



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104328126 A

(43) 申请公布日 2015. 02. 04

(21) 申请号 201410566020. 5

(22) 申请日 2014. 10. 22

(71) 申请人 李鸣

地址 530007 广西壮族自治区南宁市大学东
路 172 号

(72) 发明人 李鸣 高天鹏 张勇 晋玲
刘光琇 安黎哲

(74) 专利代理机构 北京轻创知识产权代理有限
公司 11212

代理人 杨立

(51) Int. Cl.

C12N 15/29 (2006. 01)

C12N 15/10 (2006. 01)

C07K 14/415 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书8页
序列表3页

(54) 发明名称

一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因
及其编码蛋白质及其基因克隆方法

(57) 摘要

本发明涉及一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法, 属于植物抗逆性基因研究领域。本发明提供的高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因来自高山离子芥, 在低温胁迫条件下, 在高山离子芥中的表达量均明显上升, 该基因的超量表达, 从而增强高山离子芥的抗逆性。

1. 一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因,其特征在于,其核苷酸序列如 SEQ ID NO:1 所示。

2. 一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因编码的蛋白质,其特征在于,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示。

3. 一种如权利要求 1 所述的高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因的克隆方法,其特征在于,包括:

1) 选用高山离子芥种子作为实验材料,经低温诱导后取植物组织置于研钵中,室温下采用 Trizol reagent 抽提总 RNA,并采用 Dnase I 处理,以去除样品中的基因组 DNA 污染, RNA 含量及质量采用琼脂糖凝胶电泳检测;

2) 利用 Promega 的 RT-PCR 体系反转录获得 cDNA;

3) 根据 EST 信息设计高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因编码区引物;

正向引物:5'-TTG CTG GDG TTG GGT CHG C-3' SEQ ID NO:3

反向引物:5'-TCC GCG GCY GTK GCR TAA ACI-3' SEQ ID NO:4

反应体系为:10×buffer 8.0 μl, rTaq 1.0 μl, dNTPs 1.0 μl, primers 2.0 μl, dH₂O 8 μl, 共 20 μl 反应体系;

PCR 反应程序:94℃预变性 4min;94℃变性 30s,58℃复性 40s,72℃延伸 60s,30 个扩增循环;72℃延伸 10min,4℃保存;

4) PCR 反应产物在 1.0% 的 Agarose 胶上检测,用 GelExtractionKit 回收目的片段,连入 pGEM-T 载体 Promega,连接后的质粒转化大肠杆菌 DH5a 感受态细胞,蓝白斑筛选后挑取白斑提取质粒,经 PCR 验证为阳性克隆后测序,得高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因。

一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法,属于植物抗逆性基因研究领域。

背景技术

[0002] 低温胁迫常使某些起源于热带、亚热带地区的植物因冷敏感性而无法在温带以北地区露地安全越冬,也给热带、亚热带植物偶然的低温胁迫带来严重的灾害。因此,改造农作物的遗传特性来增加抗寒性已经成为植物育种学家的一个长期追求目标。遗憾的是,传统的育种方法在提高作物抗寒性上取得的进展甚微。从现代生物技术和分子生物学发展趋势可见,转基因技术是解决这一难题最有效的方法之一。低温冷害是农作物生长的季节性和区域性的限制因素,但低温适应过程的实质是细胞内基因表达发生变化的结果,低温条件特异性地诱导了细胞内一系列与细胞抗冻有关的基因表达(Weiser C J. *Scienc*. 1970, 169:1269-1278), (Artus N N, Uemura M, Steponkus P L, et al. *PNAS*, 1996, 93:13404-13409)。

[0003] 目前对高山离子芥水通道蛋白基因的研究还没有报导。在植物抗寒转基因研究中, Davies 等 (Wada H, Gombos Z, Murata N. *Nature*, 1990, 347(6289):200-203), (Murata N I, Nashita O, Higashi S, Hayashi, et al. *Nature*, 1992, 356:710-713) 在上世纪 80 年代末首先将美洲拟鲽鱼的抗冻蛋白基因导入烟草、郁金香和油菜,发现转基因植株获得了一定的抗冻能力。之后,利用脱饱和酶基因、拟南芥的甘油-3-磷酸酰酶基因和 *Cor15a* 基因等冷诱导基因也在不同程度上提高了受试植物的抗寒能力 (Steponkus P L, Uemura M, Joseph R A, Gilmour S J and Thomashow M F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998, 95:14570-14575)。有研究表明水通道蛋白的表达受高盐条件、旱胁迫、寒胁迫的调控,可能与植物的抗逆性相关,但调控机制还需要进一步研究 (Jang J Y, Kim Y, et al. *Plant Mol Biol*. 2004, 54(5):713-725)。水通道蛋白大量存在于动物、植物等多种生物中 (张正斌. 作物抗旱节水的生理遗传育种基础 [M]. 北京: 科学出版社, 2003. 84-96)。第一个植物水通道蛋白-TIP 是从拟南芥中分离出来的 (Hofte G M, Hubbard L, Reizer J, et al. *Plant Physiol*, 1992, 17(256):385-387), 它位于液泡膜上。随后,第一个植物质膜 AQP-拟南芥 RD28 也被发现 (Daniels M J, Mirkov T E, Chrispeels M J. *Plant Physiology*, 1994, 106(4):1325-1333)。迄今为止,已在拟南芥、玉米、烟草、水稻、豌豆、甘蓝、马铃薯、菠菜、番茄、草莓等多种植物中发现并克隆得到了水通道蛋白。另外,从蛋白数据库中也发现了大量的 AQP 同源物,它广泛存在于单子叶和双子叶植物、C3 和 C4 代谢植物中 (Scheaffner A R. *Plant*, 1998, 204:131-139)。水通道蛋白的发现对于研究植物的水分关系具有重要意义,但到目前为止,对于每一个 AQP 以及整个植株 AQP 在不太生理条件下功能的研究仍然较少。

[0004] 水通道蛋白的鉴定和研究为进一步探讨植物水分关系提供了新思路。水分在植

物体运输受特定的水通道蛋白基因的表达、调控及亚细胞定位的修饰。水通道蛋白是调节水分在调节水分在细胞间运输和在植株内传导的分子基础,并且与植物的抗逆性如抗盐性、抗寒性、抗冻性之间存在着相互调控的关系,因此可以通过研究表达不同膜蛋白的转基因植株,将分子生物学与植物生理学相结合来确定 AQP 在植株水分运输中的作用以及与植物抗逆性之间的关系。目前对于高山离子芥还没有相关报道,因此,对高山离子芥水通道蛋白基因的克隆以及对其表达的研究,将有助于明确水通道蛋白基因作用的分子机理,同时获得可应用于其他热带、亚热带地区的对于寒冷敏感的植物的抗冻性改良的基因资源。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是提供一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法,其中,所述的高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因命名为 Ch1RB7 基因,来自高山离子芥。

[0006] 本发明提供的高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因来自高山离子芥。

[0007] 本发明解决上述技术问题的技术方案如下:一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因,其核苷酸序列如 SEQ ID NO:1 所示。

[0008] 本发明解决上述技术问题的技术方案如下:一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因编码的蛋白质,其氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示。

[0009] 本发明解决上述技术问题的技术方案如下:一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因的克隆方法,包括:

[0010] 1) 选用高山离子芥种子作为实验材料,经低温诱导后取植物组织置于研钵中,室温下采用 Trizol reagent 抽提总 RNA,并采用 Dnase I 处理,以去除样品中的基因组 DNA 污染, RNA 含量及质量采用琼脂糖凝胶电泳检测;

[0011] 2) 利用 Promega 的 RT-PCR 体系反转录获得 cDNA;

[0012] 3) 根据 EST 信息设计高山离子芥水根特异表达通道蛋白基因编码区引物;

[0013] 正向引物:5'-TTG CTG GDG TTG GGT CHG C-3' SEQ ID NO:3

[0014] 反向引物:5'-TCC GCG GCY GTK GCR TAA ACI-3' SEQ ID NO:4

[0015] 反应体系为:10×buffer 8.0 μl, rTaq 1.0 μl, dNTPs 1.0 μl, primers 2.0 μl, dH₂O 8 μl, 共 20 μl 反应体系;

[0016] PCR 反应程序:94℃预变性 4min;94℃变性 30s, 58℃复性 40s, 72℃延伸 60s, 30 个扩增循环;72℃延伸 10min, 4℃保存;

[0017] 4) PCR 反应产物在 1.0% 的 Agarose 胶上检测,用 GelExtractionKit 回收目的片段,连入 pGEM-T 载体 (Promega)。连接后的质粒转化大肠杆菌 DH5a 感受态细胞,蓝白斑筛选后挑取白斑提取质粒,经 PCR 验证为阳性克隆后测序,得高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因。

[0018] 本发明的有益效果是:

[0019] 本发明提供的高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因来自高山离子芥,在低温胁迫条件下,在高山离子芥中的表达量均明显上升,该基因的超量表达,从而增强高山离子芥的抗逆性。其基因工程受体植物既适合于水稻、玉米、小麦、甘蔗等单子叶植物,同时也适合于大豆、棉花、烟草等双子叶植物。

具体实施方式

[0020] 以下对本发明的原理和特征进行描述,所举实例只用于解释本发明,并非用于限定本发明的范围。

[0021] 实施例 1

[0022] 1) 高山离子芥根总 RNA 提取与检测

[0023] 参照 Invitrogen 公司 Trizol 试剂的使用方法,从高山离子芥根提取总 RNA 并依据 M-MLV Reverse Transcriptase (TakaRa) 反转录酶的使用方法将其反转录为 cDNA 于 -20℃ 保存,备用。

[0024] 2) 高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因 Ch1RB7 第一段序列获得

[0025] 从 Genbank 下载已经克隆得到相关基因如烟草、胡萝卜和向日葵基因序列,进行序列比对。根据比对结果在 CDS 保守区设计简并引物,利用简并引物经 PCR 扩增后得到两条分别约 750bp 和 391bp 大小的条带。其中 391bp 的片段与预期结果相符,T-克隆测序结果在 NCBI 上进行序列比对发现,与拟南芥 δ -TIPs 的同源性达到了 100%。第一段序列经 T-克隆测序结果如下:TTGCTGGTGTGGGTCTGCCATTGCCTACGCGAAGCTGACGTCAGACGCTGCTCTTGACACGCCCCGACTAGTGGCCATCGCGGTGTGCCATGGATTGCCCCCTTCGTCGCCGTCGCAATCGGAGCCAACATCTCCGGTGGCCACGTGAACCCAGCCGTCACCTTTTGGCCTAGCCGTCGGTGGTCATATCACAGTCATCACCGGAGTTTTCTACTGGATCGCTCAGCTTCTCGGCTCCACCGCCGCTTGCTTCCTCCTCAAATACGTCACCGGTGGTTTGGCTGTTC CAATCCACAGCGTTGGGGCTGGACTAGGTTCACTAGAAGGAGTAGTGATGGAGATCATCATCACTTTTCGCTTTGGTCTACACCGTTTATGCAACGGCCGCGGA, SEQ ID NO :5。

[0026] 3) 高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因 Ch1RB7 第二段序列获得

[0027] 根据已获得第一个片段序列在 NCBI 比对的结果分析,该序列与拟南芥 TIPs 基因同源性较高,由此在保守序列区进一步设计简并引物,经 PCR 扩增后得到了大小约 270bp 的单一一条带。第二段序列经 T-克隆测序结果如下:TCGCTTTGGTCTACACCGTTTACGCCACAGCAGCTGATCCCAAGAAGGGATCTCTCGGAACCATCGCTCCTCTAGCCATTGGTCTCATTTGTTGGTGCCAACATCCTAGCCGCGGTCCATTCTCAGGTGGATCCATGAACCCGGCTCGTTCCCTTTGGACCAGCTGTTGCAGCCGGTGACTTCTCTGGTCACTGGGTTTACTGGGTGGGACCACTCATCGGTGGTGGACTTGCCGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATGGGTTCTTCCGAA, SEQ ID NO :6。

[0028] 4) 高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因 Ch1RB7 的 RACE 反应

[0029] 根据 Invitrogen GeneRacer™ RACE Ready cDNA kit 试剂盒操作手册,在已知序列中分别设计了 5',3' RACE 的特异引物。以高山离子芥根总 RNA 为模板参照试剂盒的方法和试剂合成 cDNA,分别用 5',3' 的特异引物依照该试剂盒说明书进行 PCR 扩增,分别获得了两条都约 270bp 的单一片段。经 T-克隆测序,分析结果表明 5' RACE 序列中含有起始密码子 ATG 和已知重复区的序列。3' RACE 序列中含有重复区序列、终止密码子 TAA 和 poly(A) 结构,由此得到了 Ch1RB7 基因的全长序列。5' RACE 序列如下所示:GGACACTGACATGGACTGAAGGAGTAGAAAATCTTCTTCATTAAACAAAACTTTCAAAACACATTTTCTCCTTCTTCCTCATTCTTCTTTCATTTACAACAATGGCAGGAGTAGCCTTCGGTTCCTTTGACGATTCCCTTCAGCTTGTCTTCTCTAAGAGCTTACCTCGCTGAGTTTCATCTCCACTTTGCTCTTTGTTTTGCTGGTGTGGCTCTGCCATTGCCTACGCAAAGCTGACGTCAGACGCTGCTCTTGACACGCCCCGACTAG, SEQ ID NO :7。

[0030] 3' RACE 序列如下所示: TGCCGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATGAGTTCTTCCGAACATGCTCCTCTTGCTTCTTCTGATTTCTAAGCTAAAAAACATGTCATGATGATGATTATTGATTCATGTTTTTTATGTGTTTCGTTTGGTTTCTTCTTGCTGCGTTTTGGACTTTTGGTCCGGTTTCGTTGTAATTCTTGTATGAATATCATTTAATGGAATTGGCTGTTTGGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTGTCATGCCGTTACGTAGCG, SEQ ID NO: 8。

[0031] 5) 高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因 Ch1RB7 长获得

[0032] 根据 RACE 测序结果比对分析和第一、二段序列拼接得到了 1004bp 的基因全长序列 (GeneBank Accession No. EU636988), 其中开放阅读框 (ORF) 有 753bp, 编码 251 个氨基酸的蛋白质。在起始密码子 ATG 前有一段 104bp 的 5' 非翻译区 (5' UTR), 在终止密码子 TAA 后有一段 173bp 的 3' 非翻译区 (3' UTR), 其中包括 24bp 的 poly(A)。由此, 我们得到了不包括内含子的基因全长序列。将该基因 CDS 区全序列在 NCBI 上比对结果分析表明, 所克隆得到的基因与拟南芥 TIPs 基因的同源性高达 92%, 与胡萝卜 (*Daucus carota*) DcRB7 基因同源性为 65%, 与烟草 (*N. tabacum*) 的 TobRB7 基因同源性为 64.1%, 与向日葵 (common sunflower) SunRB7 同源性为 62.2%, 与番茄 (*Lycopersicon esculentum*) RB7 同源性为 63.6%, 与马铃薯 (*Solanum tuberosum*) potRB7 同源性为 64%。

[0033] 以上所述仅为本发明的较佳实施例, 并不用以限制本发明, 凡在本发明的精神和原则之内, 所作的任何修改、等同替换、改进等, 均应包含在本发明的保护范围之内。

[0034]

序列表

<110> 李鸣

<120> 一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法

<160> 8

<210> 1

<212> DNA

<213> ChIRB7 基因

<400> 1

1

GAAAATCTTCTTCATTAAACAAAACTTTCAAACACATTTTCTCCTTC
TTCCTCATTCT

61

TCTTCTTCATTTACAACAATGGCAGGAGTAGCCTTCGGTTCCTTTGAC
GATTCCTTCAGC

121

TTGTCTTCTCTAAGAGCTTACCTCGCTGAGTTCATCTCCACTTTGCTC
TTTGTTTTCGCT

181

GGTGTTGGCTCTGCCATTGCCTACGCAAAGCTGACGTCAGACGCTG
CTCTTGACACGCCC

241

GGACTAGTGGCCATCGCGGTGTGCCATGGATTCGCCCTCTTCGTCG
CCGTCGCAATCGGA

301

GCCAACATCTCCGGTGGCCACGTGAACCCAGCCGTCACATTTTGGCC
TAGCCGTCGGTGGT

361

CAAATCACAGTCATCACCGGAGTTTTCTACTGGATCGCTCAGCTTCT
CGGCTCCACCGCC

421

GCTTGCTTCCCCCTCAAATACGTCACCGGTGGTTTGGCTGTTCCAAT
CCACAGCGTTGGG

481

GCTGGACTAGGTTCACTAGAAGGAGTAGTGATGGAGATCATCATCAC
TTTCGCTTTGGTC

541

TACACCGTTTACGCCACAGCAGCTGATCCCAAGAAGGGATCTCTCG
GAACCATCGCTCCT

601

CTAGCCATTGGTCTCATTGTTGGTGCCAACATCCTAGCCGCCGGTCC
ATTCTCAGGTGGA

661

TCCATGAACCCGGCTCGTTCCTTTGGACCAGCTGTTGCAGCCGGTG

[0035]

ACTTCTCTGGTCAC
721
TGGGTTTACTGGGTGGGACCACTCATCGGTGGTGGACTTGCCGGAG
CTGTTTACGGAAAT
781
GTCTTCATGAGTTCTTCCGAACATGCTCCTCTTGCTTCTTCTGATTTC
TAAGCTAAAAAA
841
ACATGTCATGATGATGATGATTATTGATTCATGTTTTTTTATGTGTTTCG
TTTGGTTTCTT
901
CTTGCTGCGTTTTGGACTTTTGGTCCGGTTTCGTTGTAATTCTTGTAT
GAATATCATTTA
961 ATGGAATTGGCTGTTTGGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

<210> 2

<212> PRT

<213> ChIRB7 基因编码的蛋白质

<400> 2

MAGVAFGSFDDSFSLSSLRAYLAEFISTLLFVFAGVGSIAIYAKLTSDAA
LDTPGLVAIAVCHGFALFVAVAIGANISGGHVNPAVTFGLAVGGQITVITG
VFYWIAQLLGSTAACFPLKYVTGGLAVPIHSVGAGLGSLEGVVMETITFA
LVYTVYATAADPKKGS LGTIAPLAIGLIVGANILAAGPFSGGSMNPARSF
GPAVAAGDFSGHWVYWVGPLIGGGLAGAVYGNVFMSSSEHAPLASSD
F

<210> 3

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 3

TTGCTGGDGTGTTGGGTCHGC

19

<210> 4

<212> DNA

[0036]

<213> 人工序列

<400> 4

TCCGCGGCGYGTKGCRTAAACI

21

<210> 5

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 5

TTGCTGGTGTTGGGTCTGCCATTGCCTACGCGAAGCTGACGTCAGA
CGCTGCTCTTGACACGCCCGGACTAGTGGCCATCGCGGTGTGCCAT
GGATTCGCCCCCTTCGTCGCCGTCGCAATCGGAGCCAACATCTCCG
GTGGCCACGTGAACCCAGCCGTCACCTTTTGGCCTAGCCGTCGGTGG
TCATATCACAGTCATCACCGGAGTTTTCTACTGGATCGCTCAGCTTCT
CGGCTCCACCGCCGCTTGCTTCCTCCTCAAATACGTCACCGGTGGT
TTGGCTGTTCCAATCCACAGCGTTGGGGCTGGACTAGGTTCACTAGA
AGGAGTAGTGATGGAGATCATCATCACTTTCGCTTTGGTCTACACCG
TTTATGCAACGGCCGCGGA

<210> 6

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 6

TCGCTTTGGTCTACACCGTTTACGCCACAGCAGCTGATCCCAAGAAG

[0037]

GGATCTCTCGGAACCATCGCTCCTCTAGCCATTGGTCTCATTGTTGG
TGCCAACATCCTAGCCGCCGGTCCATTCTCAGGTGGATCCATGAAC
CCGGCTCGTTCCTTTGGACCAGCTGTTGCAGCCGGTGACTTCTCTG
GTCACTGGGTTTACTGGGTGGGACCACTCATCGGTGGTGGACTTGC
CGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATGGGTTCCTCCGAA

<210> 7

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 7

GGACACTGACATGGACTGAAGGAGTAGAAAATCTTCTTCATTAAACA
AAACTTTCAAACACATTTTCTCCTTCTTCCTCATTCTTCTTTCAT
TTACAACAATGGCAGGAGTAGCCTTCGGTTCCTTTGACGATTCCTTC
AGCTTGTCTTCTCTAAGAGCTTACCTCGCTGAGTTCATCTCCACTTTG
CTCTTTGTTTTTCGCTGGTGTGGCTCTGCCATTGCCTACGCAAAGCT
GACGTCAGACGCTGCTCTTGACACGCCCGGACTAG

<210> 8

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 8

TGCCGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATGAGTTCTTCCGAACATG
CTCCTCTTGCTTCTTCTGATTTCTAAGCTAAAAAACATGTCATGATG
ATGATGATTATTGATTCATGTTTTTTTATGTGTTTCGTTTGGTTTCTTCT
TGCTGCGTTTTGGACTTTTGGTCCGGTTTCGTTGTAATTCTTGTATGA
ATATCATTTAATGGAATTGGCTGTTTGGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAACAACACTGTCATGCCGTTACGTAGCG

[0001]

序 列 表

<110> 李鸣

<120> 一种高山离子芥根特异表达水通道蛋白基因及其编码蛋白质及其基因克隆方法

<160> 8

<210> 1

<212> DNA

<213> Ch1RB7 基因

<400> 1

```
1   GAAAATCTTCTTCATTAAACAAAACTTTCAAAACACATTTTCTCCTTCTTCCTCATTCT
61  TCTTCTTCATTTACAACAATGGCAGGAGTAGCCTTCGGTTCCTTTGACGATTCCCTCAGC
121 TTGTCTTCTCTAAGAGCTTACCTCGCTGAGTTTCATCTCCACTTTGCTCTTTGTTTTCGCT
181 GGTGTTGGCTCTGCCATTGCCTACGCAAAGCTGACGTCAGACGCTGCTCTTGACACGCCC
241 GGACTAGTGGCCATCGCGGTGTGCCATGGATTGCGCCTCTTCGTCGCCGTGCGCAATCGGA
301 GCCAACATCTCCGGTGGCCACGTGAACCCAGCCGTCACCTTTGGCCTAGCCGTCGGTGGT
361 CAAATCACAGTCATCACCGGAGTTTTCTACTGGATCGCTCAGCTTCTCGGCTCCACCGCC
421 GCTTGCTTCCCCCTCAAATACGTACCGGTGGTTTTGGCTGTTCCAATCCACAGCGTTGGG
481 GCTGGACTAGGTTCACTAGAAGGAGTAGTGATGGAGATCATCATCACTTTTCGCTTTGGTC
541 TACAACGTTTACGCCACAGCAGCTGATCCCAAGAAGGGATCTCTCGGAACCATCGCTCCT
601 CTAGCCATTGGTCTCATTGTTGGTGGCAACATCCTAGCCGCCGGTCCATTCTCAGGTGGA
661 TCCATGAACCCGGCTCGTTCCTTTGGACCAGCTGTTGCAGCCGGTGACTTCTCTGGTCAC
721 TGGGTTTACTGGGTGGGACCACTCATCGGTGGTGGACTTGCCGGAGCTGTTTACGGAAAT
781 GTCTTCATGAGTTCTTCCGAACATGCTCCTCTTGCTTCTCTGATTTCTAAGCTAAAAAA
841 ACATGTCATGATGATGATGATTATTGATTGATGTTTTTTTATGTGTTGTTTTGGTTTCTT
901 CTTGCTGCGTTTTGGACTTTTGGTCCGGTTTCGTTGTAATTCTTGTATGAATATCATTTA
961 ATGGAATTGGCTGTTTGGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

<210> 2

<212> PRT

<213> Ch1RB7 基因编码的蛋白质

<400> 2

```
MAGVAFGSFDDSFSLSSRLAYLAEFISTLLFVFAGVGSALAYAKLTSDAALDTPGLVAIAVCHGF
ALFVAVAIGANISGCHVNPVTFGLAVGGQITVITGVFYWIAQLLGSTAACFPLKYVTGGLAVPI
HSVAGAGLSLEGVVMETITFALVYTVYATAADPKKGS LGTIAPLAIGLIVGANILAAAGPFSGGS
MNPARSFGPAVAAGDFSGHWVYWGVLIGGGLAGAVYGNVFMSSSEHAPLASSDF
```

[0002]

<210> 3

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 3

TTGCTGGDGTGGGTCHGC

19

<210> 4

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 4

TCCGCGGCYGTGCRATAACI

21

<210> 5

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 5

TTGCTGGTGTGGGTCTGCCATTGCCTACGCGAAGCTGACGTCAGACGCTGCTCTTGACACGCCC
GGACTAGTGGCCATCGCGGTGTGCCATGGATTGCCCCCTTCGTCGCGTCGCAATCGGAGCCAA
CATCTCCGGTGGCCACGTGAACCCAGCCGTCACCTTTGGCCTAGCCGTCGGTGGTCATATCACAG
TCATCACCGGAGTTTTCTACTGGATCGCTCAGCTTCTCGGCTCCACCGCCGCTTGCTTCCTCCTC
AAATACGTCACCGGTGGTTTTGGCTGTTCCAATCCACAGCGTTGGGGCTGGACTAGGTTCCTAGA
AGGAGTAGTGATGGAGATCATCATCACTTTGCTTTGGTCTACACCGTTTATGCAACGGCCGCGG

A

[0003]

<210> 6

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 6

TCGCTTTGGTCTACACCGTTTACGCCACAGCAGCTGATCCCAAGAAGGGATCTCTCGGAACCATC
GCTCCTCTAGCCATTGGTCTCATTGTTGGTGCCAACATCCTAGCCGCCGGTCCATTCTCAGGTGG
ATCCATGAACCCGGCTCGTTCCTTTGGACCAGCTGTTGCAGCCGGTGACTTCTCTGGTCACTGGG
TTTACTGGGTGGGACCACTCATCGGTGGTGGACTTGCCGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATG
GGTTCTTCCGAA

<210> 7

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 7

GGACACTGACATGGACTGAAGGAGTAGAAAATCTTCTTCATTAACAACAAAACCTTTCAAAACACAT
TTTCTCCTTCTTCCTCATTCTTCTTCTTCATTTACAACAATGGCAGGAGTAGCCTTCGGTTCCTT
TGACGATTCCCTTCAGCTTGTCTTCTCTAAGAGCTTACCTCGCTGAGTTCATCTCCACTTTGCTCT
TTGTTTTCGCTGGTGTGGCTCTGCCATTGCCTACGCAAAGCTGACGTCAGACGCTGCTCTTGAC
ACGCCCCGGACTAG

<210> 8

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 8

TGCCGGAGCTGTTTACGGAAATGTCTTCATGAGTTCTTCCGAACATGCTCCTCTTGCTTCTTCTG
ATTTCTAAGCTAAAAAACATGTCATGATGATGATTATTGATTCATGTTTTTTTATGTGTTC
GTTTGGTTTCTTCTTGCTGCGTTTTGGACTTTTGGTCCGGTTTTCGTTGTAATTCTTGTATGAATA
TCATTTAATGGAATTGGCTGTTTGGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACACTGTCATGCCGT
TACGTAGCG