



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107949273 B

(45) 授权公告日 2021.11.23

(21) 申请号 201680040303.3

(22) 申请日 2016.07.05

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 107949273 A

(43) 申请公布日 2018.04.20

(30) 优先权数据

62/188,755 2015.07.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.01.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IL2016/050719 2016.07.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02017/006318 EN 2017.01.12

(73) 专利权人 耶路撒冷希伯来大学伊萨姆研究
发展有限公司

地址 以色列,耶路撒冷

(72) 发明人 约瑟夫·希尔施贝格
达尼·扎米尔

雅科夫·米哈·布罗格
伊塔伊·泽马驰 奥利·德里

(74) 专利代理机构 北京汉智嘉成知识产权代理
有限公司 11682

代理人 蒋宇星 郁春艳

(51) Int.Cl.

C12N 15/00 (2006.01)

(56) 对比文件

EP 2442636 A2,2012.04.25

(54) 发明名称

B 果实具有黄色和红色区段的番茄植物

(57) 摘要

本发明涉及果实具有红色和黄色区段的番
茄植物,所述红色和黄色区段遍布于从内部种子
区域贯穿果实直到表皮最外层的范围内。本发明
公开了这种称为阿莱基诺的表型与八氢番茄红

David E. Kachanovsky等.Epistasis in
tomato color mutations involves
regulation of Phytoene synthase 1
expression by cis-carotenoids..
《Proceedings of the national academy of
science》.2012,第109卷(第46期),

Rupert G. Fray等.Indentification and
genetic analysis of normal and mutant
phytoene synthase genes of tomato by
sequencing,complementation and co-
suppression..《Plant Molecular Biology》
.1993,第22卷

Dongjuan Yuan等.Genetics of flesh
color and nucleotide sequence analysis of
phytoene synthase gene 1 in a yellow-
fruited tomato accession PI114490..
《Scientia Horticulturae,Elsevier Science
Publishers》.2008,第118卷(第1期),

刘英明等.番茄果实成熟过程中番茄红素含
量及合成相关基因表达的分析.《植物生理学
报》.2013,第49卷(第1期),

Baoshan Kang等.A chimeric transcript
containing Psy1 and a potential mRNA is
associated with yellow flesh color in
tomato accession PI114490..《Planta》.2014,
第240卷(第5期),

豆峻岭等.番茄红素代谢及分子调控机理研
究进展.《果树学报》.2013,第30卷(第4期),

审查员 张金丽

权利要求书2页 说明书20页

序列表35页 附图13页

素合成酶1(Psy1)基因内的插入突变有关。

1. 一种用于产生番茄栽培品种的方法,所述番茄栽培品种产生具有阿莱基诺表型的果实,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,所述方法包括:

a. 将包含八氢番茄红素合成酶1的 r^{arl} 等位基因的遗传元件引入到产生红色果实的番茄栽培品种或其部分中,所述 r^{arl} 等位基因在位于Psy1基因的外显子8和外显子9之间的内含子8内包含插入,所述Psy1基因具有SEQ ID NO:6中示出的核酸序列,其中所述插入包含转座子,所述转座子的核酸序列在SEQ ID NO:3中示出并且在3'端侧接有选自SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的核酸序列,并且其中所述插入产生外显子9缺失的Psy1的非功能性剪接变体,使得功能蛋白的翻译受损;以及

b. 自交包含所述 r^{arl} 等位基因的番茄植物,

由此产生具有阿莱基诺表型的果实。

2. 权利要求1的方法,其中所述遗传元件是通过使所述产生红色果实的番茄栽培品种与包含所述遗传元件的供体番茄植物杂交以提供后代栽培番茄植物来引入的。

3. 权利要求2的方法,所述方法进一步包括以下步骤:

a. 检查从各后代栽培番茄植物或其部分获得的核酸样品中 r^{arl} 等位基因的存在;

b. 选择包含所述 r^{arl} 等位基因的后代栽培番茄植物;以及

c. 检查由步骤(b)中所选择的植物产生的果实,并选出产生具有阿莱基诺表型的果实的栽培番茄植物。

4. 权利要求2的方法,其中所述遗传元件是通过用所述遗传元件转化产生红色果实的番茄栽培品种的多个细胞来引入的。

5. 权利要求4的方法,所述方法进一步包括:

a. 检查从各转化细胞获得的核酸样品中 r^{arl} 等位基因的存在;

b. 选择包含所述 r^{arl} 等位基因的多个细胞;

c. 使所述多个转化细胞再生以获得包含所述 r^{arl} 等位基因的多个转基因植物;以及

d. 检查由所述转基因植物产生的果实,并选择产生具有所述阿莱基诺表型的果实的植物。

6. 权利要求3和5任一项的方法,其中检查所述核酸样品中所述 r^{arl} 等位基因的存在是通过扩增包含SEQ ID NO:7所示的核酸序列的 r^{arl} 等位基因标记来进行的。

7. 权利要求6的方法,其中使用包含SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11所示的核酸序列的一对引物来扩增所述 r^{arl} 等位基因标记。

8. 权利要求3和5任一项的方法,其中检查所述核酸样品中所述 r^{arl} 等位基因的存在是通过扩增具有SEQ ID NO:3所示的核酸序列的转座子序列来进行的。

9. 权利要求8的方法,其中使用包含SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13所示的核酸序列的一对引物来扩增所述转座子。

10. 权利要求3和5任一项的方法,其中检查所述核酸样品中所述 r^{arl} 等位基因的存在是通过扩增所述Psy1等位基因内的转座子插入的3'基因组连接来进行的。

11. 权利要求10的方法,其中使用包含SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11所示的核酸序列的一对引物来扩增所述3'基因组连接。

12. 权利要求3和5任一项的方法,其中检查所述核酸样品中所述 r^{arl} 等位基因的存在是

通过扩增所述Psy1等位基因内的转座子插入的5'基因组连接来进行的。

13. 权利要求12的方法,其中使用包含SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:16所示的核酸序列的一对引物来扩增所述5'基因组连接。

14. 一种用于产生番茄栽培品种的方法,所述番茄栽培品种产生具有阿莱基诺表型的果实,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,所述方法包括:

a. 通过在位于八氢番茄红素合成酶1(Psy1)基因的外显子8和外显子9之间的内含子8内的插入突变,使Psy1基因突变,所述Psy1基因具有SEQ ID NO:6中示出的核酸序列,其中所述插入突变是转座子的插入突变,所述转座子的核酸序列在SEQ ID NO:3中示出并且在3'端侧接有选自SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2的核酸序列;并且其中所述插入突变产生外显子9缺失的非功能性Psy1等位基因,使得功能蛋白的翻译受损;以及

b. 自交包含具有所述插入突变的Psy1基因的番茄植物,

由此产生具有阿莱基诺表型的果实。

15. 一种分离的多核苷酸,其编码包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列的突变的八氢番茄红素合成酶1。

果实具有黄色和红色区段的番茄植物

技术领域

[0001] 本发明涉及果实具有红黄双色果肉和表皮的番茄植物,所述番茄植物在其基因组内包含处于八氢番茄红素合成酶1 (Phytoene synthase1,Psy1) 基因内的插入突变。

背景技术

[0002] 番茄在全世界许多国家是一种基本的营养成分。已知它的维生素、矿物质和抗氧化成分可以为消费者提供这些对健康有益的成分。市场上可以获得大量的番茄品种,并且众所周知的是除了营养和口味参数以外,颜色和一般外观也会影响私人以及烹饪专业顾客对番茄果实的购买。

[0003] 番茄果实的颜色是由番茄红素提供的,番茄红素是一种具有11个共轭双键的直链胡萝卜素分子,它在果实成熟期间在成色素细胞内累积到高浓度。番茄红素的生物合成主要受类胡萝卜素生物合成酶的基因表达水平的控制。在果实熟化期间,关于番茄红素上游酶的基因上调,而关于使番茄红素代谢成 α -和 β -胡萝卜素的番茄红素环化酶的基因则发生沉默。

[0004] 作物品种的改良自农业开始以来就一直是人类的基本追求。可以想象,独特的植物表型,有时甚至由单个植物体现,吸引了第一批古代育种者的眼球。进行这种改良过程的方式构成了创始人效应 (founder effect),这种效应往往表现为严重的遗传瓶颈。由于早期驯化和现代育种活动中造成的这些遗传瓶颈,大多数作物品种的栽培品种仅带有其野生原种和地方种属中所存在的一小部分变异 (坦克斯利 (Tanksley) SD 和迈克库奇 (McCouch) S R. 1997.《科学 (Science)》277:1063-1066)。现代作物的遗传变异范围缩小是造成各种植物病虫害遗传易感性的原因之一。此外,它由于降低了获得更好的基因和等位基因组合以改良具有农业重要性的性状的机会而呈现出育种障碍。

[0005] 遗传学、分子生物学和植物育种领域中最有力有效的方法之一基于突变变异。突变是形成变异以改良现有多样性的生存能力和新型生态型、种属和物种进化的主要进化力量。然而,由于自发突变体的频率非常低,它们提供了关于相对少量基因和生物现象的信息。因此,已经开发出人工诱变方法并正在应用于诱发变异。诱发的变异又被反过来用作发现基因功能和了解发育过程的工具。

[0006] 一种番茄突变的可用来源是由本发明的发明人之一和同事在加工番茄近交系品种M82的遗传背景中产生的等基因番茄“突变文库” (门达 (Menda) N 等人, 2004.《植物杂志 (Plant J.)》38:861-872)。为了产生所述文库, 对衍生自甲磺酸乙酯 (EMS) 化学处理和快速中子种子诱变的共计13,000个M2家族在田间条件下生长时进行表型分型。根据这些表型, 将这些家族分类成一个形态目录, 其中包括15个主要类别和48个次要类别。这一文库中已经鉴别出了超过3000种突变。一些突变代表了来自番茄遗传资源中心 (TGRC) 的单基因突变体库的先前描述的表型的新等位基因, 其中大部分在M82等基因群体中。此外, 还鉴别出了超过1,000种每个基因座具有多个等位基因的新表型。

[0007] 共有相似表型的突变体之间的等位性测试的结果验证了所述群体正在达到饱和

的假设,并命中大多数基因(例如,从显性LANCEOLATE突变体鉴别出8个独立的等位基因;从黄色果实黄色果肉突变获得5个等位基因)。此外,筛选1,000个经受两轮EMS处理的EMS家族没有产生新表型。

[0008] 在二十一世纪早期就已经认识到野生物种作为遗传变异来源从而带来作物改良的潜力(扎米尔(Zamir) D. 2001.《自然综述遗传学(Nat Rev Genet.)》2:983-989)。最初的种间育种尝试遇到了严重的问题,包括野生物种和栽培作物之间杂交中的不相容;F1杂交种不育;分离世代的不育;野生物种和栽培作物的染色体之间的重组减少;以及具有负面影响和感兴趣性状的基因之间的紧密关联(迈克库奇(McCouch) S. 2004.《公共科学图书馆生物学(PLoS Biol.)》2)。尽管存在这些障碍,但还是有很多例子,其中野生基因渗入育种为现代品种的发展作出了巨大的贡献,主要作为单基因或有时称为单个基因性状的来源,并在较小程度上作为复杂性状例如产量、组成质量和对各种压力的抗性的来源,所述复杂性状受定量的性状基因座的影响(QTL;弗尼(Fernie) AR等人,2006《当代植物生物学观点(Curr.Opin.Plant Biol.)》9:196-202)。

[0009] 尽管有上述用于产生新的番茄表型的工具,但市场上对果实具有新的、有吸引力的颜色的稳定栽培品种仍然有持续的需求。

发明内容

[0010] 本发明涉及产生具有黄红区段的果实的番茄栽培品种,所述黄红区段贯穿整个果实,从内部胎座和/或子囊腔(locule)直到果皮的外表皮层。在本文中称为阿莱基诺(Arlecchino)的这种黄红条纹表型可以包括在单个果实中每种颜色的一个条纹或区段到所述果实中每种颜色的多个条纹。与迄今已知的具有黄红交替的表皮表型的果实形成对比,阿莱基诺表型显示贯穿整个果实的颜色部分。

[0011] 本发明进一步涉及本发明植物的种子,由所述种子长出的植物,其后代,由所述植物产生的果实,由所述植物衍生的植物部分,以及其产生方法。

[0012] 本发明部分地基于来源于野生物种番茄与商业栽培品种的人为杂交的番茄回交近交系群体中突变的意外发现。所述突变,即八氢番茄红素合成酶1(Psy1)基因内的插入突变与上述阿莱基诺表型有关。阿莱基诺表型的黄色部分来源于Psy1基因内的插入,所述插入位于存在于所述基因的外显子8和外显子9之间的内含子8中(根据图8所示的基因结构,由焦里奥(Giorio) G等人,2008.《欧洲生物化学学会联合会杂志(FEBS J.)》275:527-535发表的结构更新)。

[0013] 在阿莱基诺果实的黄色部分中观察到的初始插入是包含核酸序列ATCTGGATA(SEQ ID NO:1)的九(9)个核苷酸的插入。所述插入在Psy1基因内的位置指示由一个腺嘌呤(A)核苷酸隔开的包含核酸序列TCTGGATA(SEQ ID NO:2)的八(8)个核苷酸的同向重复序列。使用高保真度DNA聚合酶(PrimeSTAR GXL DNA聚合酶(宝生物工程株式会社(Takara Bio))进一步分析所述插入,对扩增的多核苷酸进行的克隆和测序显示与阿莱基诺表型有关的侧接有SEQ ID NO:2所示的核酸序列的转座子的插入。尽管如此,使用标准DNA聚合酶(READY-MIX试剂盒(Syntezza))由从阿莱基诺果实的黄色部分获得的遗传物质扩增包含核酸序列TCTGGATAATCTGGATA(SEQ ID NO:7),包含由腺嘌呤(A)核苷酸隔开的同向重复序列的PCR产物。

[0014] 在黄色部分的细胞中,插入以纯合形式存在。阿莱基诺表型的红色部分包含野生型Psy1等位基因或包含转座子切除足迹的Psy1等位基因,所述转座子切除足迹在内含子内包含同向重复区域的可变序列。

[0015] 不希望被任何具体的理论或作用机制所束缚,这种迄今为止未知的突变可能是通过人为基因杂交实现的合并不同基因组的结果。

[0016] 根据一个方面,本发明提供了一种番茄栽培品种,其产生具有阿莱基诺表型的果实,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,其中所述表型与至少一个 r^{arl} 等位基因有关,所述 r^{arl} 等位基因是在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1(Psy1)等位基因,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0017] 根据某些实施方式,阿莱基诺果实的黄色区段的细胞对于 r^{arl} 等位基因而言是纯合的。

[0018] 根据某些实施方式,插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列TCTGGATA (SEQ ID NO:2)的转座子。根据另外的实施方式,插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列ATCTGGATA (SEQ ID NO:1)的转座子。

[0019] 根据某些实施方式,转座子属于hAT家族。根据一些实施方式,转座子包含与SEQ ID NO:3所示的核酸序列具有至少90%或至少95%或更高同源性的核酸序列。每一种可能性代表了本发明的一种独立的实施方式。根据某些示例性实施方式,转座子包含SEQ ID NO:3所示的核酸序列。根据另外的示例性实施方式,转座子由SEQ ID NO:3所示的核酸序列组成。

[0020] 根据某些实施方式,Psy1基因内的插入包含与SEQ ID NO:4所示的核酸序列具有至少90%、至少95%或更高同源性的核酸序列。根据某些示例性实施方式,Psy1基因内的插入包含SEQ ID NO:4所示的核酸序列。根据另外的示例性实施方式,Psy1基因内的插入由SEQ ID NO:4所示的核酸序列组成。

[0021] 根据某些示例性实施方式,Psy1的 r^{arl} 等位基因包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列。

[0022] 根据某些实施方式,野生型(wt)Psy1等位基因包含SEQ ID NO:6所示的核酸序列。

[0023] 根据一些实施方式,所述番茄栽培品种包含至少一种对于 r^{arl} 等位基因而言纯合的果皮细胞和至少一种包含至少一个野生型Psy1等位基因或至少一个包含转座子切除足迹的Psy1等位基因的果皮细胞。

[0024] 根据某些实施方式,所述转座子切除足迹在核酸序列TCTGGATAATCTGGATA (SEQ ID NO:7)内包含至少一个核苷酸缺失。根据一些实施方式,所述转座子切除足迹包含至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个或至少8个核苷酸缺失。每一种可能性代表了本发明的一种独立的实施方式。

[0025] 根据一些实施方式,所述果实是处于破色期(breaker stage)和以后时期的熟化果实(ripening fruit)。根据一些示例性实施方式,所述果实是全熟果实。

[0026] 应该明确地了解,整个番茄果实可以显示黄红条纹或区段表型,或者所述条纹/区段可以只出现在果实的部分区域上。条纹的宽度也可以是可变的,使得单个果实可以包含从覆盖整个果实的一个红色区段和一个黄色区段,到覆盖果实的全部或部分区域的多个窄的红色和黄色条纹。本发明涵盖所有外观。

[0027] 根据一些实施方式,所述番茄栽培品种产生小果实(樱桃样果实)。根据某些示例性实施方式,所述番茄栽培品种是番茄Solanum lycopersicum。

[0028] 根据另外的实施方式,所述番茄栽培品种在其基因组内进一步包含编码黄色果肉表型的另外的Psy1突变等位基因。根据一些实施方式,编码黄色果肉表型的Psy1基因包含SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9中任一项所示的核酸序列。根据这些实施方式,阿莱基诺番茄栽培品种包含至少一个 r^{arl} 等位基因、至少一个编码黄色果肉表型的Psy1突变等位基因以及至少一个野生型Psy1等位基因或包含转座子切除足迹的Psy1等位基因。根据某些示例性实施方式,阿莱基诺果实的黄色区段包含一个 r^{arl} 等位基因和一个编码黄色果肉表型的Psy1突变等位基因,红色区段包含野生型Psy1等位基因和/或包含转座子切除足迹的Psy1等位基因。

[0029] 根据又另外的实施方式,所述番茄栽培品种适合于商业生长。所述番茄栽培品种有利地可进一步包含本领域众所周知的有益的农艺学性状,包括但不限于高发芽率、除草剂抗性、昆虫抗性、对细菌、真菌或病毒性疾病的抗性、对各种类型的非生物逆境的抗性、雄性不育、旺盛生长和其任何组合。这些性状可以形成番茄栽培品种的遗传背景的一部分,或者可以通过本领域技术人员已知的任何方法引入,包括但不限于育种、单个性状转换和转化。

[0030] 根据另一个方面,本发明提供一种对于 r^{arl} 等位基因而言纯合的番茄栽培品种,所述 r^{arl} 等位基因是包含在转座子3'端侧接有核酸序列TCTGGATA (SEQ ID NO:2)的转座子的插入的八氢番茄红素合成酶1 (Psy1) 等位基因,其中所述番茄栽培品种产生完全黄色的果实。根据某些示例性实施方式,产生完全黄色的果实的番茄栽培品种对于包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列的 r^{arl} 等位基因而言是纯合的。

[0031] 本发明还提供本发明的番茄栽培品种的种子,其中由所述种子长出的植物产生具有阿莱基诺表型的果实,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,其中所述表型与 r^{arl} 等位基因有关,所述 r^{arl} 等位基因是在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1 (Psy1) 等位基因,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0032] 来自本发明的番茄栽培品种的花粉和胚珠;本发明的番茄栽培品种所产生的种子和由种子长成的植物以及由这些植物产生并具有阿莱基诺表型的果实也都被涵盖在本发明的范围内。

[0033] 本发明的番茄栽培品种的可再生细胞或其部分的组织培养物,从选自叶、花粉、胚、根、根尖、花药、花、果实和种子的植物部分获得的可再生细胞,以及从所述组织培养物再生并产生具有阿莱基诺表型的植物也被涵盖在本发明的范围内,所述阿莱基诺表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,其中所述表型与 r^{arl} 等位基因有关,所述 r^{arl} 等位基因是在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1 (Psy1) 等位基因,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0034] 本发明的番茄栽培品种植物可以呈稳定真实育种品系的形式或作为更多样化的材料,上述各者都在其基因组内包含 r^{arl} 等位基因。

[0035] 根据另外的方面,本发明提供一种具有阿莱基诺表型的番茄果实,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果皮直到果实表皮的范围内,其中所述表型与产生

所述果实的栽培番茄植物中的 r^{arl} 等位基因有关,所述 r^{arl} 等位基因是在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1(Psy1)等位基因,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0036] 根据某些示例性实施方式,具有阿莱基诺表型的果实包含至少一种对于 r^{arl} 等位基因而言纯合的细胞。根据另外的示例性实施方式,所述 r^{arl} 等位基因包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列。

[0037] 根据另一个方面,本发明提供一种用于产生具有阿莱基诺表型的果实的番茄栽培品种的方法,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,所述方法包括将包含八氢番茄红素合成酶1的 r^{arl} 等位基因的遗传元件引入到产生红色果实的番茄栽培品种或其部分中,所述 r^{arl} 等位基因在等位基因的内含子内包含插入,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0038] 根据某些实施方式,所述插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列TCTGGATA (SEQ ID NO:2)的转座子。根据另外的实施方式,所述插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列ATCTGGATA (SEQ ID NO:1)的转座子。

[0039] 根据这些实施方式,所述转座子包含与SEQ ID NO:3具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%同源性的核酸序列。每一种可能性代表了本发明的一种独立的实施方式。

[0040] 根据某些示例性实施方式,所述Psy1 r^{arl} 等位基因包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列。

[0041] 本领域已知的任何方法都可以用来将包含 r^{arl} 等位基因的遗传元件引入到产生红色果实的番茄栽培品种或其部分中。当将遗传元件引入到植物部分时,所述植物部分包括但不限于种子、细胞或组织,所述方法进一步包括从所述种子、细胞或组织再生栽培品种番茄植物。可以使用本领域已知用于从种子、细胞或组织再生植物的任何方法。

[0042] 根据某些实施方式,所述遗传元件通过使产生红色果实的番茄栽培品种与包含所述遗传元件的供体番茄植物杂交以提供后代栽培番茄植物来引入。根据这些实施方式,所述方法进一步包括以下步骤:

[0043] a. 检查从各后代栽培番茄植物或其部分获得的核酸样品中 r^{arl} 等位基因的存在;

[0044] b. 选择包含所述 r^{arl} 等位基因的后代栽培番茄植物;以及

[0045] c. 检查由步骤(b)中所选择的植物产生的果实,并选出产生具有阿莱基诺表型的果实的栽培番茄植物。

[0046] 根据其他实施方式,所述遗传元件是通过用所述遗传元件转化产生红色果实的番茄栽培品种的多个细胞来引入的。根据这些实施方式,所述方法进一步包括:

[0047] a. 检查从各转化细胞获得的核酸样品中 r^{arl} 等位基因的存在;

[0048] b. 选择包含所述 r^{arl} 等位基因的多个细胞;

[0049] c. 使所述多个转化细胞再生以获得包含所述 r^{arl} 等位基因的多个转基因植物;以及

[0050] d. 检查由所述转基因植物产生的果实,并选择产生具有所述阿莱基诺表型的果实的植物。

[0051] 根据某些实施方式,所述方法进一步包括使所选择的栽培番茄植物自交至少一次

以产生子代,且进一步鉴别并选择包含所述 r^{arl} 等位基因并具有阿莱基诺表型的栽培番茄植物。

[0052] 根据本发明的教导,可以使用本领域已知用于检查核酸样品中 r^{arl} 等位基因的存在的任何方法。

[0053] 根据一些实施方式,本发明提供至少一种特异性检测八氢番茄红素合成酶1的 r^{arl} 等位基因的存在的探针或引物对。

[0054] 根据某些实施方式,所述引物对被设计以扩增包含SEQ ID NO:7 (TCTGGATAATCTGGATA) 所示的核酸序列的 r^{arl} 等位基因标记。根据某些示例性实施方式,所述 r^{arl} 等位基因标记由包含SEQ ID NO:10 (CAGTGCCAGAAGAGGAAGA) 和SEQ ID NO:11 (TTGCGGTACAAGACCAAAGA) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0055] 根据另外的实施方式,所述引物对被设计以扩增全长转座子插入。根据某些示例性实施方式,所述转座子由包含SEQ ID NO:12 (GTGGATCCTGAAATGGCTTG) 和SEQ ID NO:13 (AGTACTAATAAAATGGTTTGCC) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0056] 根据又另外的实施方式,引物对被设计以扩增Psy1等位基因内的转座子插入的3'基因组连接。根据某些示例性实施方式,3'转座子插入连接由包含SEQ ID NO:14 (GGGCTAGTCGGTGTATCAT) 和SEQ ID NO:11 (TTGCGGTACAAGACCAAAGA) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0057] 根据其他实施方式,引物对被设计以扩增Psy1等位基因内的转座子插入的5'基因组连接。根据某些示例性实施方式,5'转座子插入连接由包含SEQ ID NO:15 (CTGGAAGGGTGACCGATAAA) 和SEQ ID NO:16 (ATGATACACCGACTAGCCC) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0058] 根据另一个方面,本发明提供一种用于产生具有阿莱基诺表型的果实的番茄栽培品种的方法,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,所述方法包括使八氢番茄红素合成酶1的至少一个等位基因发生插入突变。根据某些实施方式,所述插入是在产生非功能性Psy1等位基因的内含子内。根据另外的示例性实施方式,所述插入是在位于Psy1基因的外显子8和外显子9之间并具有SEQ ID NO:6所示的核酸序列的内含子8内,从而产生编码非功能性蛋白质的Psy1剪接变体。

[0059] 根据又另外的方面,本发明提供一种编码包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列的突变的八氢番茄红素合成酶1的经分离的多核苷酸。

[0060] 通过下面的描述和附图,本发明的其他目标、特征和优点将变得清楚。

附图说明

[0061] 图1显示醋栗番茄 (*Solanum pimpinellifolium*) (Sp) LA1589回交近交系(BIL) 群体的构建,以及只在2010年BIL#112家族的单个植物中检测到的阿莱基诺突变的产生。

[0062] 图2显示不同遗传背景中的阿莱基诺突变表型,显示整个果实(A) 和横截面(B)。

[0063] 图3展示由显示阿莱基诺表型的BIL#112和野生型红番茄品系杂交得到的两个独立的F2群体中果实颜色性状的分离。

[0064] 图4显示阿莱基诺红色(r) 和黄色(y) 部分与野生型(M82) 和黄色果肉突变体r3756 果实样品中的类胡萝卜素浓度(μg/g鲜重) 比较。

[0065] 图5展示阿莱基诺果实的红色和黄色部分中Psy1基因内转座子插入/切除位点的核苷酸序列差异。黄色部分对于侧接重复序列而言是纯合的而红色部分对于此序列而言是杂合的,因为转座子从一个等位基因中切除。

[0066] 图6是从阿莱基诺果实的不同颜色部分获得的Psy1转录物的扩增片段的示意图。

[0067] 图7是Psy1基因内转座子和侧接核酸插入(图7A)以及扩增的阿莱基诺标记(图7B)的示意图。

[0068] 图8显示r^{arl}等位基因的核酸序列(SEQ ID NO:5)。大写字母指示番茄野生型Psy1基因的序列,其中外显子以粗体字标记。小写字母指示阿莱基诺内含子序列,其中侧接的核苷酸插入加框。

具体实施方式

[0069] 本发明提供产生具有有吸引力的外观的果实的番茄栽培品种,所述外观中红色和黄色条纹或区段遍布于果实的所有可食用部分,从内部种子区域直到外果皮(果皮)的最外层,贯穿中果皮和内果皮。本发明进一步首次公开了与在本文中称为阿莱基诺的这种外观有关的遗传学结构。

[0070] 定义

[0071] 术语“植物”在本文中以其最广泛的含义使用。它还指在很大程度上分化成存在于植物发育的任何阶段的结构的多个植物细胞。这样的结构包括但不限于根、茎、枝条、叶、花、花瓣、果实等。如本文所用,术语“植物部分”通常是指番茄植物的一部分,包括单个细胞和细胞组织,如植物中完整的植物细胞、细胞团块和组织培养物,可由此再生番茄植物。植物部分的实例包括但不限于来自花粉、胚珠、叶、胚芽、根、根尖、花药、花、果实、茎、芽和种子的单个细胞和组织;以及花粉、胚珠、叶、胚芽、根、根尖、花药、花、果实、茎、芽、接穗、砧木、种子、原生质体、愈伤组织等。

[0072] 术语“果皮”如本领域已知是指成熟子房的壁。具体而言,番茄果皮是指围绕种子和胎座的果实壁。术语“果皮”包括外果皮、中果皮和内果皮以及径向果皮。

[0073] 如本文所用,术语“基因”是指由DNA序列组成的遗传单元,其占据染色体上的特定位置并且含有针对生物体中的特定特征或性状的遗传指令。术语“基因”因此是指包含产生RNA或多肽或其前体所必需的编码序列的核酸(例如,DNA或RNA)序列。功能性多肽可以由全长编码序列或其任何部分编码,只要保持多肽的所需活性或功能特性(例如酶活性、配体结合、信号转导等)即可。术语“其部分”在用于提及基因时是指所述基因的片段。所述片段的大小范围可以从几个核苷酸到整个基因序列减去一个核苷酸。因此,“包含至少一部分基因的核酸序列”可以包含所述基因的片段或整个基因。术语“基因”涵盖cDNA和基因组两种形式的基因。

[0074] 术语“基因”还涵盖结构基因的编码区,并且包括位于编码区附近距离5'端和3'端各端约1kb的序列,使得所述基因对应于全长mRNA的长度。位于编码区5'并存在于mRNA上的序列被称为5'非翻译序列。位于编码区的3'或下游并存在于mRNA上的序列被称为3'非翻译序列。

[0075] 如本文中所用,术语“等位基因”是指基因或任何种类的可鉴别遗传元件的替代形式或变体形式,它们在遗传中是可替代的,因为它们位于同源染色体中的相同基因座上。这

种替代或变体形式可以是单个核苷酸多态性、插入、倒位、易位或缺失的结果,或由例如化学或结构修饰、转录调节或翻译后修饰/调节引起的基因调节的结果。在二倍体细胞或生物体中,给定基因或遗传元件的两个等位基因通常占据一对同源染色体上的相应基因座。

[0076] 如本文中所用,术语“ r^{arl} 等位基因”或“Psy1的 r^{arl} 等位基因”在本文中可互换地使用且是指在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1等位基因,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。根据某些示例性实施方式,所述术语是指SEQ ID NO:5所示的核酸序列。

[0077] 如本文所用,术语“基因型”是指细胞或生物体的基因构成。如本领域已知的,基因型可以涉及单个基因座或多个基因座,不论所述基因座是相关的还是不相关的和/或是有关联的还是不关联的。在一些实施方式中,个体的基因型涉及一个或多个相关基因,所述一个或多个基因涉及感兴趣表型(例如本文所定义的颜色性状)的表达。因此,在一些实施方式中,基因型包含个体内在一个或多个遗传基因座处存在的一个或多个等位基因的汇总。

[0078] 如本文所用,术语“表型”是指个体,特别是个体植物的外观或其他可检测的特征。根据某些实施方式,所述表型来自植物基因型。根据另外的实施方式,所述表型来自其基因组、蛋白质组和/或代谢组与环境的相互作用。

[0079] 术语“区段”、“部分”和它们的复数形式在本文中可互换使用,并且是指番茄果实中颜色呈黄色或红色并形成阿莱基诺的红黄表型的区域。

[0080] 如本文所用,术语“育种”和其语法变体是指产生子代个体的任何过程。育种可以是有性的或无性的,或其任何组合。示例性的非限制性育种类型包括杂交、自交、双单倍体衍生物产生,以及它们的组合。

[0081] 如本文所用,术语“自交”是指受控的植物自花授粉,即由同一植物产生的花粉和胚珠相接触。术语“杂交”是指受控的异花授粉,即由不同植物产生的花粉和胚珠相接触。

[0082] 如本文所用,术语“供体”是指性状、基因渗入或基因组片段所源自的植物或植物品种,并且所述供体可以具有杂合或纯合的性状、基因渗入或基因组片段。

[0083] 如本文所用,术语“受体”是指从供体接受性状、基因渗入或基因组片段的植物或植物品种,并且所述受体本身可能具有或可能不具有杂合或纯合的性状、基因渗入或基因组片段。

[0084] 如本文所用,术语“后代”是指从一种或多种亲本植物或其后代的营养或有性繁殖产生作为子代的任何植物。举例来说,后代植物可以通过亲本植物的克隆或自交获得,或者通过两个亲本植物杂交而获得,包括自交以及F1或F2或更后代。F1是由亲本产生的第一代后代,所述亲本中的至少一个是第一次用作性状的供体,而第二代(F2)或更后代(F3、F4等)的后代是由F1、F2等自交产生的样本。因此F1可以是(并且在一些实施方式中是)由两个真实育种亲本之间杂交产生的杂交种(真实育种对于性状而言是纯合的),而F2可以是(并且在一些实施方式中是)由F1杂交种自花授粉产生的后代。

[0085] 如本文所用,术语“杂交种”是指两个基因不同的个体之间杂交的任何后代,包括但不限于两个近交系之间的杂交。

[0086] 如本文所用,术语“近交”是指基本上纯合的个体植物或植物系。

[0087] 如本文所用,术语“回交”及其语法变体是指育种者将杂交子代回过来和一个亲本

杂交的过程,例如第一代杂交种F1与所述F1杂交种的亲本基因型之一杂交。在一些实施方式中,反复进行回交,其中一轮回交的子代个体自身与相同的亲本基因型回交。

[0088] “栽培的番茄植物”或“番茄栽培品种”或“番茄栽培品种植物”在本发明的范围内被理解为是指不再处于自然状态但已经通过人类照护开发并供人类使用和/或消费的茄科(Solanaceae)分化枝番茄属(*Lycopersicon*)植物。“栽培番茄植物”或“番茄栽培品种”或“番茄栽培种植物”进一步被理解为排除那些包含作为本发明主题的性状作为天然性状和/或其天然遗传学的一部分的野生物种。番茄的实例包括*Solanum lycopersicum*(正式为*Lycopersicon esculentum*、樱桃番茄(*Solanum Cerasiforme*)、契斯曼尼番茄(*Solanum cheesmanii*)、智利番茄(*Solanum chilense*)、克梅留斯基番茄(*Solanum chmielewskii*)、多毛番茄(*Solanum hirsutum*)、小花番茄(*Solanum parviflorum*)、潘那利番茄(*Solanum Pennellii*)、秘鲁番茄(*Solanum peruvianum*)或类番茄茄(*Solanum lycopersicoides*)。根据某些实施方式,所述番茄栽培品种是*Solanum lycopersicum*(根据佩拉尔塔(Peralta) I等人,2005《秘鲁北部系统植物学(Northern Peru Systematic Botany)》30 (2) :424-434的分类学)。

[0089] 术语“杂合的”在本文中用于指代同源染色体上一个或多个对应的基因座上的不同等位基因。

[0090] 术语“纯合的”在本文中用于指同源染色体上的一个或多个对应的基因座上的相似等位基因。

[0091] 人们一直希望得到能吸引顾客的番茄果实的新外观。有经验的顾客也要求果实紧致、好吃并且有合理的保质期。番茄种植者正在寻找一种抗生物和非生物逆境并且产量高的植物。了解植物中的基因遗传规律和过去几十年内分子遗传学工具的快速发展促进了总体上优质农作物,尤其是番茄植物的产生。

[0092] 在研究在具有人工诱导突变的群体的背景下产生的番茄回交自交系(BIL)群体中表型-基因型关系的过程中,发明人出乎意料地产生了具有交替的黄色和红色区段的果实的番茄植物。这种表型被称为“阿莱基诺”。与迄今已知的显示相似的外部果实表型的果实形成对比,阿莱基诺的有色区段不限于表皮和/或果皮的外层,而是从果实内部(包括胎座和/或子囊腔)贯穿果皮直到最外表皮层(图2)。

[0093] 如本文所示的果实的颜色是指处于破色期直到完全熟或成熟果实的熟化果实的颜色。在破色期,番茄果实表面上的颜色从绿色变为淡褐色-黄色、粉红色或红色。本文使用的术语“成熟”是指两个或更多个种子腔的内容物已经形成果冻状稠度并且种子发育良好。阿莱基诺表型很容易在视觉上被检测到。

[0094] 番茄果实被归类为肉质浆果。作为一种真正的果实,它是在受精后由植物的子房发育而来。番茄果实可以是二室的或多室的。除樱桃番茄以外的大多数栽培品种具有二至五个子囊腔。子囊腔被果皮包围。果皮包括内壁,小柱(columella);径向壁,隔膜;和外壁(表皮)。果皮和胎座包含番茄的肉质组织。种子位于子囊腔的空腔内部并被封闭在胶质膜中。有维管束贯穿果皮的外壁,从茎通到番茄的中心,并从那里辐射到每个种子。

[0095] 从中分离出阿莱基诺突变表型的BIL群体是由小红果实自交亲和的野生种质醋栗番茄LA1589和*S. lycopersicum*加工番茄近交品种cv.E6203(TA209)的杂交构建的。不希望受任何具体理论或作用机制的束缚,阿莱基诺突变可能是由广泛杂交产生的“基因组冲击”

的结果。

[0096] 表征诱变剂的因素之一是通过多种分子机制在DNA中形成变化，并且因此所获得的突变谱可以在不同的诱变剂之间显著变化(转换、颠换、缺失或添加)。另一种诱发突变的已知力是通过进化的不同类型的杂交形成种间群体的结果。合并不同的基因组会形成“基因组冲击”，一种由麦克林托克 (McClintock) (1984.《科学(Science)》226:792-801) 描述的过程。尽管进行了深入的研究，但影响基因组冲击的分子机制还没有很好的表征。然而，据报导外源基因组片段渗入不同的背景中会引发遗传变化和突变。先前已经描述了这种现象，在小麦中进行的详细工作是一个例子(谢克德(Shaked)等人,2001.《植物细胞(Plant Cell)》13:1749-1759)。谢克德等人已经表明在合成新的小麦异源四倍体时，例如基因缺失、基因沉默和激活的事件是相当常见的。在小麦中，种间杂交之后发生染色体倍增导致快速的遗传和表观遗传变化，其中逆转录转座子在其活性被基因组冲击激活时似乎是主要作用者(谢克德等人,2001,同上；厄兹坎(Ozkan)等人,2001.《植物细胞》13:1735-1747；卡什库什(Kashkush)等人,2003.《自然遗传学(Nat.Genet.)》33:102-106)。

[0097] 进一步育种经分离的阿莱基诺表型植物提供本发明的番茄植物，本发明的番茄植物为适于商业种植的栽培番茄植物。

[0098] 本发明进一步公开了阿莱基诺表型与八氢番茄红素合成酶1(Psy1)基因的至少一个等位基因中转座子插入的存在之间的关联。应该明确地理解， r^{arl} 等位基因的存在对于阿莱基诺表型是必需的，但可能不是造成其外观的唯一的因素。

[0099] 对Psy1基因内最初观察到的9个碱基对(SEQ ID NO:1)插入的区域进行测序，指出存在核酸序列TCTGGATA(SEQ ID NO:2)的同向重复。转座子在植物基因组中的插入通常以在插入位置处在同向方向上形成序列重复为特征。如下文所例示，本发明的发明人已经发现阿莱基诺表型实际上是形成果实黄色部分的细胞中转座子插入的结果。所述插入在Psy1基因的内含子8内(根据图8所示的Psy1序列)，产生缺失最后一个外显子(外显子9)的Psy1剪接变体，使得功能蛋白的翻译受损。红色部分细胞包含野生型Psy1等位基因和/或其中已经切除转座子而没有负面影响基因转录的细胞，使得能够翻译功能性八氢番茄红素合成酶1。

[0100] 本发明因此提供一种产生具有阿莱基诺表型的果实的番茄栽培品种，所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内，其中所述表型与至少一个 r^{arl} 等位基因有关，所述 r^{arl} 等位基因是在等位基因的内含子内包含插入的八氢番茄红素合成酶1(Psy1)等位基因，其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0101] 根据某些实施方式，所述阿莱基诺果实的黄色区段的细胞对于所述 r^{arl} 等位基因而言是纯合的。

[0102] 根据某些实施方式，所述插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列TCTGGATA(SEQ ID NO:2)的转座子。根据另外的实施方式，所述插入包含在转座子3'端侧接有核酸序列ATCTGGATA(SEQ ID NO:1)的转座子。

[0103] 根据某些实施方式，所述转座子属于hAT家族。根据一些实施方式，所述转座子至少包含核酸序列。根据这些实施方式，所述转座子包含与SEQ ID NO:3具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源性的核酸序列。每一种可能性代表了本发明的一种独立的实施方式。

[0104] 根据另外的示例性实施方式,所述转座子由SEQ ID NO:3所示的核酸序列组成。

[0105] 根据某些示例性实施方式,Psy1基因内的插入包含与SEQ ID NO:4所示的核酸序列具有至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少98%或至少99%同源性的核酸序列。根据某些示例性实施方式,Psy1基因内的插入包含SEQ ID NO:4所示的核酸序列。

[0106] 根据某些实施方式,Psy1的r^{arl}等位基因包含SEQ ID NO:5所示的核酸序列。

[0107] 本发明进一步提供用于产生具有阿莱基诺表型的番茄栽培品种的方法、由此产生的植物及其部分。

[0108] 根据某一个方面,本发明提供一种用于产生具有阿莱基诺表型的果实的番茄栽培品种的方法,所述表型中黄红区段遍布于从胎座和/或子囊腔贯穿果实果皮直到表皮的范围内,所述方法包括将包含八氢番茄红素合成酶1的r^{arl}等位基因的遗传元件引入到产生红色果实的番茄栽培品种或其部分中,所述r^{arl}等位基因在等位基因的内含子内包含插入,其中所述插入产生Psy1的非功能性剪接变体。

[0109] 将所述遗传元件引入到所选择的番茄栽培品种的基因组中可以使用本领域已知的任何方法进行。

[0110] 植物体育种者,特别是种子公司使用通常被称为“优良品系”的优良育品种系来提供恒定质量的产品。所述优良品系是密集近交的结果,并且组合了多个优良特性,如高产量、果实品质、抗病虫害性以及非生物逆境耐受性。这些优良品系的平均产量通常远高于产生许多现代番茄品种后代的原始野生种质。所述优良品系可以直接用作作物,但通常用于产生所谓F1或单交杂交种,由两个(纯合或近交)优良品系之间杂交产生。F1杂交种因此将两亲本的遗传特性组合到单个植物中。杂交种的另外一个好处是它们表现出杂种优势(hybrid vigor或heterosis),即杂交植物比任一个(近交)亲本长得更好并且展示出更高的产量的现象。

[0111] 回交或谱系选择是育种者为其优良育品种系增加想要的农艺性状的一种方法。所述方法涉及将育品种系与表达想要的性状的品系杂交,然后将表达所述性状的后代植物与回归亲本回交。因此,在育种计划中选择个体作为亲本是基于其祖先的表现。这类方法在针对定性遗传性状,即存在或不存在的性状的育种中是最有效的。

[0112] 轮回选择是改良育品种系的替代育种方法,涉及对想要的子代进行系统测试和选择,然后重组所选个体以形成新的群体。轮回选择已被证明有效改良作物的定量性状。然而,轮回选择降低了育种计划中各种性状背后的遗传基础的扩大速率,因此其潜力是有限的。

[0113] 如本文所公开,产生黄红双色果实的番茄植物可以通过将包含八氢番茄红素合成酶1的r^{arl}等位基因的遗传元件引入到优良育品种系中来产生。

[0114] r^{arl}等位基因的引入可以通过植物育种,也就是通过使包含所述r^{arl}等位基因的供体植物与受体植物,优选不包含所述r^{arl}等位基因的优良栽培品种番茄植物杂交来进行。

[0115] 或者,包含r^{arl}等位基因的核酸,优选DNA可以使用本领域已知的任何方法分离,并引入到产生红色果实的番茄植物的基因组中。

[0116] 用经分离的核酸序列转化植物一般涉及构建将在植物细胞中发挥作用的表达载体。根据本发明的教导,这样的载体包含有包括r^{arl}等位基因的核酸序列。典型地,所述载体包含受调节元件控制或与调节元件可操作地连接的r^{arl}等位基因。根据某些实施方式,所述

调节元件选自：启动子、增强子以及翻译终止序列。所述表达载体可能含有一种或多种这种可操作地连接的基因/等位基因/调节元件组合，只要所述组合中所含有的至少一个等位基因包含所述r^{arl}等位基因即可。所述载体可以呈质粒形式，可以单独或与其他质粒组合用于产生可产生具有阿莱基诺表型的果实的转基因植物的方法，使用本领域已知适于将核酸序列转化至番茄(双子叶)植物中的转化方法。

[0117] 表达载体可以包括与调控元件(例如启动子)可操作地连接的至少一个标记(报道)基因，所述调控元件允许含有所述标记的转化细胞通过负选择(通过抑制不含有可选择标记基因的细胞的生长)，或通过正选择(通过筛选由标记基因编码的产物)回收。用于植物转化的许多常用的可选择标记基因是本领域已知的，并且包括例如编码以代谢方式解毒可能是抗生素或除草剂的选择性化学试剂的酶的基因，或编码对抑制剂不敏感的变异靶的基因。本领域已知几种正选择方法，例如甘露糖选择。或者，可以使用无标记转化来获得没有提到的标记基因的植物，所述转化技术是本领域已知的。

[0118] 用本发明的核酸序列转化植物细胞的方法是本领域已知的。如本文所用，术语“转化(transformation或transforming)”描述外来核酸序列如载体进入受体细胞并将受体细胞变为转化的、经遗传修饰的或转基因细胞的过程。转化可以是稳定的，其中核酸序列被整合到植物基因组中并且因此呈现稳定的和遗传的性状，或者是暂时的，其中核酸序列由转化的细胞表达，但不整合到基因组中，并且因此呈现暂时的性状。根据典型的实施方式，本发明的核酸序列被稳定地转化到植物细胞中。

[0119] 有多种方法将外来基因引入到单子叶和双子叶植物两者中(例如，波特里库斯(Potrykus) I. 1991.《植物生理和植物分子生物学年度回顾(Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol)》42:205-225; 岛本(Shimamoto) K等人, 1989.《自然》338:274-276)。

[0120] 将外源DNA稳定整合到植物基因组DNA中的基本方法包括两种主要方法：

[0121] 土壤杆菌(Agrobacterium)介导的基因转移：土壤杆菌介导的系统包括使用含有整合到植物基因组DNA中的某些确定的DNA片段的质粒载体。植物组织的接种方法根据植物种类和土壤杆菌递送系统而变化。一种广泛使用的方法是叶盘(leaf-disc)法，其可以用为全植物分化的开始提供良好来源的任何组织外植体进行(霍尔施(Horsch)等人, 1988.《植物分子生物学手册(Plant Molecular Biology Manual) A5》，1-9，克鲁沃学术出版社(Kluwer Academic Publishers)，多德雷赫特(Dordrecht))。补充方法采用土壤杆菌递送系统与真空渗透相结合。用于番茄植物的土壤杆菌介导的转化方案是本领域技术人员已知的。

[0122] 直接核酸转移：有多种将核酸直接转移到植物细胞中的方法。在电穿孔中，原生质体短暂暴露于强电场，打开微孔以允许DNA进入。在显微注射中，使用微量移液管将核酸机械式注入细胞中。在微粒轰击中，核酸被吸附在如硫酸镁晶体或钨粒的微粒(microparticle)上，所述微粒被物理加速进入细胞或植物组织。将核酸引入植物的另一种方法是通过靶细胞的超声处理。或者，脂质体或原生质球融合已用于将表达载体导入植物。

[0123] 在番茄靶组织转化后，上述可选择标记基因的表达允许使用本领域现在已知的再生和选择方法优先选择转化的细胞、组织和/或植物。

[0124] 根据某些实施方式，本发明提供一种用于产生具有阿莱基诺表型的番茄植物的方

法,包括以下步骤:

[0125] (a) 将包含r^{arl}等位基因的遗传元件从包含所述遗传元件的供体番茄植物引入到受体番茄栽培品种,优选优良栽培品种,以提供后代栽培番茄植物;

[0126] (b) 检查从各后代栽培番茄植物获得的核酸样品中r^{arl}等位基因的存在;以及

[0127] (c) 选择包含所述r^{arl}等位基因的栽培番茄植物。

[0128] 这种方法可以被定义为“标记辅助的选择”,因为所要阿莱基诺表型的选择是使用对阿莱基诺基因型具有特异性的核酸标记进行的。由于阿莱基诺表型只能在植物已经产生果实时通过表型被正确地鉴别出来,所以遗传元件在后代植物中正确基因渗入的建立可以通过使用基因特异性标记来监测是特别有利的。

[0129] 将包含Psy1的r^{arl}等位基因的遗传元件引入到受体植物可以通过上述任何方法进行,并且在本领域是已知的。

[0130] 本领域已知的用于从后代番茄栽培品种获得遗传物质的任何方法和任何适合的分子标记可以用于根据本发明的教导对阿莱基诺基因型的选择。

[0131] 如本文所用,术语“分子标记(molecular marker或molecular markers)”是指用于显现核酸序列的特征差异的方法中所用的分子指示物。这类指示物的例子有多样性阵列技术(DArT)标记、限制性片段长度多态性(RFLP)标记、扩增片段长度多态性(AFLP)标记、单核苷酸多态性(SNP)、序列表征的扩增区域(SCAR)、切除的扩增多态性序列(CAPS)标记、序列表征的杂交标记;或其任何组合。根据某些示例性实施方式,检查从各后代栽培番茄植物获得的核酸样品中r^{arl}等位基因的存在的步骤包括使用一组双向引物。双向是指所述引物的方向使得引物在核酸的扩增反应中一个充当正向引物一个充当反向引物。双向引物典型地用于扩增Psy1的r^{arl}等位基因或其标记的独特核酸序列但不扩增野生型Psy1等位基因的基因组DNA上的扩增反应。根据某些实施方式,引物对被设计成扩增包含SEQ ID NO:7 (TCTGGATAATCTGGATA) 所示的核酸序列的r^{arl}等位基因标记。根据某些示例性实施方式,r^{arl}等位基因标记由包含SEQ ID NO:10 (CAGTGCCAGAAGAGGAAGA) 和SEQ ID NO:11 (TTGCGGTACAAGACCAAAGA) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0132] 根据另外的实施方式,引物对被设计成扩增全长转座子插入。根据某些示例性实施方式,所述转座子由包含SEQ ID NO:12 (GTGGATCCTGAAATGGCTTG) 和SEQ ID NO:13 (AGTACTAATAAAATGGTTTGCC) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0133] 根据又另外的实施方式,引物对被设计成扩增Psy1等位基因内的转座子插入的3'基因组连接。根据某些示例性实施方式,所述3'转座子插入连接由包含SEQ ID NO:14 (GGGCTAGTCGGTGTATCAT) 和SEQ ID NO:11 (TTGCGGTACAAGACCAAAGA) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0134] 根据其他实施方式,引物对被设计成扩增Psy1等位基因内的转座子插入的5'基因组连接。根据某些示例性实施方式,所述5'转座子插入连接由包含SEQ ID NO:15 (CTGGAACGGTGACCGATAAA) 和SEQ ID NO:16 (ATGATACACCGACTAGCCC) 所示的核酸序列的一对引物扩增。

[0135] 另外或替代地,所述标记为序列特异性探针,它们在严苛条件下特异性地和Psy1的r^{arl}等位基因杂交但不和它的野生型等位基因杂交,并且之后可以通过本领域技术人员熟知的各种方法检测到。

[0136] 然而,应该明确了解本发明的方法方面不限于使用本文所鉴别的标记,本发明的方法还可以使用本文未明确公开的标记或者甚至还未被鉴别的标记,因为鉴别和使用这样的标记完全在本领域技术人员的技能范围内。

[0137] 在一个另外的或替代性的方法中,如下文所示通过表型检查后代栽培番茄植物的阿莱基诺外观。根据这些实施方式,使后代植物生长以产生果实,并检查果实中贯穿果实的红色和黄色区段(阿莱基诺表型)的存在。

[0138] 根据某些实施方式,具有阿莱基诺表型的果实的栽培品种番茄植物是近交植物。根据其他实施方式,具有阿莱基诺表型的果实的栽培品种番茄植物是杂交植物。提出以下实例是为了更充分地说明本发明的一些实施方式。然而,它们决不应被解释为限制本发明的宽广范围。本领域的技术人员可以容易地对本文所公开的原则作出许多改变和修饰,而不偏离本发明的范围。

[0139] 实例

[0140] 实例1:全基因组回交近交系(BIL)

[0141] 由野生种醋栗番茄的小红果实自交亲和种质(表示为LA1589)和加工番茄近交品种cv.E6203(TA209)(*S. lycopersicum*)的杂交构建醋栗番茄BIL(戈兰迪洛(Grandillo)S和坦克斯利(Tanksley)S D. 1996.《理论与应用遗传学(Theor. Appl. Genet.)》92:935-951)。在从两个种构建BIL期间,评估早期世代产量相关的性状,作为高世代回交(AB)QTL研究的一部分(由戈兰迪洛S等人,2007.《理论与应用遗传学》92:935-951综述),还评估各种形态学性状和生物化学特性。醋栗番茄BIL由178个品系构成,并且这一资源的遗传图谱由4008个基因组锚定的SNP标记构建,发现所述SNP标记在野生种醋栗番茄和回归亲本cv.E6203之间具有多态性。将所述标记分成873个组块(bin),平均长度为0.87Mbp/组块,平均由4.59个SNP/组块构成。每个组块都显示独特的分离模式,从而能够计算相邻组块对之间以cM计的图谱距离。计算出的图谱长1174.1cM,覆盖100%野生种基因组,其中最长的连接组代表3号染色体(129.5cM),最短的代表6号染色体(60.2cM)。

[0142] 实例2:阿莱基诺突变

[0143] 来自醋栗番茄和*Solanum lycopersicum*的种间BIL群体的产生使得BIL群体内从头形成突变。在BIL#112中鉴别出具有不稳定果实颜色表型的单个植物。所述植物在2010年产生(在BC2self10世代内,图1),并且观察到的表型以前在各种品种集中未被检测到。

[0144] 这种独特的突变体的特征是平行的黄色和红色色带,使果实在外部表皮上纵向着色(图2A),但重要的是延伸到果肉(果皮)、种子胶质物和胎座中(图2B)。迄今为止,已经鉴别出许多产生黄色番茄果实的突变;然而,还没有一种突变显示本文中首次公开的贯穿整个果实的黄色-红色条纹或区段。这种突变体的另一个特征是在未成熟的绿色阶段没有可观察到的对果实表皮颜色的表型效应,只有在成熟时才显露出表型。所述突变表型被命名为“阿莱基诺”。在2010年发现的第一个阿莱基诺表型在植物和花序上是不稳定的,尤其是在同一株植物上连同阿莱基诺果实一起观察到完全红色的果实。

[0145] 通过将BIL#112中鉴别出的植物与其亲本cv.E6203(TA209)和其他野生型*Solanum lycopersicum*栽培品种杂交,如与自交相比,来检查阿莱基诺表型的遗传模式。F1杂交植物只有正常的红色果实,而BIL#112自交子代显示特征性的阿莱基诺表型。这些结果表明新的突变是隐性的。F1杂交种自交产生的F2群体中观察到以下子代:29株具有红色果实的植物;

9株具有阿莱基诺表型的植物;以及2株具有完全黄色果实的植物(共40株)。来源于独立F1杂交种的另外的F2群体产生90株具有完全红色果实的植物;22株具有阿莱基诺果实的植物;以及5株具有完全黄色果实的植物(共117株)(图3)。总群体中阿莱基诺+黄色的数量符合1:3比率,表明具有可变外显率和表达性的单个孟德尔基因。

[0146] 为了进一步检查性状分离的模式,检查了F3子代。F3子代由具有红色(21株植物)、阿莱基诺(8株植物)和黄色(2株植物)果实表型的31株F2植物自交形成。对每次F2杂交的F3世代的约40株植物(31×40)进行检查。将植物针对果实颜色进行表型分型,并且基于所测试的子代得出F2植物的基因型。结果表明,21株红色F2植物中的13株植物以25%阿莱基诺和75%红色的比率发生果实表型分离(表1)。其他8株红色果实F2植物在它们的F3子代中没有分离,这意味着所有的F3植物都是红色的(植物4853-26的F3仅显示单个阿莱基诺表型因而它被假定为污染物,因此该品系被评分为纯合;表1)。2株黄色表型F2植物不分离,且所有F3子代植物具有完全黄色的果实。8株阿莱基诺F2植物不显示任何一致的分离比。4853-27号品系的所有F3子代都显示阿莱基诺表型,表明这个品系是稳定的阿莱基诺亲本。

[0147] 表1:F3子代测试的汇总

品系	F2 表型 (果实颜色)	F3 表型 (果实颜色)				估计的基因型	
		红色	阿莱基诺	黄色	总计		
[0148]	4583-1	红色	33	7	0	40	杂合
	4583-2	阿莱基诺	14	16	0	30	
	4583-3	红色	15	0	0	15	纯合
	4583-4	红色	40	0	0	40	纯合
	4583-5	阿莱基诺	22	7	0	29	
	4583-6	红色	28	8	0	36	杂合
	4583-7	红色	37	0	0	37	纯合
	4583-8	红色	26	6	0	32	杂合
	4583-9	红色	22	0	0	22	纯合
	4583-10	红色	30	9	0	39	杂合
	4583-11	红色	40	0	0	40	纯合
	4583-12	红色	32	8	0	40	杂合
	4583-13	红色	14	7	0	21	杂合
	4583-14	红色	34	6	0	40	杂合
	4583-15	黄色	0	0	40	40	
	4583-16	红色	30	10	0	40	杂合
	4583-17	阿莱基诺	19	13	0	32	
	4583-18	红色	40	0	0	40	纯合
	4583-19	红色	36	4	0	40	杂合
	4583-20	红色	22	8	0	30	杂合
	4583-21	红色	25	0	0	25	纯合
	4583-22	阿莱基诺	14	21	0	35	
	4583-23	红色					
	4583-24	红色	12	4	0	16	杂合
	4583-25	黄色	0	0	35	35	
	4583-26	红色	32	1*	0	32	纯合
	4583-27	阿莱基诺	0	16	0	16	
	4583-28	阿莱基诺	5	26	0	31	
	4583-29	红色	19	6	0	25	杂合
	4583-30	红色					
	4583-31	红色	24	11	0	35	杂合
	4583-32	红色					
	4583-33	红色					
	4583-34	阿莱基诺	21	9	0	30	
	4583-35	阿莱基诺	32	8	0	40	
	4583-36	红色					
	4583-37	红色					
	4583-38	红色					
	4583-39	阿莱基诺					
	4583-40	红色					

[0149] 实例3:阿莱基诺表型的等位基因配置

[0150] 上述结果表明阿莱基诺表型被隐性遗传,因为发现由BIL#112和TA209及其他野生型(WT)栽培品种的杂交产生的F1植物的果实是完全红色的。在BIL#112和橘红色突变e3406m2及ζ突变e2083m1杂交产生的F1植物中还发现表型互补。只在具有阿莱基诺表型的

植物的杂交中,具有黄色果肉表型的两种独立突变(r/r ;缺乏八氢番茄红素合成酶1基因($Psy1$))显示缺乏互补,果实显示轻微条纹状表型(表2)。这些结果表明阿莱基诺可能等位于黄色果肉。

[0151] 表2:阿莱基诺表型的等位基因性测试

品系	E6203 (TA209) (R/R)	M82 (R/R)	e3756m2 (r/r)	LA2997 (r/r)	e3406m2 (t/t)	e2083m1 (ζ/ζ)
BIL112 阿莱基诺	红色	红色	弱 阿莱基诺	弱 阿莱基诺	红色	红色

[0153] 实例4:阿莱基诺表型果实中类胡萝卜素含量的分析

[0154] 检查具有阿莱基诺表型的成熟果实的红色和黄色部分内的类胡萝卜素含量,并与野生型番茄(M82)的红色果实以及黄色果肉品种e3756m2(r/r ;M82EMS衍生物)的黄色果实内的类胡萝卜素含量相比较。如卡查诺夫斯克(Kachanovsky)等人(卡查诺夫斯克D E等人,2012.《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.)》109:19021-19026)所述从不同部分提取类胡萝卜素,并使用高效液相色谱法(HPLC)使用Waters 996光电二极管阵列检测器进行分离(罗恩(Ronen)G等人,1999.《植物杂志》17:341-351)。阿莱基诺果实内的红色部分具有约5倍高的总类胡萝卜素含量,概况与野生型果实类似,而黄色部分类胡萝卜素含量明显较低,概况与黄色果肉(e3756m2)突变果实类似(图4,表3)。

[0155] 表3:成熟阿莱基诺果实的红色和黄色部分中的类胡萝卜素组成($\mu\text{g/g}$ 鲜重)

	阿莱基诺 红色部分	阿莱基诺 黄色部分
八氢番茄红素	6.57 \pm 2.42	0.19 \pm 0.04
六氢番茄红素	4.13 \pm 1.96	0.14 \pm 0.05
反-番茄红素	7.96 \pm 7.18	1.46 \pm 0.88
β -胡萝卜素	2.79 \pm 1.06	0.29 \pm 0.99
叶黄素	1.13 \pm 0.30	0.76 \pm 0.15
三-顺- ζ -胡萝卜素	0.40 \pm 0.20	-
二-顺- ζ -胡萝卜素	0.42 \pm 0.20	-
其他	1.53 \pm 1.07	1.14 \pm 0.24
总类胡萝卜素	26.7 \pm 4.42	5.24 \pm 2.38

[0157] 实例5:阿莱基诺表型突变的序列分析

[0158] 类胡萝卜素是由所有植物、藻类和蓝细菌以及几种非光合细菌和真菌合成的40碳类异戊二烯色素。类胡萝卜素的多烯链可以具有3到15个共轭双键,负责类胡萝卜素特征吸收光谱并赋予特定的光化学性质。类胡萝卜素路径中第一个关键步骤是两个牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸(GGPP)分子的头对头缩合,以产生第一个C40类胡萝卜素八氢番茄红素,由八氢番茄红素合成酶(PSY)催化。在原始BIL#112阿莱基诺表型植物中的八氢番茄红素合成酶1的初始DNA测序显示内含子8中在核苷酸3338之后插入的9bp插入(ATCTGGATA,SEQ ID NO:1)。

[0159] 阿莱基诺果实的黄色和红色部分中的8号内含子的初步序列分析

[0160] 通过PCR由从阿莱基诺表型果实的红色和黄色部分获得的DNA样品扩增Psy1的8号内含子，并将其克隆到pGEM质粒载体中。使用基因组植物DNA纯化试剂盒(赛默(Thermo))提取基因组DNA。使用下表4中列出的引物扩增内含子。大肠杆菌细胞用携带来自黄色部分或来自红色部分的PCR产物的pGEM质粒转染。测试具有来自黄色组织的pGEM克隆的7个大肠杆菌菌落和具有来自红色组织的pGEM克隆的21个菌落。来自黄色组织的所有DNA克隆显示出在本文中称为“阿莱基诺标记”的由腺嘌呤(A)核苷酸隔开的TCTGGATA(SEQ ID NO:2)的同向重复序列(SEQ ID NO:7)的重复的相同序列模式。来自红色组织的克隆显示菌落之间的序列变异性，其中大部分菌落含有转座子切除足迹，而其余菌落显示与在黄色菌落中观察到的相同的模式(图5)。这些结果表明从一个拷贝物切除转座子的可能性或红色部分中有黄色细胞污染。

[0161] 表4:用于检测阿莱基诺标记的引物对

[0162]

引物名称	序列	SEQ ID NO.
正向引物ARL4	5'-CAGTGCCAGAAGAGGAAGA-3'	10
反向引物ARL4	5'-TTGCGGTACAAGACCAAAGA-3'	11

[0163] 确定 r^{arl} 等位基因的完整序列

[0164] 初始PCR分析证实了阿莱基诺标记的存在。使用READYMIX试剂盒(Syntezza)，50-100ng基因组DNA、0.4 μ M上文表4中列出的正向和反向引物进行PCR。使用95°C 2分钟的变性步骤来开始PCR，然后进行96°C 变性45秒，58-60°C 退火30秒，72°C 延伸90秒的38次循环，最后72°C 延伸10分钟。

[0165] 为了对来自阿莱基诺红色和黄色果实部分的全长Psy1转录物进行测序，进行3'RACE。用赛默科技(Thermo Scientific)GeneJET植物RNA纯化微型试剂盒#K0801从阿莱基诺果实的黄色和红色部分提取RNA。用脱氧核糖核酸酶(Dnase) I(新英格兰生物实验室(New England Biolabs) #M0303L) 处理RNA，然后使用寡聚-dT-接头引物通过M-MuLV反转录酶(新英格兰生物实验室#M0253L) 进行反转录。

[0166] 为了扩增Psy1转录物，使用Psy1的特异性引物和接头引物(表5)进行PCR反应。

[0167] 表5:3'RACE检定所用的引物

[0168]

引物名称	序列	SEQ ID NO.
寡聚-dT-接头引物	ctgtgaatgctgcgactacgatT (X20)	17
接头引物	ctgtgaatgctgcgactacgat	18
Psy1特异性引物	AACTTGTGATGGCCCAAAC	19

[0169] 将扩增的Psy1转录物克隆到pJET文库中(赛默科技(Thermo Scientific)CloneJET PCR克隆试剂盒)。

[0170] 在从阿莱基诺果实黄色部分获得的集落中检测到三种剪接变体，而在从红色部分获得的集落中除了突变转录物之外还检测到了Psy1野生型转录物。发现两种转录物从最后一个内含子开始与较短部分融合，发现第三种转录物与已知hAT超家族转座子的400bp序列融合。在所有三种变体中，最后一个外显子(外显子9)缺失(图6)。

[0171] 基于上述分析，设计出几种引物对(表6)。使用基因组植物DNA纯化试剂盒(赛默)从具有阿莱基诺表型的植物的嫩叶或黄色果实部分提取基因组DNA。使用50ng-100ng基因组DNA、PCR缓冲液、2.5mM dNTP、0.2 μ M-0.3 μ M正向和反向引物，以及0.5单位PrimeSTARGXL

DNA聚合酶(宝生物工程株式会社(Takara Bio))进行PCR。使用98°C3分钟的变性步骤来开始PCR,然后进行96°C变性10秒,55-60°C退火15秒,68°C延伸180秒的38次循环,最后68°C延伸90秒。如图8所示,这些反应使全长转座子以及与内含子相邻的Psy1区域能够进行扩增。

[0172] 表6:用于检测r^{arl}等位基因的引物对

引物名称	序列	SEQ ID NO.	目的
正向引物 ARL1	5'-GTGGATCCTGAAATGGCTTG-3'	12	扩增全长转座子
反向引物 ARL1	5'-AGTACTAATAAAATGGTTTGCC-3'	13	
正向引物 ARL2	5'-GGGCTAGTCGGTGTATCAT-3'	14	扩增转座子 3'基因组连接
反向引物 ARL2	5'-TTGCGGTACAAGACCAAAGA-3'	11	
正向引物 ARL3	5'-CTGGAAGGGTGACCGATAAA-3'	15	扩增转座子 3'基因组连接
反向引物 ARL3	5'-ATGATACACCGACTAGCCC-3'	16	

[0174] 实例6:阿莱基诺植物的叶和果实黄色和红色部分中Psy1转录物的序列分析

[0175] 由从阿莱基诺红色和黄色果实部分以及阿莱基诺叶组织提取的RNA使用三个引物对扩增Psy1转录物。旨在扩增从外显子7延伸到外显子8的片段的反应I在所检查的所有三个RNA样品中都是成功的。旨在扩增从外显子7延伸到外显子8的片段的反应II和扩增从外显子8延伸到外显子9的片段的反应III只在含有从阿莱基诺果实红色部分提取的RNA的样品中是成功的(表7)。这些结果表明在黄色和叶组织中外显子9受损。

[0176] 表7:使用三个不同引物对扩增Psy1转录物

	正向引物:	反向引物:	扩增区域
反应 I	Psy1_f2 AGCCATTTCAGAGATATGATTGA (SEQ ID NO:20)	Psy1-4 反向 ATCGGATAGACCTGCCTGTG (SEQ ID NO:21)	外显子 7- 外显 子8
反应 II	psy1_f2 AGCCATTTCAGAGATATGATTGA (SEQ ID NO:20)	Psy1_r2 TTATCTTGAAAGAGAGGCAGT (SEQ ID NO:22)	外显子 7- 外显 子9
反应 III	ARL3 CTGGAAGGGTGACCGATAAA (SEQ ID NO:15)	Psy1_r3 GATAAAGTGAAGATAACAAC (SEQ ID NO:23)	外显子 8- 外显 子9

[0178] 实例7:阿莱基诺转座子

[0179] 使用GXL聚合酶和引物完成阿莱基诺转座子序列:

[0180] ARL1正向引物:GTGGATCCTGAAATGGCTTG (SEQ ID NO:12) ;

[0181] ARL1反向引物:AGTACTAATAAAATGGTTTGCC (SEQ ID NO:13) ;和

[0182] ARL3反向引物:ATGATACACCGACTAGCCC (SEQ ID NO:16) 。

[0183] 所述转座子包含3903个核酸(SEQ ID NO:3),并且在5'和3'端有倒置重复序列以供其插入Psy1(图7)。

[0184] 对阿莱基诺转座子的测序显示它含有与已知转座酶(如来自金鱼草(Antirrhinum majus)的Tam3中)类似的开放阅读框,所述阅读框含有二聚化结构域和锌指-DNA结合域,并因此可能是自主元件(SEQ ID NO:24)。图8呈现阿莱基诺Psy1基因的核酸序列(SEQ ID NO:5)。

[0185] 上文对具体实施方式的描述将充分揭示本发明的一般性质,使得其他人可以通过应用当前知识就容易地修改和/或调整这些具体实施方式以用于各种应用而无需过度实

验,并且不偏离一般概念,因此,这样的调整和修改应该并且旨在被理解为在所公开的实施方式的等效物的含义和范围内。应该理解,本文使用的措辞或术语是出于描述而不是限制的目的。用于执行各种所公开的功能的手段、材料和步骤可以采取多种替代形式而不偏离本发明。

序列表

<110> 耶路撒冷希伯来大学伊萨姆研究发展有限公司

<120> 果实具有黄色和红色区段的番茄植物

<130> YISSUM/0123 PCT

<150> US 62/188755

<151> 2015-07-06

<160> 29

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

[0001] <223> 合成的多核苷酸

<400> 1

atctggata

9

<210> 2

<211> 8

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 2

tctggata

8

<210> 3

<211> 3903

<212> DNA

<213> 番茄属

<400> 3	
ttaagactgg tcaacggacc ggaaccgggt caccggaccg gaatgaaccg gtaccggacc	60
ggaccggaat cggttgaccg gaatttgac cggtaccggg atgaaccgga ccggaaattac	120
cgggatggtt catcggttcc gtcccggtcc actatatacc gggacggaaac cggaatgaac	180
cggAACGGAC CGGGATGGAA CGGGACGGGA TTAACGGGAC GATATTTT AAATTACGAA	240
aatataattt tttttatTTT ttaagtataa attaatagtt ttAAATTtta tactataatt	300
tttaacttaa gtttattttt aagatatttt attaattttt ttttattttt gttaagttt	360
caagtaatct aataaagttt tcaaaattta aatctttga agttatact ttataagtta	420
ttacttataat ttattaatat ttatTTTata agttatattt ataacttga tcttgtaat	480
attaaataaaa taaaatttgt aatttaaaaa aagtaaatta aattacaAAA attaaaaaaat	540
atcaatttaa tttatTTAA tttgtAACAA attacaattt caatttacAA ctattAGtag	600
agtacatAGC ttacgcAGCC accttCTAGG aagggttCTG tttcaactat gtctcgAAatG	660
taataactaat agttgtatAG tcccgtAAat cctctttcta actcagctAG ggattgattG	720
tgatcaactt ctggTCTTGG taaAGCTGt tgacgatctt gaatttCGat gccatcgTCa	780
ctaccacATC caatAGTTGA atctatgAAA agttcaAAatt gactatctAA ctttggAAgt	840
ccttgattTC tacgctcAGC atttatCCAA tctctAAATA acactgataAT ctccaggCTG	900
tcttctgCTA acgaatATCT gtggTCTCCA atttGAAATC ttGCCGCGCT gaaAGCTGCC	960
tccgaactAC tGatGATCCT tGAATTGCAA gcACATCCTT caccatCCTA ctaAGTTTG	1020
gatatttgAGC tccacgATTt ctccaccAGt tcaatAGTTc cggTataCCa ttatcgTTG	1080
taatATCATC tGtaccCTGT tcaAGatATT taACAAATTc acatttattTA gaAGAGtCAA	1140
gaccaAGTTt atgtttCACT cgtccatGAG cacTacttG atttGAGAC gtttGAGGAT	1200
tttcaacatt atctaAGAAT gaatatttt catacattc ttttGCAAAG tattttatac	1260
tatTTTgaca tGttacAAAA tcaggttCTT ctTCAGGTTG aatatctAAA ttctgataAA	1320

tgcatcaac taaagcttt gtaccatatt ctttatattc ggggtgaaa agaagtgcag	1380	
ttaaataaat ttgaggaata ggaaaaaaat atttttaaa tttgtaatc ataactcaa	1440	
tagcagaggt gaataaagta tttgtttat attcagaaaa aatagatgaa atctcacata	1500	
tgtgtattaa aatttcagaa atagtaggat aatatattcc agaaaaaaatt ttagtagcat	1560	
cataaaatga tttcaaaaat attctaagtt catttacttc atccaatca ctatcattaa	1620	
ttttaattc aggataagca ttatgattat taaatagcgt agtaataggt tgtctatatg	1680	
cataagcaac ttcaaggcata tcataaaagg aattccatct agttttaca tgcttcggaa	1740	
ctttctaaa cggaagttt aatgcattac aaagttctt aaattgatta attctactac	1800	
tactattcat atgaaaaata taaaaacaag cattatcaat ttatcacaa ctatttcaa	1860	
ataatttcac accgtcacta acaaccaaatt ttaatatatg cgcggcacat ctaacatgaa	1920	
aagcatattt actaatagga caaagtctag gttctagca attaatagca tttaaattag	1980	
[0003]	cagaggcatt atctaaagta atactaacga ctttacaca aagaccaaaa aaatctaaaa	2040
	tttccaacac agtagtagca atataaattc cggtttttt ctttgacaa attttataac	2100
	caataattct ttttgtaaa ttccaattat aatcgatcca atgcgcagta acagttaaat	2160
	aatcaaaacc attaggacta cgaccatat cagtagtaat agcaactcta caatccatta	2220
	gttcaaaata ggcacgtaaa tattgacaat gttttctt aaattcgaaa atatcttt	2280
	ttaccatgct tcttgataaa cttgaaaac taggattata tgttcacga atataagcaa	2340
	taaaaccgg atgttctcca aaactaaaag gtaaaccaca aacaacaacc attttgcaa	2400
	agtttcacg atcacgatcc ttgttatagg ttgcgtgtgt aagaggacca cttgggttcg	2460
	aagtatttaa ctcacttga accatatttgc atcccttaac cgattttca acattacaat	2520
	ttccaccaac ttcaagagaa gacatataatg caaaccactc tttactatgc ttgttaatca	2580
	aatgtttttt taatcccccc gttgaacctc ccgtcccacc agatgtatat taaaatgtt	2640

gtttacaaag attacatata ctaaaagttt tttttcatt caaataacaa aatttccaca	2700
catgtgattt taaagaacgt tgtacccgg tcttacctct agttggata ataagggac	2760
gagtagttcc aaccggaggt ggagctcaa tacctatact attgactgta ttgaggtcgg	2820
cggcggggct agtcgggtgt a catctaaat ctacttctc atctaaattt aattgttcat	2880
ccgtttccac ttcttcattt tcttgattaa taccataata tcttcataag agttcatgg	2940
gagtcggact atctgaatta atatttata gaccggacg gaaaaacta gtttcattca	3000
catgcgtaaa ttcatctgta tttattctaa caagaggaat tttagattt gacgaactag	3060
cacctttgtt agttttttt actaattttt ttactgattc tactagacct tttttacttc	3120
cactttttt agaagactcc atgatataaa attataaatt ataaaatacg aaacttaaca	3180
agaacaactt acaagttaaa taataaatta aaaaaataaa tataagatta gagagtggaa	3240
cgaagttacc aaacgtttgt ataagaacaa acgattataa tggaaattaa aatattgatg	3300
[0004] tcgaaacttg aaatttgaag aagattcctc ctccgaaata caccaatga ccaaatgata	3360
taagttatac ttataaatat gaatgtaatt tggaaatata tattctctgaa aataactcaga	3420
ttatatttgt aagttgtaaa ctgttaataa aaattttttt acacacaact ctaatttata	3480
caacaaaaaaa actagccgtt ttaattttc cgttgggtt gggggggct gcactgcagc	3540
tgcaatgttt tatgcagact gcagtcgtca gtctgcaggg gggggatttt tggaaaaat	3600
ttaaatttttta aaatataatt tataaaaaat ataaatataa attatataaa atataaaaata	3660
taaaaaaattt aatataattt aaataaaccg gaccggacc ggaacggacc ggaccggAAC	3720
cggaatgaac cgggatgaac cggtaccggt acaccggtaac gaaactacgg ttccgtcccg	3780
ttccgtgtac cggttttagaa tatccggcc cgtccgttag gcaaccgaaa cggttggac	3840
cggaacgaac cggaacggta cggttgggtt accggtaacgt cccgttccgt tgcccaatct	3900
tat	3903

<210>	4	
<211>	3911	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成的多核苷酸	
<400>	4	
ttaagactgg tcaacggacc ggaaccgggt caccggaccg gaatgaaccg gtaccggacc		60
ggaccggaat ccgttgaccg gaatttgac cggtaccggg atgaaccgga ccggaattac		120
cgggatggtt catcggttcc gtcccggtcc actatataacc gggacggAAC cggaatgaac		180
cggAACggAC cgggatggAA cgggacggGA ttaacgggAC gatattttt aaattacgAA		240
aatataattt tttttatTTT ttaagtataa attaatAGTT tttaaatttA tactataatt		300
ttaacttaa gtttattttA aagatatttt attaattttt ttttattttt gttaagtttG		360
[0005] caagtaatct aataaagttt tcaaaatttA aatctttGA agtttatact ttataagtta		420
ttacttataat ttattaatAT ttatTTATA agttatattt attaacttGTA tcttgtaat		480
ataaaataAA taaaatttGT aattttAAA aagtaAAattt aattacaAAA attaaaaAAat		540
atcaatttAA tttatTTAA tttgtAACAA attacaattt caatttACAA ctattAGtag		600
agtacatAGC ttacgcAGCC accttctAGG aagggttctG tttcaactat gtctcgAAatG		660
taatactaat agttgtatAG tcccgtAAat cctcttctA actcagctAG ggattgattG		720
tgatcaactt ctggcttGG taaagctcgt tgacgatctt gaattcgtat gccatcgtca		780
ctaccacATC caatAGttGA atctatgAAA agttcaAAattt gactatctAA ctttggAAgt		840
ccttgatttC tacgctcAGC atttatccAA tctctAAata acactgataat ctccaggctG		900
tcttctgcta acgaatatct gtggctcCA attgaaatC ttgccgcgt gaaagctGCC		960
tccgaactac tgatgatcct tgaattgCAA gcacatcctt caccatccta ctaagtttG		1020

gatattgagc tccacgattt ctccaccagt tcaatagttc cggtataccca ttatcggttgc	1080	
taatatcatc tgtaccctgt tcaagatatt taacaaattc acatttatta gaagagtcaa	1140	
gaccaagttt atgtttcact cgtccatgag cacctacttg attttagac gtttgaggat	1200	
tttcaacatt atctaagaat gaatatttcatcatacatttc ttttgcggaaat tattttatac	1260	
tattttgaca ttttacccaa tcaggttctt cttcagggtt aatatctaaa ttctgataaa	1320	
tgcattcaac taaagctttt gtaccatatt ctttatattc ggggttgaaa agaagtgcag	1380	
ttaaataaaat ttgaggaata ggaaaaaaat atttttaaa ttttgcggaaat ataaacttcaa	1440	
tagcagaggt gaataaaagta ttttttttattcagaaaa aatagatgaa atctcacata	1500	
tgtgtattaa aatttcagaa atagtaggtt aatatattcc agaaaaaaatt ttagtagcat	1560	
cataaaaatga tttcaaaaaat attctaagtt catttacttc atcccaatca ctatcattaa	1620	
ttttaaattc aggataagca ttatgattat taaaatgcgt agtaatagggt tgtctatatg	1680	
[0006]	cataagcaac ttcaagcata tcataaaagg aattccatct agttttaca tgcttcggaa	1740
	cttttctaaa cggaagttt aatgcattac aaagttctt aaattgatta attctactac	1800
	tactattcat atgaaaaata taaaacaag cattatcaat ttatcacaat ctatccaa	1860
	ataatttcac accgtcacta acaaccaat ttaatataatgcgcggcacat ctaacatgaa	1920
	aagcatattt actaatagga caaagtcttag gttcttagcaa attaatagca tttaaatttag	1980
	cagaggcatt atctaaagta atactaacgtt ctttatcaca aagaccaaaa aaatctaaaa	2040
	tttccaaacac agtagtagca atataaattc cggtttttt ctttgcggaa attttataac	2100
	caataattct ttttgtaaa ttccaaattat aatcgatcca atgcgcagta acagttaaat	2160
	aatcaaaaacc attaggacta cgaccatat cagtagtaat agcaactcta caatccattt	2220
	gttcaaaata ggcacgtaaa tattgacaat gttttcttggaaatcgaaa atatctttttt	2280
ttaccatgtc ttttgcggaaat ctttgcggaaac taggattata ttttgcggaaatataagcaa	2340	

taaaaacccgg atgttctcca aaactaaaag gtaaaccaca aacaacaacc attttgcaa	2400
agtttcacg atcacgatcc ttgttatagg ttcgatgtgt aagaggacca cttgggttcg	2460
aagtatttaa ctcactttga accatatttgc atcccttaac cgattttca acattacaat	2520
ttccaccaac ttcaagagaa gacatataatg caaaccactc tttactatgc ttgttaatca	2580
aatgtttttt taatcccccc gttgaacctc ccgtcccacc agatgtatat ttaaaatgtt	2640
gtttacaaag attacatata ctaaaagttt ttcttcattt caaataacaa aattttccaca	2700
catgtgattt taaagaacgt tgtacccctt tcttacactt agtttggata ataaggggac	2760
gagtagttcc aaccggaggt ggagcttcaa tacctatact attgactgta ttgaggtcgg	2820
cggcggggct agtcgggtgtt tcatctaaat ctacttcttc atctaaattt aattgttcat	2880
ccgtttccac ttcttcattt tcttgcattt taccataata tctttcatag agttcatgg	2940
gagtcggact atctgaatta atatttatag gaccgggacg ggaaaaacta gtttcattca	3000
[0007] catgcgtaaa ttcatctgtt tttattctaa caagaggaat tttagattt gacgaactag	3060
cacctttgtt agtttttttta actaattttt ttactgattt tactagaccc tttttacttc	3120
cacttttttta agaagactcc atgatataaa attataaattt ataaaatacg aaacttaaca	3180
agaacaactt acaagttaaa taataaattt aaaaaataaa tataagatta gagagtggaa	3240
cgaagttacc aaacgtttgtt ataagaacaa acgattataa tgaaaattt aatattgatg	3300
tcgaaacttg aaatttgaag aagattcctc ctccgaaata caccaaatga ccaaattgata	3360
taagttatac ttataaataat gaatgttattt tgaaaatata tattctctgtt aataactcaga	3420
ttatattttgt aagttgtaaa cttgtttaataa aaattttttt acacacaact ctaatttata	3480
caacaaaaaaa actagccgtt ttaattttt cgtttgggtt ggggggggct gcactgcagc	3540
tgcagtgcattt tatgcagact gcagtcgtca gtctgcagg gggggatttt tgaaaaaaat	3600
ttaaattttta aaatataattt tataaaaaat ataaatataaa attatataaa atataaaaata	3660

taaaaaaatt aatatataatt aaataaaaccg gaccggaacc ggaacggacc ggaccggaac	3720
cggaatgaac cggatgaac cggtaccggt acaccggtaac gaaactacgg ttccgtcccg	3780
ttccgtgtac cggttagaa tatccggcc cgtcccgtag gcaaccgaaa cggacgaaac	3840
cggaacgaac cggaacggta cggaaacggt accggtaacgt cccgtccgt tgcccaagtct	3900
tattctggat a	3911
<210> 5	
<211> 9012	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸	
<400> 5	
tcttgatttc ttgaaacaaa ggtttggc ctttacttc ttgatatgt aagttgcaat	60
[0008]	
ctttataact ttctattgct ttgcttagtgt ttttgtata tacaggggggt ggagtttagag	120
ggtaagttac gcatttagtc gtaactttag tcaaacttcg taataattta gtaagttaaa	180
atatattaga aatttcaga attcataaac tttaaatttt aaatttgac ttgcgttgt	240
gtgactatac aattacagaa attcagagt gccatttttg aaagagaggg tggaatttgt	300
gtaagtttg ttcccttc gttcttgata tataaagttt caatctttaa cattctttgt	360
tcactttcta taggttgct aggttcgggtt aaattcagta gcttttagttt aaaccctatgt	420
cggaatagag aatgtgtaaa cttaaactt caaattttgg ctccgcatac gactagcgac	480
tatataataa taggaattga gcacttggtt tttgtatata gttctatgt gtaccaaaat	540
tagaaaatca ggcgatttataa ataatttgt tgactaaata tagaatgcat ccattacccc	600
caaaaaagtgt gattccactg tcataggagg tttttttat ttcatttat ttgtgccttc	660
aataatgttag agtagttta caaagatcct ttctttgtga cacatggtag taatattgt	720

gattttgctg tagtttgaaa gttataaaagt tcaaatttatt tatctggagg gtaggggggtg	780	
gggggtgtcta taatgccagg ttatggttt acgtgaacct caataaatta ttggtagaat	840	
ctaagaaatc cactcagtgt tccgtgcgggt ggtcttgctt ttgatttcag catcaactgg	900	
agttgattgt gtttagatta tcacattatt ctgtggctgt aactgtatcc ttgttagttg	960	
cttgtttct acactgttgtt ttcccttctt ttatacctat tttgatatgt tgtaactcgaa	1020	
cgagggtcat cggggaaacaa cctcttacc tccgtgaggt agagctatgg tctgtgtcca	1080	
ccttaccctc cccagatccc tctttagga tttcactata ttgtaatatt aacttgaggt	1140	
cactatagga gctcaaaaac ttctaattt gaatcaatgt ctggttatac ttttttgc	1200	
ataactgtat ctcaaattgtg gtgtttgggt tatctcattt tgcagaagtc aagaaacagg	1260	
ttactcctgt ttgagtgagg aaaagttgggt ttgcctgtct gtggctttt tataatcttt	1320	
ttctacagaa gagaaagtggtt gtaattttgtt ttgagagtgg aaatattctc tagtggaaat	1380	
[0009]	ctactaggag taatttattt tctataaact aagtaaagtt tggaaggta caaaaagaaaa	1440
	gacaaaaatc ttgaaattgt tttagacaac caaggtttc ttgctcagaa tgtctgtgc	1500
	cttggatgg gttgtttctc cttgtgaegt ctcaaattggg acaagttca tggaatcagt	1560
	ccgggaggaa aaccgtttt ttgattcatc gaggcatagg aatttgggtt ccaatgagag	1620
	aatcaataga ggtggtgaa agcaaactaa taatggacgg aaatttctg tacggctgc	1680
	tattttggct actccatctg gagaacggac gatgacatcg gaacagatgg tctatgtgt	1740
	ggttttgagg caggcagcct tggtaagag gcaactgaga tctaccaatg agttagaagt	1800
	gaagccggat atacctattc cggggaaattt gggcttgggtt agtgaagcat atgataggt	1860
	tggtaagta tgtgcagagt atgcaaagac gtttaactta gtttagcttc ttcaatctat	1920
	tcattcgttt accaaatattt atttgtaag cactaattat gaatataat atgttcatgt	1980
tattgtgaa gacaaaattt gatcttggtt tggttattca ggaactatgc taatgactcc		
2040		

	tctgggaata aaattgcaga actcaattta gccgttgtt gaaatcctgc ttgtttttag	3420
	agcttaaagc tcatttagtta gtcgttagag acgaagaaat tcttcgttgtt ccatctttat	3480
	tccaccttaa agttgtgata ttttcattat tggtacattt ggcaaaaaca cctgaacaaa	3540
	tttatgacgg atgccttttga aagtcacta tacctgtcta gtcggcggtt atcacatttca	3600
	tttgacatat tgaactttga aacatgatat cagctctaga cagtgacgag ccatgatcaa	3660
	tttcttcct ttattcttc tttggaagtgcgtttag gcttccgttg ttcttatata	3720
	ttgctttccc tgcagtgcga gaagaggaag agtctacttg cctcaagatg aattagcaca	3780
	ggcaggctca tccgatgaag atatatttgc tggaagggtg accgataaat ggagaatctt	3840
	tatgaagaaa caaatacata gggcaagaaa gttcttgat gaggcagaga aaggcgtgac	3900
	agaatttgagc tcagctagta gattccctgt aagcatttgt aaactcttta gtttatgaa	3960
	atgattcttt ttcgcgtta ttagatgaat atggttgtt gtgttgagta ttcttaggtc	4020
[0011]	gatgaagttt agacaagggt ttttaagttt taacgacttt tacgggtgc catgttatct	4080
	gctacctaattt ctttaggtgt tgaccggaag ggctagaatt ttaacctcat gttcacccta	4140
	ccaaaccaaga aatgaacctc gcatagagct cgtagttatg aatatttgct ttggcatgac	4200
	attgtgcgga tcatgaaatg tcttagattat tatggaaaaa tcattctatt acatcgaata	4260
	gatacatttag atctaagaag cacggcgtgt tgtaaatgaaatg aaattctata gctcagatct	4320
	tttagtttctt ctgaacgacc tacaaaccaa cggataacct tgtattgagc ttgtcggttct	4380
	cagtatttgc actaacatttta cgtcgtgtgg atcctgaaat ggcttggatt gctattatttca	4440
	tggatttaag actggtaac ggaccggaac cgggtcaccg gaccggaatg aaccggtacc	4500
	ggaccggacc ggaatccgtt gaccggaatt ttgaccggta ccggatgaa ccggaccggaa	4560
	attaccggga tggttcatcg gttccgtccc gttccactat ataccgggac ggaaccggaa	4620
	tgaaccggaa cggaccggaa tggaacggga cgggatttaac gggacgatattttaaatt	4680

acgaaaatat aattttttt atttttaag tataaattaa tagttttaa atttatacta	4740
taatttttaa cttaaagttt a tttaaagat attttattaa ttttttttta ttattgttaa	4800
gttgcaagt aatctaataa agtttcaaa atttaaatct ttgaagttt atactttata	4860
agttattact tatatttatt aatatttatt ttataagtta tatttataac ttgtatctg	4920
taaatattaa ataaataaaaa ttgttaattt aaaaaaagta aattaaatta caaaaattaa	4980
aaaatatcaa tttaatttat ttaaatttgt aacaattac aatttcaatt tacaactatt	5040
agtagagtac atagcttacg cagccaccc tttaggaaggg ttctgtttca actatgtctc	5100
gaatgttaata ctaatagttg tatagtcgg taaatcctct ttcttaactca gctaggatt	5160
gattgtgatc aacttctggt ctggtaaag ctgcggacg atcttgaatt tcgatggcat	5220
cgtcaactacc acatccaata gttgaatcta tgaaaagttc aaattgacta tctaactttg	5280
gaagtccttg atttctacgc tcagcattta tccaatctct aaataacact gatatctcca	5340
[0012] ggctgtcttc tgctaacgaa tatctgttgt ctccaatttg aaatcttgcc gcgctgaaag	5400
ctgcctccga actactgatg atccttgaat tgcaagcaca tccttcacca tcctactaag	5460
tttggatat tgagctccac gatttctcca ccagttcaat agttccggta taccattatc	5520
gttggtaata tcatctgtac cctgttcaag atatthaaca aattcacatt tattagaaga	5580
gtcaagacca agtttatgtt tcactcgcc atgaggaccc acttgatttg tagacgtttg	5640
aggattttca acattatcta agaatgaata tttatcatac atttcttttgc caaagtattt	5700
tatactattt tgacatgtta ccaaattcagg ttcttcttca ggttgaatat ctaaattctg	5760
ataaatgcat tcaactaaag ctttgttacc atattcttta tattcgggggt tgaaaagaag	5820
tgcatggaaa taaatttgag gaataggaaa aaaatatttt ttaaatttttgc taatcataac	5880
ttcaatagca gaggtgaata aagtatttgtt tttatattca gaaaaatag atgaaatctc	5940
acatatgtt attaaaattt cagaaatagt aggataatatttccagaaaa aaatttttagt	6000

agcatcataa aatgatttca aaaatattct aagttcattt acttcatccc aatcactatc	6060	
attaatttt aattcaggat aagcattatg attattaaat agcgtagtaa taggttgtct	6120	
atatgcataa gcaacttcaa gcatatcata aaaggaattc catctagttt ttacatgctt	6180	
cggaaactttt ctaaacggaa gtttaaatgc attacaaagt tctttaattt gattaattct	6240	
actactacta ttcatatgaa aaatataaaa acaagcatta tcaattttat cacaactatt	6300	
ttcaaataat ttcacaccgt cactaacaac caaatttaat atatgcgcgg cacatctaacc	6360	
atgaaaagca tatttactaa taggacaaag tcttaggtct agcaaattaa tagcattaa	6420	
attagcagag gcattatcta aagtaatact aacgacttta tcacaaagac caaaaaaaatc	6480	
taaaatttcc aacacagtag tagcaatata aattccggtt ttttctttt gacaaatttt	6540	
ataaccaata attctttttt gtaaattcca attataatcg atccaatgcg cagtaacagt	6600	
taaataatca aaaccattag gactacgacc catatcgta gtaatagcaa ctctacaatc	6660	
[0013]	cattagttca aaataggcac gtaaatattt acaatgtttt tcttgaattt cgaaaatatc	6720
	tcttttacc atgcttcttg ataaaccttg aaaacttagga ttatatgttt cacgaatata	6780
	agcaataaaaa cccggatgtt ctccaaaact aaaaggtaaa ccacaaacaa caaccatttt	6840
	tgcaaagttt tcacgatcac gatcctgtt ataggttcga tgtgtaaagag gaccacttgg	6900
	gttcgaagta tttaactcac tttgaaccat atttgatctt ctaaccgatt cttcaacatt	6960
	acaatttcca ccaacttcaa gagaagacat atatgcaaac cactcttac tatgctgtt	7020
	aatcaaatgt ttttttaatc cccccgttga acctcccgtc ccaccagatg tatatttaaa	7080
	atgttgttta caaagattac atatactaaa agtttttct tcattcaaattt aacaaaattt	7140
	ccacacatgt gatttaaag aacgttgtac cttggcttta cctctagttt gaataataag	7200
	gggacgagta gttccaaccg gaggtggagc ttcaatacct atactattga ctgtatttag	7260
	gtcggcggcg gggctagtcg gtgtatcatc taaatctact tcttcatcta aatttaattt	7320

ttcatccgtt tccacttctt cattttctt attaatacca taatatctt catagagttc	7380
atggggagtc ggactatctg attaatatt tataggaccg ggacggaaa aactagttc	7440
attcacatgc gtaaattcat ctgtattt tctaacaaga ggaattttat atttagacga	7500
actagcacct ttgttagtt ttttaactaa ttttttact gattctacta gaccttttt	7560
acttccactt tttttagaag actccatgt ataaaattt aaattataaa atacgaaact	7620
taacaagaac aacttacaag ttaaataata aattaaaaaa ataaatataa gattagagag	7680
tgaacgaag ttaccaaacg ttgtataag aacaaacgt tataatgaaa attaaaat	7740
tgatgtcgaa acttgaatt tgaagaagat tcctcctccg aaatacacca aatgaccaaa	7800
tgatataagt tatacttata aatatgaatg taatttgaa atatatattc tctgaaatac	7860
tcagattata ttgttaagtt gtaaacttgt aaataaaatt ttttacaca caactcta	7920
ttataacaaca aaaaaactag cggtttaat ttttgcgtt ggggtggggg gggctgcact	7980
[0014]	
gcagctgcag tgcttatgc agactgcagt ctgcagtctg cagggcggg attttgaaa	8040
aaaatttaaa ttttaaaata taatttataa aaaatataaa tataaattt ataaaatata	8100
aaatataaaa aaattaatat atattaaata aaccggaccg gaaccgaaac ggaccggacc	8160
ggaaccggaa tgaaccggaa tgaaccgta ccgtacacc ggtacgaaac tacggttccg	8220
tccgttccg tgtaccggtt tagaatatcc cggccgtcc cgtaggcaac cgaaacggaa	8280
cgaaccggaa cgaaccggaa cggtaccgga acggtaaccg tacgtccgt tccgttgc	8340
agtcttattc tggatatggc aaaaccattt tatttagtact agatatcgaa taactacatt	8400
tgaccctaca agtaccctgg gttggagttt caatatccca tacctcgat cttagtgc	8460
ctcttattta tcaccttgc ctactattct ggcaaaataa cctcactcg tactcggtgt	8520
tttccaggta tggcatctt tggcttgc ccgcaaaata ctagatgaga ttgaagccaa	8580
tgactacaac aacttcacaa agagagcata tgtgagcaaa tcaaagaagt tgattgcatt	8640

acctattgca tatgcaaaaat ctcttgcc tcctacaaaa actgcctctc ttcaaaagata	8700
aagcatgaaa tgaagatata tatatatata tatatagcaa tatacattag aagaaaaaaaa	8760
ggaagaagaa atgttgttgt attgatataa atgtatatca taaatattag gttgttagtaa	8820
cattcaatat aattatctct tggatgttgtt gtatcttac tttatctcaa ctcccttgag	8880
agaactttcc gtagttatct gctttgcact tggttactca gaattttact gtgggcatga	8940
taattgatat accaaattca gtttgattc tatcgaaaaa tttgttattt catttttttg	9000
gggggaaagg aa	9012

<210> 6
 <211> 5102
 <212> DNA
 <213> Solanum lycopersicum

[0015] <400> 6

tcttgatttc ttgaaacaaaa ggtttgttcc ctttcacttc ttgatatgtt aagttgcaat	60
ctttataact ttcttattgtt ttgcttagtgt tttgttata tacagggggt ggagtttagag	120
ggtaagttac gcatttagtc gtaactttag tcaaacttcg taataatttta gtaagttaaa	180
atatatttta aattttcaga attcataaac tttaaattttt aaattttgc ttgcctttgt	240
gtgactatac aattacagaa attcagatgt gccattgtt aaagagaggg tgaaatttgt	300
gttaagtttgc ttccctttca gttcttgata tataaagtttgc caatctttaa cattctttgt	360
tcactttcta taggtttgtt aggttcgggtt aaattcagta gcttttagttt aaaccctatgt	420
cggaatagag aatgtgtaaa cttaaactt caaattttgg ctccgcatac gactagcgac	480
tatataataa taggaatttgc gcaattggct ttgttatata gcttctatgt gtacccaaat	540
tagaaaaatca ggcgattatt ataattttgt tgactaaata tagaatgcattt ccattacccc	600
caaaaaagtgt gattccactg tcataggagg ttttttttat ttcattttat ttgtgttttc	660

aataatgtag agtagttta caaagatcct ttctttgtga cacatggtag taatattgt	720
gattttgctg tagtttggg gttataaagt tcaaattatt tatctggagg gtagggggtg	780
gggggtgtcta taatgccagg ttatggttt acgtgaacct caataaatta ttggtagaat	840
ctaagaaaatc cactcagtgt tccgtcggt ggtttgtt ttgatttcag catcactgg	900
agttgattgt gtttagatta tcacattatt ctgtggctgt aactgtatcc ttgttagttg	960
ctttgttct acactgttgtt ttccctctt ttatacctat ttgatgtatgt tgtaactcgaa	1020
cgagggtcat cggggAACAA ccttttacc tccgtgaggt agagctatgg tctgtgtcca	1080
ctctaccctc cccagatccc tttttagga tttcactata ttgtatatt aacttgaggt	1140
cactatagga gctcaaaaac ttctaattt gaatcaatgt ctggttatac tttttgtc	1200
ataactgtat ctcaaatgtg gtgttggtt tatctcattt tgcagaagtc aagaaaacagg	1260
ttactcctgt ttgagtgagg aaaagttgg ttgcctgtct gtggctttt tataatctt	1320
[0016]	
ttctacagaa gagaaagtgg gtaattttgt ttgagagtgg aaatattctc tagtggaaat	1380
ctactaggag taatttattt tctataaact aagtaaagtt tggaaaggta caaaaagaaa	1440
gacaaaaatc ttgaaattgt tttagacaac caaggtttc ttgctcagaa tgtctttgc	1500
cttgttatgg gtttttctc cttgtgacgt ctcaaatggg acaagttca tggaatcagt	1560
ccgggaggga aaccgtttt ttgattcatac gaggcatagg aatttgggtt ccaatgagag	1620
aatcaataga ggtggtgaa agcaaactaa taatggacgg aaatttctg tacggctgc	1680
tattttggct actccatctg gagaacggac gatgacatcg gaacagatgg tctatgtatgt	1740
ggttttgagg caggcagcct tggtaagag gcaactgaga tctaccaatg agttagaagt	1800
gaagccggat atacctattc cggggattt gggcttggta agtgaagcat atgataggt	1860
tggtaagta tgtcagagt atgcaaagac gtttaactta gtttagcttc ttcaatctat	1920
tcattcgttt accaaatatt atttggtaag cactaattat gaatatataat atgttcatgt	1980

tatccggttt atatttttt tatgtcaaca taatagtata aagtaattag tatcagtcgt	3360	
tctggaaata aaattgcaga actcaattt a gccgtgtgt gaaatcctgc ttgttttag	3420	
agcttaaagc tcatttagtta gtcgttagag acgaagaaat tctcgttgt ccatcttat	3480	
tccaccta a agttgtgata tttcattat tggtacattt ggcaaaaaca cctgaacaaa	3540	
tttatgacgg atgcctttt aaagtcaacta tacctgtcta gtcggcggtt atcacattc	3600	
tttgacatat tgaactttga aacatgatat cagctctaga cagtgacgag ccatgatcaa	3660	
tttcttcct ttattcttc ttggaaagtgc cggtatgg gctccgtt ttcttatata	3720	
ttgctttccc tgcagtgcga gaagaggaag agtctacttg cctcaagatg aattagcaca	3780	
ggcaggtcta tccgatgaag atatattgc tggaagggt accgataaat ggagaatctt	3840	
tatgaagaaa caaatacata gggcaagaaa gttcttgat gaggcagaga aaggcgtgac	3900	
agaattgagc tcagcttagt gattccctgt aagcattcgt aaactctta gttttatgaa	3960	
[0018]	atgattctt ttgcgttta ttagatgaat atggttgctt gtgttagtta tttcttaggtc	4020
	gatgaagttt agacaagggt ttttaagttt taacgacttt tacggggtgc catgttatct	4080
	gctaccta atcttaggtgt tgaccggaa ggctagaatt ttaacctcat gttcacccata	4140
	ccaaaccaaga aatgaaccc tc gcatagagct cgtatgtatg aatatttgc ttggcatgac	4200
	attgtgcgga tcatgaaatg tcttagatta tatggaaaaa tcattctatt acatcgata	4260
	gatacattt atctaagaag cacggcggtgt tgtaaatgaa aaattctata gctcagatct	4320
	ttagtttct ctgaacgacc tacaacccaa cggataacct tgtattgagc ttgtcggttct	4380
	cagtatttgc actaacat t cgtcggtgg atcctgaaat ggcttggatt gctattttc	4440
	tggatatggc aaaaccattt tattagttact agatatcgaa taactacatt tgaccctaca	4500
	agtaccctgg gttggaggtt caatatccca tacctcgat cttagtgtt ctcttatttt	4560
	tcaccttgc ctactattct ggcaaaaataa cctcactcgat tactcggtgt ttccaggtt	4620

tggccatctt tggctttgtt ccgcacaaaata ctagatgaga ttgaagccaa tgactacaac	4680
aacttcacaa agagagcata tgtgagcaaa tcaaagaagt tgattgcatt acctattgca	4740
tatgcaaaaat ctcttgtgcc tcctacaaaa actgcctctc ttcaaagata aagcatgaaa	4800
tgaagatata tatatatata tatatagcaa tatacattag aaaaaaaaaa ggaagaagaa	4860
atgttggtgtt attgatataa atgtatatac taaaatattag gttgttagtaa cattcaatat	4920
aattatctct tttttttttt gtatcttcac tttatctcaa ctcccttgag agaactttcc	4980
gtagttatct gctttgcact tggttactca gaattttact gtgggcattga taattgatata	5040
accaaattca gttttgattt tttttttttt cattttttttt gggggaaagg	5100
aa	5102

[0019]

<210> 7
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成的多核苷酸

<400> 7

tctggataat ctggata

17

<210> 8

<211> 3994

<212> DNA

<213> 番茄属

<400> 8

gatttcacta tattgttaata ttaacttgag gtcactatag gagctcaaaa acttctaatt

60

ttgaatcaat gtctggttat actttttttt tcataactgt atctcaaatg tggtgtttgg

120

tttatctcat tttgcagaag tcaagaaaca gtttactcct gtttggatgtga ggaaaagttg

180

gtttgcctgt ctgtggcttt tttataatct ttttctacag aagagaaagt gggtaatttt

240

gttgagagt ggaaatattc tctagtggga atctactagg agtaatttat tttctataaa	300
ctaagtaaag tttggaaggt gacaaaaaga aagacaaaaa tcttggaaatt gtttttagaca	360
accaaggttt tcttgctcag aatgtctgtt gccttggat gggttgttc tccttgcac	420
gtctcaaatg ggacaagttt catggaaatca gtccgggagg gaaaccgttt ttttggattca	480
tcgaggcata ggaatttgggt gtccaatgag agaatcaata gaggtggtgg aaagcaaact	540
aataatggac ggaaattttc tgtacggtct gctattttgg ctactccatc tggagaacgg	600
acgatgacat cggaacagat ggtctatgat gtgggtttga ggcaggcagc cttggtaag	660
aggcaactga gatctaccaa tgagttagaa gtgaagccgg atatacctat tccggggaaat	720
ttgggcttgc tgagtgaagc atatgatagg tgtggtaag tatgtgcaga gtatgcaaag	780
acgtttaact taggttagct tcttcaatct attcattcgt ttaccaaata ttattttgta	840
agcactaatt atgaatataat atatgttcat gttattgtat aagacaaaat ttgatcttg	900
[0020]	
tttggtttatt caggaactat gctaattgact cccgagagaa gaagggttat ctaggcaata	960
tatggtgagg tttctagcca ttaataaca gttacgcgca caaacacata tgattaatcg	1020
gggacgagaa aaaaagaaaat gaagttttag ttttgggggt catatgtat aggttaatcc	1080
gagcttgact agcttgagat gtttattgtc atatcatgct caataactaac caaaacactg	1140
aaaaagaact tgatttatatt tacatactaa tattttcatt tgcgttgctg ttcacatttt	1200
tacctatgga actgggtttt gtgatttgc ttacttcata ttgcgtgttataaaaatata	1260
tcattcctcc cttttctcc acttcaagct ttactgtat gttgaaagg gaaactcctt	1320
ttaatgattt catatataaa cgaacttctt gagttgaata gtttctcatt atgatctgtt	1380
taaacagtat ggtgcagaag aacagatgaa cttgttgatg gcccaaacgc atcatatatt	1440
accccgccag ccttagatag gtggggaaat aggctagaag atgtttcaa tgggcggcca	1500
tttgacatgc tcgatggtgc tttgtccat acagttctt acttccagt tgcatttcag	1560

	gttagtctac caattctatg gtcttatat ttgttcaatt tgcgttgat gtcactttg	1620
	ctgaggcctt ttctaatgc ttacttcagc cttagcggaaa tgttttagt tgaatctcta	1680
	gttctgtctc ctatatctgt ttctctcgct ctagatacta cacatacttc atttctgttt	1740
	taacattta ttctgtttt ggtgttgttt tgtatgtcaa tcataatattt ggaacagaat	1800
	cattattagt tcacatgatt tcatttgctt tcttcaatag cgtaattgtc taaccttcca	1860
	atataatgtt cagccattca gagatatgat tgaaggaatg cgtatggact tgagaaaatc	1920
	gagatacaaa aacttcgacg aactataacct ttattgttat tatgttgctg gtacgggtgg	1980
	gttgcgttgcgt gttccaatta tgggtatcgc ccctgaatca aaggcaacaa cagagagcgt	2040
	atataatgct gcttggctc tggggatcgc aaatcaatttta actaacatac tcagagatgt	2100
	tggagaagag taagtacaaa gctgtgtttt acgcacataa tttttttgc taatatttac	2160
	atatacaaaat ataggaaaat gagctcttcg gttatccgtt ttatattttt tttatgtcaa	2220
[0021]	cataatagta taaagttaatt agtatcagtc gttctggaa taaaattgca gaactcaatt	2280
	tagccgtgtt gtgaaatcct gcttggttt agagcttaaa gctcatttgcgtt tagtcgttag	2340
	agacgaagaa attttcggtt gtccatctt attccacccaa aagttgtga tattttcatt	2400
	attggtacat ttggcaaaaa cacctgaaca aatttatgac ggtgcctt tgaaagtac	2460
	tataacctgtc tagtcggcgt ttatcacatt tcttgcacat attgaactttt gaaacatgtat	2520
	atcagctcta gacagtgcacg agccatgatc aatttcttc ctatttatttctt tctttggaaag	2580
	tgccgttattt aggctccgt tggcttata tattgcattt cctgcagtgc cagaagagga	2640
	agagtctact tgccctcaaga tgaatttagca caggcaggcgtc tatccgtatc agatataattt	2700
	gctggaaagg tgaccgataa atggagaatc tttatgtt aacaaataca tagggcaaga	2760
	aagttctttt atgaggcaga gaaaggcgtc acagaatttgc gctcagctg tagattccct	2820
	gtaaggcattc gtaaaactttagt tttttatgcgtt aatgatttgc tttttccgtt tattatgtt	2880

atatggttgc ttgtgtttag tatttctagg tcgatgaagt tgagacaagg gtttttaagt	2940
tttaacgact tttacggggt gccatgttat ctgctaccta atcttaggta gttgaccgga	3000
agggctagaa ttttaacctc atgttacccc taccaaccaa gaaatgaacc tcgcatacgag	3060
ctcgtagtta tgaatatttg ctttggcatg acattgtgcg gatcatgaaa tgtcttagat	3120
tatatggaaa aatcattcta ttacatcgaa tagatacatt agatctaaga agcacgccgt	3180
gttgtaaatg agaaattcta tagctcagat ctttagttt ctctgaacga cctacaaacc	3240
aacggataac cttgtattga gcttgcgtt ctcagtattt gcactaacat tacgtcgtgt	3300
ggatcctgaa atggcttgaa ttgcttattat tctggatatg gcaaaaccat tttatttagta	3360
ctagatatcg aataactaca tttgacccta caagtaccct gggttggagt tacaatatcc	3420
catacctcgt atcttagtg ttctttattt tattcacctt gtctactatt ctggcaaaat	3480
aacctcactc gttactcggt gttttccagg tatggcattc tttggcttt taccgcaaaa	3540
[0022]	
tactagatga gattgaagcc aatgactaca acaacttcac aaagagagca tatgtgagca	3600
aatcaaagaa gttgattgca ttacctattt catatgcaaa atctttgtt cttcctacaa	3660
aaactgcctc tcttcaaaga taaagcatga aatgaagata tatatatata tatatatagc	3720
aatatacatt agaagaaaaa aaggaagaag aaatgttggtt gtattgatata aatgtatata	3780
cataaatatt aggtttagt aacattcaat ataattatct cttgttagttt ttgtatctc	3840
actttatctc aactcctttg agagaacttt ccgttagttt ctgcttgca cttggttact	3900
cagaatttta ctgtggcat gataattgat ataccaaatt cagtttgat tctatcgaaa	3960
aatttggat tacattttt tggggggaaa ggaa	3994

<210> 9

<211> 3993

<212> DNA

<213> 番茄属

<400> 9		
gatttcacta tattgtataa ttaacttgag gtcactatag gagctcaaaa acttctaatt	60	
ttgaatcaat gtctggttat acttttttg tcataactgt atctcaaatg tggtgttgg	120	
tttatctcat tttgcagaag tcaagaaaca gtttactcct gttttagtga ggaaaagttg	180	
gtttgcctgt ctgtggctt tttataatct ttttctacag aagagaaagt gggtaatttt	240	
gtttgagagt ggaaatattc tctagtggga atctactagg agtaatttat tttctataaa	300	
ctaagtaaag tttggaaggt gacaaaaaga aagacaaaaa tcttggatt gttttagaca	360	
accaaggttt tcttgctcag aatgtctgtt gccttggatt gggttgttc tccttgac	420	
gtctcaaatg ggacaagttt catggaaatca gtccgggagg gaaaccgtt ttttGattca	480	
tcgaggcata ggaatttgggt gtccaatgag agaatcaata gaggtggtgg aaagcaaact	540	
aataatggac ggaaattttc tgtacggct gctattttgg ctactccatc tggagaacgg	600	
[0023]	acgatgacat cggaacagat ggtctatgat gtgggttga ggcaggcagc cttggtaag	660
	aggcaactga gatctaccaa tgagttagaa gtgaagccgg atataccat tccgggaat	720
	ttgggcttgt tgagtgaagc atatgatagg tgtggtaag tatgtgcaga gtatgcaaag	780
	acgtaact taggtagt tcttcaatct attcattcgt ttaccaaata ttatttgta	840
	agcactaatt atgaatatat atatgttcat gtattgtat aagacaaaaat ttgatcttg	900
	ttgttttatt caggaactat gctaattgact cccgagagaa gaaggcgtat ctggcaata	960
	tatggtgagg tttctagcca ttaataaca gttacgcgca caaacacata tgattaatcg	1020
	gggacgagaa aaaaagaaat gaagttgag tttttagggc catatgtat aggtaaatcc	1080
	gagcttgact agcttgagat gtttattgtc atatcatgct caataactaac caaaacactg	1140
	aaaaagaact tgattatatt tacatactaa tatttcatt tgcgttgctg ttcacatttt	1200
	tacctatgga actgggtttt gtgattgtt atacttcata ttgcgttta ataaaatata	1260

tcattcctcc cttttctcc acttcaagct ttactgttagt gttgaaaggg gaaaactcctt	1320
ttaatgattt catatataaa cgaacttctt gagttgaata gtttctcatt atgatctgtt	1380
taaacagttt ggtgcagaag aacagatgaa cttgttgatg gcccaaacgc atcatatattt	1440
accccgccag ccttagatacg gtggaaaaat aggctagaag atgtttcaa tgggcggcca	1500
tttgacatgc tcgatggtgc tttgtccat acagttctta actttccagt tgatattcag	1560
gttagtctac caattctatg gtctttat ttgttcaatt tgcgttgat gtcactttt	1620
ctgagggctt ttctaatagc ttacttcagc ctagcggaaa tgttttagt tgaatctcta	1680
gttctgtctc ctatactgtt ttctctcgct ctagatacta cacatacttc atttctgttt	1740
taacatttttta ttcgtctttt ggtgttggttt tgtatgtgaa tcatatattt ggaacagaat	1800
cattatttagt tcacatgatt tcatttgctt tcttcaatag cgtaattgtc taaccttcca	1860
atatatgttgc cagccattca gagatatgtat tgaaggaatg cgtatggact tgagaaaatc	1920
[0024]	
gagatacaaaa aacttcgacg aactataacctt ttattgttat tatgttgctg gtacgggttgg	1980
gttgatgagt gttccaaatattt tgggtatcgcc ccctgaatca aaggcaacaa cagagagcgt	2040
atataatgttgc tggggatcgca aatcaattttt actaacatac tcagagatgt	2100
tggagaagag taagtacaaa gctgtgtttt acgcacataa tttttttgc taatattttac	2160
atataaaaaat ataggaaaat gagcttcgat gttatccggat ttatattttt tttatgtcaa	2220
cataatagta taaagtaattt agtacgttc gttctggaa taaaattgca gaactcaattt	2280
tagccgtgtt gtgaaatcct gctgttttgggg agagctttttt gctcattttt tagtcgttag	2340
agacgaagaa atttttcgtt gtccatctttt attccacattt aaagttgttga tattttcattt	2400
attggtacat ttggcaaaaaa cacctgaaca aattttatgac ggatgccttt tgaaagtac	2460
tatacctgttc tagtcggcgat ttatcacattt tctttgacat attgaactttt gaaacatgtat	2520
atcagctcta gacagtgcacg agccatgtatc aatttttttcc ctttattttt tctttggaaag	2580

tgccgtattt aggctccgt ttttcttata tattgcttc cctgcagtgc cagaagagga	2640
agagtctact tgcctcaaga tgaattagca caggcaggc tatccgatga agatataattt	2700
gctggaaggg tgaccgataa atggagaatc tttatgaaga aacaaataca tagggcaaga	2760
aagttcttg atgaggcaga gaaaggcgtg acagaattga gctcagctag tagattccct	2820
gtaagcattc gtaaactctt tagttttagt aaatgattct ttttcgcgt tattagatga	2880
atatggttgc ttgtgttgag tatttctagg tcgatgaagt tgagacaagg gtttttaagt	2940
tttaacgact ttacggggt gccatgttat ctgctaccta atcttaggta gttgaccgga	3000
agggctagaa tttaacctc atgttacccc taccaaccaa gaaatgaacc tcgcatagag	3060
ctcgtagttt tgaatatttgc ctttggcatg acattgtgcg gatcatgaaa tgtcttagat	3120
tatatggaaa aatcattcta ttacatcgaa tagatacatt agatctaaga agcacccgt	3180
gttgtaaatg agaaattcta tagctcagat ctttagttt ctctgaacga cctacaaacc	3240
[0025]	
aacggataac cttgtattga gcttgcgtt ctcagtattt gcactaacat tacgtcgtgt	3300
ggatcctgaa atggcttgaa ttgctattat tctggatatg gcaaaaccat tttattagta	3360
ctagatatcg aataactaca tttgacccta caagtaccct gggttggagt tacaatatcc	3420
catacctcgt atcttagtg ttctttattt tattcacctt gtctactatt ctggcaaaat	3480
aacctcactc gttactcggt gtttccagg tatggcatac tttggcttg taccgcaaaa	3540
tactagatga gattgaagcc aatgactaca acaacttcac aaagagagca tatgtgagca	3600
aatcaaagaa ttgattgcat tacctattgc atatgcaaaa tctttgtgc ctcctacaaa	3660
aactgcctct cttcaaagat aaagcatgaa atgaagat atatatata atatatacgaa	3720
atatacatta gaagaaaaaa aggaagaaga aatgttggat tattgatata aatgtatatac	3780
ataaaatatta gtttgcgtt acattcaata taattatctc ttgttagttgt tttatctca	3840
ctttatctca actccttga gagaacttc cgttagttatc tgcttgcac ttggttactc	3900

agaattttac tgtgggcatg ataattgata taccaaattc agtttgatt ctatcgaaaa	3960
atttgttatt acatttttt ggggggaaag gaa	3993
<210> 10	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 10	
cagtgccaga agaggaaga	19
<210> 11	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
[0026]	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 11	
ttgcggta ca agaccaaaga	20
<210> 12	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 12	
gtggatcctg aaatggcttg	20
<210> 13	
<211> 23	
<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 13

agtactaata aaatggttt gcc

23

<210> 14

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 14

gggctagtcg gtgtatcat

19

[0027] <210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 15

ctggaagggt gaccgataaa

20

<210> 16

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 16

atgatacacc gactagccc

19

<210> 17

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 17

ctgtgaatgc tgcgactacg att

23

<210> 18

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 18

[0028] ctgtgaatgc tgcgactacg at

22

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 19

aacttggta tggcccaaac

20

<210> 20

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸（引物）

<400> 20	
agccattcag agatatgatt ga	22
<210> 21	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 21	
atcggataga cctgcctgtg	20
<210> 22	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
[0029] <220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 22	
ttatcttga agagaggcag t	21
<210> 23	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的多核苷酸（引物）	
<400> 23	
gataaagtga agataacaaca ac	22
<210> 24	
<211> 744	
<212> PRT	

<213> 番茄属

<400> 24

Met Glu Ser Ser Lys Lys Ser Gly Ser Lys Lys Gly Leu Val Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Lys Leu Val Lys Lys Thr Asn Lys Gly Ala Ser Ser Ser Lys
20 25 30

Ser Lys Ile Pro Leu Val Arg Ile Asn Thr Asp Glu Phe Thr His Val
35 40 45

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

[0030] Ser Pro Thr Pro His Glu Leu Tyr Glu Arg Tyr Tyr Gly Ile Asn Gln
65 70 75 80

Glu Asn Glu Glu Val Glu Thr Asp Glu Gln Leu Asn Leu Asp Glu Glu
85 90 95

Val Asp Leu Asp Asp Thr Pro Thr Ser Pro Ala Ala Asp Leu Asn Thr
100 105 110

Val Asn Ser Ile Gly Ile Glu Ala Pro Pro Pro Val Gly Thr Thr Arg
115 120 125

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

Lys Ser His Val Trp Lys Phe Cys Tyr Leu Asn Glu Glu Lys Thr Phe
145 150 155 160

Ser Ile Cys Asn Leu Cys Lys Gln His Phe Lys Tyr Thr Ser Gly Gly
 165 170 175

Thr Gly Gly Ser Thr Gly Gly Leu Lys Lys His Leu Ile Asn Lys His
 180 185 190

Ser Lys Glu Trp Phe Ala Tyr Met Ser Ser Leu Glu Val Gly Gly Asn
 195 200 205

Cys Asn Val Glu Glu Ser Val Arg Gly Ser Asn Met Val Gln Ser Glu
 210 215 220

Leu Asn Thr Ser Asn Pro Ser Gly Pro Leu Thr His Arg Thr Tyr Asn
 225 230 235 240

[0031] Lys Asp Arg Asp Arg Glu Asn Phe Ala Lys Met Val Val Val Cys Gly
 245 250 255

Leu Pro Phe Ser Phe Gly Glu His Pro Gly Phe Ile Ala Tyr Ile Arg
 260 265 270

Glu Thr Tyr Asn Pro Ser Phe Gln Gly Leu Ser Arg Ser Met Val Lys
 275 280 285

Arg Asp Ile Phe Glu Phe Gln Glu Lys His Cys Gln Tyr Leu Arg Ala
 290 295 300

Tyr Phe Glu Leu Met Asp Cys Arg Val Ala Ile Thr Thr Asp Met Gly
 305 310 315 320

Arg Ser Pro Asn Gly Phe Asp Tyr Leu Thr Val Thr Ala His Trp Ile
 325 330 335

Asp Tyr Asn Trp Asn Leu Gln Lys Arg Ile Ile Gly Tyr Lys Ile Cys
 340 345 350

Gln Lys Lys Lys Thr Gly Ile Tyr Ile Ala Thr Thr Val Leu Glu Ile
 355 360 365

Leu Asp Phe Phe Gly Leu Cys Asp Lys Val Val Ser Ile Thr Leu Asp
 370 375 380

Asn Ala Ser Ala Asn Leu Asn Ala Ile Asn Leu Leu Glu Pro Arg Leu
 385 390 395 400

Cys Pro Ile Ser Lys Tyr Ala Phe His Val Arg Cys Ala Ala His Ile
 405 410 415

[0032] Leu Asn Leu Val Val Ser Asp Gly Val Lys Leu Phe Glu Asn Ser Cys
 420 425 430

Asp Lys Ile Asp Asn Ala Cys Phe Tyr Ile Phe His Met Asn Ser Ser
 435 440 445

Ser Arg Ile Asn Gln Phe Lys Glu Leu Cys Asn Ala Phe Lys Leu Pro
 450 455 460

Phe Arg Lys Val Pro Lys His Val Lys Thr Arg Trp Asn Ser Phe Tyr
 465 470 475 480

Asp Met Leu Glu Val Ala Tyr Ala Tyr Arg Gln Pro Ile Thr Thr Leu
 485 490 495

Phe Asn Asn His Asn Ala Tyr Pro Glu Phe Lys Ile Asn Asp Ser Asp
 500 505 510

Trp Asp Glu Val Asn Glu Leu Arg Ile Phe Leu Lys Ser Phe Tyr Asp
515 520 525

Ala Thr Lys Ile Phe Ser Gly Ile Tyr Tyr Pro Thr Ile Ser Glu Ile
530 535 540

Leu Ile His Ile Cys Glu Ile Ser Ser Ile Phe Ser Glu Tyr Lys Thr
545 550 555 560

Asn Thr Leu Phe Thr Ser Ala Ile Glu Val Met Ile Thr Lys Phe Lys
565 570 575

Lys Tyr Phe Phe Pro Ile Pro Gln Ile Tyr Leu Thr Ala Leu Leu Phe
580 585 590

[0033] Asn Pro Glu Tyr Lys Glu Tyr Gly Thr Lys Ala Leu Val Glu Cys Ile
595 600 605

Tyr Gln Asn Leu Asp Ile Gln Pro Glu Glu Glu Pro Asp Leu Val Thr
610 615 620

Cys Gln Asn Ser Ile Lys Tyr Phe Ala Lys Glu Met Tyr Asp Lys Tyr
625 630 635 640

Ser Phe Leu Asp Asn Val Glu Asn Pro Gln Thr Ser Thr Asn Gln Val
645 650 655

Gly Ala His Gly Arg Val Lys His Lys Leu Gly Leu Asp Ser Ser Asn
660 665 670

Lys Cys Glu Phe Val Lys Tyr Leu Glu Gln Gly Thr Asp Asp Ile Thr
675 680 685

Asn Asp Asn Gly Ile Pro Glu Leu Leu Asn Trp Trp Arg Asn Arg Gly
690 695 700

Ala Gln Tyr Pro Lys Leu Ser Arg Met Val Lys Asp Val Leu Ala Ile
705 710 715 720

Gln Gly Ser Ser Val Val Arg Arg Gln Leu Ser Ala Arg Gln Asp Phe
725 730 735

Lys Leu Glu Thr Thr Asp Ile Arg
740

<210> 25

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

[0034] <220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 25

gtggatcctg aaatggcttg gattgctatt attctggata tggcaaaac

49

<210> 26

<211> 58

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 26

gtggatcctg aaatggcttg gattgctatt attctggata atctggatat ggcaaaac

58

<210> 27

<211> 55

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 27

gtggatcctg aaatggcttg gattgctatt attctggatc tggatatggc aaaac

55

<210> 28

<211> 52

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

[0035]

<400> 28

gtggatcctg aaatggcttg gattgctatt attccggata atatggcaaa ac

52

<210> 29

<211> 56

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的多核苷酸

<400> 29

gtggatcctg aaatggcttg gattgctatt attctggatt ctggatatgg caaaaac

56

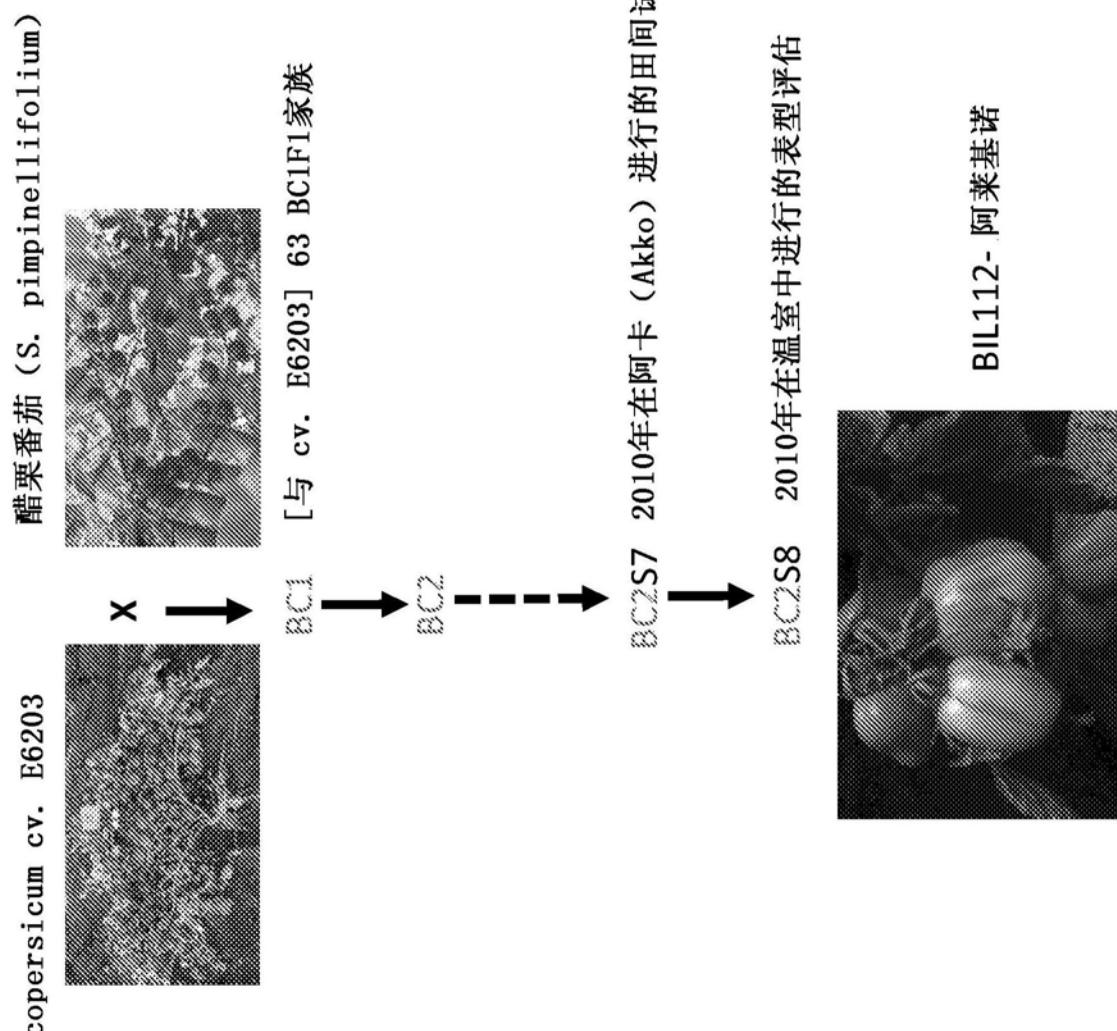


图1

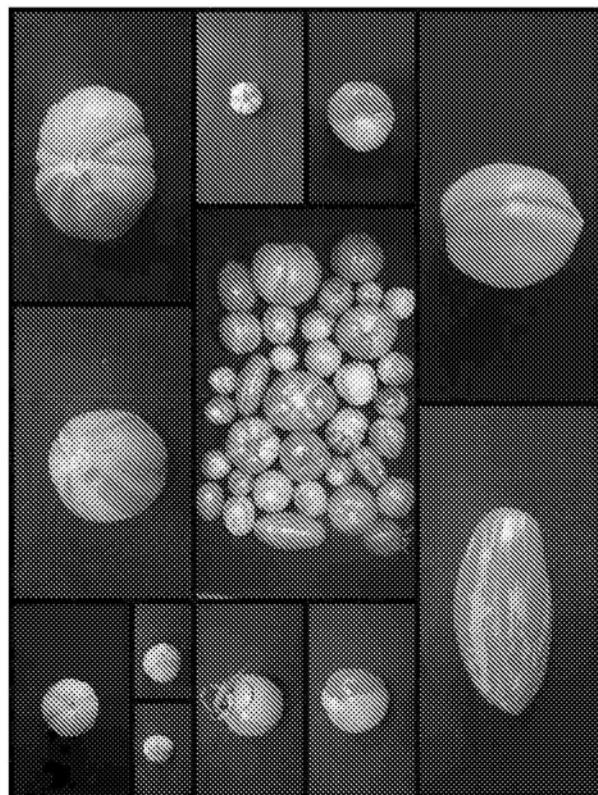


图2A

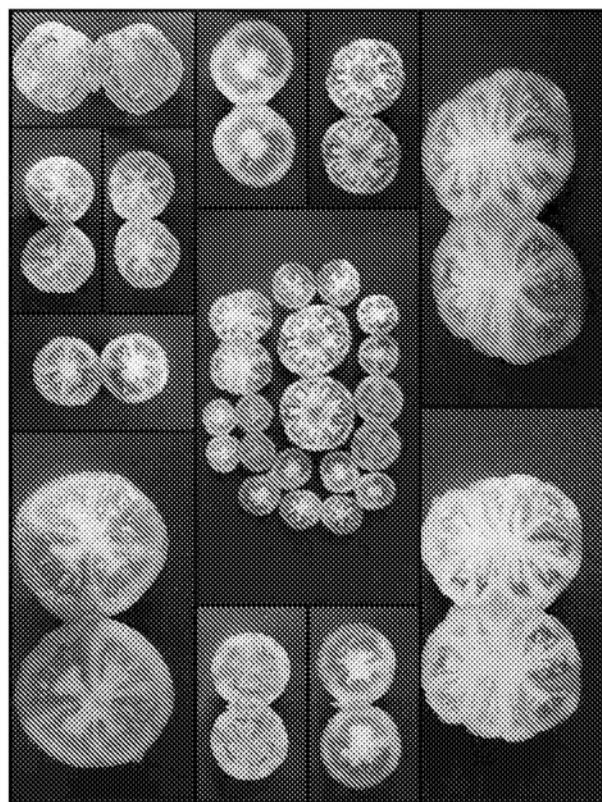


图2B

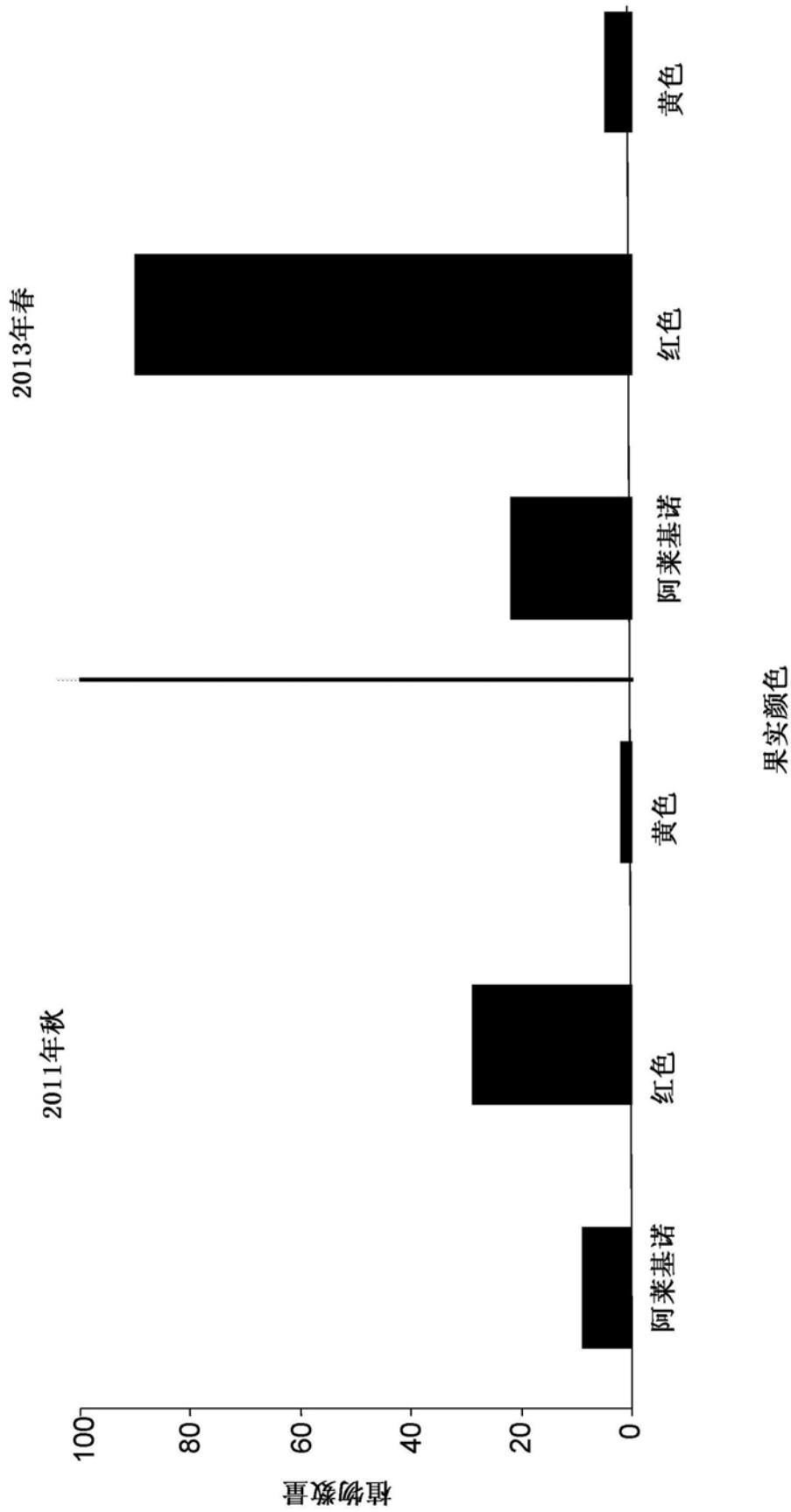


图3

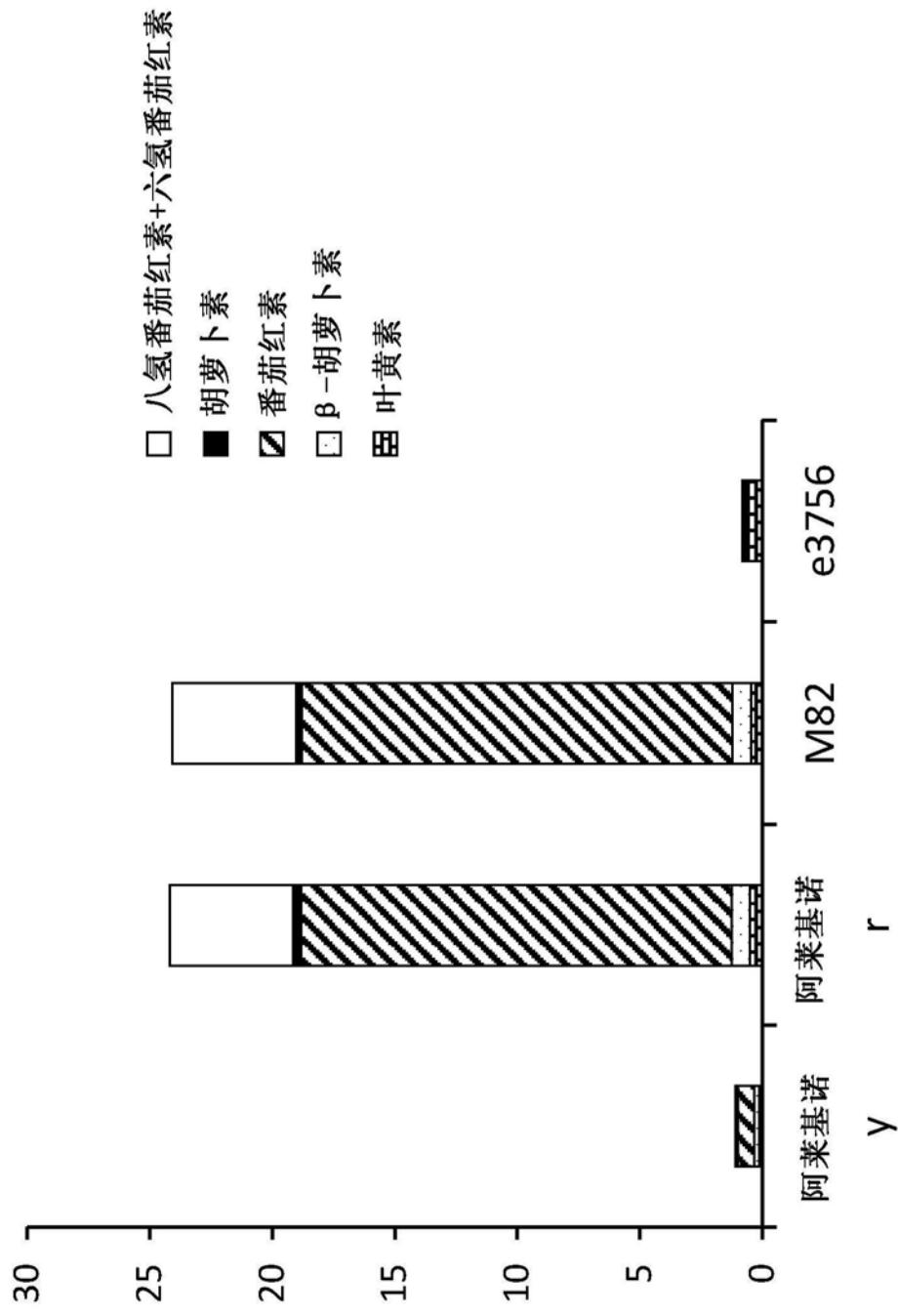


图5

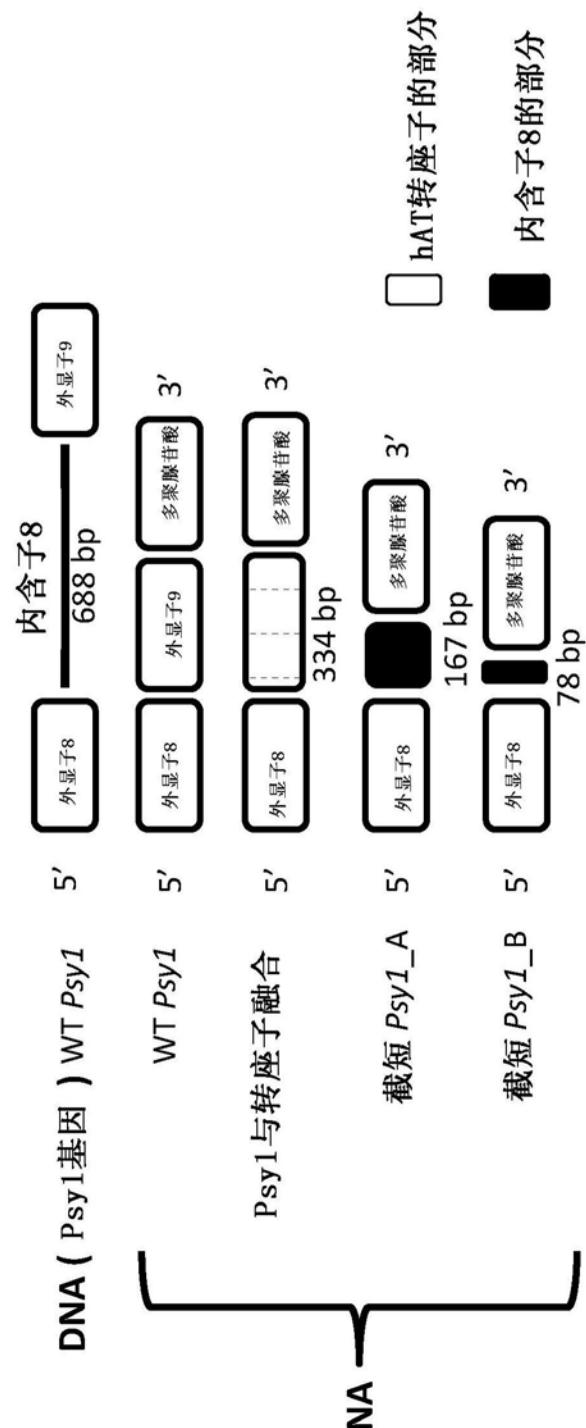


图6

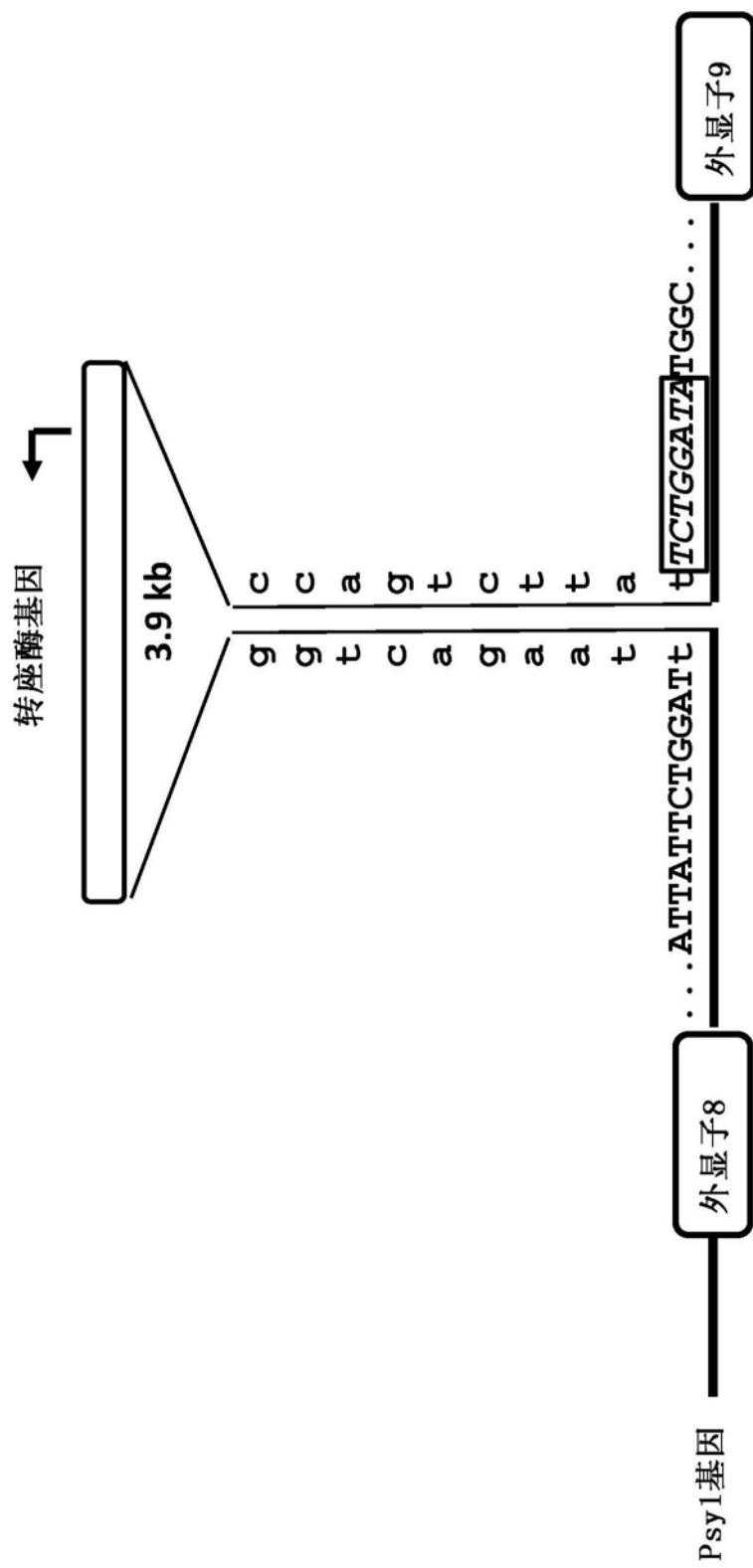


图7A

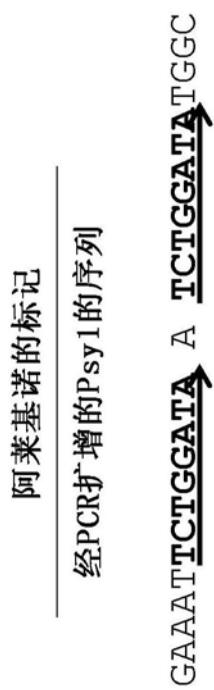


图7B

图8

图8(续1)

图8(续2)

图8(续3)