacg cactgcaccc acggtcggga	31200
agttctcccg gtgccttgc tcgaacagct cgtccgcagc cgcaaaaatg cggtcgcgcg	31260
tctctttgtt cagttccatg ttggtccgg taattggtaa gaataataat actcttacct	31320
acctatcag cgcaagagtt tagctgaaca gttctcgact taacggcagg ttttttagcg	31380
gctgaagggc aggcacaaaa agccccgcac ggtcggcggg ggcaagggt cagcgggaag	31440
gggattagcg ggcgtcgggc ttcttcatgc gtcggggccg cgcttcttgg gatggagcac	31500
gacgaagcgc gcacgcgcac cgtccctggc cctatcgcc cgctgcgcg tcaggaactt	31560
gtcgcgcgt aggtccctcc tggtagggcac caggggcacg aactcgccct gctcgatgta	31620
ggtccactcc atgaccgcac cgcagtcgag gccgcgttcc ttcacgtct cttgcaggtc	31680
gcggtagccc cgctcgttga gcggctggta acgggccaat tggctgtaaa tggctgtcgg	31740
ccatgagcgg cctttctgt tgagccagca gccgacgacg aagccggcaa tgcaggcccc	31800
tggcacaacc aggcgcgcgc cgggggcagg ggatggcagc agctcgcaa ccaggaaccc	31860
cgcgcgcacg atgcgcacgc cggtaacca gcccttgaaa ctatccggcc ccgaaacacc	31920
cctgcgcatt gcctggatgc tgcgcgcgac agcttgcaac atcaggagcc gtttcttttg	31980
ttcgtcagtc atggctcgcc ctcaccagtt gtctgtatcg gtgtcggacg aactgaaac	32040
gcaagagctg ccggtatcgg tccagccgct gtcctgtcgc ctgctgccga agcacggcga	32100
ggggtccgcg aacgcgcgag acggcgtatc cggccgcagc gcacgcacca gcatggcccc	32160
ggtcagcgcg ccgcgcgcca ggtagccag catggtgctg ttggtcgccc cggccaccag	32220
ggccgcacgt acgaaatcgc cgtcattccc tctggattgt tcgctgctcg gcggggcagc	32280
gcgcgcgcgc ggccgcgcgc tggatggctc gggttggtc gcctgcgcgc gcgggcgaaa	32340
ggtgcgcagc agctcgttat cgcacggctg cggcgtcggg gccgcgcct tgcgtgcgcg	32400
tcgggtgtcc ttcttcggct cgcgcagctt gaacagcatg atcgcggaaa ccagcagcaa	32460
cgcgcgcct acgcctcccg cgatgtagaa cagcatcgga ttcattcttc ggtcctcctt	32520
gtagcggaac cgttgtctgt gcggcgcggg tggccgcgc cgctgtcttt ggggatcagc	32580
cctcgatgag cgcgaccagt ttcacgtcgg caaggttcgc ctggaactcc tggccgtcgt	32640
cctcgtactt caaccaggca tagccttcg ccggcggccg acggttgagg ataaggcggg	32700
cagggcgcgc gtgcgtcgc acctggacga tggccttttt cagcttgctc gggtcggct	32760
ccttcgcgc cttttccttg gcgtccttac cgtcgtggtc gccgtcctcg ccgtcgtgc	32820

[0081]

cgtcgccggc ctccgcgtca cgtcggcat cagtctggcc gttgaaggca tcgacgggtg	32880
tgggategcg gcccttctcg tccaggaaact cgcgcagcag cttgaccgtg ccgcgcgtga	32940
tttctgggt gtctgtctca agccacgcct cgacttcttc cgggcgcttc ttgaaggccg	33000
tcaccagctc gttcaccacg gtcacgtcgc gcacggggcc ggtgttgaac gcacggcgca	33060
tcttctccgg caggtcacgc agcgtgacgt gctgggtgat gaacgcggc gacttgccga	33120
tttcttggc gatatgcct ttcttcttgc ccttcgccag ctgcggcca atgaagtcgg	33180
caatttcgcg cggggtcacg tcgttgctt gcaggttctc gataacctgg tcggcttcgt	33240
tgtagtctt gtcatgaac gcgggatgg acttcttgc gccccacttc gagccacggt	33300
agcggcgggc gccgtgattg atgatatag gccccggctg ctcttggttc tcgcgcacgc	33360
aaatgggtga cttcaccccg cgtcttttga tcgtggcacc gatttcgcg atgtctccg	33420
gggaaaagcc ggggttgcg gccgtccgc gctgatgcgg atcttcgtc atcaggtcca	33480
ggtccagctc gatagggcgc gaaccgccct gagacgccgc aggagcgtcc aggaggctcg	33540
acaggtcgcc gatgctatcc aaccacaggc cggacggctg cgcgcgcct gcgcttctc	33600
gagcggccgc agcgggtttt ttcttggttg tcttgcttg agccgcagtc attgggaaat	33660
ctccatcttc gtgaacacgt aatcagccag ggccggaacc tcttccgatg ccttgccgc	33720
ggcgttttc ttgatcttc agaccggcac accggatgcg agggcatcgg cgatctctc	33780
gcgcaggcca acggtggccg gaatcatcat cttggggtag cgggccagca gctcggttg	33840
gtggcgcgcg tggcgcggat tccgcgcat gaccttctg gccaccatgc caaggaattg	33900
cagcttggcg ttctcttggc gcacgttcgc aatggtctg accatcttct tgatgccctg	33960
gatgctgtac gcctcaagct cgatggggga cagcacatag tcggccgcga agaggcggc	34020
cgccaggccg acgccaaagg tcggggccgt gtcgatcagg cacacgtcga agccttggtt	34080
cgccagggcc ttgatgttcg cccgaacag ctgcgggcg tcgtccagcg acagccgttc	34140
ggcgttcgcc agtacgggt tggactcgat gagggcgagg cgcgcgcct gccgtcgcc	34200
ggctgcgggt gcggtttcgg tccagccgcc ggcagggaca gcgcgaaca gcttgcttgc	34260
atgcaggccg gtagcaaagt ccttgagcgt gtaggacgca ttgccctggg ggtccaggtc	34320
gatcacggca acccgcaagc cgcgctcgaa aaagtcgaag gcaagatgca caagggtcga	34380
agtcttgccg acgccgcctt tctggttggc cgtgacaaa gtttctatc tttggtttcc	34440
tgttttttct tggegtccgc ttcacacttc cggacgatgt acgcctgatg ttccggcaga	34500
accgcgtta ccgcgcgta cccctcgggc aagttcttgt cctogaacgc ggcccaacg	34560

[0082]

cgatgcaccg cttgogacac tgcgcccctg gtcagtccca ggcaggttgc gaacgtcgcc	34620
tgtggcttcc catcgactaa gacgccccgc gctatctcga tggctctgtg ccccaacttc	34680
agccccctgga tgcctcctg gaactggctt tcggtaagcc gtttcttcat ggataacacc	34740
cataatttgc tccgcgcctt ggttgaacat agcggtgaca gccgccagca catgagagaa	34800
gtttagctaa acattttctg cacgtcaaca cctttagccg ctaaaactcg tccttggcgt	34860
aaacaaaacaa aagcccgaa acgggcttt cgtctcttgc cgttatggc tctgcaccgc	34920
gtcccatcac caacaggtcg cgcacgcgt tcaactcggt gccgatcgac actgccagcc	34980
caacaaagcc ggttgcgcgc gccgccagga tcgcgcgat gatgcggcc acaccggcca	35040
tcgcccacca ggctgcgcgc ttccggttcc attcctgtg gtactgttc gcaatgtgg	35100
acctcggtc accataggt gacgcctga tggcgtatgc cgttctccc cttggcgtaa	35160
aaccagcgc cgcaggcggc attgccatgc tgcccgcgc tttcccgacc acgacgcgc	35220
caccaggtt gcggtccaga ccttcggcca cggcgagctg cgcaggaca taatcagccg	35280
ccgacttggc tccacgcgc tcgatcagct cttgcactcg cgcgaaatcc ttggcctcca	35340
cggccgccat gaatgcgca cgcggcgaag gctccgcagg gccggcgctg tgatgcgcgc	35400
cgagaatgcc cttcaccag ttgcagaca cgaaaatcat gctgacggt atcaccatea	35460
tgcagacgga tcgcacgaac ccgtgaatt gaacacgagc acggcaccgc cgaccactat	35520
gccagaatg cccaaggtaa aaattgcgg ccccgccatg aagtcgtga atgccccgac	35580
ggcgaagtg aagggcaggc cgcacccag gccgcgcgc tcaactgcgc gcacctggc	35640
gctgaatgtc gatccagca cctgcggcac gtcaatgct cggggcgctg cgtcgggct	35700
gatgcgccat ccggttactg ccccgatccc ggcaatggca aggactgcca gcgtgccat	35760
ttttgggtg aggcgttctg cggccgaggg gcgcagcccc tggggggatg ggaggccccgc	35820
gttagcgggc cgggagggtt cgagaagggg gggcaccccc cttcggcgtg cgcggtcacg	35880
cgcacagggc gcagccctgg ttaaaaaacaa ggtttataaa tattggttta aaagcaggtt	35940
aaaagacagg ttagcggtgg ccgaaaaacg ggcggaaacc cttgcaaat ctggattttc	36000
tgctgtgga cagccccca aatgtcaata ggtgcgcgcc tcatctgtca gcactctgcc	36060
cctcaagtgt caaggatgc gccctcacc tctcagtagt cgcgcacctc aagtgtcaat	36120
acgcagggc acttatcccc aggettgtcc acatcatctg tgggaaactc gcgtaaaatc	36180
aggcgttttc gccgatttgc gaggttgccc agctccacgt cgcggcgga aatcgagcct	36240
gccctcacc tgtcaacgcc gcgcgggtg agtcggcccc tcaagtgtca acgtccgcgc	36300

[0083]

ctcatctgtc agtgagggcc aagttttccg cgaggtatcc acaacgccgg cgcccgcggt	36360
gtctcgcaca cggtctcgac ggcgtttctg gcgcgtttgc agggccatag acggccgcca	36420
gcccagcggc gagggcaacc agcccgggtga gcgtcgaaa ggcgctggaa gcccctagc	36480
gacgcggaga ggggcgagac aagccaaggg cgcaggctcg atgcgcagca cgacatagcc	36540
ggttctcgca aggacgagaa ttccctgcg gtgccctca agtgtcaatg aaagttcca	36600
acgcgagcca ttccgagag ccttgagtc acgctagatg agagctttgt tgtaggtgga	36660
ccagttggtg attttgaact ttgctttgc caggaacgg tctgcgtgtg cggaagatg	36720
cgtgatctga tccttcaact cagcaaaagt tcgatttatt caacaaagcc acgttgtgtc	36780
tcaaaatctc tgatgttaca ttgcacaaga taaaaatata tcatcatgaa caataaaact	36840
gtctgcttac ataaacagta atacaagggg tgttatgagc catattcaac gggaaacgtc	36900
ttgctcgac	36909

<210> 8

<211> 13019

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于 Gaspé Bay Flint 来源的品系的 PHP23235 目的载体

<400> 8

gttaccggga ccgaagctta gcccgggcat gcctgcagtg cagcgtgacc cggctcgtgc	60
cctctctaga gataatgagc attgcatgtc taagttataa aaaattacca catatTTTTT	120
ttgtcacact tgtttgaagt gcagtttacc tatctttata catatattta aactttactc	180
tacgaataat ataacttata gtactacaat aatatcagtg ttttagagaa tcatataaat	240
gaacagttag acatggctca aaggacaatt gagtattttg acaacaggac tctacagttt	300
tatcttttta gtgtgcatgt gttctccttt ttttttgcac atagcttcac ctatataata	360
cttcatccat tttattagta catccattta gggtttaggg ttaatggttt ttatagacta	420
atTTTTTTtag tacatctatt ttattctatt ttagcctcta aattaagaaa actaaaactc	480
tatttttagtt tttttattta ataatttaga tataaaatag aataaaataa agtgactaaa	540
aattaaacaa ataccttta agaaattaaa aaaactaagg aaacattttt cttgtttcga	600
gtagataatg ccagcctgtt aaacgcgtc gacgagtcta acggacacca accagegaac	660
cagcagcgtc gcgtcgggcc aagcgaagca gacggcacgg catctctgtc gctgcctctg	720

[0084]

gacccctctc gagagtccg ctccaccgtt ggacttgctc cgtgtcgge atccagaaat	780
tgcgtggcgg agcgccagac gtgagccggc aaggcaggcg gcctcctcct cctctcacgg	840
cacggcagct acgggggatt ctttccccc cgtctcttcg ctttcccttc ctgccecgcc	900
gtaataaata gacacccct ccacaccctc tttccccaac ctctgtttgt tcggagcgca	960
cacacacaca accagatctc ccccaaatcc acccgtcggc acctccgctt caaggtacgc	1020
cgtcgtcct ccccccccc cctctctac cttctctaga tcggcggtcc ggtccatggt	1080
tagggccgg tagttctact tctgttcatt tttgtttag atccgtgtt gtgttagatc	1140
cgtcgtgcta gcgttcgtac acggatgca cctgtacgtc agacacgttc tgattgctaa	1200
cttgccagt tttctcttg gggaatcctg ggatggctct agccgttcg cagacgggat	1260
cgatttcatt atttttttt ttctgttgc tagggtttgg tttgccctt tcctttattt	1320
caatatatgc cgtgcacttg tttgtcgggt catcttttca tgctttttt tgtcttggtt	1380
gtgatgatgt ggtctggttg ggcggtcgt ctagatcgga gtagaattct gtttcaaact	1440
acctggtgga ttatttaatt ttggatctgt atgtgtgtgc catacatatt catagttagc	1500
aattgaagat gatggatgga aatctgac taggataggt atacatgttg atgcgggtt	1560
tactgatgca tatacagaga tctttttgt tcgttgggt gtgatgatgt ggtgtggtg	1620
ggcggtcgt cattcgttct agatcggagt agaatactgt ttcaaactac ctggtgtatt	1680
tattaatttt ggaactgtat gtgtgtgtca tacatcttca tagttacgag tttaagatgg	1740
atggaaatat cgatctagga taggtataca tgttgatgtg ggttttactg atgcatatac	1800
atgatggcat atgcagcacc tattcatatg ctctaaccct gagtacctat ctattataat	1860
aaacaagtat gttttataat tttttgatc ttgatatact tggatgatgg catatgcagc	1920
agctatatgt ggatttttt agccctgct tcataccta tttatttgc ttgtactgtt	1980
tcttttgcg atgctcacc tttgttttg ttttacttct gcaggtcgac tctagaggat	2040
ccacaagttt gtacaaaaa gctgaacgag aaacgtaaaa tgatataaat atcaatatat	2100
taaattagat ttgcataaa aaacagacta cataatactg taaaacacaa catatccagt	2160
cactatggcg gccgcattag gcaccccg ctttacctt tatgcttcg gctcgtataa	2220
tgtgtggatt ttgagttagg atttaaatac gcgttgatcc ggcttactaa aagccagata	2280
acagtatgcg tatttgcgcg ctgattttt cgggtataaga atatatactg atatgtatac	2340
ccgaagtatg tcaaaaagag gtatgctatg aagcagcgta ttacagtgc agttgacagc	2400
gacagctatc agttgctcaa ggcataatg atgtcaatat ctccggtctg gtaagcacia	2460

[0085]

ccatgcagaa tgaagcccg tctctgcgtg ccgaacgctg gaaagcggaa aatcaggaag	2520
ggatggctga ggctgcccg tttattgaaa tgaacggctc ttttgcgtac gagaacaggg	2580
gctgggtgaaa tgcagtttaa ggtttacacc tataaaagag agagccgtta tctctgttt	2640
gtggatgtac agagtgtat cattgacacg ccggtgcgac ggatgggtgat cccctggcc	2700
agtgcacgct tctgtcaga taaagtctcc cgtgaacttt acccggtggt gcatatcggg	2760
gatgaaagct ggccatgat gaccaccgat atggccagt tgcgggtctc cgttatcggg	2820
gaagaagtgg ctgatctcag ccaccgcgaa aatgacatca aaaacgccat taacctgatg	2880
ttctggggaa tataaatgtc aggtccctt atacacagcc agtctgcagg tcgacctag	2940
tgactggata tgttgtgtt tacagtatta tgtagtctgt ttttatgca aaatctaatt	3000
taatatattg atatttatat cttttacgt ttctcgttca gtttcttgt acaaagtgt	3060
gttaacctag acttgccat cttctggatt ggccactta attaatgtat gaaataaaag	3120
gatgcacaca tagtgacatg ctaactacta taatgtgggc atcaaagttg tgtgttatgt	3180
gtaattacta gttatctgaa taaaagagaa agagatcatc catatttctt atcctaaatg	3240
aatgtcacgt gtctttataa ttctttgatg aaccagatgc atttcattaa ccaaatccat	3300
atacatataa atattaatca tatataatta atatcaattg ggtagcaaa acaaatctag	3360
tctaggtgtg ttttgcgaat tgcggccgcc acccggtggt agctcgaatt ccggtccggg	3420
tcacctttgt ccaccaagat ggaactgcgg ccgctcatta attaatcag gcgcgcctct	3480
agttgaagac acgttcatgt cttcatcgta agaagacact cagtagtctt cggccagaat	3540
ggccatctgg attcagcagg cctagaaggc catttaaact ctgaggatct ggtcttccta	3600
aggaccggg atctcggacc gattaaactt taattcggc cgaagcttgc atgcctgcag	3660
tgcagcgtga ccggtcgtg cccctctcta gagataatga gcattgcag tctaagttat	3720
aaaaaattac cacatattt tttgtcaca cttgtttgaa gtgcagttta tctatcttta	3780
tacatatatt taaactttac tctacgaata atataatcta tagtactaca ataatacag	3840
tgttttagag aatcatataa atgaacagtt agacatggc taaaggacaa ttgagtattt	3900
tgacaacagg actctacagt tttatcttt tagtgtgcat gtgttctct tttttttgc	3960
aaatagcttc acctatataa tacttcatcc attttattag tacatccatt tagggttag	4020
ggttaatggt ttttatagac taatttttt agtacatcta ttttattcta ttttagctc	4080
taaattaaga aaactaaac tctattttag tttttttatt taataattta gatataaaat	4140
agaataaaat aaagtgacta aaaattaaac aaataccct taagaaatta aaaaaactaa	4200

[0086]

ggaaacattt ttcttgtttc gagtagataa tgccagcctg ttaaaccgcg tcgacgagtc	4260
taacggacac caaccagoga accagcagcg tcgctcgagg ccaagcgaag cagacggcac	4320
ggcatctctg tcgctgcctc tggaccctc tcgagagttc cgtccaccg ttggacttgc	4380
tccgtgtcg gcatccagaa attgctggc ggagcggcag acgtgagcgg gcacggcagg	4440
cggcctcctc ctctctcac ggcaccgga gctacggggg attcctttcc caccgtcct	4500
tcgttttccc ttctcgcgc gcgtaataa atagacaccc cctccacacc ctctttcccc	4560
aacctcgtgt tgttcggagc gcacacacac acaaccagat ccccccaaa tccaccgtc	4620
ggcaccctcg cttaaggta cgcgctcgt cctccccccc cccctctct accttctcta	4680
gatcggcgtt ccggtccatg catggttagg gcccgtagt tctacttctg ttcattgttg	4740
tgtagatcc gtgtttgtg tagatccgtg ctgctagcgt tcgtacacgg atgcgacctg	4800
tacgtcagac acgttctgat tgctaacttg ccagtgttc tctttgggga atcctgggat	4860
ggctctagcc gtccgcaga cgggatcgt ttcattgatt tttttgttc gttgcatagg	4920
gtttggtttg ccttttctt ttatttcaat atatccgtg cacttgtttg tcgggtcac	4980
tttcatgct ttttttgc ttggttgtga tgatgtggc tggttggcg gtcgttctag	5040
atcggagtag aattctgtt caaactacct ggtggattta ttaattttgg atctgtatgt	5100
gtgtgcata catattcata gttacgaatt gaagatgat gatggaaata tcgactagg	5160
ataggtatac atgttgatgc gggttttact gatgcataa cagagatgct tttgttcgc	5220
ttggttgtga tgatgtgtg tggttggcg gtcgttcatt cgttctagat cggagtagaa	5280
tactgtttca aactacctg tgtatttatt aattttggaa ctgtatgtg gtgtcataca	5340
tctcatagt tacgagtta agatggatg aaatatgat ctaggatagg tatacatgtt	5400
gatgtgggtt ttactgatgc atatacatga tggcatatgc agcatctatt catatgctct	5460
aaccttgagt acctatctat tataataaac aagtatgtt tataattatt ttgatcttga	5520
tatacttga tgatggcata tgcagcagct atatgtggat ttttttagcc ctgccttcac	5580
acgtatttta tttgcttgg actgtttctt ttgtcgatgc tcacctgtt gtttgggtt	5640
acttctgcag gtgcacttta acttagccta ggatccacac gacaccatgt ccccgagcg	5700
cgcctcgtc gagatccgc cggccaccgc cgcgacatg gccgcgtgt gcgacatgt	5760
gaaccactac atcgagacct ccacctgaa ctccgcacc gagccgcaga cccgcagga	5820
gtggatcgac gaactggagc gcctccagga ccgtaccgc tggctcgtgg ccgaggtgga	5880
gggcgtggtg gcggcatcg cctacgccg cccgtggaag gccgcacac cctacgactg	5940

[0087]

gaccgtggag tccaccgtgt acgtgtccca ccgccaccag cgcctcgcc toggtccac	6000
cctctacacc cacctcctca agagcatgga ggcccagggc ttcaagtccg tgggtggcgt	6060
gateggcctc ccgaacgacc cgtccgtgcg cctccacgag gccctcggt acaccgccg	6120
cggcaccctc cgcgcgcgcg gctacaagca cggcggtgg cagcacgtcg gcttctggca	6180
gcgcgacttc gagctgccgg ccccgccgcg cccggtgcgc ccggtgacgc agatctgagt	6240
cgaacctag acttgtccat cttctggatt ggccaactta attaatgtat gaaataaaag	6300
gatgcacaca tagtgacatg ctaatcacta taatgtgggc atcaaagttg tgtgttatgt	6360
gtaattacta gttatctgaa taaaagagaa agagatcacc catatttctt atcctaaatg	6420
aatgtcacgt gtctttataa ttctttgatg aaccagatgc atttcattaa ccaaatecat	6480
atacatataa atattaatca tatataatta atatcaattg ggtagcaaa acaaatecat	6540
tctaggtgtg ttttgcaat tgcggccgcc accgcggtgg agctcgaatt cattccgatt	6600
aatcgtggcc tcttctctt caggatgaag agctatgttt aaacgtgcaa gcgctactag	6660
acaattcagt acattaaaaa cgtccgcaat gtgttattaa gttgtctaag cgtcaatttg	6720
tttacaccac aatatatcct gccaccagcc agccaacagc tccccgacc gcagctcggc	6780
acaaaatcac cactcgatac aggcagccca tcagtcggg acggcgtcag cgggagagcc	6840
gttgtaaggc ggcagacttt gctcatgta ccgatgctat tcggaagaac ggcaactaag	6900
ctgccgggtt tgaaacacgg atgatctcgc ggagggtagc atgttgattg taacgatgac	6960
agagcggtgc tgccgtgat caaatatcat ctccctcgca gagatccgaa ttatcagcct	7020
tcttattcat ttctcgctta accgtgacag gctgtcgatc ttgagaacta tgccgacata	7080
ataggaaatc gctggataaa gccgctgagg aagctgagtg gcgctatttc tttagaagtg	7140
aacgttgacg atcgtcgacc gtaccccgat gaattaatc ggacgtacgt tctgaacaca	7200
gctggatact tacttgggcg attgtcatac atgacatcaa caatgtacce gtttgtgtaa	7260
cgtctcttg gaggttcgta tgacactagt ggttccccct agcttgcgac tagatgttga	7320
ggcctaacat tttattagag agcaggctag ttgcttagat acatgatctt caggccgtta	7380
tctgtcaggg caagcgaaaa ttggccattt atgacgacca atgccccga gaagctccca	7440
tctttgccgc catagacgcc gcgccccct tttgggggtg agaacatcct tttgccagat	7500
gtggaaaaga agttcgttgt ccattgttg gcaatgacgt agtagccggc gaaagtgcga	7560
gaccatttg cgtatataat aagcctacga ttccgttgc gactattgtc gtaattggat	7620
gaactattat cgtagttgct ctcagagttg tcgtaatttg atggactatt gtcgtaattg	7680

[0088]

cttatggagt tgtcgtagtt gcttggagaa atgtcgtagt tggatgggga gtagtcatag	7740
ggaagacgag cttcatccac taaaacaatt ggcaggtcag caagtgcctg ccccgatgcc	7800
atcgcaagta cgaggcttag aaccaccttc aacagatcgc gcatagtctt ccccgactct	7860
ctaacgcttg agttaagccg cgccgcgaag cggcgctcggc ttgaacgaat tgttagacat	7920
tatttgccga ctaccttggt gatctgcctt ttcacgtagt gaacaaattc ttccaactga	7980
tctgcgcgcg aggccaagcg atcttcttgt ccaagataag cctgcctagc ttcaagtatg	8040
acgggctgat actgggcccg caggcgtcc attgccagt cggcagcgac atccttcggc	8100
gcgattttgc cggttactgc gctgtaccaa atgcccagca acgtaagcac tacatttcgc	8160
tcacgccag cccagtcggg cggcgagttc catagcgtta aggtttcatt tagcgctca	8220
aatagatcct gttcaggaac cggatcaaag agttcctccg ccgctggacc taccaaggca	8280
acgctatgtt ctcttgcttt tgtcagcaag atagccagat caatgtcgat cgtggctggc	8340
tcgaagatac ctgcaagaat gtcattgcgc tgccattctc caaattgcag ttcgcgctta	8400
gctggataac gccacggaat gatgtcgtcg tgcacaacaa tgggtgacttc tacagcgcgg	8460
agaatctcgc tctctccagg ggaagccgaa gtttccaaaa ggctgttgat caaagctcgc	8520
cgcgttgctt catcaagcct tacagtcacc gtaaccagca aatcaatctc actgtgtggc	8580
ttcagcgcgc catccactgc ggagccgtac aaatgtacgg ccagcaacgt cggttcgaga	8640
tggcgctcga tgacccaac tacctctgat agttgagtcg atacttcggc gatcacgct	8700
tccctcatga tgtttaactc ctgaattaag ccgcgcgcgc aagcgggtgc ggcttgaatg	8760
aattgttagg cgtcatcctg tgctcccgag aaccagtacc agtacatcgc tgtttcgttc	8820
gagacttgag gtctagtttt atacgtgaac aggtcaatgc cgcgcagagt aaagccacat	8880
tttgctaca aattgcaggc aggtacattg ttogtttgtg tctctaatcg tatgccaagg	8940
agctgtctgc ttagtgccca ctttttcgca aattcgatga gactgtgcgc gactcctttg	9000
cctcggtgcg tgtgcgacac aacaatgtgt tcgatagagg ctagatcgtt ccatgttgag	9060
ttgagttcaa tcttcccgac aagctcttgg tcgatgaatg cgccatagca agcagagtct	9120
tcacagaggt catcatccga gatgtaatcc ttccggtagg ggctcacact tctggtagat	9180
agttcaaaagc cttggtcgga taggtgcaca togaacactt cacgaacaat gaaatggttc	9240
tcagcatcca atgtttcgc cacctgctca gggatcacgc aaatcttcat atgacgcta	9300
acgcctggca cagcggatcg caaacctggc gcggttttg gcacaaaagg cgtgacaggt	9360
ttgcgaatcc gttgctgcca cttgttaacc cttttgccag atttggtaac tataatttat	9420

[0089]

gttagaggcg aagtcttggg taaaaactgg cctaaaattg ctggggattt caggaaagta	9480
aacatcacct tccggtcoga tgtctattgt agatatatgt agtgtatcta cttgatcggg	9540
ggatctgctg cctcgcgcgt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc	9600
cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcaggcg	9660
cgtcagcggg tggtggcggg tgtcggggcg cagccatgac ccagtcacgt agcgatagcg	9720
gagtgtatac tggettaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat	9780
gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagcg gctcttcgc	9840
ttctcgcgc actgactcgc tgcgctcggg cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca	9900
ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg	9960
agcaaaagcg cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca	10020
taggtcgcgc cccctgacg agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa	10080
cccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc	10140
tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc	10200
gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggtg taggtcgttc gctccaaget	10260
gggctgtgtg caggaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg	10320
tcttgagtec aacccggtaa gacaagactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag	10380
gattagcaga gcgaggtatg taggcgggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta	10440
cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg	10500
aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt	10560
tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt	10620
ttctacgggg tctgacgctc agtggaaaga aaactcacgt taagggattt tggcatgag	10680
attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aatgaagtt ttaaataat	10740
ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttacca tgcttaatca gtgaggcacc	10800
tatctcagcg atctgtctat ttctgtcatc catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat	10860
aactacgata cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc	10920
acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag	10980
aagtgtcct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgc gggaagctag	11040
agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttggt gccattgctg cagggggggg	11100
gggggggggg gaattccatt gttcatcca cggacaaaaa cagagaaagg aaacgacaga	11160

[0090]

ggccaaaaag cctcgttttc agcacctgtc gtttcctttc ttttcagagg gtatttttaa	11220
taaaaacatt aagttatgac gaagaagaac ggaaacgcct taaaccggaa aattttcata	11280
aatagcgaaa acccgcgagg tcgcgcgcgc gtaacctgtc ggatcacccg aaaggacccg	11340
taaagtgata atgattatca tctacatata acaacgtgcg tggaggccat caaaccacgt	11400
caaataatca attatgacgc aggtatcgta ttaattgata tgcataact taacgtaaaa	11460
acaacttcag acaatacaaa tcagcgacac tgaatacggg gcaacctcat gtcccccccc	11520
cccccccc tgcaggcatc gtgggtgtcac gctcgtcgtt tggatatggt tcattcagct	11580
cgggttccca acgatcaagg cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggtta	11640
gctccttcgg tcctcagatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcaactatgg	11700
ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc tttctgtga	11760
ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt	11820
gccccgcgtc aacacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca	11880
ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt	11940
cgatgtaaac cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagegttt	12000
ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga	12060
aatgttgaat actcatactc ttcttttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt	12120
gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttcgc	12180
gcacatttcc ccgaaaagt ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa	12240
cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct ttctgttcca agaattggc gacgatcttg	12300
ctgcgttcgg atattttcgt ggagttcccg ccacagaccc ggattgaagg cgagatccag	12360
caactcgcgc cagatcatcc tgtgacggaa ctttggcgcg tgatgactgg ccaggacgtc	12420
ggccgaaaga gcgacaagca gatcacgtt ttgcacagcg tcggatttgc gatcgaggat	12480
ttttcggcgc tgcgtacgt ccgcgaccgc gttgagggat caagccacag cagccactc	12540
gaccttctag ccgaccaga cgagccaagg gatctttttg gaatgtgtct ccgtcgtcag	12600
gctttccgac gtttggttg ttgaacagaa gtcattatcg tacggaatgc caagcactcc	12660
cgagggaac cctgtggttg gcatgcacat acaaattggac gaacggataa acctttcac	12720
gcccttttaa atatcgtta ttctaataaa cgtcttttc tcttaggttt acccgccaat	12780
atatcctgtc aaacactgat agtttaaaact gaaggcggga aacgacaatc tgatcatgag	12840
cggagaatta agggagtcac gttatgaccc ccgcgatga cgcgggacaa gccgttttac	12900

[0091]

gtttggaact gacagaaccg caacgttgaa ggagccactc agcaagctgg tacgattgta	12960
atacgactca ctatagggcg aattgagcgc tgtttaaacg ctcttcaact ggaagagcg	13019
<210> 9	
<211> 15663	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 用于玉米自交系来源的品系的 PHP28647 目的载体	
<400> 9	
gtttaccgc caatatatcc tgtcaaacac tgatagtta aactgaagcg gggaaacgac	60
aatctgatca tgagcggaga attaaggagc tcacgttatg acccccgccg atgacgcggg	120
acaagccgtt ttacgtttgg aactgacaga accgcaacgt tgaaggagcc actcagcaag	180
ctggtagcat tgtaatacga ctcaactatag ggcaattga gcgctgttta aacgctcttc	240
aactggaaga gcggttaccg ggaccgaagc ttgcatgcct gcagtgcagc gtgaccgggt	300
cgtgcccctc tctagagata atgagcattg catgtctaag ttataaaaaa ttaccacata	360
ttttttttgt cacacttggt tgaagtgcag tttatctatc tttatacata tatttaaact	420
ttactctacg aataatataa tctatagtac tacaataata tcagtgtttt agagaatcat	480
ataaatgaac agttagacat ggtctaaagg acaattgagt attttgacaa caggactcta	540
cagttttatc tttttagtgt gcattgtgtc tccttttttt ttgcaaatag cttcacctat	600
ataaacttc atccatttta ttagtacatc catttagggc ttaggggttaa tggttttat	660
agactaattt ttttagtaca totattttat tctatttttag cctctaaatt aagaaaacta	720
aaactctatt ttagtttttt tatttaataa tttgatata aaatagaata aaataaagt	780
actaaaaatt aaacaaatac cctttaagaa attaaaaaaa ctaaggaaac atttttcttg	840
tttcgagtag ataatgccag cctgttaaac gccgtcgacg agtctaacgg acaccaacca	900
gcgaaccagc agcgtcgcgt cgggccaagc gaagcagacg gcacggcacc totgtcgtcg	960
cctctggacc cctctcgaga gtctcgtcc accgttggaac ttgctccgct gtcggcacc	1020
agaaattgcg tgccggagcg gcagacgtga gccggcacgg caggcgccct cctcctctc	1080
tcacggcacg gcagctacgg gggattcctt tcccaccgct ccttcgcttt ccttcctcg	1140
cccgccgtaa taaatagaca cccctccac accctcttcc cccaacctcg tgttgctcg	1200
agcgcacaca cacacaacca gatctcccc aaatccacc gtcggcacct ccgcttcaag	1260
gtacgcgct cgtcctcccc cccccccct ctctacctc tctagatcg cgttcgggc	1320

[0092]

catggtagg gcccgtagt tctacttctg ttcattgttg tgtagatcc gtgtttgtgt	1380
tagatccgtg ctgctagcgt tcgtacacgg atgcgacctg tacgtcagac acgttctgat	1440
tgctaacttg ccagtgttcc tctttgggga atcctgggat ggctctagcc gttccgcaga	1500
cgggatcgat ttcattgattt tttttgttcc gttgcatagg gtttggtttg ccccttttct	1560
ttatttcaat atatgccgtg cacttgtttg tcgggtcacc ttttcattgt tttttttgtc	1620
ttggttgtga tgatgtggtc tgggtgggag gtcgttctag atcggagtag aattctgttt	1680
caaactacct ggtggattta ttaatttttg atctgtatgt gtgtgccata catattcata	1740
gttacgaatt gaagatgatg gatggaaata tcgacttagg ataggatac atgttgatgc	1800
gggttttact gatgcataca cagagatgct ttttgttccg ttggttgtga tgatgtggtg	1860
tgggtgggag gtcgttcatt cgttctagat cggagtagaa tactgtttca aactacctgg	1920
tgtatttatt aattttggaa ctgtatgtgt gtgtcataca tcttcattgt tacgagttta	1980
agatggatgg aaatatcgat ctaggatagg tatacatgtt gatgtgggtt ttactgatgc	2040
atatacatga tggcatatgc agcatctatt catatgctct aaccttgagt acctatctat	2100
tataataaac aagtatgttt tataattatt ttgatcttga tataacttga tgatggcata	2160
tgcagcagct atatgtggat ttttttagcc ctgccttcac acgtatttta ttgcttgggt	2220
actgtttctt ttgtcgatgc tcacctgtt gtttgggtgt acttctgcag gtcgactcta	2280
gaggatctac aagtttgtac aaaaaagctg aacgagaaac gtaaaatgat ataaatatca	2340
atatattaaa ttagattttg cataaaaaac agactacata atactgtaa acacaacata	2400
tccagtcact atggcggcgg cattaggcac ccaggtttt aacttttatg cttccggctc	2460
gtataatgtg tggattttga gttaggatcc ggcgagattt tcaggagcta aggaagctaa	2520
aatggagaaa aaaatcactg gatataccac cgttgatata tccaatggc atcgtaaaga	2580
acattttgag gcatttcagt cagttgctca atgtacctat aaccagaccg ttcagctgga	2640
tattacggcc tttttaaaga ccgtaaagaa aaataagcac aagttttatc cggcctttat	2700
tcacattctt gcccgctga tgaatgctca tccggaatc cgtatggcaa tgaaagacgg	2760
tgagctgggtg atatgggata gtgttcaccc ttgttacacc gttttccatg agcaaactga	2820
aacgttttca tcgctctgga gtgaatacca cgacgatttc cggcagtttc tacacatata	2880
ttcgcaagat gtggcgtgtt acggtgaaaa cctggcctat ttccctaaag gggtttattga	2940
gaatatgttt ttgctctcag ccaatccctg ggtgagtttc accagttttg atttaaactg	3000
ggccaatatg gacaacttct tcgccccctg tttcacctat ggcaaatatt atacgcaagg	3060

[0093]

cgacaaggtg ctgatgccgc tggcgattca ggttcatcat gccgtotgtg atggcttcca	3120
tgtcggcaga atgcttaatg aattacaaca gtactgcgat gagtggcagg gcggggcgta	3180
aacgcgtgga tccggcttac taaaagccag ataacagtat gcgtatttgc gcgctgattt	3240
ttgcggtata agaatatata ctgatatgta taccgaagt atgtcaaaaa gaggtatgct	3300
atgaagcagc gtattacagt gacagttgac agcgacagct atcagttgct caaggcatat	3360
atgatgtcaa tatctccggc ctggtaagca caaccatgca gaatgaagcc cgtcgtctgc	3420
gtgccgaacg ctggaaagcg gaaaatcagg aagggatggc tgaggtcgcc cggtttattg	3480
aatgaacgg ctcttttgcg gacgagaaca ggggctggcg aatgcagtt taaggtttac	3540
acctataaaa gagagagccg ttatcgtctg tttgtggatg tacagagtga tattattgac	3600
acgcccgggc gacggatggc gatccccctg gccagtgca cgtcgtctgc agataaagtc	3660
tcccgatgaac ttaccggcgt ggtgcatatc ggggatgaaa gctggcgcat gatgaccacc	3720
gatatggcca gtgtgccggc ctccgttacc ggggaagaag tggctgatct cagccaccgc	3780
gaaaatgaca tcaaaaacgc cattaacctg atgttctggg gaatataaat gtcaggctcc	3840
cttatacaca gccagtcctg aggtcgacca tagtgactgg atatgttgtg ttttacagta	3900
ttatgtagtc tgttttttat gcaaaatcta atttaataa ttgatattta tatcatttta	3960
cgtttctcgt tcagctttct tgtacaaagt ggtgttaacc tagacttgct catcttctgg	4020
attggccaac ttaattaatg tatgaaataa aaggatgcac acatagtgac atgctaata	4080
ctataatgtg ggcatcaaag ttgtgtgtta tgtgtaatta ctagttatct gaataaaaga	4140
gaaagagatc atccatattt cttatccctaa atgaatgtca cgtgtcttta taattctttg	4200
atgaaccaga tgcatttcat taaccaaatc catatacata taaatattaa tcatatataa	4260
ttaatatcaa ttgggttagc aaaacaaatc tagtctaggt gtgttttgcg aattgcggcc	4320
gccaccggcg tggagctcga attccggctc gggtcacctt tgtccacca gatggaactg	4380
cggccgctca ttaattaagt caggcgcgcc tctagttgaa gacacgttca tgtcttcac	4440
gtaagaagac actcagtagt cttcggccag aatggccatc tggattcagc aggcctagaa	4500
ggccatttaa atcctgagga tctggctctc ctaaggaccc gggatatcgg accgaagctg	4560
gccgctctag aactagtggc tctcgatgtg tagtctacga gaagggttaa ccgtctcttc	4620
gtgagaataa ccgtggccta aaaataagcc gatgaggata aataaaatgt ggtggtacag	4680
tacttcaaga ggtttactca tcaagaggat gcttttccga tgagctctag tagtacatcg	4740
gacctcacat acctccattg tgggtgaaata ttttgtgctc atttagtgat gggtaaattt	4800

[0094]

tgtttatgtc actctaggtt ttgacatttc agttttgcc a ctttaggtt ttgacaaata	4860
atttccattc cgcggcaaaa gcaaaacaat tttattttac ttttaccact ctttagctttc	4920
acaatgtatc acaaatgcc a cctagaaat tctgtttatg ccacagaatg tgaaaaaaa	4980
cactcactta tttgaagcca aggtgttcat ggcatggaaa tgtgacataa agtaacgttc	5040
gtgtataaga aaaaattgta ctctctgtaa caagagacgg aaacatcatg agacaatcgc	5100
gtttggaagg ctttgcata cctttggatg atgcgcata atggagtcgt ctgcttgcta	5160
gccttcgcct accgcccact gagtccgggc ggcaactacc atcggcgaac gaccagctg	5220
acctctaccg accggacttg aatgcgtac ctctctcagc gacgatggcc gcgtacgtg	5280
gcgacgtgcc cccgcatac tggcgccaca tggcgagctc agaccgtgcg tggttgcta	5340
caaatacgt a cccgtgagt gccctagcta gaaacttaca cctgcaactg cgagagcgag	5400
cgtgtgagt tagccgagta gatccccgg gctgcaggtc gactctagag gatccaccgg	5460
tcgccaccat ggctctctcc gagaacgtca tcaccagatt catgcgttc aaggtgcga	5520
tggagggcac cgtgaacggc cagcagttcg agatcgaggc cgaggcgag gcccgccct	5580
acgagggcc aacacacgtg aagctgaagg tgacgaaggc cgccccctg ccttcgcct	5640
gggacatcct gtccccccag ttccagtaac gctccaaggt gtacgtgaag cccccgcg	5700
acatccccga ctacaagaag ctgtctctcc ccgagggtt caagtgggag cgcgtgatga	5760
acttcgagga cggcgccgtg gcgaccgtga ccaggactc ctccctgcag gacgctgct	5820
tcactacaa ggtgaagttc atcgccgtga acttccccctc cgacggcccc gtgatgcaga	5880
agaagaccat gggctgggag gccctccaccg agcgcctgta cccccgcac ggcgtgctga	5940
aggcgagac ccacaaggcc ctgaagctga aggacggcgg ccactacctg gtggagttca	6000
agtcaccta catggccaag aagcccgctc agctgcccgg ctactactac gtggacgcca	6060
agctggacat cacctccac aacgaggact acaccatcgt ggagcagta gagcgaccg	6120
aggcgccca ccacctgttc ctgtagcggc ccatggatat tgaacgcgt aggtaccaca	6180
tggttaacct agacttgctc atcttctgga ttggccaact taattaatgt atgaaataaa	6240
aggatgcaca catagtaca tgctaatac tataatgtgg gcatcaaagt tgtgtgttat	6300
gtgtaattac tagttatctg aataaaagag aaagagatca tccatatttc ttatcctaaa	6360
tgaatgtcac gtgtctttat aattctttga tgaaccagat gcatttcatt aacaaatcc	6420
atatacatat aatatataat catatataat taatatcaat tgggttagca aaacaaatct	6480
agtctaggtg tgttttgca atcgccgcgc caccgggtg gagctcgaat tccggtccga	6540

[0095]

agcttgcattg cctgcagtgc agcgtgaccc ggtcgtgccc ctctctagag ataattgagca	6600
ttgcatgtct aagttataaa aaattaccac atattttttt tgtcacactt gtttgaagt	6660
cagtttatct atctttatac atataattaa actttactct acgaataata taatctatag	6720
tactacaata atatcagtgt tttagagaat catataaatg aacagttaga catggtctaa	6780
aggacaattg agtattttga caacaggact ctacagtttt atcttttttag tgtgcattgt	6840
ttctcctttt tttttgcaa tagcttcacc tatataatac ttcattccatt ttattagtag	6900
atccatttag ggtttagggg taatggtttt tatagactaa tttttttagt acatctattt	6960
tattctattt tagcctctaa attaagaaaa ctaaaactct attttagttt ttttatttaa	7020
taatttagat ataaaataga ataaaataaa gtgactaaaa attaaacaaa taccctttaa	7080
gaaattaaaa aaactaagga aacatttttc ttgtttogag tagataatgc cagcctgtta	7140
aacgcctgc acgagtctaa cggacaccaa ccagcgaacc agcagcgtcg cgtcgggcca	7200
agcgaagcag acggcacggc atctctgtcg ctgcctctgg acccctctcg agagtccgc	7260
tccaccgttg gacttgctcc gctgtcggca tccagaaatt gcgtggcgga gcggcagacg	7320
tgagcggga cggcaggcgg cctcctctc ctctcagggc accggcagct acgggggatt	7380
cctttccac cgtcctctcg ctttccctc ctgcctcgc gtaataaata gacacccct	7440
ccacaccctc tttccccaac ctctgtttgt tggagcgca cacacacaca accagatctc	7500
ccccaaatcc acccgtcggc acctcgtt caaggtacgc cgtcgtctct ccccccccc	7560
cctctctacc ttctctagat cggcgttccg gtccatgcat ggtagggcc cggtagttct	7620
acttctgttc atgtttgtgt tagatccgtg tttgtgttag atccgtgctg ctagegttcg	7680
tacacggatg cgcacctgac gtcagacacg ttctgattgc taacttgcca gtgtttctct	7740
ttggggaatc ctgggatggc tctagccgtt ccgcagacgg gatcgatttc atgattttt	7800
ttgtttcgtt gcataggggt tggtttgccc ttttcttta tttcaatata tgccgtgcac	7860
ttgtttgtcg ggtcatcttt tcatgtttt tttgtcttg gttgtgatga tgtggtctgg	7920
ttgggcggtc gttctagatc ggagtagaat tctgtttcaa actacctggt ggatttatta	7980
attttgatc tgtatgtgtg tgccatacat attcatagtt acgaattgaa gatgatggat	8040
ggaaatatcg atctaggata ggtatacatg ttgatgcggg ttttactgat gcatatacag	8100
agatgctttt tgttcgttg gttgtgatga tgtggtgtgg ttgggcggtc gttcattcgt	8160
tctagatcgg agtagaatac tgtttcaaac tacctgggtg atttattaat tttggaactg	8220
tatgtgtgtg tcatacatct tcatagttac gagttaaaga tggatggaaa tatcgatcta	8280

[0096]

ggataggtat acatgttgat gtgggtttta ctgatgcata tacatgatgg catatgcage	8340
atctattcat atgetctaac cttgagtacc tatctattat aataaacaag tatgttttat	8400
aattattttg atcttgatat acttggatga tggcatatgc agcagctata tgttgatttt	8460
tttagccctg ccttcatacg ctattttattt gcttggtaact gtttcttttg tegatgctca	8520
cctgtttgtt tgggtgttact tctgcaggtc gactttaact tagcctagga tocacacgac	8580
accatgtccc ccgagcgccg ccccgctcgag atccgcccgg ccaccgcccgc cgacatggcc	8640
gccgtgtgcg acatcgtgaa ccactacatc gagacctcca ccgtgaactt ccgcaccgag	8700
ccgcagaccc ccgaggagtg gatcgacgac ctggagcgcc tccaggaccg ctaccctgg	8760
ctcgtggccg aggtggaggg cgtgggtggcc ggcatcgctt acgccggccc gtggaaggcc	8820
cgcaacgctt acgactggac cgtggagtcc accgtgtaog tgtcccaccg ccaccagcgc	8880
ctcggcctcg gctccacctt ctacaccac ctcctcaaga gcatggaggc ccagggcttc	8940
aagtccgtgg tggccgtgat cggcctcccg aacgaccgtt ccgtgcgctt ccacgaggcc	9000
ctcggtaca ccgcccgcg caccctccgc gccgccggtt acaagcacgg cggctggcac	9060
gacgtggctt tctggcagcg cgaactcgag ctgcggcccc cgcgcgcccc ggtgcgcccc	9120
gtgacgcaga tctgagtoga aacctagact tgtccatctt ctggattggc caacttaatt	9180
aatgtatgaa ataaaaggat gcacacatag tgacatgcta atcactataa tgtgggcata	9240
aaagttgtgt gttatgtgta attactagtt atctgaataa aagagaaaga gatcatccat	9300
attcttatac ctaaatgaat gtcacgtgtc tttataatto tttgatgaac cagatgcatt	9360
tcattaacca aatccatata catataaata ttaatcatat ataattaata tcaattgggt	9420
tagcaaaaca aatctagtct aggtgtgttt tgcgaattgc ggccgccacc gcggtggagc	9480
tgaattcat tccgattaat cgtggcctct tgccttcag gatgaagagc tatgtttaaa	9540
cgtgcaagcg ctactagaca attcagtaca ttaaaaacgt ccgcaatgtg ttattaagtt	9600
gtctaagcgt caatttggtt acaccacaat atatcctgcc accagccagc caacagctcc	9660
ccgaccggca gctcggcaca aaatcaccac tcgatacagg cagcccatca gtccgggacg	9720
gcgtcagcgg gagagccgtt gtaaggcggc agactttgct catgttaccg atgctattcg	9780
gaagaacggc aactaagctg cgggtttga aacacggatg atctcgcgga gggtagcatg	9840
ttgattgtaa cgatgacaga gcgttgcgc ctgtgatcaa atatcatctc cctcgcagag	9900
atccgaatta tcagccttct tattcatttc tcgcttaacc gtgacaggct gtcgatcttg	9960
agaactatgc cgacataata ggaaatcgct ggataaagcc gctgaggaag ctgagtggcg	10020

[0097]

ctatttcttt agaagtgaac gttgacgac gtcgaccgta ccccgatgaa ttaattcgga	10080
cgtaegtctt gaacacagct ggatacttac ttgggcgatt gtcatacatg acatcaacaa	10140
tgtaccggtt tgtgtaaccg tctcttgag gttcgtatga cactagtggg tccccctcagc	10200
ttgcgactag atgttgaggc ctaacatttt attagagagc aggctagtgg cttagataca	10260
tgatcttcag gccgttatct gtcagggcaa gcgaaaatg gccatttatg acgaccaatg	10320
ccccgcagaa gctcccatct ttgccgccat agacgccgcg cccccctttt ggggtgtaga	10380
acatcccttt gccagatgtg gaaaagaagt tcgttgctcc attgttgga atgacgtagt	10440
agccggcgaa agtgcgagac ccatttgcgc tatatataag cctacgattt ccgttgcgac	10500
tattgtcgta attggatgaa ctattatcgt agttgctctc agagttgtcg taatttgatg	10560
gactattgtc gtaattgctt atggagttgt cgtagtgtgt tggagaaatg tcgtagtgtg	10620
atggggagta gtcataggga agacgagctt catccactaa aacaattggc aggtcagcaa	10680
gtgcctgccc cgatgccatc gcaagtacga ggcttagaac caccttcaac agatcgcgca	10740
tagtcttccc cagctctcta acgcttgagt taagccgcgc cgcgaagcgg cgtcggttg	10800
aacgaattgt tagacattat ttgccgacta ccttggtgat ctgcctttc acgtagttaa	10860
caaattcttc caactgatct gcgcgcgagg ccaagcgatc ttctgtcca agataagcct	10920
gcctagcttc aagtatgacg ggcgtgatac gggccggcag gcctccatt gccagtcgg	10980
cagcgacatc cttcggcgcg attttgccgg ttactgcgt gtaccaaagtg cgggacaacg	11040
taagcactac atttcgtcca tcgccagccc agtcgggcgg cgagttccat agcgttaagg	11100
tttcatttag cgcctcaaag agatcctgtt caggaaccgg atcaaagagt tcctccgccg	11160
ctggacctac caaggcaacg ctatgttctc ttgcttttgt cagcaagata gccagatcaa	11220
tgtcgatcgt ggcgtgctcg aagatacctg caagaatgtc attgcgtgc cattctccaa	11280
attgcagttc gcgcttagct ggataacgcc acggaatgat gtcgtcgtgc acaacaatgg	11340
tgaattctac agcgcggaga atctcgtctc ctccagggga agccgaagtt tccaaaaggt	11400
cgttgatcaa agctcgcgc gttgtttcat caagccttac agtcaccgta accagcaaat	11460
caatatcact gtgtggcttc aggcgccat ccactgcgga gccgtacaaa tgtacggcca	11520
gcaacgtcgg ttcgagatgg cgtcgatga cgcgaactac ctctgatagt tgagtcgata	11580
cttcggcgat caccgcttcc ctcatgatgt ttaactcctg aattaagcgg cgcgcgaag	11640
cgggtgtggc ttgaatgaat tgtaggcgt catcctgtgc tcccgagaac cagtaccagt	11700
acatcgtgt ttgcttcgag acttgaggtc tagttttata cgtgaacagg tcaatgccgc	11760

[0098]

cgagagtaaa gccacatddd gogtacaaat tgcaggcagg tacattgttc gtttgtgtct	11820
ctaategtat gccaaaggagc tgtctgctta gtgcccactt tttcgcaaat tcgatgagac	11880
tgtgcgcgac tcccttgccct cgggtgcgtgt gcgacacaaac aatgtgttcg atagaggcta	11940
gatcgttcca tgttgagttg agttcaatct tcccgacaag ctcttggtcg atgaatgcgc	12000
catagcaagc agagtcttca tcagagtcac catccgagat gtaatccttc cggtaggggc	12060
tcacacttct ggtagatagt tcaaagcctt ggctggatag gtgcacatcg aacacttcac	12120
gaacaatgaa atggtttctca gcatccaatg tttccgccac ctgctcaggc atcaccgaaa	12180
tcttcatatg acgcctaacg cctggcacag cggatcgcaa acctggcgcg gcttttgca	12240
caaaaggcgt gacaggtttg cgaatccgtt gctgccactt gttaccctt ttgccagatt	12300
tggtactat aatttatgtt agaggcgaag tcttggttaa aaactggcct aaaattgctg	12360
gggatttcag gaaagtaaac atcaccttc ggctcgatgt ctattgtaga tatatgtagt	12420
gtatctactt gatcggggga tctgtgcct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct	12480
ctgacacatg cagctcccg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag	12540
acaagccgt caggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggcgcag ccatgacca	12600
gtcactagc gatagcggag tgtatactgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta	12660
ctgagagtgc accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc	12720
atcagcgct ctccgcttc ctgcctcact gactcgtgc gctcggctgt tcggctgcgg	12780
cgagcggat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac	12840
gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggcgcg	12900
ttgtggcgt tttccatag gctccgccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgtca	12960
agtcagaggt ggcgaaacc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc	13020
tccctcgtgc gctctcctgt tccgacctg ccgttaccg gatacctgtc cgcctttctc	13080
ccttcgggaa gcgtggcgt ttctcatagc tcacgtgtga ggtatctcag ttcgggtgtag	13140
gtcgttcgt ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagcccgga ccgtgcgc	13200
ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccgtaagac acgacttate gccactggca	13260
gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgtac agagttcttg	13320
aagtgtggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgtctgctg	13380
aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaaa aaccaccgt	13440
ggtagcgtg gttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa	13500

[0099]

gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa	13560
gggatttttg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa	13620
tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc	13680
ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga	13740
ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgcctga	13800
atgataccgc gagaccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc	13860
ggaagggcgc agcgcagaag tggtcctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat	13920
tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttgttgcc	13980
attgctgcag gggggggggg ggggggggac ttccattgtt cattccacgg acaaaaacag	14040
agaaaggaaa cgacagaggc caaaaagcct cgctttcagc acctgtcgtt tcttttcttt	14100
tcagagggta ttttaataa aaacattaag ttatgacgaa gaagaacgga aacgccttaa	14160
accggaaaat tttcataaat agcgaaaacc cgcgaggteg ccgccccgta acctgtcggg	14220
tcaccggaaa ggaccgtaa agtgataatg attatcatct acatatcaca acgtgcgtgg	14280
aggccatcaa accacgtcaa ataatcaatt atgacgcagg tatcgtatta attgatctgc	14340
atcaacttaa cgtaaaaaca acttcagaca atacaaatca gcgacactga atacggggca	14400
acctcatgtc ccccccccc cccccctgc aggcacgtg gtgtcacgt cgtcgtttgg	14460
tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt	14520
gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc	14580
agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt	14640
aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgog	14700
gcgaccgagt tgcctttgcc cggcgtcaac acgggataat accgcgccac atagcagaac	14760
tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc	14820
gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tegtgcacc aactgatctt cagcatcttt	14880
tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg	14940
aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag	15000
catttatcag gggtattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa	15060
acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcc cctgacgtct aagaaacct	15120
tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtcttcaaga	15180
attggtcgac gatcttgctg cgttcggata ttttcgtgga gttcccgcca cagaccgga	15240

[0100]

ttgaaggcga gatccagcaa ctgcgccag atcatcctgt gacggaactt tggcgcgtga	15300
tgactggcca ggacgtcggc cgaaagagcg acaagcagat cacgttttc gacagcgtcg	15360
gatttgcat cgaggatttt tggcgcgtgc gctacgtccg cgaccgcgtt gagggatcaa	15420
gccacagcag cccactcgac cttctagccg acccagacga gccaaaggat ctttttggaa	15480
tgtgtctccg tcgtcaggct ttccgacgtt tgggtgggtg aacagaagtc attatcgtac	15540
ggaatgccaa gcactccga ggggaaccct gtggttgga tgacataca aatggacgaa	15600
cggataaacc ttttcacgcc cttttaaata tccgttatto taataaacgc tcttttctct	15660
tag	15663

<210> 10
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> attB1 位点

<400> 10	
acaagtttgt acaaaaaagc aggct	25

<210> 11
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> attB2 位点

<400> 11	
accactttgt acaagaaagc tgggt	25

<210> 12
 <211> 55
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> At3g44620-5' attB 正向引物

<400> 12	
ttaaacaagt ttgtacaaaa aagcaggctc aacaatggcg actcctctc cgacg	55

<210> 13
 <211> 50
 <212> DNA
 <213> 人工序列

[0101]

<220>

<223> At3g44620-3' attB 反向引物

<400> 13

ttaaaccact ttgtacaaga aagctgggtt caactttgcg cagtataact 50

<210> 14

<211> 1160

<212> DNA

<213> 拟南芥

<400> 14

atatcccaaa tctccaactt ttcaggggaa tgatgatgta ctgtcccaac ctacaggttt 60

ctctaacaat cccttcatat ttaccatttt gccactacac tagacaattt cgtcctttctc 120

atttcgatc atctgataaa aaccogaatc tegtctctat catccagaca aaaccagaa 180

tttctcattc gcttaggtgc ttgtatcat cttcaatgga gactcctct cgcacgcaga 240

gcagcgaaac caaaccttac tctgttcttt ttgtctgtct cggaacatt tgcgcagcc 300

cagcggctga aggtgtcttt agagatatcg tgaagaagag aggtctcgat tccaaattca 360

acattgattc cgttggaaca attgattatc acgaggggaa tatggcggat ccaagaatga 420

gaagtgtgc gaaacgtgc gggattgaga taacatcact atccagaccg atcaaggcat 480

ctgatttcag agaatttgat ctcatctttg caatggatga ccagaacaaa gaggatatat 540

tgaaggctta taatgtgtgg aaagccagag ggaatttccc gcccgatgca gataagaagg 600

ttaagctaatt gtgttcttat tgaagaaac acaatgacaa gtttgttct gatccatatt 660

atgggtggagc ccaaggtttt gagaaggtag tggacttgct tgaagatgct tgtgagtctt 720

tgctggatag tatcactgcg caaagttgat gatactacaa gtacaaagtc ccaatcctag 780

aacctttgtt gtttttcac atagaactga aaagttctct tattatatatt aagtgtcatc 840

agtgatgaca atagagttag aactgatgtg aagcttggat cttgatcttg ttggtgtttt 900

ccttgaaaaa ccctttgtta aatgatctac tgatggatca ttattattga gatgatagc 960

ttcagtgatg tcaatagttt gtgaggaatg atcttctga ttcttaagaa tcatagagag 1020

tggcactctt tacacgttg aataatacga attcttttgc tgcattatta ttattaggaa 1080

agaaatagat ttaaaaaaaaa aagaatgtgt ggacgtgaag tgtgtgtgtt tgagatgata 1140

acagaatatt ttctcttctc 1160

<210> 15

<211> 239

<212> PRT

[0102]

<213> 拟南芥

<400> 15

Met	Met	Met	Tyr	Cys	Pro	Asn	Leu	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Pro	Ser
1				5					10					15	

Tyr	Leu	Pro	Phe	Cys	His	Tyr	Thr	Arg	Gln	Phe	Arg	Pro	Ser	His	Phe
			20					25					30		

Arg	Ser	Ser	Asp	Lys	Asn	Pro	Asn	Leu	Val	Ser	Ile	Ile	Arg	Ala	Lys
		35					40					45			

Pro	Arg	Ile	Ser	His	Ser	Leu	Arg	Cys	Phe	Val	Ser	Ser	Ser	Met	Ala
	50						55					60			

Thr	Pro	Pro	Pro	Thr	Gln	Ser	Ser	Glu	Thr	Lys	Pro	Tyr	Ser	Val	Leu
65					70					75					80

Phe	Val	Cys	Leu	Gly	Asn	Ile	Cys	Arg	Ser	Pro	Ala	Ala	Glu	Gly	Val
				85					90					95	

Phe	Arg	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Arg	Gly	Leu	Asp	Ser	Lys	Phe	Asn	Ile
			100					105					110		

Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Ile	Asp	Tyr	His	Glu	Gly	Asn	Met	Ala	Asp	Pro
		115					120					125			

Arg	Met	Arg	Ser	Ala	Ala	Lys	Arg	Arg	Gly	Ile	Glu	Ile	Thr	Ser	Leu
	130					135					140				

Ser	Arg	Pro	Ile	Lys	Ala	Ser	Asp	Phe	Arg	Glu	Phe	Asp	Leu	Ile	Leu
145					150					155					160

Ala	Met	Asp	Asp	Gln	Asn	Lys	Glu	Asp	Ile	Leu	Lys	Ala	Tyr	Asn	Val
				165					170					175	

Trp	Lys	Ala	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	Pro	Asp	Ala	Asp	Lys	Lys	Val	Lys
			180					185					190		

Leu	Met	Cys	Ser	Tyr	Cys	Lys	Lys	His	Asn	Asp	Lys	Phe	Val	Pro	Asp
		195					200					205			

Pro	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ala	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Leu
	210					215						220			

[0103]

Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Thr Ala Gln Ser
 225 230 235

<210> 16
 <211> 1207
 <212> DNA
 <213> 玉米

<400> 16
 cggacgcgtg ggcgagcctc acttcagtt ccagcacgaa tctctgtcca atccacgcct 60
 gctgctcgcg agccatcgcc acagtgtctg cctggccatg cctggagccg ttgcgcttgc 120
 gccacgttc gcggcagcga gcagctccgc cgcgcggcc tccacgttg ctccgaaccc 180
 gacaagccga ggcgaccgc taattattag gttgtgccgc aatgtcctg ctacgcgaac 240
 tccacttggt ccactttag ccaccgtcg ctacgtgct ggctgcgcg gcgcggctct 300
 agtggccagt cccaccacg ctccaaaccc tcgcctcga ttgcgctctg cggcagaggg 360
 gatggctgcg gaagcgagca cggcgggtgc ggctcgga gccgaggcga agcccttcgc 420
 cgctctcttc gtgtgcctcg ggaatatttg cggagtcct gcggtgaag ctgtgtttcg 480
 gaccctcgta agcaagcgtg ggcttgactc caagtttctc atagactctg ctggtacat 540
 cgggtatcat gagggttaata aggcagactc aaggatgaga gcagcttcaa aaaagcgggg 600
 gattgaggtc acatcaatat ccaggcctat caaacctcg gattttctg attttgatct 660
 tatccttgca atggacagge agaactatga agatatattg aactcgtttg agagatggag 720
 aogcaaagag cccctccctg atagtgcacc caataaggtt aagctgatgt gctcctactg 780
 caaacaacat actgagtctg aagttccaga tccttattat ggaggtcctc agggatttga 840
 aaaggtgttg gacttatttg aagatgcttg cgagtcctg cttgatagta tcgtcgcaaa 900
 caatgcaagc atttctgggt gacatcgatg taaatctcca catagacatc tattttcaga 960
 cgcaccggt gtagcatcca tgcacaaccg gagtaatttg gttgctaag caacattgat 1020
 catgtcgta ttaccaggt cttggtctgg tttgtatata ccaccatcct tatacctggt 1080
 tatgtgataa gtgacaaaaa aactgctcat catcactttt ttocactaaa gataatcaga 1140
 aacaatcaga atgactgaca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200
 aaaaaaa 1207

<210> 17
 <211> 274
 <212> PRT

[0104]

<213> 玉米

<400> 17

Met Pro Gly Ala Val Ala Leu Ala Pro Thr Phe Ala Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15

Ser Ala Ala Ala Ala Ser Thr Leu Ala Pro Asn Pro Thr Ser Arg Gly
20 25 30

Asp Pro Leu Ile Ile Arg Leu Cys Arg Asn Ala Pro Ala Ser Ala Thr
35 40 45

Pro Leu Val Pro Leu Val Ala Thr Arg Arg Tyr Val Arg Gly Cys Arg
50 55 60

Gly Ala Ala Leu Val Ala Ser Pro His His Ala Pro Asn Pro Arg Leu
65 70 75 80

Arg Phe Ala Ser Ala Ala Glu Gly Met Ala Ala Glu Ala Ser Thr Ala
85 90 95

Gly Ala Ala Ser Ala Ala Glu Ala Lys Pro Phe Ala Val Leu Phe Val
100 105 110

Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg
115 120 125

Thr Leu Val Ser Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe Leu Ile Asp Ser
130 135 140

Ala Gly Thr Ile Gly Tyr His Glu Gly Asn Lys Ala Asp Ser Arg Met
145 150 155 160

Arg Ala Ala Ser Lys Lys Arg Gly Ile Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg
165 170 175

Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met
180 185 190

Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Ile Leu Asn Ser Phe Glu Arg Trp Arg
195 200 205

Arg Lys Glu Pro Leu Pro Asp Ser Ala Pro Asn Lys Val Lys Leu Met
210 215 220

[0105]

Cys Ser Tyr Cys Lys Gln His Thr Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr
225 230 235 240

Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp
245 250 255

Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Val Ala Asn Asn Ala Ser Ile
260 265 270

Ser Gly

<210> 18

<211> 1374

<212> DNA

<213> 大豆

<400> 18

```

gaataatgag cgtcattaat ttacgatttt gccactgttc ccaactcctc ctctctcacc      60
caaaccogaa gctctcttct tctctgcaaa ctgcaaagtt aactctgaga aagaaaaacc      120
caacgacccc ttttgccatt tcttgcaaaa ccggtttctc ttcttcaatt cgcgcgtcca      180
tggttcacc ctccatcaca gacgcgaaa caaagccgtt ttctgttctc ttctgtgtgc      240
tcggcaacat ctgcagaage ccgctgtctg aaggagtctt cactgactta gtcaacaaaa      300
gggacctcaa ttcgagttc aaaatcgact ctgctggcac catcaattac cagcaggga      360
atgaagcgga ttcgagaatg agggcagctt caaaaaggcg tgggattcag ataacttcta      420
tttcgaggcc aatcaagccc tctgatttct ttgactttga cctcattctt gctatggaca      480
aacagaacag agaggacata tttgaggcct ttaatagatg gaaagataga cattctttac      540
cggatggcgc acataaaaag gttaagtga tgtgctcgta ctgtaagaag catgatgaaa      600
gtgaagtcc ggatccttat tatggtggac cacaagggtt tgagaagggt ttggatttgc      660
ttgaagatgc ttgcggatca ttactggaaa ccatttttgc agaaaacaaa catgtacaac      720
aatcctgata cctttattaa tggccagaag atccaatcat tggttttcat agatgtcaaa      780
gtaccttctt gtttcagtgg ttactaccc tgaaccaccc acgatttata tatatggaat      840
ttcgaaaact cttgccatac ttatctaaca attggaatca taagttcgaa taacggatat      900
tctggttggt cagaatcttc aaccaaacca aacaccatca tcaacaattc acccaaatcc      960
aagcctcctt tcaagccagc aaaggatgat accaagcccg ttcttcaaga tctatactg      1020

```

[0106]

```

agatccgacc caattgagac agaggaagct gtgtgcgat tgccaccatt caaaatcccc 1080
acttcaactt caacacctga aatggcatga atgtatttaa ttccactctt tttttctct 1140
ttttttttac gttttttcgt cttcaacaat gggtttatga ggtttggttt gaatgttttt 1200
tttatgagca aaataatata ttttagtagt ttttaattaaa ataaaggtta tatagaaata 1260
aaaaataatt atttattttg ctcgcttcct tatccgagaa ctttgtaata ttttattata 1320
gcatattgga acaatggaat ggaggattta ttctattatg atctgttata cttt 1374

```

<210> 19

<211> 240

<212> PRT

<213> 大豆

<400> 19

```

Met Ser Val Ile Asn Leu Arg Phe Cys His Cys Ser Gln Leu Leu Leu
1           5           10          15

```

```

Leu Ser Pro Asn Pro Lys Leu Ser Ser Ser Ser Gln Thr Ala Lys Leu
          20          25          30

```

```

Thr Leu Arg Lys Lys Asn Pro Thr Thr Pro Phe Ala Ile Ser Cys Lys
          35          40          45

```

```

Thr Arg Phe Ser Ser Ser Ile Arg Ala Ser Met Ala Ser Pro Ser Ile
          50          55          60

```

```

Thr Asp Ala Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly
65          70          75          80

```

```

Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly Val Phe Thr Asp Leu Val
          85          90          95

```

```

Asn Lys Arg Asp Leu Asn Ser Lys Phe Lys Ile Asp Ser Ala Gly Thr
          100          105          110

```

```

Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Glu Ala Asp Ser Arg Met Arg Ala Ala
          115          120          125

```

```

Ser Lys Arg Arg Gly Ile Gln Ile Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys
          130          135          140

```

```

Pro Ser Asp Phe Val Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Lys Gln
145          150          155          160

```

[0107]

Asn Arg Glu Asp Ile Phe Glu Ala Phe Asn Arg Trp Lys Asp Arg His
165 170 175

Ser Leu Pro Asp Gly Ala His Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr
180 185 190

Cys Lys Lys His Asp Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly
195 200 205

Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Gly
210 215 220

Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Ala Glu Asn Lys His Val Gln Gln Ser
225 230 235 240

<210> 20
<211> 875
<212> DNA
<213> 大豆

<400> 20
gattttgtca ctgttcccaa ctctctctcc tctcaccaaa cccgaagctc tctttctctt 60
cttcgcaaac tgcaaagtta ttaactctga gaaaccgaaa cccaacaacc ctttttgcca 120
tttctgcaa aatccgtttc ttttcttoga ttgcgcgctc aatggttca ccttcogtca 180
cagacaccga aacgaagccg ttttccgttc ttttcgtgtg cctcggaac atctgcagaa 240
gccccgtgc cgaaggagtc ttcactgact tagtcaacga aagtggcctc aattcgaagt 300
tcaaaatcga ttccgtggc accatcaatt accacgaggg aatgaagcg gatccgagaa 360
tgagggcagc ttcaaagagg cgtgggattc tgataacttc tatttcgagg ccaatcaagc 420
cctctgattt cgttgacttt gacctcattc ttgcgatgga caaacagAAC aaaggagaca 480
tattggagge ctttaatagg tggaaaggta gacattctct accggatgat tcacataaaa 540
aggttaagtt gatgtgctcg tattgtaaga agcatgatga aagtgaagtc ccggtcctt 600
attatggttg acatcaaggg ttgagaagg tgttgattt gcttgaagat gcttgcggat 660
cattactgga aaccattttg gcagaaaaca aacatgtaca agaatcctaa tacctttatt 720
aatagccaaa acatccaatc ctgtggtgaa gtcataaaat cattggtttt catagatgtc 780
gaagtacctt catgtttcgg tggtaacta cactgaaccc acgatatata tgtatatgga 840
atttcgaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 875

[0108]

<210> 21
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> 大豆

 <400> 21

 Phe Cys His Cys Ser Gln Leu Leu Leu Leu Ser Pro Asn Pro Lys Leu
 1 5 10 15

 Ser Ser Ser Ser Ser Gln Thr Ala Lys Leu Leu Thr Leu Arg Asn Arg
 20 25 30

 Asn Pro Thr Thr Pro Phe Ala Ile Ser Cys Lys Ile Arg Phe Ser Ser
 35 40 45

 Ser Ile Arg Ala Ser Met Ala Ser Pro Ser Val Thr Asp Thr Glu Thr
 50 55 60

 Lys Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser
 65 70 75 80

 Pro Ala Ala Glu Gly Val Phe Thr Asp Leu Val Asn Glu Ser Gly Leu
 85 90 95

 Asn Ser Lys Phe Lys Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu
 100 105 110

 Gly Asn Glu Ala Asp Pro Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly
 115 120 125

 Ile Leu Ile Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Val
 130 135 140

 Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Lys Glu Asp Ile
 145 150 155 160

 Leu Glu Ala Phe Asn Arg Trp Lys Gly Arg His Ser Leu Pro Asp Asp
 165 170 175

 Ser His Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp
 180 185 190

 Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly His Gln Gly Phe Glu
 195 200 205

[0109]

Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Gly Ser Leu Leu Glu Thr
210 215 220

Ile Leu Ala Glu Asn Lys His Val Gln Glu Ser
225 230 235

<210> 22
<211> 726
<212> DNA
<213> 大豆

<400> 22
atgagcgtca ttaatttacg attttgteac tgttcccaac tcctectect ctcaccaaac 60
ccgaagctct cttcttcttc ttgcgaaact gcaaagttat taactctgag aaaccgaaac 120
ccaacaaccc cttttgccat ttctgcaaaa atccgtttct cttcttcgat tcgcgcgtca 180
atggettcaac cctcgcgcac agacaccgaa acgaagccgt tttccgttct cttcgtgtgc 240
ctcggcaaca tctgcagaag ccccgctgcc gaaggagtct tcactgactt agtcaacgaa 300
agtggcctca attcgaagtt caaaatcgat tccgctggca ccatcaatta ccacgaggga 360
aatgaagcgg atccgagaat gagggcagct tcaaagagge gtgggattct gataacttct 420
atttcgagge caatcaagcc ctctgatttc gttgactttg acctcattct tgcgatggac 480
aaacagaaca aagaggacat attggaggcc tttaataggt ggaaaggtag acattctcta 540
ccgatgatt cacataaaaa ggttaagttg atgtgctcgt attgtaagaa gcatgatgaa 600
agtgaagtcc cggatccctta ttatgggtga catcaagggt ttgagaaggt gttggatttg 660
cttgaagatg cttgcggatc attactggaa accatttttg cagaaaacaa acatgtacaa 720
gaatcc 726

<210> 23
<211> 242
<212> PRT
<213> 大豆

<400> 23

Met Ser Val Ile Asn Leu Arg Phe Cys His Cys Ser Gln Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Ser Pro Asn Pro Lys Leu Ser Ser Ser Ser Ser Gln Thr Ala Lys
20 25 30

[0110]

Leu	Leu	Thr	Leu	Arg	Asn	Arg	Asn	Pro	Thr	Thr	Pro	Phe	Ala	Ile	Ser
		35					40					45			
Cys	Lys	Ile	Arg	Phe	Ser	Ser	Ser	Ile	Arg	Ala	Ser	Met	Ala	Ser	Pro
	50					55					60				
Ser	Val	Thr	Asp	Thr	Glu	Thr	Lys	Pro	Phe	Ser	Val	Leu	Phe	Val	Cys
65					70					75					80
Leu	Gly	Asn	Ile	Cys	Arg	Ser	Pro	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	Phe	Thr	Asp
				85					90					95	
Leu	Val	Asn	Glu	Ser	Gly	Leu	Asn	Ser	Lys	Phe	Lys	Ile	Asp	Ser	Ala
			100					105					110		
Gly	Thr	Ile	Asn	Tyr	His	Glu	Gly	Asn	Glu	Ala	Asp	Pro	Arg	Met	Arg
		115					120					125			
Ala	Ala	Ser	Lys	Arg	Arg	Gly	Ile	Leu	Ile	Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	Pro
	130					135					140				
Ile	Lys	Pro	Ser	Asp	Phe	Val	Asp	Phe	Asp	Leu	Ile	Leu	Ala	Met	Asp
145					150					155				160	
Lys	Gln	Asn	Lys	Glu	Asp	Ile	Leu	Glu	Ala	Phe	Asn	Arg	Trp	Lys	Gly
				165					170					175	
Arg	His	Ser	Leu	Pro	Asp	Asp	Ser	His	Lys	Lys	Val	Lys	Leu	Met	Cys
			180					185						190	
Ser	Tyr	Cys	Lys	Lys	His	Asp	Glu	Ser	Glu	Val	Pro	Asp	Pro	Tyr	Tyr
		195					200					205			
Gly	Gly	His	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Ala
	210					215					220				
Cys	Gly	Ser	Leu	Leu	Glu	Thr	Ile	Leu	Ala	Glu	Asn	Lys	His	Val	Gln
225					230					235					240
Glu	Ser														

<210> 24

<211> 1062

[0111]

<212> DNA

<213> 甜菜

<400> 24

```

gcaaaattcc aaaatcccaa aacatcatca aacaaacaac ataaccaaaa atgcaggcct      60
tgcacagtaa cagtagagtg gtggcacaac caatthttca tccccatttt tgccatttca      120
caaacattgt ctctcatatt cctcccaaac aatactacco tttttttcaa atttcatgcc      180
catctcctct ttctcttaaa aatctaaact tttcttgccc aattgaaatt agaccacaaa      240
tcagagcttt ttctttctca tcatcatcat catcatcaat ggttctctct gctcttctat      300
ctgcagaaac caagcctttc tctgtcctct ttgtttgctt gggaaatata tgtagaagcc      360
cagctgctga aggggttttc agagatatgg ttacaaaaaa agggcttgac tcaaatttca      420
atattgattc tcttggaacc attgattttc atgagggtaa cccagctgat tcaagaatga      480
tatcaactgc aaagaggcgt ggagttgaaa ttacttcaat atcaaggcca atccgccctt      540
ctgattttag ggattttgat ctgattcttg ccatggatga atcaaataga gctaacattc      600
tgaaggcgtt tgatggatgg aaaaggagag aaactctccc tccagatgct gataagaagg      660
ttaagctaat gtgtctttat tgcaagaaac atgatgaaac agaagttcca gacctctatt      720
atggcggaca acaaggattt gaaaagggtt tggaccttct cgaagatgct tgtgagtcct      780
tgctagagac catactgaca gagagccaac aaacttagat ttttgtcagt taagtctgat      840
tatactttga tttcaagggt cgaaccatat acttgcttct tatcaccccc gctccaacta      900
atatgcaagg agtttcttgt cagagggttt tatgtattgt aatttgtaga ctgtacatga      960
aaataagctt gttattattg gccggatctt cagctcaatt gttaagactt gattctgcca     1020
tactctacat gaagtttgtt gtataaaaaa aaaaaaaaaa aa                        1062

```

<210> 25

<211> 255

<212> PRT

<213> 甜菜

<400> 25

```

Met Gln Ala Leu His Ser Asn Ser Arg Val Val Ala Gln Pro Ile Phe
1              5              10              15

His Ser His Phe Cys His Phe Thr Asn Ile Val Ser His Ile Pro Pro
                20              25              30

Lys Gln Tyr Tyr Pro Phe Leu Gln Ile Ser Cys Pro Ser Pro Leu Ser
                35              40              45

```

[0112]

Leu	Lys	Asn	Leu	Asn	Phe	Ser	Cys	Pro	Ile	Glu	Ile	Arg	Pro	Thr	Ile
50						55					60				
Arg	Ala	Phe	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Met	Ala	Ser	Ser
65						70					75				80
Ala	Pro	Ser	Ser	Ala	Glu	Thr	Lys	Pro	Phe	Ser	Val	Leu	Phe	Val	Cys
				85					90					95	
Leu	Gly	Asn	Ile	Cys	Arg	Ser	Pro	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	Phe	Arg	Asp
		100						105						110	
Met	Val	Thr	Lys	Lys	Gly	Leu	Asp	Ser	Asn	Phe	Asn	Ile	Asp	Ser	Ala
		115					120					125			
Gly	Thr	Ile	Asp	Phe	His	Glu	Gly	Asn	Pro	Ala	Asp	Ser	Arg	Met	Ile
	130					135					140				
Ser	Thr	Ala	Lys	Arg	Arg	Gly	Val	Glu	Ile	Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	Pro
145					150					155					160
Ile	Arg	Pro	Ser	Asp	Phe	Arg	Asp	Phe	Asp	Leu	Ile	Leu	Ala	Met	Asp
				165					170					175	
Glu	Ser	Asn	Arg	Ala	Asn	Ile	Leu	Lys	Ala	Leu	Asp	Gly	Trp	Lys	Arg
			180					185					190		
Arg	Glu	Thr	Leu	Pro	Pro	Asp	Ala	Asp	Lys	Lys	Val	Lys	Leu	Met	Cys
		195					200					205			
Ser	Tyr	Cys	Lys	Lys	His	Asp	Glu	Thr	Glu	Val	Pro	Asp	Pro	Tyr	Tyr
	210					215					220				
Gly	Gly	Gln	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Ala
225					230					235					240
Cys	Glu	Ser	Leu	Leu	Glu	Thr	Ile	Leu	Thr	Glu	Ser	Gln	Gln	Thr	
				245					250					255	

<210> 26
 <211> 807
 <212> DNA
 <213> 水稻

[0113]

<400> 26
 atggccggag cagccgcgge gagctccgcc gcctgctcat ctccggetcc gaacccgaca 60
 acgcgatacc cggttaggag gcgctgccc gcgcctccac ttgtggcagc cagtcgtcac 120
 tgcaccgctt caccctttcc cactacaatc tccatctcca gctcgggtct cggccaggct 180
 cgtcctcgcg atccgtttct aaacctcgc cttegatttg cggtcgcggc ggccggcgcg 240
 gagggggaga tggctgcgga ggcgagcgcc gcggcggcag agggggcgca ggogaagccc 300
 ttctccgtcc tcttcgtctg tctcggcaac atctgtcgga gccctgcagc tgaggctgtg 360
 ttccggaacc tcgtgagcaa gcgtgggctt gagtccaagt ttctcataga ctctgctggt 420
 acaattggtt accatgaggg taacaaggca gactcaagga tgagatcagc ttcaaagaag 480
 aggggaattg aggtgacctc catatccagg cctgtcaaac cctccgactt ccgagatttt 540
 gatcttatcc ttgcaatgga taggcagaat tatgaagacc tactcagttc atttgagaga 600
 tggagacaca gggaaccctc ccagacagt ggaccaaga aggttaagtt gatgtgttcc 660
 tattgcaagc gtcatactga gtcagaagtc ccagatccgt attatggagg ccctcaagga 720
 tttgaaaagg tgctggatct gctggaagac gcatcgagct cattacttga cagcatcgtg 780
 gcagagaatg caagcgtttt tgcctga 807

<210> 27
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> 水稻

<400> 27

Met Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ser Ser Ala Ala Cys Ser Ser Pro Ala
 1 5 10 15

Pro Asn Pro Thr Thr Arg Tyr Pro Val Arg Arg Arg Val Pro Arg Pro
 20 25 30

Pro Leu Val Ala Ala Ser Arg His Cys Thr Ala Ser Pro Phe Pro Thr
 35 40 45

Thr Ile Ser Ile Ser Ser Ser Gly Leu Gly Gln Ala Arg Pro Arg Asp
 50 55 60

Pro Phe Leu Asn Pro Arg Leu Arg Phe Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 65 70 75 80

[0114]

Glu Gly Glu Met Ala Ala Glu Ala Ser Ala Ala Ala Ala Glu Gly Ala
85 90 95

Gln Ala Lys Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys
100 105 110

Arg Ser Pro Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg Asn Leu Val Ser Lys Arg
115 120 125

Gly Leu Glu Ser Lys Phe Leu Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Gly Tyr
130 135 140

His Glu Gly Asn Lys Ala Asp Ser Arg Met Arg Ser Ala Ser Lys Lys
145 150 155 160

Arg Gly Ile Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Val Lys Pro Ser Asp
165 170 175

Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu
180 185 190

Asp Leu Leu Ser Ser Phe Glu Arg Trp Arg His Arg Glu Pro Leu Pro
195 200 205

Asp Ser Gly Pro Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Arg
210 215 220

His Thr Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly
225 230 235 240

Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu
245 250 255

Asp Ser Ile Val Ala Glu Asn Ala Ser Val Phe Ala
260 265

<210> 28

<211> 274

<212> PRT

<213> 玉米

<400> 28

Met Pro Gly Ala Val Ala Leu Ala Pro Thr Leu Ala Ala Ala Ser Ser
1 5 10 15

[0115]

Ser	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Ala	Pro	Asn	Pro	Thr	Ser	Arg	Gly	20	25	30
Asp	Pro	Leu	Thr	Ile	Arg	Leu	Cys	Arg	Asn	Ala	Pro	Ala	Ser	Ala	Thr	35	40	45
Pro	Leu	Val	Pro	Leu	Val	Ala	Thr	Arg	Arg	Tyr	Val	Arg	Gly	Cys	Arg	50	55	60
Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Ala	Ser	Pro	His	His	Ala	Pro	Asn	Pro	Arg	Leu	65	70	75
Arg	Phe	Ala	Ser	Ala	Ala	Glu	Gly	Met	Ala	Ala	Glu	Ala	Ser	Thr	Ala	85	90	95
Gly	Ala	Ala	Ser	Ala	Ala	Glu	Ala	Lys	Pro	Phe	Ala	Val	Leu	Phe	Val	100	105	110
Cys	Leu	Gly	Asn	Ile	Cys	Arg	Ser	Pro	Ala	Ala	Glu	Ala	Val	Phe	Arg	115	120	125
Thr	Leu	Val	Ser	Lys	Arg	Gly	Leu	Asp	Ser	Lys	Phe	Leu	Ile	Asp	Ser	130	135	140
Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Tyr	His	Glu	Gly	Asn	Lys	Ala	Asp	Ser	Arg	Met	145	150	155
Arg	Ala	Ala	Ser	Lys	Lys	Arg	Gly	Ile	Glu	Val	Thr	Ser	Ile	Ser	Arg	165	170	175
Pro	Ile	Lys	Pro	Ser	Asp	Phe	Arg	Asp	Phe	Asp	Leu	Ile	Leu	Ala	Met	180	185	190
Asp	Arg	Gln	Asn	Tyr	Glu	Asp	Ile	Leu	Asn	Ser	Phe	Glu	Arg	Trp	Arg	195	200	205
Arg	Lys	Glu	Pro	Leu	Pro	Asp	Ser	Ala	Pro	Asn	Lys	Val	Lys	Leu	Met	210	215	220
Cys	Ser	Tyr	Cys	Lys	His	His	Thr	Glu	Ser	Glu	Val	Pro	Asp	Pro	Tyr	225	230	235
Tyr	Gly	Gly	Pro	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp			

[0116]

	245	250	255
Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Val Ala Asn Asn Ala Ser Ile	260	265	270
Ser Gly			
<210> 29			
<211> 240			
<212> PRT			
<213> 大豆			
<400> 29			
Met Ser Val Ile Asn Leu Arg Phe Cys His Cys Ser Gln Leu Leu Leu	1	5	10
Leu Ser Pro Asn Pro Lys Leu Ser Ser Ser Ser Gln Thr Ala Lys Leu	20	25	30
Thr Leu Arg Lys Lys Asn Pro Thr Thr Pro Phe Ala Ile Ser Cys Lys	35	40	45
Thr Arg Phe Ser Ser Ser Ile Arg Ala Ser Met Ala Ser Pro Ser Ile	50	55	60
Thr Asp Ala Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly	65	70	75
Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly Val Phe Thr Asp Leu Val	85	90	95
Asn Lys Arg Asp Leu Asn Ser Lys Phe Lys Ile Asp Ser Ala Gly Thr	100	105	110
Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Glu Ala Asp Ser Arg Met Arg Ala Ala	115	120	125
Ser Lys Arg Arg Gly Ile Gln Ile Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys	130	135	140
Pro Ser Asp Phe Val Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Lys Gln	145	150	155
			160

[0117]

Asn Arg Glu Asp Ile Phe Glu Ala Phe Asn Arg Trp Lys Asp Arg His
165 170 175

Ser Leu Pro Asp Gly Ala His Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr
180 185 190

Cys Lys Lys His Asp Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly
195 200 205

Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Gly
210 215 220

Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Ala Glu Asn Lys His Val Gln Gln Ser
225 230 235 240

<210> 30

<211> 54

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VC062 引物

<400> 30

ttaaacaagt ttgtacaaaa aagcaggtg caattaaccc tcaactaagg gaac

54

<210> 31

<211> 53

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VC063 primer

<400> 31

ttaaaccaact ttgtacaaga aagctgggtg cgtaatacga ctcactatag ggc

53

<210> 32

<211> 3407

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含玉米 PTPase 的 PHP33257 入门克隆

<400> 32

caaataatga ttttattttg actgatagtg acctgttcgt tgcaacaaat tgatgagcaa

60

tgctttttta taatgccaac tttgtacaaa aaagcaggct ccgoggccgc ccccttccac

120

catgcctgga gccgttgccg ttgcgcccac gtgcggcgca gcgagcagct ccgccgcgcg

180

[0118]

ggcctccacg ctggtccga acccgacaag ccgaggcgac ccgctaatta ttaggttgtg	240
ccgcaatgct cctgctagcg caactccaact tgttccaatt gtagccacco gtcgtacgt	300
gcgtggctgc cgcggcgcg cttctagtggc cagtcgccac cacgctccaa accctcgct	360
ccgattcgcg tctgcggcag aggggatggc tgcggaagcg agcacggcgg gtgcggcgtc	420
ggcagccgag gegaagccct tcgcgctcct ctctgtgtgc ctcggaata tttgcggag	480
tcctgcggct gaagctgtgt ttccgacct cgtaagcaag cgtgggcttg actccaagtt	540
ttcatagac tctgtggta ccatcgggta tcatgagggt aataaggcag actcaaggat	600
gagagcagct tcaaaaaagc gggggattga ggtcacatca atatccaggc ctatcaaacc	660
ctcggatttt cgtgattttg atcttatect tgcaatggac aggcagaact atgaagatat	720
attgaactcg ttgagagat ggagacgcaa agagcccctc cctgatagtg cacccaataa	780
ggttaagctg atgtgtcct actgcaaaca acatactgag tctgaagttc cagatcctta	840
ttatggagggt cctcagggat ttgaaaagggt gttggactta ttggaagatg cttgcgagtc	900
gctgcttgat agtatcgtcg caaacaatgc aagcatttct gggtgacaag ggtggcgcg	960
ccgaccacgc tttcttgtag aaagttagca ttataagaaa gcattgctta tcaatttgtt	1020
gcaacgaaca ggtaactatc agtcaaaata aaatcattat ttgccatcca gctgatatcc	1080
cctatagtga gtcgtattac atggtcatag ctgtttcctg gcagctctgg ccgtgtctc	1140
aaaatctctg atgttacatt gcacaagata aaaatatatc atcatgaaca ataaaactgt	1200
ctgcttacat aaacagtaat acaaggggtg ttatgagcca tattcaacgg gaaacgtcga	1260
ggccgcgatt aaattccaac atggatgctg atttatatgg gtataaatgg gctcgcgata	1320
atgtcgggca atcagggtcg acaatctatc gcttgatagg gaagcccgat ggcagagat	1380
tgtttctgaa acatggcaaa ggtagcgttg ccaatgatgt tacagatgag atggtcagac	1440
taaactggct gacggaattt atgcctcttc cgaccatcaa gcattttatc cgtactctg	1500
atgatgcag gttactcacc actgcgatcc ccggaaaaac agcattccag gtattagaag	1560
aatatcctga ttcagggtgaa aatattgttg atgcgctggc agtgttctg cgcgggttg	1620
attcgattcc tgtttgtaat tgtcctttta acagcgatcg cgtatttcgt ctgcctcagg	1680
cgcaatcacg aatgaataac ggtttggttg atgcgagtga ttttgatgac gagcgtaatg	1740
gctggcctgt tgaacaagtc tggaagaaa tgcataaact tttgccatc tcaccggatt	1800
cagtcgtcac tcatggtgat ttctcacttg ataaccttat ttttgacgag gggaaattaa	1860
taggttgat tgatgttgga cgagtcggaa tcgcagaccg ataccaggat cttgccatcc	1920

[0119]

tatggaactg cctcggtgag tttctcctt cattacagaa acggtttttt caaaaatatg	1980
gtattgataa tctgatatg aataaattgc agtttcattt gatgctcgat gagtttttct	2040
aatcagaatt ggttaattgg ttgtaacact ggcagagcat tacgctgact tgacgggacg	2100
gcgcaagctc atgacaaaaa tcccttaacg tgagttacgc gtcgttccac tgagcgtcag	2160
accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt tttctgcgc gtaatctgct	2220
gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag cgggtggttg tttgccgat caagagctac	2280
caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgtccttc	2340
tagtgtagcc gtagttagge caccacttca agaactctgt agcaccgctt acatacctcg	2400
ctctgctaat cctgttacca gtggtctgtg ccagtggcga taagtctgtt cttaccgggt	2460
tggactcaag acgatatgta ccgataagg ccgacgggc gggctgaacg gggggttcgt	2520
gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc	2580
attgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggatatcg gtaagcggca	2640
gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata	2700
gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg	2760
ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttctg	2820
ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt tatccctga ttctgtggat aaccgtatta	2880
ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag	2940
tgagcgagga agcggaagag cgccaatac gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga	3000
ttcattaatg cagctggcac gacaggtttc ccgactggaa agcgggcagt gagegcaacg	3060
caattaatac gcgtaccgct agccaggaag agttttaga aacgcaaaaa ggccatccgt	3120
caggatggcc ttctgcttag tttgatgcct ggcagtttat ggcgggcgtc ctgcccgcc	3180
ccctccgggc cgttgcttca caacgttcaa atccgctccc ggcggatttg tctactcag	3240
gagagcgttc accgacaaac aacagataaa acgaaaggcc cagtcttcg actgagcctt	3300
tcgttttatt tgatgcctgg cagttcccta ctctcgctt aacgctagca tggatgtttt	3360
cccagtcacg acgttgtaaa acgacggcca gtcttaagct cgggccc	3407

<210> 33
 <211> 177
 <212> PRT
 <213> 拟南芥

<400> 33

[0120]

Met Ala Thr Pro Pro Pro Thr Gln Ser Ser Glu Thr Lys Pro Tyr Ser
1 5 10 15

Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu
20 25 30

Gly Val Phe Arg Asp Ile Val Lys Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe
35 40 45

Asn Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asp Tyr His Glu Gly Asn Met Ala
50 55 60

Asp Pro Arg Met Arg Ser Ala Ala Lys Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr
65 70 75 80

Ser Leu Ser Arg Pro Ile Lys Ala Ser Asp Phe Arg Glu Phe Asp Leu
85 90 95

Ile Leu Ala Met Asp Asp Gln Asn Lys Glu Asp Ile Leu Lys Ala Tyr
100 105 110

Asn Val Trp Lys Ala Arg Gly Asn Phe Pro Pro Asp Ala Asp Lys Lys
115 120 125

Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asn Asp Lys Phe Val
130 135 140

Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Ala Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp
145 150 155 160

Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Thr Ala Gln
165 170 175

Ser

<210> 34
<211> 186
<212> PRT
<213> 玉米

<400> 34

Met Ala Ala Glu Ala Ser Thr Ala Gly Ala Ala Ser Ala Ala Glu Ala
1 5 10 15

[0121]

Lys Pro Phe Ala Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser
 20 25 30
 Pro Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg Thr Leu Val Ser Lys Arg Gly Leu
 35 40 45
 Asp Ser Lys Phe Leu Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Gly Tyr His Glu
 50 55 60
 Gly Asn Lys Ala Asp Ser Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Lys Arg Gly
 65 70 75 80
 Ile Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Arg
 85 90 95
 Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Ile
 100 105 110
 Leu Asn Ser Phe Glu Arg Trp Arg Arg Lys Glu Pro Leu Pro Asp Ser
 115 120 125
 Ala Pro Asn Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Gln His Thr
 130 135 140
 Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu
 145 150 155 160
 Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser
 165 170 175
 Ile Val Ala Asn Asn Ala Ser Ile Ser Gly
 180 185

<210> 35
 <211> 182
 <212> PRT
 <213> 大豆

<400> 35

Met Ala Ser Pro Ser Ile Thr Asp Ala Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val
 1 5 10 15

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly

[0122]

	20	25	30
Val Phe Thr Asp Leu Val Asn Lys Arg Asp Leu Asn Ser Lys Phe Lys	35	40	45
Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Glu Ala Asp	50	55	60
Ser Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Gln Ile Thr Ser	65	70	75
Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Val Asp Phe Asp Leu Ile	85	90	95
Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Arg Glu Asp Ile Phe Glu Ala Phe Asn	100	105	110
Arg Trp Lys Asp Arg His Ser Leu Pro Asp Gly Ala His Lys Lys Val	115	120	125
Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Ser Glu Val Pro	130	135	140
Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu	145	150	155
Leu Glu Asp Ala Cys Gly Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Ala Glu Asn	165	170	175
Lys His Val Gln Gln Ser	180		
<210> 36			
<211> 182			
<212> PRT			
<213> 大豆			
<400> 36			
Met Ala Ser Pro Ser Val Thr Asp Thr Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val	1	5	10
Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly	20	25	30

[0123]

Val Phe Thr Asp Leu Val Asn Glu Ser Gly Leu Asn Ser Lys Phe Lys
35 40 45

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Glu Ala Asp
50 55 60

Pro Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Leu Ile Thr Ser
65 70 75 80

Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Val Asp Phe Asp Leu Ile
85 90 95

Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Lys Glu Asp Ile Leu Glu Ala Phe Asn
100 105 110

Arg Trp Lys Gly Arg His Ser Leu Pro Asp Asp Ser His Lys Lys Val
115 120 125

Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Ser Glu Val Pro
130 135 140

Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly His Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu
145 150 155 160

Leu Glu Asp Ala Cys Gly Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Ala Glu Asn
165 170 175

Lys His Val Gln Glu Ser
180

<210> 37
<211> 179
<212> PRT
<213> 甜菜

<400> 37

Met Ala Ser Ser Ala Pro Ser Ser Ala Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val
1 5 10 15

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
20 25 30

Val Phe Arg Asp Met Val Thr Lys Lys Gly Leu Asp Ser Asn Phe Asn
35 40 45

[0124]

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asp Phe His Glu Gly Asn Pro Ala Asp
50 55 60

Ser Arg Met Ile Ser Thr Ala Lys Arg Arg Gly Val Glu Ile Thr Ser
65 70 75 80

Ile Ser Arg Pro Ile Arg Pro Ser Asp Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile
85 90 95

Leu Ala Met Asp Glu Ser Asn Arg Ala Asn Ile Leu Lys Ala Leu Asp
100 105 110

Gly Trp Lys Arg Arg Glu Thr Leu Pro Pro Asp Ala Asp Lys Lys Val
115 120 125

Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Thr Glu Val Pro
130 135 140

Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Gln Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu
145 150 155 160

Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Thr Glu Ser
165 170 175

Gln Gln Thr

<210> 38
<211> 185
<212> PRT
<213> 水稻

<400> 38

Met Ala Ala Glu Ala Ser Ala Ala Ala Ala Glu Gly Ala Gln Ala Lys
1 5 10 15

Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro
20 25 30

Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg Asn Leu Val Ser Lys Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Ser Lys Phe Leu Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Gly Tyr His Glu Gly
50 55 60

[0125]

Asn Lys Ala Asp Ser Arg Met Arg Ser Ala Ser Lys Lys Arg Gly Ile
65 70 75 80

Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Val Lys Pro Ser Asp Phe Arg Asp
85 90 95

Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Leu Leu
100 105 110

Ser Ser Phe Glu Arg Trp Arg His Arg Glu Pro Leu Pro Asp Ser Gly
115 120 125

Pro Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Arg His Thr Glu
130 135 140

Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys
145 150 155 160

Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile
165 170 175

Val Ala Glu Asn Ala Ser Val Phe Ala
180 185

<210> 39
<211> 861
<212> DNA
<213> 反枝苋

<400> 39
gtccactttt ctctctcaca ttactctaaa aaaacattac ccttttcctc aaattcttaa 60
ctttacttcc ccactatcta gaattaaacc cattacaatc aaagcttctt catcttcac 120
aatggettcc tctacttctt cttcatctga aaccaaacct ttttctgttc tctttgtttg 180
cttgggaaat atatgtagaa gccagctgc agaaggggtc ttcagagatt tggttaaaaa 240
tagacagctt gaatcaaatt tcaacattga ttctgctggt accattaatt atcatgaggg 300
taatccagca gattcaagaa tgagatcagc tgcaaaaagg cgtgggattg agattacttc 360
attatcaagg ccaattaaac cttctgattt tacagatttt gatcttattc ttgcaatgga 420
taactcaaat agatctgaca tatgtgaggc atatgataga tggagagaaa aatataacct 480
ccctgctggt gctgataaaa aggttaagct aatgtgctct tattgtaaga aacacaacga 540

[0126]

```

aacagaagtt ccagaccctt attatggtgg acaaaaaggc ttcgaaaagg tgtagatat      600
tcttgaagat gcttgtgagt ccttgttga aaccatcctg acagagactc gtcaggett      660
acgatttttt cttgtgaaaa gcacgattat atagaaaatt gaaggaaaca aatgattatg      720
acttttgatc gtctaattgc ttagttacat gtaaattaga ataaatcttc tgttgattga      780
atctgaatat tgtaacgata tctgattcag taatatcaag actcaagtct cgattatgcc      840
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa a                                             861

```

<210> 40

<211> 219

<212> PRT

<213> 反枝苋

<400> 40

```

Ser Thr Phe Leu Ser His Ile Thr Leu Lys Lys His Tyr Pro Phe Pro
1          5          10          15

```

```

Gln Ile Leu Asn Phe Thr Ser Pro Leu Ser Arg Ile Lys Pro Ile Thr
          20          25          30

```

```

Ile Lys Ala Ser Ser Ser Ser Ser Met Ala Ser Ser Thr Ser Ser Ser
          35          40          45

```

```

Ser Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile
          50          55          60

```

```

Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly Val Phe Arg Asp Leu Val Lys Asn
65          70          75          80

```

```

Arg Gln Leu Glu Ser Asn Phe Asn Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn
          85          90          95

```

```

Tyr His Glu Gly Asn Pro Ala Asp Ser Arg Met Arg Ser Ala Ala Lys
          100          105          110

```

```

Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr Ser Leu Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser
          115          120          125

```

```

Asp Phe Thr Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Asn Ser Asn Arg
          130          135          140

```

```

Ser Asp Ile Cys Glu Ala Tyr Asp Arg Trp Arg Glu Lys Tyr Asn Leu
145          150          155          160

```

[0127]

Pro Ala Gly Ala Asp Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys
165 170 175

Lys His Asn Glu Thr Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Gln Lys
180 185 190

Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Ile Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu
195 200 205

Leu Glu Thr Ile Leu Thr Glu Thr Arg Gln Ala
210 215

<210> 41

<211> 179

<212> PRT

<213> 反枝苋

<400> 41

Met Ala Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val
1 5 10 15

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
20 25 30

Val Phe Arg Asp Leu Val Lys Asn Arg Gln Leu Glu Ser Asn Phe Asn
35 40 45

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Pro Ala Asp
50 55 60

Ser Arg Met Arg Ser Ala Ala Lys Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr Ser
65 70 75 80

Leu Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Thr Asp Phe Asp Leu Ile
85 90 95

Leu Ala Met Asp Asn Ser Asn Arg Ser Asp Ile Cys Glu Ala Tyr Asp
100 105 110

Arg Trp Arg Glu Lys Tyr Asn Leu Pro Ala Gly Ala Asp Lys Lys Val
115 120 125

Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asn Glu Thr Glu Val Pro

[0128]

130	135	140
Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Gln Lys Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Ile		
145	150	155 160
Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Glu Thr Ile Leu Thr Glu Thr		
165	170	175
Arg Gln Ala		
<210> 42		
<211> 1040		
<212> DNA		
<213> 葡萄属		
<400> 42		
ggcaggagga caggagcaa tagcatgagg acctgtgtaca gcagagtggc agcccatcct	60	
aatttaccat ttgtccacca cctctgtttt ctctctctaa actaccate attctctccc	120	
cttcttccac gcccatctct ccaaaacctt aacccaacte tgtgtctcca cagaccace	180	
attccatctt cccctgtggt gtttgcattt gcatcaatgg cttctgggcc atccattgac	240	
acacagacca agcccttctc tgtctctttt gtgtgccttg gcaacatctg cagaagccca	300	
gctgctgagg gtgtcttcac tgatgctgtc aagaagagag ggetggattc caagttcaaa	360	
attgattctg ctggcaccat taattatcac gagggtaatc tagcggacce aagaatgagg	420	
gctgcttcaa aaaggcgtgg gattgagata acttccatct caaggccaat ccagccatct	480	
gatttttagag attttgatct catccttgca atggacaagc aaaatagaga tgatataatg	540	
gaggcttttg ataggtggag atttagagaa accctccctg ctgatgcaca taaaaggtc	600	
aagttaatgt gttcctattg taagaaacat gatgaaactg aagtcccaga tccttactac	660	
gggggaccgc aaggttttga gaaggttctg gatttacttg aagatgcttg tgaatcatta	720	
ttagacagca ttttggcaga gaacagtcatt cttttggatt cttagctgtg gctgcaaatt	780	
taattttttc atgtggcctg gggtgatcct taagggaggg aaaaaggaaa agaaaaggaa	840	
gaaaattcat gctgaacaac atttaagcaa cattatccaa ctgcataatt gtatttcttt	900	
cttttcttgc tgtaaaaata tgctatgagt tgcaaaacte ttgaacagaa agatgtaccc	960	
tgtattgaag atgggcaatg ttttattgct taatttatca ataagtttga gttcaggaac	1020	
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1040	

[0129]

<210> 43

<211> 246

<212> PRT

<213> 葡萄属

<400> 43

Met Arg Thr Leu Tyr Ser Arg Val Ala Ala His Pro Asn Leu Pro Phe
1 5 10 15

Cys His His Pro Arg Phe Leu Ser Leu Asn Tyr Pro Ser Phe Ser Pro
20 25 30

Leu Leu Pro Arg Pro Ser Leu Gln Asn Pro Asn Pro Thr Leu Cys Leu
35 40 45

His Arg Pro Thr Ile Pro Ser Ser Pro Val Val Phe Ala Ser Ala Ser
50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ser Ile Asp Thr Gln Thr Lys Pro Phe Ser Val
65 70 75 80

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
85 90 95

Val Phe Thr Asp Ala Val Lys Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe Lys
100 105 110

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Leu Ala Asp
115 120 125

Pro Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr Ser
130 135 140

Ile Ser Arg Pro Ile Gln Pro Ser Asp Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile
145 150 155 160

Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Arg Asp Asp Ile Met Glu Ala Phe Asp
165 170 175

Arg Trp Arg Phe Arg Glu Thr Leu Pro Ala Asp Ala His Lys Lys Val
180 185 190

Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Thr Glu Val Pro
195 200 205

[0130]

Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu
210 215 220

Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Leu Ala Glu Asn
225 230 235 240

Ser His Leu Leu Asp Ser
245

<210> 44
<211> 182
<212> PRT
<213> 葡萄属

<400> 44

Met Ala Ser Gly Pro Ser Ile Asp Thr Gln Thr Lys Pro Phe Ser Val
1 5 10 15

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
20 25 30

Val Phe Thr Asp Ala Val Lys Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe Lys
35 40 45

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Leu Ala Asp
50 55 60

Pro Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr Ser
65 70 75 80

Ile Ser Arg Pro Ile Gln Pro Ser Asp Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile
85 90 95

Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Arg Asp Asp Ile Met Glu Ala Phe Asp
100 105 110

Arg Trp Arg Phe Arg Glu Thr Leu Pro Ala Asp Ala His Lys Lys Val
115 120 125

Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Thr Glu Val Pro
130 135 140

Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu
145 150 155 160

[0131]

Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Leu Ala Glu Asn
165 170 175

Ser His Leu Leu Asp Ser
180

<210> 45
<211> 246
<212> PRT
<213> 葡萄

<400> 45

Met Arg Thr Leu Tyr Ser Arg Val Ala Ala His Pro Asn Leu Pro Phe
1 5 10 15

Cys His Leu Pro Arg Phe Leu Ser Leu Asn Tyr Pro Ser Phe Ser Pro
20 25 30

Leu Leu Pro Arg Pro Ser Leu Gln Asn Pro Asn Pro Thr Leu Cys Leu
35 40 45

His Arg Pro Thr Ile Pro Ser Ser Pro Val Val Phe Ala Ser Ala Ser
50 55 60

Met Ala Ser Gly Pro Ser Ile Asp Thr Gln Ser Lys Pro Phe Ser Val
65 70 75 80

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
85 90 95

Val Phe Thr Asp Ala Val Lys Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe Lys
100 105 110

Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Leu Ala Asp
115 120 125

Pro Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Glu Ile Thr Ser
130 135 140

Ile Ser Arg Pro Ile Gln Pro Ser Asp Phe Arg Asp Phe Asp Leu Ile
145 150 155 160

Leu Ala Met Asp Lys Gln Asn Arg Asp Asp Ile Met Glu Ala Phe Asp

[0132]

165	170	175
Arg Trp Arg Phe Arg Glu Thr Leu Pro Ala Asp Ala His Lys Lys Val		
180	185	190
Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Lys His Asp Glu Thr Glu Val Pro		
195	200	205
Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu Lys Val Leu Asp Leu		
210	215	220
Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile Leu Ala Glu Asn		
225	230	235
240		
Ser His Leu Leu Asp Ser		
245		
<210> 46		
<211> 265		
<212> PRT		
<213> 小麦		
<400> 46		
Met Val Ala Ala Thr Val Ala Ser Thr Ser Thr Ala Ala Ala Tyr Ser		
1	5	10
15		
Ser Leu Ala Pro Asn Pro Thr Ala Arg Asp Pro Val Arg Arg Arg Thr		
20	25	30
Thr His Pro Leu Val Ala Ala Thr Asn Arg His Val His Gly Arg Thr		
35	40	45
Val Thr Ser Leu Arg Gln Ile His Ser Arg Asp His Phe Ala Asn Pro		
50	55	60
Pro Arg Pro Leu Phe Val Ala Ser Pro Ala Glu Ala Glu Ala Glu Glu		
65	70	75
80		
Met Ala Ala Glu Ala Ser Thr Pro Ala Pro Ala Glu Ala Ser Ala Lys		
85	90	95
Pro Phe Ala Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro		
100	105	110

[0133]

Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg Asn Leu Val Ser Lys Arg Gly Leu Glu
115 120 125

Ser Lys Phe Gln Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Gly Tyr His Glu Gly
130 135 140

Asp Lys Ala Asp Ser Arg Met Ile Ser Thr Ser Lys Lys Arg Gly Ile
145 150 155 160

Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Arg Asn
165 170 175

Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Ile Leu
180 185 190

Ser Ser Phe Asp Arg Trp Gln His Lys Glu Thr Leu Pro Asp Ser Gly
195 200 205

Pro Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Arg His Thr Glu
210 215 220

Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Ala Lys Gly Phe Glu Lys
225 230 235 240

Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile
245 250 255

Val Ala Glu Lys Glu Asn Ile Ser Ala
260 265

<210> 47
<211> 182
<212> PRT
<213> 葡萄

<400> 47

Met Ala Ser Gly Pro Ser Ile Asp Thr Gln Ser Lys Pro Phe Ser Val
1 5 10 15

Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly
20 25 30

Val Phe Thr Asp Ala Val Lys Lys Arg Gly Leu Asp Ser Lys Phe Lys
35 40 45

[0134]

Ile	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Ile	Asn	Tyr	His	Glu	Gly	Asn	Leu	Ala	Asp
50						55					60				
Pro	Arg	Met	Arg	Ala	Ala	Ser	Lys	Arg	Arg	Gly	Ile	Glu	Ile	Thr	Ser
65					70					75					80
Ile	Ser	Arg	Pro	Ile	Gln	Pro	Ser	Asp	Phe	Arg	Asp	Phe	Asp	Leu	Ile
				85					90					95	
Leu	Ala	Met	Asp	Lys	Gln	Asn	Arg	Asp	Asp	Ile	Met	Glu	Ala	Phe	Asp
			100					105					110		
Arg	Trp	Arg	Phe	Arg	Glu	Thr	Leu	Pro	Ala	Asp	Ala	His	Lys	Lys	Val
		115					120					125			
Lys	Leu	Met	Cys	Ser	Tyr	Cys	Lys	Lys	His	Asp	Glu	Thr	Glu	Val	Pro
	130					135					140				
Asp	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Pro	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu
145					150					155					160
Leu	Glu	Asp	Ala	Cys	Glu	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser	Ile	Leu	Ala	Glu	Asn
				165					170					175	
Ser	His	Leu	Leu	Asp	Ser										
				180											
<210>	48														
<211>	185														
<212>	PRT														
<213>	小麦														
<400>	48														
Met	Ala	Ala	Glu	Ala	Ser	Thr	Pro	Ala	Pro	Ala	Glu	Ala	Ser	Ala	Lys
1				5					10				15		
Pro	Phe	Ala	Val	Leu	Phe	Val	Cys	Leu	Gly	Asn	Ile	Cys	Arg	Ser	Pro
			20					25					30		
Ala	Ala	Glu	Ala	Val	Phe	Arg	Asn	Leu	Val	Ser	Lys	Arg	Gly	Leu	Glu
		35					40					45			
Ser	Lys	Phe	Gln	Ile	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Ile	Gly	Tyr	His	Glu	Gly
	50					55					60				

[0135]

Asp Lys Ala Asp Ser Arg Met Ile Ser Thr Ser Lys Lys Arg Gly Ile
65 70 75 80

Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Arg Asn
85 90 95

Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Ile Leu
100 105 110

Ser Ser Phe Asp Arg Trp Gln His Lys Glu Thr Leu Pro Asp Ser Gly
115 120 125

Pro Lys Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys Arg His Thr Glu
130 135 140

Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Ala Lys Gly Phe Glu Lys
145 150 155 160

Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser Ile
165 170 175

Val Ala Glu Lys Glu Asn Ile Ser Ala
180 185

<210> 49

<211> 186

<212> PRT

<213> 玉米

<400> 49

Met Ala Ala Glu Ala Ser Thr Ala Gly Ala Ala Ser Ala Ala Glu Ala
1 5 10 15

Lys Pro Phe Ala Val Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser
20 25 30

Pro Ala Ala Glu Ala Val Phe Arg Thr Leu Val Ser Lys Arg Gly Leu
35 40 45

Asp Ser Lys Phe Leu Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Gly Tyr His Glu
50 55 60

Gly Asn Lys Ala Asp Ser Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Lys Arg Gly

[0136]

65	70	75	80
Ile Glu Val Thr Ser Ile Ser Arg Pro Ile Lys Pro Ser Asp Phe Arg	85	90	95
Asp Phe Asp Leu Ile Leu Ala Met Asp Arg Gln Asn Tyr Glu Asp Ile	100	105	110
Leu Asn Ser Phe Glu Arg Trp Arg Arg Lys Glu Pro Leu Pro Asp Ser	115	120	125
Ala Pro Asn Lys Val Lys Leu Met Cys Ser Tyr Cys Lys His His Thr	130	135	140
Glu Ser Glu Val Pro Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Pro Gln Gly Phe Glu	145	150	155
Lys Val Leu Asp Leu Leu Glu Asp Ala Cys Glu Ser Leu Leu Asp Ser	165	170	175
Ile Val Ala Asn Asn Ala Ser Ile Ser Gly	180	185	
<210> 50			
<211> 182			
<212> PRT			
<213> 大豆			
<400> 50			
Met Ala Ser Pro Ser Ile Thr Asp Ala Glu Thr Lys Pro Phe Ser Val	1	5	10
Leu Phe Val Cys Leu Gly Asn Ile Cys Arg Ser Pro Ala Ala Glu Gly	20	25	30
Val Phe Thr Asp Leu Val Asn Lys Arg Asp Leu Asn Ser Lys Phe Lys	35	40	45
Ile Asp Ser Ala Gly Thr Ile Asn Tyr His Glu Gly Asn Glu Ala Asp	50	55	60
Ser Arg Met Arg Ala Ala Ser Lys Arg Arg Gly Ile Gln Ile Thr Ser	65	70	75
			80

[0137]

Ile	Ser	Arg	Pro	Ile	Lys	Pro	Ser	Asp	Phe	Val	Asp	Phe	Asp	Leu	Ile
				85					90					95	
Leu	Ala	Met	Asp	Lys	Gln	Asn	Arg	Glu	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Phe	Asn
			100					105					110		
Arg	Trp	Lys	Asp	Arg	His	Ser	Leu	Pro	Asp	Gly	Ala	His	Lys	Lys	Val
		115					120					125			
Lys	Leu	Met	Cys	Ser	Tyr	Cys	Lys	Lys	His	Asp	Glu	Ser	Glu	Val	Pro
	130					135				140					
Asp	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Pro	Gln	Gly	Phe	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu
145					150					155					160
Leu	Glu	Asp	Ala	Cys	Gly	Ser	Leu	Leu	Glu	Thr	Ile	Leu	Ala	Glu	Asn
				165					170					175	
Lys	His	Val	Gln	Gln	Ser										
			180												

图 1A

	130	140	150	160	170	180	共有#1
	CLGNICRSPAAE.VF...V...L.S.F.IDSAGTI...HEG...AD.RM...K.RG...T						
83	CLGNICRSPAAEGVFRDIVKRGGLDSKFNIDSAGTIDYEEGNMADPRMRSAAKRRGIEIT						SEQ ID NO-15.pro
113	CLGNICRSPAAEAVFR ⁷ LVSKRGGLDSKFLIDSAGTIGYEEGNKADSRMR ⁷ AA ⁷ SKRRGIEVT						SEQ ID NO-17.pro
78	CLGNICRSPAAEGVFI ¹⁰ LVNKRDLNSKFKIDSAGTINYEENADSRMR ¹⁰ AA ¹⁰ SKRRGIIQIT						SEQ ID NO-19.pro
73	CLGNICRSPAAEGVFI ¹¹ LVNESGLNSKFKIDSAGTINYEENADPRMRAASKRRGILIT						SEQ ID NO-21.pro
80	CLGNICRSPAAEGVFI ¹² LVNESGLNSKFKIDSAGTINYEENADPRMRAASKRRGILIT						SEQ ID NO-23.pro
96	CLGNICRSPAAEGVFRDMVT ¹⁵ KKGLDSNFNIDSAGTIDFEEGN ¹⁵ ADSRMT ¹⁵ STAKRRGVEIT						SEQ ID NO-25.pro
107	CLGNICRSPAAEAVFR ¹⁶ LVSKRGLESKFLIDSAGTIGYEEGNKADSRMRSASKRRGIEVT						SEQ ID NO-27.pro
113	CLGNICRSPAAEAVFR ¹⁷ LVSKRGGLDSKFLIDSAGTIGYEEGNKADSRMR ¹⁷ AA ¹⁷ SKRRGIEVT						SEQ ID NO-28.pro
78	CLGNICRSPAAEGVFI ¹⁸ LVNKRDLNSKFKIDSAGTINYEENADSRMR ¹⁸ AA ¹⁸ SKRRGIIQIT						SEQ ID NO-29.pro
60	CLGNICRSPAAEGVFRDLVKNRQLESNFNIDSAGTINYEENADSRMRSAAKRRGIEIT						SEQ ID NO-40.pro
84	CLGNICRSPAAEGVFI ¹⁹ DAVKKRGGLDSKFKIDSAGTINYEENADPRMRAASKRRGIEIT						SEQ ID NO-43.pro
84	CLGNICRSPAAEGVFI ²⁰ DAVKKRGGLDSKFKIDSAGTINYEENADPRMRAASKRRGIEIT						SEQ ID NO-45.pro
104	CLGNICRSPAAEAVFRNLV ²¹ SKRGL ²¹ ESKFKIDSAGTIGYEEGDKADSRMISTSKRRGIEVT						SEQ ID NO-46.pro
	S.SRP...SDF...FDLILAMD..N.....W.....P.....XVKIMCSYCK.H.						共有#1
	190	200	210	220	230	240	
143	SLSRPIKASDFREFDLILAMDQNKEDILKAYNVWKARGNFP ²² ADKKVKIMCSYCKKH ²²						SEQ ID NO-15.pro
173	SISRPIKPSDFRDFDLILAMDRQNVEDILNSFERWRRKEPLPDSAPN ²³ XVKIMCSYCKQHT						SEQ ID NO-17.pro
138	SISRPIKPSDFVDFDLILAMDKQNREDIFEFN ²⁴ W ²⁴ DR ²⁴ ESLPDGAHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-19.pro
133	SISRPIKPSDFVDFDLILAMDKQNKEDILEAFN ²⁵ W ²⁵ KGRESLPD ²⁵ SHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-21.pro
140	SISRPIKPSDFVDFDLILAMDKQNKEDILEAFN ²⁶ W ²⁶ KGRESLPD ²⁶ SHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-23.pro
156	SISRPIRPSDFRDFDLILAMDES ²⁷ NKANI ²⁷ LKALD ²⁷ G ²⁷ W ²⁷ KRRETLP ²⁷ ADKKVKIMCSYCKKH ²⁷						SEQ ID NO-25.pro
167	SISRPIKPSDFRDFDLILAMDRQN ²⁸ YEDILSSFERW ²⁸ RUREPLPDSGP ²⁸ KKVKIMCSYCKRH ²⁸						SEQ ID NO-27.pro
173	SISRPIKPSDFRDFDLILAMDRQN ²⁹ YEDILNSFERWRRKEPLPDSAPN ²⁹ XVKIMCSYCKHHT						SEQ ID NO-28.pro
138	SISRPIKPSDFVDFDLILAMDKQNREDIFEFN ³⁰ W ³⁰ KGRESLPDGAHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-29.pro
120	SISRPIKPSDFTDFDIILAMDNS ³¹ NRSDICFA ³¹ VD ³¹ WR ³¹ REKY ³¹ NI ³¹ PAGAD ³¹ KKVKIMCSYCKKH ³¹						SEQ ID NO-40.pro
144	SISRPIQPSDFRDFDLILAMDKQN ³² RDDIMEAFDR ³² WR ³² RETLP ³² AJAHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-43.pro
144	SISRPIQPSDFRDFDLILAMDKQN ³³ RDDIMEAFDR ³³ WR ³³ RETLP ³³ AJAHKKVKIMCSYCKKHD						SEQ ID NO-45.pro
164	SISRPIKPSDFRNF ³⁴ DLILAMDRQN ³⁴ YEDILSSFDR ³⁴ WQHKETLPDSGP ³⁴ KKVKIMCSYCKRH ³⁴						SEQ ID NO-46.pro

图 1B

同一性百分比														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
1		54.4	56.9	58.7	57.7	60.3	54.4	54.4	56.9	62.1	60.7	60.3	53.1	1
2	64.2		58.8	57.9	56.2	50.6	67.9	98.9	58.8	58.4	57.7	57.7	65.3	2
3	47.7	59.7		89.4	90.4	58.8	58.8	58.3	100.0	64.8	66.7	66.2	55.0	3
4	45.8	62.6	7.7		100.0	60.0	58.3	57.9	89.4	63.0	67.2	66.8	54.9	4
5	47.9	64.5	7.5	0.0		58.7	57.0	56.2	90.4	63.0	66.1	65.7	53.7	5
6	56.2	76.2	52.3	49.7	52.5		50.2	50.6	58.8	70.8	59.8	59.3	51.0	6
7	63.2	28.7	57.8	60.2	61.6	71.5		67.9	58.8	58.0	58.5	58.5	70.2	7
8	63.3	1.1	59.7	62.6	64.5	76.2	28.7		58.3	58.4	57.7	57.7	65.3	8
9	47.7	59.7	0.0	7.7	7.5	52.3	57.8	59.7		64.8	66.7	66.2	55.0	9
10	46.3	59.1	41.8	45.6	45.6	32.7	56.6	59.1	41.8		65.8	65.3	57.5	10
11	43.9	57.4	32.1	31.8	33.2	49.7	57.4	57.4	32.1	40.9		99.2	54.5	11
12	44.7	57.4	32.7	32.4	33.9	50.5	57.4	57.4	32.7	41.8	0.8		54.5	12
13	62.5	36.9	63.4	65.6	65.9	72.9	29.3	36.9	63.4	58.9	66.0	66.0		13
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	

图 2

同一性百分比														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
1		70.1	71.8	72.9	74.0	69.5	73.4	74.6	74.0	68.4	70.1	71.8	1	SEQ ID NO-33.pro
2	35.7		72.5	70.3	68.7	87.6	68.2	73.6	73.6	83.2	99.5	72.5	2	SEQ ID NO-34.pro
3	30.4	31.9		92.3	73.7	72.5	76.0	82.4	81.9	68.7	72.5	100.0	3	SEQ ID NO-35.pro
4	29.6	35.3	8.1		72.6	70.9	73.2	81.9	81.3	67.6	70.3	92.3	4	SEQ ID NO-36.pro
5	29.8	39.5	32.3	34.1		67.6	79.3	76.0	75.4	68.7	68.7	73.7	5	SEQ ID NO-37.pro
6	36.9	11.7	32.1	33.8	41.7		67.6	73.1	73.1	86.5	87.6	72.5	6	SEQ ID NO-38.pro
7	30.7	39.5	29.0	33.2	24.2	38.8		76.5	76.0	67.0	68.2	76.0	7	SEQ ID NO-41.pro
8	27.9	31.1	20.1	20.8	29.0	30.4	28.2		99.5	69.2	73.6	82.4	8	SEQ ID NO-44.pro
9	28.8	31.1	20.8	21.5	29.8	30.4	29.0	0.6		69.8	73.6	81.9	9	SEQ ID NO-47.pro
10	36.0	17.0	37.4	39.2	37.9	14.4	39.8	36.5	36.5		83.2	68.7	10	SEQ ID NO-48.pro
11	35.7	0.5	31.9	35.3	39.5	11.7	39.5	31.1	31.1	17.0		72.5	11	SEQ ID NO-49.pro
12	30.4	31.9	0.0	8.1	32.3	32.1	29.0	20.1	20.8	37.4	31.9		12	SEQ ID NO-50.pro
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		

图 3

评价用PHP30853*转化过的单个Gaspe Flint来源的玉米品系

处理	事件名称	%面积		%面积		fv/fm- 恢复48小时	fv/fm- 严重开始
		chg-慢性 开始-严重末期	chg-慢性 开始-恢复48小时	chg-慢性 开始-严重末期	chg-慢性 开始-恢复48小时		
减少水	EA2391.453.1.2					0.0977	
减少水	EA2391.453.1.3					0.0166	(0.0759)
减少水	EA2391.453.1.6						
减少水	EA2391.453.1.7						
减少水	EA2486.033.1.2				0.0115	0.0794	0.0102
足量水	EA2391.453.1.2						
足量水	EA2391.453.1.3	(0.0002)				(0.0457)	(0.0105)
足量水	EA2391.453.1.6				0.1		(0.0135)
足量水	EA2391.453.1.7				0.0195		
足量水	EA2486.033.1.2						

*显著正效应具有小于或等于0.1的P值；显著负效应在圆括号内；当差异不显著时为空白

图 4A

评价用PHP30853*转化过的单个Gaspe Flint来源的玉米品系

处理	事件名称	叶片卷曲恢复 48小时		psi-		psi-		sgf - r2 > 0.9	苗干重	苗鲜重
		严重末期	恢复48小时	严重末期	恢复48小时	严重末期	严重开始			
减少水	EA2391.453.1.2				0.012			(0.0617)		
减少水	EA2391.453.1.3				0.0178			0.0794	(0.0001)	
减少水	EA2391.453.1.6			(0.0589)						
减少水	EA2391.453.1.7	0.0013		0.0214	0.0302					
减少水	EA2486.033.1.2									
足量水	EA2391.453.1.2	(0.0389)					(0.0008)			
足量水	EA2391.453.1.3						(0.0002)		0	
足量水	EA2391.453.1.6			0.049						
足量水	EA2391.453.1.7									
足量水	EA2486.033.1.2									

*显著正效应具有小于或等于0.1的P值；显著负效应在圆括号内；当差异不显著时为空白

图 4B

图 5A

综合评价用PHP30853*转化过的Gaspe Flint来源的玉米品系

处理	%面积		%面积		%面积		fv/fm- 恢复48小时	fv/fm- 严重开始
	chg-慢性 开始-慢性末期	chg-慢性 开始-严重末期	chg-慢性 开始-恢复末期	chg-慢性 开始-恢复48小时	chg-慢性 开始-恢复末期	chg-慢性 开始-恢复48小时		
减少水								
足量水								
	(0.0059)						0.0036	

*显著正效应具有小于或等于0.1的P值；显著负效应在圆括号内；当差异不显著时为空白

图 5B

综合评价用PHP30853*转化过的Gaspe Flint来源的玉米品系

处理	叶片卷曲恢复 48小时		psii- 严重末期	psii- 恢复48小时	psii- 严重开始	sgs-r2 > 0.9	苗干重	苗鲜重
	0.0059 (0.0302)			0				
减少水								
足量水								
					(0.0331)		(0.0229)	

*显著正效应具有小于或等于0.1的P值；显著负效应在圆括号内；当差异不显著时为空白