



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104736708 A

(43) 申请公布日 2015. 06. 24

(21) 申请号 201380039531. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 05. 13

C12N 15/11(2006. 01)

(30) 优先权数据

C12N 15/52(2006. 01)

20125507 2012. 05. 11 FI

C12N 15/80(2006. 01)

61/645655 2012. 05. 11 US

C12P 7/00(2006. 01)

C12P 5/00(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C12R 1/66(2006. 01)

2015. 01. 12

C12R 1/645(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/FI2013/050517 2013. 05. 13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/167812 EN 2013. 11. 14

(71) 申请人 VTT 科技研究中心

地址 芬兰埃斯波

(72) 发明人 K·布罗曼恩 M·托伊瓦里

T·纳卡里-塞特勒 L·鲁奥霍恩

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 初明明 吕彩霞

权利要求书3页 说明书33页

序列表98页 附图23页

(54) 发明名称

用于生产萜烯的方法

(57) 摘要

本发明涉及用于在真菌中生产萜烯的方法, 包括以下步骤:(a) 提供在宿主细胞中的修饰的萜烯生物合成基因簇, 其中所述簇的一个或多个天然存在的基因或启动子已被取代、截短或移除;(b) 提供在所述宿主细胞中的转录因子, 所述转录因子激活萜烯生物合成基因簇;(c) 在允许所述激活簇的转录因子表达的条件下培养所述宿主;和任选(d) 回收由此产生的萜烯产物。

1. 用于在真菌中生产萜烯的方法,所述方法包括以下步骤:
 - (a) 提供在宿主细胞中的修饰的萜烯生物合成基因簇,所述基因簇具有天然存在的萜烯生物合成基因和启动子,其中一个或多个这些基因或启动子已被取代、截短或移除;
 - (b) 提供在所述宿主细胞中的转录因子,使得所述转录因子与天然或修饰的启动子中的一个操作性连接,所述转录因子激活具有萜烯生物合成基因和与所述基因操作性连接的调节区的萜烯生物合成基因簇;
 - (c) 在允许所述激活簇的转录因子表达的条件下培养所述宿主;和
 - (d) 任选回收由此产生的萜烯产物。
2. 权利要求1的方法,其中萜烯是萜类化合物,优选半萜、单萜、倍半萜、二萜、三萜或四萜,优选单萜、倍半萜或二萜,最合适的是单萜。
3. 权利要求1或2的方法,其中萜烯是 γ -萜品烯、柠檬烯、伞花烃或桉油醇,最优选 γ -萜品烯。
4. 权利要求1或2的方法,其中萜烯是 α -法呢烯、紫穗槐二烯、杜松烯、石竹烯或红没药烯,最优选法呢烯。
5. 权利要求1或2的方法,其中萜烯是紫杉二烯、贝壳杉烯、fusicoccadiene、casbene 或松香二烯,最优选紫杉二烯。
6. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述宿主细胞携带具有萜烯生物合成基因的条目(a)的萜烯生物合成基因簇。
7. 前述权利要求中任一项的方法,其中将具有萜烯生物合成基因的萜烯生物合成基因簇转化到宿主细胞中。
8. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述生产宿主包含编码转运蛋白的基因。
9. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述转录因子具有序列 SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 显示至少 80% 同一性的序列。
10. 权利要求9的方法,其中所述转录因子具有序列 SEQ ID NO:52 或与所述序列显示至少 85% 同一性的序列。
11. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述真菌宿主选自曲霉属、木霉属、酵母属、毕赤酵母属、假丝酵母属,和优选是构巢曲霉。
12. 萜烯生物合成基因簇,包含推定地编码以下的基因:
 - (a) Zn(II)2Cys6-型转录因子 (AN1599)、操作性连接 AN1594 调节区的单萜合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)、GGPP-合酶 (AN1592) 和
 - (b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和
 - (c) 与条目(a)的基因和与条目(b)的基因操作性连接的调节区。
13. 萜烯生物合成基因簇,包含推定地编码以下的基因:
 - (a) Zn(II)2Cys6-型转录因子 (AN1599)、操作性连接 AN1594 调节区的单萜合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)、操作性连接 AN1592 调节区的 GPP-合酶和
 - (b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任

选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和

(c) 与条目 (a) 的基因和与条目 (b) 的基因操作性连接的调节区。

14. 萜烯生物合成基因簇, 包含推定地编码以下的基因:

(a) Zn(II)2Cys6- 型转录因子 (AN1599)、操作性连接 AN1594 调节区的倍半萜合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)、GGPP- 合酶 (AN1592) 和

(b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和

(c) 与条目 (a) 的基因和与条目 (b) 的基因操作性连接的调节区。

15. 萜烯生物合成基因簇, 包含:

(a) Zn(II)2Cys6- 型转录因子 (AN1599)、操作性连接 AN1594 调节区的倍半萜合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)、操作性连接 AN1592 调节区的 FPP- 合酶和

(b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和

(c) 与条目 (a) 的基因和与条目 (b) 的基因操作性连接的调节区。

16. 萜烯生物合成基因簇, 包含推定地编码以下的基因:

(a) Zn(II)2Cys6- 型转录因子 (AN1599)、操作性连接 AN1594 调节区的二萜合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)、GGPP- 合酶 (AN1592) 和

(b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和

(c) 与条目 (a) 的基因和与条目 (b) 的基因操作性连接的调节区。

17. 权利要求 12 或 13 的基因簇, 其中所述单萜合酶具有序列 SEQ ID NO :53 或与所述序列显示至少 85% 同一性的序列。

18. 权利要求 13 的基因簇, 其中所述 GPP 合酶具有序列 SEQ ID NO :81 或与 SEQ ID NO :81 显示至少 85% 同一性的序列。

19. 权利要求 14 或 15 的基因簇, 其中所述倍半萜合酶具有序列 SEQ ID NO :79 或与 SEQ ID NO :79 显示至少 85% 同一性的序列。

20. 权利要求 15 的基因簇, 其中所述 FPP 合酶具有序列 SEQ ID NO :88 或与 SEQ ID NO :88 显示至少 85% 同一性的序列。

21. 权利要求 16 的基因簇, 其中所述二萜合酶具有序列 SEQ ID NO :84 或与 SEQ ID NO :84 显示至少 85% 同一性的序列。

22. 权利要求 12-16 中任一项的基因簇, 其中所述调节区包括序列 SEQ ID NO :43 或与 SEQ ID NO :43 具有至少 40% 程度的同一性的序列。

23. 权利要求 12-22 中任一项的萜烯生物合成基因簇, 源自曲霉、新萨托菌或小孢子菌。

24. 权利要求 12-23 中任一项的萜烯生物合成基因簇, 其中所述编码蛋白特征在于: SEQ ID NO :52 或与 SEQ ID NO :52 (AN1599) 具有至少 80% 程度的同一性的序列,

SEQ ID NO:47 或与 SEQ ID NO:47 (AN1594) 具有至少 88% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:46 或与 SEQ ID NO:46 (AN1593) 具有至少 90% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:45 或与 SEQ ID NO:45 (AN1592) 具有至少 86% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:48 或与 SEQ ID NO:48 (AN1595) 具有至少 90% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:50 或与 SEQ ID NO:50 (AN1598) 具有至少 94% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:49 或与 SEQ ID NO:49 (AN1596) 具有至少 90% 程度的同一性的序列, SEQ ID NO:50 或与 SEQ ID NO:50 (AN1597) 具有至少 90% 程度的同一性的序列, 和任选 SEQ ID NO:44 或与 SEQ ID NO:44 (AN1591) 具有至少 50% 程度的同一性的序列和与所述基因操作性连接的调节区, 优选包括 SEQ ID NO:43 或与所述 SEQ ID NO:43 具有至少 40% 程度的同一性的序列。

25. 单萜合酶的用途, 所述合酶插入具有萜烯生物合成基因和与所述基因操作性连接的调节区的修饰的萜烯生物合成基因簇的簇区, 所述用途是用于在用 AN1599 过表达激活的天然存在的调节元件的调节下生产单萜。

26. 转录因子的用途, 所述转录因子具有这样的序列, 其特征在于 SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 显示至少 80% 程度的同一性的序列, 所述用途是用于生产不同于由未修饰的萜烯生物合成基因簇天然产生的 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯的单萜或倍半萜或二萜。

27. 构巢曲霉 FGSC A4、A1155 和 A772 用于产生权利要求 1-11 中任一项的萜烯的用途。

28. 真菌生产宿主, 特征在于其包含权利要求 12-24 中任一项的包含转录因子的修饰的萜烯生物合成基因簇, 所述转录因子具有这样的序列, 其特征在于与启动子操作性连接的 SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 显示至少 80% 程度的同一性的序列。

用于生产萜烯的方法

发明领域

[0001] 本发明涉及用于在真菌中生产萜烯的方法、修饰的萜烯生物合成基因簇、以及构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 用于生产多种类型的萜烯的用途。

[0002] 相关领域的描述

[0003] 萜烯是具有多种药学和工业应用的一大类化合物。萜烯可作为潜在的药物或药物前体、生物活性化合物或燃料和化学品。这些应用的实例是抗疟的倍半萜紫穗槐二烯 (amorphadiene)、抗癌的二萜紫杉醇和倍半萜法呢烯,其可作为燃料和作为化学品的前体。单萜,例如柠檬烯,具有作为喷气燃料成分的应用。

[0004] 萜烯是从宽范围的生物体中的五碳前体分子合成的一类生物生成的分子。萜烯是纯的碳氢化合物,而萜类化合物可含有一个或多个氧原子。术语萜烯和萜类化合物可互换使用。萜类化合物仅在植物和某些微生物中少量天然产生。然而,微生物生产是生产多种萜烯的吸引人的替代。尤其是真菌具有低营养需求,可以抵抗木质纤维素水解产物上的抑制剂,能够使用多种碳源,并且也适合大规模生产,因此提供了所探求的成本合算的方式以生产萜烯化合物。已经通过在异源 / 组成型启动子下的途径中表达某些基因而工程改造了若干微生物,用于萜烯生产。

[0005] 这些经遗传改造的微生物宿主中的一个问题就是因生物体中存在的天然活性所致的低产量的结果或产生副产物。

[0006] 编码生物合成途径中的连续步骤的基因倾向于在染色体上簇集在一起形成“基因簇”。簇集程度在生物体内部和之间是高度可变的。次级代谢物是对生物体正常生长而言并非必需的化合物。它们的作用是在生态相互作用中作为防御化合物或信号转导分子。许多次级代谢物都具有吸引人的生物学性能,例如作为抗生素、抗癌药、杀虫剂、免疫抑制剂和除草剂。在细菌中,控制这些化合物的生物合成的基因簇集在事实上是很普遍的。然而,真核基因组也含有功能相关的、但并非同源的基因簇 [Osbourne, 2010]。

[0007] 很多用于次级代谢物合成的簇可以在丝状真菌中找到。与从先前鉴定的代谢物所预测的基因簇相比,丝状生物包含多得多的用于次级代谢物生物合成的基因簇。次级代谢的基因簇是用于代谢物生产的自含式的盒。它们含有编码产生不同类型的次级代谢物的骨架结构的酶的基因,所述酶例如非核糖体肽合成酶 (NRPS) 酶、聚酮合酶 (PKS) 和萜烯合酶,其称为“标签”基因 / 酶。这些簇也含有用于修剪修饰次级代谢物骨架的酶的基因,所述酶例如氧化还原酶、甲基转移酶、酰基转移酶和糖基转移酶。在某些情况下,次级代谢簇也包括用于途径 - 特异性调节剂的基因和 / 或途径终端产物抗性的基因 [Osbourne, 2010]。

[0008] 次级代谢簇的表达通常处于环境和 / 或发育控制之下并且是由复杂的调控级联所介导,所述级联将信号传递给途径 - 特异性开关。Zn(II) 2Cys6- 型转录因子的作用是通过上调簇集基因的转录而作为次级代谢物簇的途径 - 特异性激活物。次级代谢物基因的簇集具有在染色质水平上促进调控的潜力。某些次级代谢物簇内的基因的特定顺序和位置可提供有助于确定基因活化的时间和顺序的结构框架。已经提出该过程组织贯穿途径中的酶步骤的连续的底物通道 [Roze 等人, 2007]。功能相关基因的簇集的优势是需要共同调节生

物合成或发育途径中的一组基因控制的连续步骤。簇集促进了一组生物合成基因的最佳调控。

[0009] 已经证实基因间隔区和染色体定位在优化基因表达中起作用。许多次级代谢物簇位于染色体的亚端粒区,其中异染色质转录受到位置调控。位于亚端粒区的某些簇显示出受到通用转录激活物例如 *LaeA* 或 *AreA* 的调节,其响应环境刺激以释放异染色质区用于翻译。在这些区中的基因转录在正常生长条件下沉默。当外源基因随机整合到宿主生物的基因组上时,位置转录调控可在靶基因的基因表达中发挥作用 [Palmer 等人,2010]。

[0010] 除了随机整合的转化 DNA 造成的基因破坏所导致的不可预见的多效性外,已经提出某些染色体位置比其他位置更加有利于异源表达,也许是因为与局部调节元件的特定相互作用,或更常见的是在正常高度表达的基因附近的活性天然转录 [Davis 等人,1991]。当从其原始基因座上被取代时,某些在空间或时间上被调控的曲霉基因,例如黄曲霉毒素簇 [Chiou 等人,2002] 和分生孢子-特异性基因 [Miller 等人,1987],显示出在调控反应中的巨大变化,并且也已报道了对异源表达的基因座作用 [Verdoes 等人,1995]。

[0011] 在 Lubertozzi & Kiesling 发表的论文中,将来自黄花蒿 (*Artemisia annua*) 的紫穗槐二烯合酶基因转化到构巢曲霉中。在他们的方法中,与在大肠杆菌中相同的表达实验相比,在构巢曲霉中的产物特异性大大降低。猜测其原因为其它构巢曲霉次生代谢产物基因的干扰背景活性,而大肠杆菌中不存在这些基因,或者缺乏将萜类化合物碳骨架修饰为紫穗槐二烯所需的支持性酶活性。

[0012] Bok 等人公开了在构巢曲霉中 *laeA* 的过表达诱导许多次级代谢物簇,包括推定的萜类化合物簇。

[0013] WO 2002024865 (Holzman) 描述了使用位于洛伐他汀簇之外的 Zn^{2+} Cys6- 转录激活物对洛伐他汀生产的调节。

[0014] WO 2001 021779 (DSM) 公开了在丝状真菌中激活 β -内酰胺生产的簇特异性转录激活物 *BlaR* 的鉴定、克隆和过表达。

[0015] WO 1999 025735 描述了嵌合转录因子的过表达,以增加次级代谢物的产生。

[0016] Sakai 等人已将红曲霉 (*Monascus*) 的橘霉素生物合成基因簇引入米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 中。他们通过进一步引入由曲霉 *trpC* 启动子控制的多拷贝的激活物基因 *ctnA* 而能够增加橘霉素的产量。

[0017] Chiang 等人已经能够通过用诱导型启动子取代转录激活物的启动子而在构巢曲霉中活化其它沉默聚酮簇。

[0018] WO 2006 014837 提出了具有例如不同萜烯合酶的宿主细胞的遗传修饰,以获得类异戊二烯前体或类异戊二烯化合物。

[0019] WO 2010104763 公开了使用编码萜烯合酶的核酸生产萜烯和萜类化合物。该发明描述了在调节区(启动子)下的基因表达,但不用基因簇。

[0020] 同样,WO 2008039499 公开了包含编码萜烯合酶的核苷酸序列的核酸,WO 0240694 公开了具体包含紫杉烷合成途径的表达载体,WO 2007140339 公开了经由生物合成途径生产类异戊二烯。

[0021] US 2009/0137014 A1 描述了用微生物从乙醇中生产紫穗槐-4,11-二烯或法呢烯。WO08133658 描述了通过酿酒酵母和大肠杆菌从糖类中生产单萜。有若干其它专利/专

利申请,例如 WO 2008045555,其中使用微生物生产法呢烯。

[0022] 也描述了在工程化微生物中生产单萜 (Carter, Peters & Croteau2003)。他们发现表达来自绿薄荷的柠檬烯合酶的大肠杆菌,生产低浓度的柠檬烯。通过在大肠杆菌中过表达来自挪威云杉 (*Picea abies*) 的单萜环化酶 3- 萜烯环化酶,形成单萜柠檬烯、 α - 蒎烯、月桂烯、桉烯、3- 萜烯、 α - 蒎品烯、 β - 水芹烯、 α - 蒎品烯和蒎品油烯的混合物 (Reiling 等人, 2004)。

[0023] 倍半萜的生物合成的生产也描述于 Kimura M. 等人 (2007)。

[0024] 因此,用于生产萜烯的生物合成途径是已知的。然而,所引用的出版物中无一公开特别激活属于萜烯生物合成途径的基因簇的转录因子的过表达。尤其是,这些出版物都没有教导替换簇的某些基因以获得不同的萜烯产物,或导致表达水平的改变。

[0025] 生物合成途径中的关键性基因的表达水平的平衡可以影响产物的结果和生物体本身的活力。很多时候,基因产物的充足将导致对其表达的抑制。表征了许多这样的负反馈环,例如 Bergmann 等人 (2007),其中描述了基因簇的单个基因的过表达通常导致对同一簇的另一基因产物的限制。另外,中间体的积累可以负面调节特定途径的后续步骤。因此,对于生物合成途径基因,最高可达到的基因表达不一定与所述途径的终产物的最高得率相关。因此,重要的是发现负责生物合成中的特定步骤的各基因的最佳表达水平。通过使用生物合成基因的引入启动子,这可能是困难的。

[0026] 现有技术解决方案的缺点在于难以获得萜烯的高产物得率。另外的缺点是通过微生物发酵得到的产物通常包含大量不确定的副产物和其它不需要的化合物。另外,每个基因都不得不具有自身的调节区 (启动子)。总之,存在对获得较高得率的富集产物而无实质量的副产物的萜烯生产方法的需求。

[0027] 本发明的目标和概述

[0028] 本发明目的是提供用于通过微生物发酵生产萜烯的方法,并具有将产物代谢物从天然产生的某一种变为另一种的选项。优选地,同时使产物得率得以改善或者至少维持在可接受水平,并且产物为富集的。特别地,目的是提供这样的方法,其中真菌固有的转录调节能力用于将萜烯生物合成基因的转录调节维持在最佳水平,以在微生物宿主中生产多种具有商业价值的萜烯化合物。

[0029] 这些和其它目的通过下文描述和要求保护的本发明来实现。

[0030] 本发明的第一方面是用于在真菌中生产萜烯的方法。该方法包括以下步骤:

[0031] (a) 提供在宿主细胞中的修饰的萜烯生物合成基因簇,所述基因簇具有天然存在的萜烯生物合成基因和启动子,其中一个或多个这些基因或启动子已被取代、截短或移除;

[0032] (b) 提供在所述宿主细胞中的转录因子,使得所述转录因子与天然或修饰的启动子中的一个操作性连接以增加其表达,所述转录因子激活具有萜烯生物合成基因的修饰的萜烯生物合成基因簇和与所述基因操作性连接的调节区;

[0033] (c) 在允许所述激活簇的转录因子表达的条件下培养所述宿主;和

[0034] (d) 任选回收由此产生的萜烯产物。

[0035] 依照该方面,提供具有生物合成基因簇的天然启动子、和任选能够激活所述修饰的基因簇的合适转录因子的额外拷贝的宿主细胞。

[0036] 本发明的第二方面是修饰的萜烯生物合成基因簇。所述簇的特征在于其基本上包含推定地编码以下的基因：

[0037] (a) Zn(II)2Cys6- 型转录因子 (AN1599)；单萜合酶（例如 γ -萜品烯合酶、柠檬烯合酶、萜品油烯合酶、桉油醇合酶或 β -水芹烯合酶或倍半萜合酶（例如 α -法呢烯合酶、紫穗槐二烯合酶、杜松烯合酶、石竹烯合酶或红没药烯合酶）或二萜合酶（例如 ent-海松-8(14),15-二烯 (ent-pimara-8(14),15-diene) 合酶 AN1594、紫杉二烯合酶、贝壳杉烯合酶、fusicoccadiene 合酶、caspene 合酶或松香二烯合酶）；GGPP- 合酶 (AN1592) 或 GPP 合酶或 FPP 合酶、HMG-CoA 还原酶 (AN1593)，和

[0038] (b) 任选翻译延伸因子 1- γ (AN1595)、细胞色素 P450 (AN1598)、短链脱氢酶 (AN1596)、与甲基转移酶具有一些相似性的推定蛋白 (AN1597)、与所述基因操作性连接的调节区和任选 AAA 家族 ATP 酶 (AN1591) 和

[0039] (c) 与条目 (a) 的基因和与条目 (b) 的任选基因操作性连接的调节区。

[0040] Zn(II)2Cys6 型转录因子（即 AN1599），是天然存在于萜烯生物合成基因簇内的转录因子，能够调节位于该生物合成途径的所有基因。原本位于簇内部或与簇接近的转录因子是优选的，这是因为其可被容易地鉴定。然而，转化到同源或异源宿主中后，插入的与簇相关的转录因子的基因组位置不是关键性的。

[0041] 本发明的第三方面是用于在真菌中生产多种萜烯的如本文所述的修饰的萜烯生物合成基因簇的调节区。

[0042] 本发明的第四方面是以 SEQ ID NO:1 或与 SEQ ID NO:1 具有至少 80% 同一性的序列为特征的转录因子的用途。在一个优选的实施方案中，与 SEQ ID NO:52 的同一性程度为 82%、85%、87%、90%、92%、95%、98% 或甚至 99%。

[0043] 本发明的第五方面是构巢曲霉用于生产多种萜烯的用途。

[0044] 本发明第六方面是可用于本发明方法的生产宿主。根据本发明，所述宿主包含上述的萜烯生物合成途径基因簇和任选引入的与启动子操作性连接的转录因子，其中一个或多个基因或它们的启动子已被交换、截短或移除，其中所述转录因子能够激活萜烯生物合成基因簇。在这方面使用的引入的与启动子操作性连接的转录因子意指，与未经修剪用于本发明范围内的宿主相比，宿主细胞还携带（除可能的内源转录因子和启动子外）与启动子操作性连接的转录因子的一个或多个拷贝。引入的转录因子和启动子可以是与宿主同源或异源的。任选地，引入的与转录因子操作性连接的启动子可用于指导该转录因子的转录。另外引入的启动子可以是与宿主同源或异源的。

[0045] 本文所述的所谓的“AN1599 转化体”或“AN1599 转化体菌株”或“oe:AN1599”是构巢曲霉菌株，其具有处于组成型活性的 gpdA- 启动子下的 Zn(II)2Cys6 转录因子 AN1599 的额外拷贝。表达构建体的整合位点和拷贝数是未知的。本文所述的所谓的“gpdA > AN1599”是构巢曲霉菌株，其具有靶向基因簇的组成型活性的 gpdA- 启动子以调节转录因子 AN1599 的表达。

[0046] 术语“修饰的簇”意图指一个或多个基因或这些基因簇的调节区已被改变或移除。因此，萜烯簇中的基因是可交换的。例如，可将萜烯合酶 (AN1594) 替换为任何单萜、二萜或倍半萜的合酶以生产单萜、二萜或倍半萜。同样，GGPP- 合酶 (AN1592) 基因可被 GPP 或 FPP 合酶编码基因替换，以促进例如单萜合成。同样，可改变簇中的任何基因以促进优化的萜烯

生产。同样,可改变该簇的生物合成基因的任何启动子以促进优化表达。该方法得益于经协调和调节的表达所致的簇组构。

[0047] 基因缺失的效应可有益于次级代谢物的生产。GDH1 所编码的 NADPH- 依赖性谷氨酸脱氢酶的缺失被认为是在酵母中改进倍半萜生物合成的最佳靶基因 [Asadollahi]。也已经报道了生物合成基因簇的单个基因的缺失以增加其它类型的次级代谢物的生产。在构巢曲霉中,在 DHMBA 的生物合成基因簇中的细胞色素 P450 基因缺失之后,提高了聚酮 2,4- 二羟 -3- 甲基 -6-(2- 氧丙基) 苯甲醛 (DHMBA) 的生产 [Gerke]。诸如这些的修饰可用于本发明。

[0048] 另外其它类型的修饰例如基因截短可增加萜烯生产。在酵母中,导致萜烯前体生产的甲羟戊酸 (MVA) 途径经历了复杂的反馈调节,其中 HMG-CoA 还原酶作为主要调节靶标 [Dimster-Denk 等人,1994]。HMG-CoA 还原酶催化 HMG-CoA 向甲羟戊酸转化,并且在转录和转录后水平上被调节。从酵母 HMG-CoA 还原酶同工酶 1 (HMG1) 中移除 N- 末端调节结构域,阻止了基于甾体的 MVA 途径负反馈,并因此增加了用于其它类异戊二烯途径的异戊烯基二磷酸的供应 [Donald 等人,1997]。在重组酿酒酵母 (*S. cerevisiae*) 中该截短的 HMG-CoA 还原酶的使用增加了青蒿酸的生产 [Ro 等人,2006]。酵母 HMG-CoA 还原酶 (tHMG1) 的截短形式的表达以及与中国红豆杉 (*T. chinensis*) 香叶基香叶基二磷酸合酶和中国红豆杉紫杉二烯合酶的组合,导致在酿酒酵母中的紫杉二烯生产的显著增加 [Engels 等人,2008]。诸如这些的修饰可以用于本发明。

[0049] 除了簇基因中的修饰外,其它调节剂的其它修饰可以协同使用。另外,基于簇的表达可以用来组成型启动子的基因表达来补充。

[0050] 除了遗传操纵外,生长条件 (例如碳源或氮源、温度、pH、培养时间) 的优化可以用于增加特定萜烯化合物的生产。

[0051] 簇中的某些基因可以是可有可无的,因此这些位置可以用于增加有益于增加萜烯生产的任何生物合成基因 (例如上述的那些或其它) 的表达。

[0052] 本发明的实施方案在从属权利要求中公开。

[0053] 附图简述

[0054] 图 1. 显示了在构巢曲霉 FGSC A4 染色体 VII :1271985-1299880 中的天然存在的二萜合酶簇的染色体区。图片使用 Genome Browser 工具修改自曲霉基因组数据库 (Arnaud 等人)。基因簇由基因 AN1592-AN1599 和任选基因 AN1590 和 AN1591 组成。

[0055] 图 2. 是用于随机整合转化的转录因子 AN1599 (SEQ ID NO :4) 的构巢曲霉表达载体的示意图。

[0056] 图 3. 显示与 FGSC A4 野生型真菌相比,在 AN1599 转化体中的未修饰的萜烯基因簇区中的 13 个基因的表达水平。用 qPCR (灰色棒) 和 DNA 阵列 (黑色棒) 测定表达水平。qPCR 结果中的误差线代表了三个单独样品各自三次技术重复的平均值的标准误差 (SEM, $n = 9$)。DNA 阵列数据代表平均值的比较,使用 student's *t*- 检验的 99% 置信水平, $p \leq 0.01$ 。qPCR 和 DNA 阵列分析都表明转录因子 AN1599 (L) 的过表达导致未修饰的二萜簇区域中的 7 个基因的显著上调。簇中的基因编码 GGPP- 合酶 AN1592 (E)、HMG-CoA 还原酶 AN1593 (F)、ent- 海松 -8-(14),15- 二烯合酶 AN1594 (G)、延伸因子 1- γ AN1595 (H)、短链脱氢酶 AN1596 (I)、保守的推定蛋白 AN1597 (J)、细胞色素 P450 AN1598 (K) 和 Zn (II) 2Cys6

型转录调节剂 AN1599(L) ;并且,任选基因 AN1590(C) 和 AN1591(D)。

[0057] 图 4. 是 FGSC A4 野生型和 AN1599 转化体真菌的 SPME 气相色谱图。基线约 2000 的上图显示 FGSC A4 菌株的光谱,无显著的峰。下部 AN1599 菌株的图在约 36 分钟的保留时间显示主峰。

[0058] 图 5. 是在 AN1599 转化体的 SPME/GC 分析分离的主峰的质谱。质谱匹配 Palisade Complete 600K 质谱文库化合物 ent-海松-8(14),15-二烯。

[0059] 图 6. 显示 FGSC A4 和 AN1599 转化体菌株提取物的 GC/MS 数据。

[0060] 图 7. 是用于 γ -萜品烯生产的酿酒酵母表达载体的示意图。在此情况下,单萜合酶是来自温州蜜柑 (*Citrus unshiu*) 并且为了酿酒酵母而进行密码子优化的 γ -萜品烯合酶。

[0061] 图 8. 是用于 γ -萜品烯生产的酿酒酵母表达载体的示意图。在此情况下,单萜合酶是来自温州蜜柑并且为了构巢曲霉而进行密码子优化的 γ -萜品烯合酶。

[0062] 图 9. 是酿酒酵母表达载体 B1181 的示意图。

[0063] 图 10. 是在组成型 PGK1 启动子下表达为了酿酒酵母而优化的 γ -萜品烯合酶 (*C.unshiu*) 的酿酒酵母提取物的 SPME 气相色谱图。该图表明 γ -萜品烯合酶的主要产物是 γ -萜品烯。

[0064] 图 11. 是用于表达截短的酿酒酵母 3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 还原酶 (HMG1) 的酿酒酵母表达载体的示意图。

[0065] 图 12. 是酿酒酵母表达载体 B1184 的示意图。

[0066] 图 13. 是用于将构巢曲霉 *gpdA* 启动子引入所述簇以调节转录因子 AN1599 的转录的载体的示意图。

[0067] 图 14. 是用于将 AN1594 替换为来自温州蜜柑的 γ -萜品烯合酶的载体的示意图。可将构建体中的萜烯合酶基因改为任何单萜合酶 (例如柠檬烯合酶、桉油醇合酶或萹烯合酶)。

[0068] 图 15. 是用于将 AN1592 替换为挪威云杉香叶基二磷酸 (GPP) 合酶的载体的示意图。可将构建体中的合酶基因改为任何 GPP 合酶或具有合适的 GPP 合酶副活性的合酶。

[0069] 图 16. 是用于将 AN1594 替换为来自栽培苹果 (*Malus X domestica*) 的 α -法呢烯合酶的载体的示意图。可将构建体中的合酶基因改为任何倍半萜合酶 (例如紫穗槐二烯合酶、杜松烯合酶、石竹烯合酶或红没药烯合酶)。

[0070] 图 17. 是用于将 AN1592 替换为酿酒酵母法呢基二磷酸 (FPP) 合酶 ERG20 的载体的示意图。可将构建体中的合酶基因改为任何 FPP 合酶或具有合适的 FPP 合酶副活性的合酶。

[0071] 图 18. 是用于将 AN1594 替换为来自中国红豆杉的紫杉二烯合酶的载体的示意图。可将构建体中的合酶基因改为任何二萜合酶 (例如贝壳杉烯合酶、fusicoccadiene 合酶、casbene 合酶或松香二烯合酶)。

[0072] 图 19. 是构巢曲霉二萜簇基因的缺失盒载体的示意图。在这种情况下,缺失的基因是 AN1598。可以扩增侧翼区以缺失任何基因 (例如 AN1591、AN1590、AN1595、AN1596 或 AN1597)。

[0073] 图 20. 是用于将 AN1594 替换为来自藤仓赤霉 (*Gibberella fujikuroi*) 的赤霉素

合酶的载体的示意图。可将构建体中的合酶基因改为任何二萜合酶（例如贝壳杉烯合酶、fusicoccadiene 合酶、casbene 合酶或松香二烯合酶）。

[0074] 图 21. 是 A772 (对照)、A772 oe :AN1599 (AN1599 过表达菌株) 和 A772 oe :AN1599 ; AN1594 : :Gfcps/KS (AN1599 过表达菌株, 其中将海松二烯合酶基因, AN1594, 替换为藤仓赤霉的赤霉素合酶, Gfcps/KS) 的提取物的 GC-MS 色谱图。在对照菌株 A772 中未见主要产物峰, 而过表达 AN1599 的菌株的主要产物峰是 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯。当将合酶基因替换为赤霉素合酶时, 主要产物峰是贝壳杉 -16- 烯, 它是藤仓镰刀菌古巴基 (copaly1) 合酶 / 贝壳杉烯合酶 Gfcps/KS 基因的特定产物。

[0075] 图 22. 是 A772 (对照)、A772 oe :AN1599 (AN1599 过表达菌株) 和 A772 oe :AN1599 ; Gfcps/KS (AN1599 过表达菌株, 其具有随机整合的藤仓赤霉的赤霉素合酶 Gfcps/KS) 的提取物的 GC-MS 色谱图。该菌株中的赤霉素合酶具有 AN1594 启动子。在对照菌株 A772 中未见主要产物峰, 而过表达 AN1599 的菌株的主要产物峰是 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯。当将赤霉素合酶基因随机整合到基因组中, 但在 AN1594 启动子调控之下时, 可见两个主要产物峰。所述峰是 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯 (其是海松二烯合酶 (AN1594) 的产物) 和贝壳杉 -16- 烯 (其是藤仓镰刀菌古巴基合酶 / 贝壳杉烯合酶 Gfcps/KS 基因的特定产物)。海松二烯合酶基因缺失所致的二萜基因簇的进一步修饰导致特异性贝壳杉烯的产生。

[0076] 图 23. 是构巢曲霉海松二烯合酶基因 AN1594 的缺失盒载体的示意图。

[0077] 本发明优选实施方案的描述

[0078] 本发明涉及用于通过真菌的遗传操作而调节所述真菌的次级代谢物生产的方法。公开了利用双核锌簇, $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$, - 蛋白显著增加有用的次级代谢物生产的方法。术语双核锌簇蛋白 (ZBC- 蛋白) 意指编码具有 $\text{Cys-(Xaa)}_2\text{-Cys-(Xaa)}_6\text{-Cys-(Xaa)}_5\text{-16-Cys-(Xaa)}_2\text{-Cys-(Xaa)}_6\text{-8-Cys}$ 作为其结构的一部分的蛋白的任何基因。一般而言, 本发明方法包括在真菌中表达双核锌簇蛋白。 $\text{Zn(II)}_2\text{Cys}_6$ - 型转录因子具有结合两个锌原子的非常保守的富含半胱氨酸的结构域。该 DNA 结合结构域识别靶基因启动子区域中各种取向的 CGG 三联体。

[0079] AN1599 多肽是一种 ZBC- 蛋白, 并且能够特别用作微生物中 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯化合物生产的途径特异性转录因子。其特征在于包含 SEQ ID NO :52 的至少一部分的氨基酸序列。

[0080] 在本发明中, 利用所述转录因子的过程被修饰以还提供其它产物化合物。

[0081] 使用本发明的方法, 提供了上游关键前体合成基因, 用于类异戊二烯合成的 HMG-CoA 还原酶和用于萜类化合物骨架合成的 GGPP- 合酶或替代的合酶, 以及终产物修饰所需酶的激活。通过过表达转录激活物, 我们可获得途径中所有必需基因的最佳表达水平。

[0082] 在本发明中, 利用了转录因子激活修饰的萜烯基因簇的能力。簇基因之一是甲羟戊酸途径的关键的前体合成基因, 萜烯生产所需的 HMG-CoA 还原酶。没有从簇上将该还原酶移除, 但可以修饰该酶以增加萜烯生产。修饰可包括截短基因以抑制可能的反馈抑制。

[0083] 按照本发明的实施方案, 将基因簇的 GGPP- 合酶编码基因变为 GPP- 合酶编码基因以促进 GPP 合成, 用于单萜生产。

[0084] 按照另一实施方案, 将二萜合酶编码基因变为单萜合酶编码基因以促进单萜合成。

[0085] 同样,可以通过改变二萜合酶编码基因而修饰萜烯簇以促进另一种萜烯的生产,所述另一种萜烯例如倍半萜或并非上述的天然产物 ent-海松-8(14),15-二烯的不同的二萜。

[0086] 按照再一实施方案,同时改变 GGPP 合酶编码基因和二萜合酶编码基因。

[0087] 或者,可将二萜合酶编码基因变为倍半萜合酶编码基因并将 GGPP 合酶编码基因变为 FPP 合酶编码基因以促进倍半萜烯合成。

[0088] 可将转录因子的调节区变为另一启动子。所述启动子可以是具有组成型活性的启动子或诱导型启动子。组成型活性启动子的实例包括 *gpdA*(甘油醛-3-磷酸脱氢酶)启动子、*pkia*(丙酮酸激酶)启动子和 *trpC*(色氨酸生物合成)启动子。诱导型启动子的实例包括 *alcA/alcR*(醇脱氢酶)、*glaA*(葡糖淀粉酶)启动子和 *niiA/niaD*(亚硝酸/硝酸还原酶)、*sucA*(β -呋喃果糖苷酶)启动子、*amdS*(乙酰胺酶)启动子和 *xy1P*(木聚糖内切酶)启动子。所述启动子可以是细胞同源或异源的。在本实施中,未将额外拷贝的转录因子引入细胞中。在一个实施方案中,也可引入额外拷贝的转录因子。

[0089] 位于簇内的基因的功能用 BLAST[Altschul 等人,1997] 和 pfam 软件程序使用同源检索来预测。所述簇含有编码 HMG-CoA 还原酶的基因,该酶是在甲羟戊酸途径中的类异戊二烯前体生产所需的限速酶。在酵母中,HMG-CoA 还原酶在转录和转录后水平上都经历了复杂的反馈调节 [Dimster-Denk 等人,1994]。来自酿酒酵母的 HMG-CoA 还原酶同工酶 1(HMG1)的 N-末端调节结构域是基于甾体的 MVA 途径负反馈的靶标 [Donald 等人,1997]。构巢曲霉的二萜-基因簇中的 HMG-CoA 还原酶 AN1593 缺乏该 N-末端区。这有益于本发明范围内的萜烯生产。所述簇还含有 GGPP 合酶 AN1592 的编码基因,该酶结合类异戊二烯部分以形成二萜类化合物骨架的前体。这进一步改进了萜烯生产。

[0090] 在通常的二萜合成中,编码 ent-贝壳杉烯/ent-古巴基(ent-kaurene/ent-copalyl)型合酶的萜烯合酶基因进行两个连续的环化步骤,首先从 GGPP 前体形成 ent-古巴基二磷酸,然后从古巴基二磷酸形成二萜化合物海松二烯。细胞色素 P450(AN1598)、短链脱氢酶(AN1596)和位于簇内的推定蛋白(AN1597)可发挥修饰酶功能,进行氧化/还原反应和官能团至二萜结构的加成。在蛋白合成期间,翻译延伸因子 1- γ 在延伸循环中发挥中心作用。翻译延伸因子 1- γ (AN1595)的编码基因位于簇内。AAA+ATP 酶的成员发挥分子伴侣、蛋白酶的 ATP 酶亚基、解旋酶或核酸刺激的 ATP 酶的功能。除保守的 α - β - α 核心结构域结构和 P-环 NTP 酶的 Walker A 和 B 基序外,AAA+蛋白还包含若干独特特征。推定的 ATP 酶(AN1591)的编码基因位于生物合成簇区内。

[0091] 编码选择标记基因和与启动子操作性连接的转录因子 AN1599 多肽以及终止子的表达盒,可用于通过如下改进在微生物例如丝状真菌例如构巢曲霉、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、费希新萨托菌(*Neosartorya fisheri*)、犬小孢子菌(*Microsporum canis*)或里氏木霉(*Trichoderma reesei*)中的萜烯的生产,特别是海松二烯化合物的生产:通过用包含与启动子操作性连接的转录因子和终止子的表达盒转化生物体,并选择具有选择标记和与非转化细胞相比增加的萜烯化合物生产的转化细胞。转化的宿主(其为产生萜烯的微生物)可用于通过发酵生产萜烯化合物,并且萜烯化合物可任选自细胞或生长培养基中分离。

[0092] 萜烯产物可以是任何萜烯,例如单萜、倍半萜、二萜或三萜。然而,单萜和倍半萜是

优选的,单萜是最优选的萜烯产物类型。

[0093] 在本发明的一个实施方案中,萜烯或萜类化合物通过激活萜烯途径在真菌中生产。基本想法是过表达明确已知激活属于萜烯例如海松二烯生物合成途径的基因簇的正转录因子并且改变 / 和或修饰簇内的基因 / 和或启动子,以促进想要的萜烯(其优选并非海松二烯)的有效生产。整个基因簇的转录上调将克服向单个宿主生物中引入用于各个生物合成途径基因的多个过表达构建体的难题。与其中多个基因被外源性地引入宿主并上调的传统系统相比,该方法获益于能够在宿主生物中上调萜烯化合物生产所必需的所有基因的特异性转录激活物。已经指出,具有多个外源基因的生物的产物结果将依赖于每个引入基因的单表达水平。平衡表达水平以获得最佳产物得率可以是复杂的。同时优化多个外源基因的表达在许多情况下将产生所谓的瓶颈效应,其中一个基因的转录激活不足将限制产物得率,无论途径中其余基因获得多高的上调。当多个具有相似终产物的生物合成途径被激活时,存在的前体库(pool)被引导至具有最高表达水平的合酶基因的生物合成途径。在我们的DNA阵列研究中发现宿主转录组中的整体变化,显示当萜烯簇(在此情况下未修饰的簇)被激活时多个其它次级代谢产物基因簇下调[Bromann等人,2012]。在AN1599转化体中仅检测到少量副产物。浓缩的主要产物和高得率为工业用途和针对预期应用可能的进一步纯化提供了优良材料。在本发明中证实,当萜烯基因簇中存在的基因被改变时,这些论证也是真的。然而,不排除因为天然和引入的基因的不同特定活性而可能需要表达水平优化。簇内有其它位置可作为“保留”位置,以优化表达和活性水平。这样的基因可以是可有可无的,因此这些位置可用于增加用于增加萜烯生产所必需的任何生物合成基因的表达。

[0094] 按照本发明的特别优选的实施方案,基因修饰仅限于以下这些,其中:

[0095] - 将天然基因簇的GGPP-合酶编码基因变为GPP-合酶编码基因,

[0096] - 将GGPP合酶编码基因变为FPP合酶编码基因,

[0097] - 将二萜合酶编码基因变为单萜合酶编码基因,和

[0098] - 将二萜合酶编码基因变为倍半萜合酶编码基因,

[0099] - 将二萜合酶编码基因变为另一二萜合酶编码基因,

[0100] 和不使用表达水平优化。

[0101] 在这方面,术语萜烯意指由异戊二烯单元($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$)构建的碳氢化合物。因此萜烯碳水化合物具有分子式 $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$,并且根据异戊二烯单元的数目将其分为:单萜、二萜、三萜和四萜。在一个实施方案中,所述萜烯为萜类化合物,其是碳骨架被修饰的萜烯。在一个实施方案中,所述萜烯是单萜或倍半萜。 γ -萜品烯、柠檬烯、伞花烃和桉油醇是优选的实施方案。这些小萜烯产物是非常有价值的制药工业材料。

[0102] 在这方面,术语“允许表达的条件”意指其中激活簇的转录因子(例如AN1599)在组成型启动子下或在诱导型启动子下并且微生物在诱导剂存在下培养的条件。

[0103] 在一个实施方案中,条目的宿主细胞携带具有萜烯生物合成基因的萜烯生物合成基因簇,并且其中将合适的启动子引入所述细胞中。该启动子将会与转录因子AN1599操作性连接并将调节其转录。

[0104] 在一个实施方案中,条目的宿主细胞携带具有萜烯生物合成基因的萜烯生物合成基因簇,并且其中将基因簇的转录因子(尤其是AN1599)与合适的启动子操作性连接并转化到所述细胞中。

[0105] 在其它实施方案中,将具有萜烯生物合成基因的萜烯生物合成基因簇转化到宿主细胞中。所述宿主可以是与所述簇异源或同源的。

[0106] 激活转录因子 AN1599 的引入的启动子可以是与宿主细胞同源或异源的。它可以是组成型或诱导型启动子。

[0107] 与启动子操作性连接并激活具有萜烯生物合成基因的萜烯生物合成基因簇的转录因子,可以是与宿主细胞和 / 或所述基因簇同源或异源的。转化后,宿主菌株可具有所述转录因子和启动子的一个或多个拷贝。

[0108] 可优选与合适的启动子操作性连接的转录因子的定点转化、单个基因的转化和 / 或整个簇的转化或途径基因与调节区的转化,以阻断不需要的宿主基因的转录或提高合成途径基因的转录。

[0109] 在一个实施方案中,生产宿主包含编码转运蛋白的基因。转运蛋白可在萜烯途径簇内,其对于宿主可为天然的,或为引入的异源或同源转运体。转运体可以是活性转运体或经促进扩散而运作。其可促进离子或小分子通过膜,例如增加萜烯的分泌。本领域的技术人员充分理解的是,转运体可增加所需产物的生产。例如,若干 PDR 型转运体以及主要易化子超家族 (MFS) 的转运体在生产青蒿酸的酿酒酵母菌株中上调。这些转运体可增加萜烯产物的输出 [Ro 等人,2008]。

[0110] 用 DNA 阵列实验,我们注意到在其中萜烯生物合成途径被激活的 AN1599 转化体菌株中许多转运体和转移酶的转录上调 [Bromann 等人,2012]。前体和终产物的有效转运将可能有益于真菌中次级代谢物的生产。

[0111] 转录因子 (例如 AN1599) 可通过激活途径基因 (上调) 而激活萜烯生物合成途径。AN1599 调节剂 (例如 AN1599) 也可抑制其它途径的基因。

[0112] 在这方面,转录因子 (例如 AN1599) 能够上调整个萜烯途径,甚至当该途径的基因簇被如上所述地修饰时。途径的激活增加所需终产物的量并且减少杂质包括中间体。转录因子例如 AN1599 的位置不受限制。在一个实施方案中,使用天然 AN1599 启动子,在另一个实施方案中,将转录因子 AN1599 和与 AN1599 操作性连接的启动子随机转化到宿主细胞中,在另一个实施方案中,转化为是定点的。因此,生产宿主将在簇内具有天然转录因子,和任选与位于基因组别处的启动子操作性连接的所述转录因子的另外一个 / 多个拷贝。在一个实施方案中,将启动子引入基因簇中以调节簇内天然转录因子的表达。在一个实施方案中,将启动子引入基因簇内以调节簇内天然转录因子的表达并且任选与启动子操作性连接的所述转录因子的另外一个 / 多个拷贝位于基因组别处。

[0113] 多个真菌转录因子的 N- 末端区域包含富含半胱氨酸的基序,所述基序涉及 DNA 的锌 - 依赖性结合。该区域形成双核的 Zn 簇,其中两个 Zn 原子通过六个 Cys 残基结合。在转录因子 AN1599 中,氨基酸 45-86 形成保守的 Zn(II) 2Cys6 DNA- 结合结构域。

[0114] 共有序列 haCdnCrkkKvKCda...kkPaCsnCkklNleCtfyse

[0115] 匹配 +aC++Cr+Kv+Cd+ +P C+C+k++++C++

[0116] AN1599 45-86

[0117] RACQSCRASKVRCDQPNPGMP-CLRCQKSGKPCVDAAS

[0118] AN1599 保守的 Zn(II) 2Cys6 DNA- 结合结构域的 Pfam(pfam.janelia.org/) 序列比对。

[0119] 在一个实施方案中,转录因子具有序列 SEQ ID NO:52,或与 SEQ ID NO:52 显示至少 80% 同一性的序列。在一个优选的实施方案中,转录因子具有以 SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 显示至少 85%、88%、90%、92%、95%、98% 同一性的序列为特征的序列。

[0120] 启动子应适合宿主,并且优选在培养条件下有效的。通常启动子与生产宿主同源但也可使用异源启动子。启动子可为组成型或诱导型启动子。当终产物或一种或多种中间体对生产宿主有害或有毒时,诱导型启动子特别有利,并且优选控制表达。合适的组成型活性的启动子的实例为例如以下启动子:构巢曲霉甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (gpdA) 启动子、丙酮酸激酶 (pkfA) 启动子和色氨酸生物合成基因 (trpC) 启动子。合适的诱导型启动子的实例包括硝酸还原酶 (niaD) 启动子、醇脱氢酶 (alcA) 启动子、葡糖淀粉酶 (glaA)、蔗糖-诱导型启动子或 β -呋喃果糖苷酶 (sucA) 启动子、乙酰胺酶 (amdS) 启动子和异源诱导型启动子例如产黄青霉菌 (*Penicillium chrysogenum*) 木聚糖内切酶 (xylP) 启动子。

[0121] 宿主细胞可为与编码转录因子的一个或多个基因、启动子和基因簇异源或同源的。可使用任何生产宿主但优选宿主为微生物细胞例如真菌、酵母或细菌,更优选真菌,并且又更优选丝状真菌。合适的真菌宿主的实例为曲霉、青霉 (*Penicillium*)、木霉 (*Trichoderma*)、脉孢菌 (*Neurospora*)、镰刀菌 (*Fusarium*) 和新萨托菌 (*Neosartorya*)。在一个实施方案中,宿主为曲霉、青霉或木霉,并且在优选的实施方案中为构巢曲霉。特别优选的宿主为与簇同源的构巢曲霉。在一个实施方案中,宿主细胞为构巢曲霉 FGSC A4。在一个实施方案中,宿主细胞是构巢曲霉 A1155。在一个实施方案中,宿主细胞是构巢曲霉 A772。

[0122] 在实验部分,我们描述了 AN1599 转化体菌株,所述菌株为已经转化而在组成型活性的 gpdA- 启动子下携带 Zn(II) 2Cys6 转录因子 AN1599 基因的额外拷贝的构巢曲霉菌株 FGSC A4 或 A772。外源基因产物 (SEQ ID NO:4) 用 PciI 线性化或外源基因产物 (SEQ ID NO:4) 片段经 PCR 扩增并转化入宿主菌株的宿主基因组。表达构建体的整合位点和拷贝数目是未知的。我们还描述了 gpdA > AN1599 菌株,其是已经转化而在基因簇中携带引入构巢曲霉 gpdA 启动子的构巢曲霉菌株 FGSC A4、A772 或 A1155。在 gpdA > AN1599 菌株中的 gpdA 启动子紧接着位于生物合成基因簇中的 AN1599 的 ORF 的 5' 端被插入,其中所述启动子调节 AN1599 的表达。

[0123] 转化构建体的克隆可通过本领域已知的方法进行,转化和转化体的选择可通过本领域已知的方法进行。一个实例是通过原生质体转化并使用草铵膦选择。一个实例是通过原生质体转化并使用 5-磷酸-乳清酸选择。一个实例是通过生物射弹 (biolistic particle bombardment) 转化。当表达盒整合到宿主的染色体 DNA 时获得稳定的转化。整合可以靶向特定基因组基因座或可随机整合。然而,附加体质粒和其它非整合的构建体也在本发明内。

[0124] 基因簇为一组用于编码某一产物的生物合成所需蛋白的两个或更多个基因。在本发明的一个实施方案中,萜烯生物合成基因簇获自物种曲霉、新萨托菌或小孢子菌 (*Microsporus*),优选构巢曲霉、黑曲霉、费希新萨托菌或犬小孢子菌。最优选构巢曲霉,特别是构巢曲霉 FGSC A4、A1155 或 A772。

[0125] 在另一个实施方案中,簇基本上包含编码具有下列特征的蛋白的基因:

[0126] SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 (AN1599) 具有至少 80%、优选至少 85%、90%、

95%或甚至 98%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0127] SEQ ID NO:47 或与 SEQ ID NO:47 (AN1594) 具有至少 88%、90%、95%或甚至 98%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0128] SEQ ID NO:46 或与 SEQ ID NO:46 (AN1593) 具有至少 90%、优选至少 95%、97%或甚至 98%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0129] SEQ ID NO:45 或与 SEQ ID NO:45 (AN1592) 具有至少 86%、优选至少 90%、95%、97%或甚至 98%程度的同一性的序列,或其活性片段,或相应的 GPP 合酶、FPP 合酶,或具有合适的 GPP 和 / 或 FPP 副活性的另一合酶;

[0130] SEQ ID NO:48 或与 SEQ ID NO:48 (AN1595) 具有至少 90%、优选至少 93%、95%、97%、98%或甚至 99%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0131] SEQ ID NO:51 或与 SEQ ID NO:51 (AN1598) 具有至少 94%、优选至少 95%、97%或甚至 98%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0132] SEQ ID NO:49 或与 SEQ ID NO:49 (AN1596) 具有至少 90%、优选至少 93%、95%、97%、98%或甚至 99%程度的同一性的序列,或其活性片段;

[0133] SEQ ID NO:50 或与 SEQ ID NO:50 (AN1597) 具有至少 90%、优选至少 93%、95%、97%、98%或甚至 99%程度的同一性的序列,或其活性片段

[0134] 和任选

[0135] SEQ ID NO:44 或与 SEQ ID NO:44 (AN1591) 具有至少 50%、优选至少 60%、70%、75%、80%、85%、90%或甚至 95%程度的同一性的序列,或其活性片段,

[0136] 和与所述基因操作性连接的调节区,例如 SEQ ID NO:43 或与所述 SEQ ID NO:43 具有至少 40%、优选至少 50%、60%、70%、80%或甚至 90%程度的同一性而无编码所述蛋白的部分的序列。

[0137] 在另一个实施方案中,簇包含编码如上文所列出和表征的蛋白的基因。在另一个实施方案中,簇由编码如上文所列出和表征的蛋白的基因组成。在再一个实施方案中,簇包含编码如上文所列出和表征的蛋白 (AN1599)、(AN1594)、(AN1593)、(AN1592)、(AN1595)、(AN1598)、(AN1596) 和 (AN1597) 的基因。在再一个实施方案中,簇由编码如上文所列出和表征的蛋白 (AN1599)、(AN1594)、(AN1593)、(AN1592)、(AN1595)、(AN1598)、(AN1596) 和 (AN1597) 的基因组成。

[0138] “活性片段”意指具有完成蛋白典型功能所需的所有部分的片段。

[0139] 在这方面,短语“基本上包含”意指至少包含编码萜烯生产所需蛋白的基因。在这方面应至少包含编码 Zn(II)2Cys6- 型转录因子 (AN1599),萜烯合酶(例如单萜、倍半萜、二萜),HMG-CoA 还原酶 (AN1593),GPP、FPP 和 GGPP- 合酶中的一个的基因,以及与所述基因操作性连接的调节区。

[0140] 因此,也可使用簇片段。这样的簇片段优选基本上包含编码具有下列特征的蛋白的基因:

[0141] SEQ ID NO:52 或与 SEQ ID NO:52 (AN1599) 具有至少 80%、优选至少 85%、90%、95%或甚至 98%程度的同一性的序列,

[0142] SEQ ID NO:47 或与 SEQ ID NO:47 (AN1594) 具有至少 88%、90%、95%或甚至 98%程度的同一性的序列,或相应的单萜合酶、倍半萜合酶或二萜合酶,SEQ ID NO:46 或与 SEQ

ID NO:46 (AN1593) 具有至少 90%、优选至少 95%、97% 或甚至 98% 程度的同一性的序列, [0143] SEQ ID NO:45 或与 SEQ ID NO:45 (AN1592) 具有至少 86%、优选至少 90%、95%、97% 或甚至 98% 程度的同一性的序列, 或相应的 GPP、FPP 合酶, 或具有合适的 GPP 和 / 或 FPP 副活性的另一合酶, 和与所述基因操作性连接的调节区例如 SEQ ID NO:43 或与所述 SEQ ID NO:43 具有至少 40%、优选至少 50%、60%、70%、80% 或甚至 90% 程度的同一性的序列。

[0144] 生物合成途径基因簇内基因的组构不是关键的, 例如构巢曲霉和费希新萨托菌携带各自的基因但基因次序是不同的, 由此这些都同样是优选的。

[0145] 因此, 可以使用所述簇片段或簇基因的任何组合。

[0146] 此外, 按照本发明, 改变了基因簇内的一个或多个基因。如上所述, 可将改变引入天然宿主、异源宿主中, 引入到完整簇中或引入到部分簇中。如上所述, 可将处于合适启动子下的转录因子, 优选 AN1599, 靶向到基因组或随机整合到基因组中。另外, 可将启动子靶向至调节簇内的天然位置的 AN1599 表达。在此, 可将启动子插入并连接 AN1599 的 ORF 上游。引入的启动子可以是诱导型或组成型的。引入的启动子可以是与宿主异源或同源的。

[0147] 在一个实施方案中, 将萜烯合酶 (AN1594) 变为单萜合酶。合酶可以是但不限于, (+)-柠檬烯合酶 (AF514287, 区:47-1867, 来自柠檬 (*Citrus limon*))、(AY055214, 区:48-1889; 藿香 (*Agastache rugosa*))、(-)-柠檬烯合酶 (DQ195275; 区:1-1905, 北美云杉)、(AF006193, 区:73-1986; 北美冷杉 (*Abies grandis*))、(MHC4SLSP, 区:29-1828; 留兰香 (*Mentha spicata*))、 γ -萜品烯合酶 (AF514286, 区:30-1832, 来自柠檬)、(BAD27258, 区166-1803, 来自温州蜜柑)、(BAD27259, 区166-1803, 来自温州蜜柑); 萜品油烯合酶 (AY906866, 区:10-1887; 花旗松 (*Pseudotsuga menziesii*)); β -水芹烯合酶 (AF139205, 区:34-1926; 北美冷杉); 桉油醇合酶 (希腊鼠尾草 (*S. fruticosa*) SfCinS1, DQ785793)。在一个实施方案中, 将萜烯合酶 (AN1594) 变为单萜合酶。合酶可以是但不限于, (+)-柠檬烯合酶 (AF514287, 区:47-1867, 柠檬)、(AY055214, 区:48-1889; 藿香)、(AAG01140, 荆芥 (*Schizonepeta tenuifolia*)); (-)-柠檬烯合酶 (DQ195275; 区:1-1905, 北美云杉 (*Picea sitchensis*))、(AF006193, 区:73-1986; 北美冷杉)、(MHC4SLSP, 区:29-1828; 留兰香)、(AAG01140, 荆芥)、(ABI21837, 大麻 (*Cannabis sativa*))、(AAG31438, 白苏 (*Perilla frutescens*))、(AAS47694, 挪威云杉); γ -萜品烯合酶 (AF514286, 区:30-1832, 柠檬)、(BAD27258, 区166-1803, 温州蜜柑)、(BAD27259, 区166-1803, 温州蜜柑); β -水芹烯合酶 (AF139205, 区:34-1926; 北美冷杉); 1,8-桉油醇合酶 (AAU01970, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*))、(BAD91045, 温州蜜柑)、(ABP88782, *Nicotiana suaveolens*)、(AAC26016, 鼠尾草 (*Salvia officinalis*))、(希腊鼠尾草 (*Salvia fruticosa*) SfCinS1, DQ785793); β -蒎烯合酶 (AAB71085, 北美冷杉)、(AAK58723, 黄花蒿)、(AAM53945, 柠檬)、(BAD27260, 温州蜜柑)、(AAS47692, 挪威云杉); α -蒎烯合酶 (ABI21838, 大麻)、(CAD57092, 欧洲草莓 (*Fragaria vesca*))、(AAP72020, 北美云杉)、(AA061225, 火炬松 (*Pinus taeda*))、(AA061228, 火炬松); α -萜品醇合酶 (ACC66282, 洋玉兰 (*Magnolia grandiflora*))、(AA061227, 火炬松)、(ACF24767, 檀香 (*Santalum album*))、(AAS79351, 葡萄 (*Vitis vinifera*))、(AAS79352, 葡萄)、(AAL59230, 玉米 (*Zea mays*))、(ABR09292, 玉米)、(AAX07267, 花旗松); 萜品油烯合酶 (AY906866, 区:10-1887; 花旗松)、(AAV63792,

罗勒 (*Ocimum basilicum*))、(AAF61454, 北美冷杉); E)-b- 罗勒烯合酶 (AA042614, 金鱼草 (*Antirrhinum majus*))、(NP_189209, 拟南芥)、(AAN65379, 拟南芥)、(BAD91046, 温州蜜柑)、(AAT86042, 百脉根 (*Lotus japonicus*))、(ABY65110, 棉豆 (*Phaseolus lunatus*)); 月桂烯合酶 (AAB71084, 北美冷杉)、(AA041727, 金鱼草)、(AA041726, 金鱼草)、(AAG09310, 拟南芥)、(AAX69064, 普通番茄 (*Lycopersicon esculentum*))、(AAV63791, 罗勒)、(AAF76186, 白苏)、(AAS47696, 挪威云杉)、(CAC41012, *Quercus ilex*); (+)-(3S)- 芳樟醇合酶 (ABR24418, 金鱼草)、(AA085533, 拟南芥)、(AAC49395, 仙女扇 (*Clarkia brewerii*))、(CAD57081, 草莓 (*Fragaria ananassa*))、(CAD57106, 草莓)、(EU596453, 亚洲栽培稻 (*Oryza sativa*)); (-)-(3R)- 芳樟醇合酶 (AAF13357, 黄花蒿)、(AAF13356, 黄花蒿)、(ABB73045, 薰衣草 (*Lavandula angustifolia*))、(AAX69063, 普通番茄)、(AAL99381, 柠檬薄荷 (*Mentha citrata*))、(AAV63789, 罗勒)、(AAS47693, 挪威云杉); 香叶醇合酶 (CAD29734, 细毛樟 (*Cinnamomum tenuipilum*))、(AAR11765, 罗勒)、(AAY88965, 柠檬紫苏 (*Perilla citriodora*))、(ABB30218, 白苏); 茨烯合酶 (AAB70707, 北美冷杉); 葑醇合酶 (AAV63790, 罗勒); (+)-3- 萜烯合酶 (AA073863, 挪威云杉)、(AAM89254, 狭长叶鼠尾草 (*Salvia stenophylla*)); (+)- 桉烯合酶 (AAC26018, 鼠尾草)、(ABH07678, *Salvia pornifera*); (+)- 冰片基合酶 (AAC26017, 鼠尾草) 或以上任何的同源物。优选单萜合酶是 γ - 萜品烯合酶。

[0148] 萜烯合酶的载体可包含编码用于萜烯合酶的纯化或检测的标签的核酸。所述标签可以是但不限于, His-6 标签、c-myc 表位、血凝素 (HA) 标签、FLAG 表位、Strep-TAGII、谷胱甘肽-S- 转移酶 (GST)、生物素标签、绿色荧光蛋白 (GFP) 或黄色荧光蛋白 (YFP)。

[0149] 在另一个实施方案中, 其中萜烯合酶 (AN1594) 被单萜合酶取代的构建体 / 菌株伴随有其中 GGPP- 合酶 (AN1592) 被 GPP 合酶或具有合适的 GPP 副活性的合酶取代的构建体。GPP 合酶可以是但不限于: (AF513111; 北美冷杉)、(AF513112, 北美冷杉)、(AY534686, 金鱼草)、(AY534687; 金鱼草)、(Y17376; 拟南芥)、(AE016877, *Locus AP11092*; 蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*); ATCC 14579)、(AJ243739; 甜橙 (*Citrus sinensis*))、(AY534745; 仙女扇)、(AY953508; *Ips pini*)、(DQ286930; 普通番茄)、(AF182828; 胡椒薄荷 (*Mentha x piperita*))、(AF182827; 胡椒薄荷)、(MP1249453; 胡椒薄荷)、(PZE431697, *Locus CAD24425*; *Paracoccus zeaxanthinifaciens*)、(AY866498; 库洛胡黄连 (*Picrorhiza kurroa*))、(AY351862; 葡萄) 和 (AF203881, *Locus AAF12843*; 运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*))。

[0150] 在一个实施方案中, 将萜烯合酶 (AN1594) 变为另一二萜合酶例如紫杉二烯合酶 (GI:1354138, 短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*))、(GI:156106768, 曼地亚红豆杉 (*Taxus x media*))、(GI:71796850, 南方红豆杉 (*Taxus wallichiana* var. *mairei*))、(GI:83596264, 东北红豆杉 (*Taxus cuspidate*)); 赤霉素合酶 (GI:6009475, 藤仓镰刀菌 (*Fusarium fujikuroi* (藤仓赤霉 (*Gibberella fujikuroi*)))、fusicoccadiene 合酶; 贝壳杉烯合酶 (GI:239750080, 丹参 (*Salvia miltiorrhiza*))、(GI:226531621, 玉米); Gasbene 合酶 (GI:606417, 蓖麻 (*Ricinus communis*)); 松香二烯合酶或任何上述的同源物。

[0151] 在一个实施方案中, 将萜烯合酶 (AN1594) 变为倍半萜合酶例如红没药烯合酶 (AAC24192, 北美冷杉)、(NP_193064, 拟南芥)、(NP_193066, 拟南芥)、(AAX07266, 花旗

松);紫穗槐-4,11-二烯合酶(CAB94691,黄花蒿)、(AAF61439,黄花蒿)、(AAF98444,黄花蒿);杜松烯合酶(AAA93064,树棉(*Gossypium arboreum*));杜松烯合酶(AAA93065,树棉)、(CAA65289,树棉)、(AAC12784,陆地棉(*Gossypium hirsutum*))、(AAF74977,陆地棉)、(AAV63787,罗勒);法呢烯合酶(ABX83201,甜瓜(*Cucumis melo*))、(AAB95209,胡椒薄荷)、(AAS47697,挪威云杉)、(AAX07265,花旗松);(E)-b-石竹烯合酶(AA085539,拟南芥);(E)-b-石竹烯合酶(AAL79181,黄花蒿)、(AAV36464,蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*))、(EU596454,亚洲栽培稻)、(ABJ16553,亚洲栽培稻)、(ABY79206,玉米)、(ABY79209,二倍体玉米(*Zea diploperennis*))、(ABY79210,委委特南戈类玉米(*Zea m. huehuetenangensis*))、(ABY79211,大刍草(*Zea luxurians*))、(ABY79212,玉米)、(ABY79213,玉米)、(ABY79214,多年生玉米(*Zea perennis*))或任何以上的同源物。

[0152] 在另一个实施方案中,其中萜烯合酶(AN1594)被倍半萜合酶取代的构建体/菌株伴随有其中GGPP-合酶(AN1592)被FPP合酶或具有合适的FPP副活性的合酶取代的构建体。

[0153] 如本文中所使用的,术语“同一性”是指两个氨基酸序列之间从相应基因编码的第一个氨基酸至最后一个氨基酸彼此相互比较的总体同一性。用于本发明目的,同一性优选借助已知的计算机程序使用标准算法确定。这样的程序的实例是NCBI BLAST、BLASTp(已知蛋白序列、氨基酸的比较)、BLASTn(核酸序列比较)、BLASTx(翻译的核酸序列与已知蛋白序列的比较)。

[0154] 在这方面,术语“萜烯生物合成基因”意指编码萜烯环化酶/合酶的基因和编码在萜烯生产和/或修饰中必需的/必不可少的蛋白的基因。

[0155] HMG-CoA还原酶是类异戊二烯前体生物合成中的限速酶,因此对萜烯的合成是必不可少的。因此,编码该还原酶的基因,即编码SEQ ID NO:46或与SEQ ID NO:46(AN1593)具有至少90%、优选至少95%、97%或甚至98%程度的同一性的序列的基因,也是必不可少的。所有或任何簇基因都可以被取代或截短。此外,任何簇基因都可以移除。进行这些修饰主要是为了增加所需萜烯化合物的生产。

[0156] 充足的前体分子合成关键性地影响所需代谢物的得率。增加生物合成基因的量而不激活上游的前体合成将不影响产物的得率。当前体途径也被激活时,可能获得靶代谢物的最佳生产水平。

[0157] 当启动子的功能导致转录时,两个DNA序列是操作性连接的。操作性连接是这样的连接:其中将一个序列以使得该序列在调节序列的影响或控制下表达的方式连接到一个或多个调节序列。

[0158] 在这方面簇基因的调节区在宿主生物中天然存在。转录控制区与编码区天然关联。这些调节区在转录因子的影响或控制下。例如,转录因子AN1599的DNA结合结构域识别生物合成簇区域(SEQ ID NO:43)中的靶基因的启动子区内的各种取向的CGG三联体或其它序列段,因此激活所述基因的转录。对于各个基因尚未鉴定影响转录因子结合的CGG三联体或其它序列段。然而,所鉴定的簇内的启动子区对于转录因子AN1599造成的转录激活是特异性的。SEQ ID NO:43内包含的天然存在的调节区可与表达的转录因子一起使用以促进簇内ORF的转录。调节区可包含各种元件,例如启动子、增强子、阻遏子或调节转录或翻译的其它序列。调节区相对于宿主生物可为异源的(外源)或同源的(内源)。本文

所述簇基因 (SEQ ID NO :43) 的调节区相对于所述基因的编码区为内源的以及天然存在的。

[0159] 用于本文所述转录因子 AN1599 的过表达的启动子是同源的但非天然存在的。启动子与编码序列操作性连接。用于转录因子的过表达的启动子也可为异源的。如本文所使用的, 术语“异源启动子”和“异源控制区”指天然与特定核酸通常不关联的启动子和其它控制区,或是来自并非宿主的生物体的启动子和其它控制区。本文所述过表达 AN1599 的真菌菌株还包含天然与 AN1599 的编码区关联的天然调节区。AN1599 转录因子通过其天然调节区而上调的机制是未知的。AN1599 通过其天然存在的调节区的激活引起的本文所述基因簇的激活在本发明实施方案内。

[0160] 在生物合成基因簇中,酶 / 蛋白编码区之间的调节区包括启动子、终止子和各种调节因子能够连接的区域。本文中可互换使用的术语“DNA 调节序列”、“控制元件”和“调节元件”指在宿主细胞中提供和 / 或调节编码序列的表达和 / 或编码多肽的生产的转录和翻译控制序列,例如启动子、增强子、多腺苷酸化信号、终止子、蛋白降解信号等。在一个实施方案中调节区为以 SEQ ID NO :43 或与所述 SEQ ID NO :43 具有至少 40%、优选至少 50%、60%、70%、80%或甚至 90%程度的同一性而无编码合成蛋白的部分的序列为特征的那些。

[0161] 使用转录因子用于生产单萜类化合物、优选 γ -萜品烯、柠檬烯、伞花烃或桉油醇,亦是本发明的实施方案。

[0162] 一个实施方案是构巢曲霉 FGSC A4、A1155 或 A772 用于使用本文描述和在实验部分针对 FGSC A4 所说明的方法生产萜烯的用途。

[0163] 本发明通过下列非限制性实施例说明。然而,应理解的是,以上的说明书和实施例中给出的实施方案仅用于说明目的,并且在本发明的范围内的各种变化和改进是可能的。

实施例

[0164] 实施例 1. 鉴定构巢曲霉中的二萜簇。

[0165] 按照 Bromann 等人 (2012) 所述鉴定选择的簇。从构巢曲霉 FGSC A4 基因组搜索具有 InterPro 结构域 IPR008949 “萜类化合物合酶”和 IPR008930 “萜类化合物环化酶”的基因。为了寻找具有用于次级代谢的正调节剂和特征性基因的潜在的萜烯生物合成基因簇,在萜烯合酶基因周围的 20kb 基因组区中搜索 InterPro 结构域 IPR001138 “真菌转录调节蛋白”、IPR002403 “细胞色素 P450, E- 类, IV 组”和 IPR001128 “细胞色素 P450”。相似的簇也存在于费希新萨托菌、犬小孢子菌、里氏木霉、粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*)、棒曲霉 (*Aspergillus clavus*)、烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、黑曲霉、米曲霉、土曲霉 (*Aspergillus terreus*)、灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*)、稻瘟病菌 (*Magnaporthe grisea*)、禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*) 和尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 中,并且在以下物种中对萜类化合物簇作图:棉阿舒囊霉 (*Ashbya gossypii*)、白色假丝酵母 (*Candida albicans*)、光滑假丝酵母 (*Candida glabrata*)、季也蒙假丝酵母 (*Candida guilliermondii*)、葡萄牙假丝酵母 (*Candida lusitanae*)、球毛壳 (*Chaetomium globosum*)、汉逊德巴利酵母 (*Debaryomyces hansenii*)、乳酸克鲁维酵母 (*Kluyveromyces lactis*)、巴斯德毕赤酵母 (*Pichia pastoris*)、树干毕赤酵母 (*Pichia stipitis*)、芽殖酵母 (*Saccharomyces castellii*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、克鲁维酵母 (*Saccharomyces kluyveri*)、解脂耶氏酵母 (*Yarrowia lipolytica*)、灰盖鬼伞 (*Coprinus*

cinereus)、新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans*)、*Phanerochaete chrysosporium*、粗球孢子菌 (*Coccidioides immitis*)、粟酒裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、膜核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、*Stagonospora nodorum*、玉米黑粉菌 (*Ustilago maydis*) 和米根霉 (*Rhizopus oryzae*)。

[0166] 图 1 显示二萜合酶簇的染色体区域。图使用 Genome Browser 工具修改自曲霉基因组数据库 [Amaud 等人, 2006]。

[0167] 实施例 2. 转录因子 AN1599 的真菌表达载体的克隆。

[0168] 基因组 DNA 通过将 300–500mg 在 YES– 培养基上生长过夜的 FGSC A4 菌丝体匀浆而提取。向含有菌丝体的 2mL 小瓶中加入 500 μ L 玻璃珠 (酸洗涤的玻璃珠, 目录号 G8772, Sigma)、500 μ L 1x TE– 缓冲液, pH 7.5 和 500 μ L 苯酚–氯仿–异戊醇, 并在 Fast Prep– 匀浆器中以速度 6 匀浆 25 秒。通过在 4°C 15000rpm 离心 5 分钟分离水层, 并加入 650 μ L 苯酚–氯仿–异戊醇。根据 DNA 的苯酚萃取和乙醇沉淀方案 (分子生物学的通用方案) 继续从水相纯化 DNA。DNA 的浓度用 Nanodrop (Thermo Scientific) 测量。

[0169] AN1599 (SEQ ID NO :1) 的可读框 (ORF) 使用 43ng 自构巢曲霉 FGSC A4 提取的基因组 DNA 作为模板用 PCR 扩增。在 50 μ L 总体积中正义和反义引物的引物浓度均为 300nM。PCR 根据制造商的方案用扩增高保真 PCR 系统 (Expand High Fidelity PCR System) (目录号 11,732,650,001, Roche) 进行。构巢曲霉 AN1599 的 PCR 中使用的引物为 SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3。寡核苷酸以 0.025 级 (scale) 合成并通过在 Sigma-Aldrich 上脱盐纯化。

[0170] AN1599 的扩增在热循环仪中用下列参数进行 :95°C 5 分钟, 1 个循环 ;94°C 15 秒, 68°C 30 秒和 72°C 2 分钟, 30 个循环 ;72°C 7 分钟, 1 个循环, 并在 +4°C 冷却。片段在琼脂糖凝胶上检验, 并根据制造商的方案克隆入 pCR 2.1 TOPO– 载体 (目录号 K4510–20, TOPO TA Cloning[®] 试剂盒 (含有 pCR 2.1 TOPO– 载体), Invitrogen)。全长的基因组 AN1599 使用 SpeI (目录号 R0133S, New England Biolabs, Inc.) 从 pCR2.1 TOPO– 载体消化, 并将片段克隆入 pKB1– 载体的 SpeI 位点。证实了 AN1599 ORF 在 pKB1 中的定向。

[0171] pKB1– 载体通过将 PCR– 扩增的草铵膦抗性基因 bar 加入修饰的 pAN52–1NotI– 载体 (Kuorelahti 等人) 的 NotI 位点而构建。bar– 片段已经从 pTJK1 (Jones 等人) PCR 扩增并在片段的两端加入 NotI 位点。片段在 bar– 抗性基因的上游包含构巢曲霉 trpC 启动子。转化前证实 pKB1 中的构建体 AN1599 的序列 (SEQ ID NO :4)。AN1599 的表达载体的示意图见图 2。该载体用于随机整合转化。

[0172] 实施例 3. AN1599 转化体菌株的产生。

[0173] 将构巢曲霉菌株 FGSC A4 Glasgow 野生型 (veA+) (Fungal Genetics Stock Center, School of Biological Sciences, University of Missouri, Kansas City, 5007 Rockhill Road, Kansas City, MO 64110, USA) 的分生孢子接种在 YES– 培养基 [每升 dH₂O 含 20g Bacto[™] 酵母提取物 (目录号 212750, Becton, Dickinson and Company)、40g 蔗糖 (Calbiochem 目录号 573113) 和 30g Difco[™] 明胶 (目录号 214340, Becton, Dickinson and Company)] 并在 +24°C 在摇瓶中 250rpm 生长过夜。将 FGSC A772 (galD5 ;pyrG89 ;acrA1 ;chaA1) 在添加有 10mM 尿嘧啶和 10mM 尿苷的 YES– 培养基中在 +37°C 在摇瓶中 250rpm 生长过夜。构巢曲霉 FGSC A4 和 A772 菌丝体通过无菌 Miracloth 过滤, 并用 +37°C dH₂O 和室温

柠檬酸盐缓冲液 [0.8M KCl, 0.05M 柠檬酸钠, pH 5.8] 漂洗。过滤的 FGSC A4 菌丝体重悬在 100mL 添加 1mM 二硫苏糖醇的室温柠檬酸盐缓冲液中, 并加入 50mL 3% 酶-溶液 [1.5g 来自哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*) 的水解酶, 目录号 L1412, Sigma/50mL 柠檬酸盐缓冲液]。在 +30℃ 于 100rpm 振摇达 2.5 小时进行原生质体化, 酶处理期间在 50 分钟和 1.5 小时的时间点时在显微镜下监测原生质体形成。悬浮液在冰上冷却 10 分钟, 然后通过无菌 Miracloth 过滤至无菌瓶中, 并将原生质体悬浮液转移至 50mL 锥形管中。原生质体在桌面离心机中于 +4℃ 1500xg 离心 5 分钟, 弃去上清液。沉淀的原生质体用冷 GTC- 缓冲液 [1M 葡萄糖, 50mM CaCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 5.8] 洗涤, 在桌面离心机中于 +4℃ 1500xg 离心 5 分钟, 并重悬在 600 μL GTC 中。加入 600 μL 40% 甘油, 并将原生质体 -80℃ 保存直至转化。按照同样方式制备来自 FGSC A772 菌丝体的原生质体, 但使用 1mg/mL Caylase C4 (目录号 Case C4-10, Cayla) 作为原生质体化的酶, 不用二硫苏糖醇。将原生质体重悬于 [1.2M 山梨醇, 10mM CaCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 7.5] 并加入 50μL PEG 溶液 [25% PEG6000, 50mM, 10mM Tris-HCl, pH 7.5] 到每 200μL 原生质体中。将原生质体 -80℃ 保存直至转化。

[0174] 用于 FGSC A4 转化的选择平板用改良的基本培养基 (MM) (Kaminskyj) 制备。1 升 MM 添加有 1mL Triton x-100 (目录号 93418, Fluka Analytical)、18g Difco™ Agar Noble (目录号 214230, Becton, Dickinson and Company) 和 200 μg/mL 的草铵膦 (目录号 45520, 草铵膦, **PESTANAL**®, Sigma-Aldrich)。高压灭菌后将草铵膦加入冷却的溶液中。转化中使用的顶层琼脂在添加 2% 琼脂和 200 μg/mL 草铵膦的基本培养基中在没有 Triton x-100 情况下制备。选择 MM- 平板也用于随后转化体的选择。

[0175] 用 TrMM [1.5% KH₂PO₄, 0.4% NH₄SO₄, 2% 葡萄糖, 1M 山梨醇, 微量元素, 1.8% agar noble] 制备平板用于 A772 转化。

[0176] 将 FGSC A4 原生质体悬浮液在冰上融化, 并将 400 μL 悬浮液转移至 15mL 管中。用 2mL 冷 GTC 洗去甘油, 并将原生质体悬浮在 180 μL 冷 GTC 中。20 μg 表达质粒用 PciI (目录号 R0655S, New England Biolabs Inc.) 在 +37℃ 线性化 1.5 小时。加入 dH₂O 直至 100 μL、10 μL 3M NaAc (醋酸钠), pH 4.8 和 275 μL 94% EtOH 后, 将线性化的 DNA 在 -80℃ 沉淀 15 分钟。沉淀的 DNA 通过在 +4℃ 在 15000rpm 离心 5 分钟收集, 用 70% EtOH 洗涤, 并重悬在 20 μL GTC 中。将 DNA 加入原生质体, 并通过轻敲管混合。将 50 μL PEG- 溶液 [25% PEG6000, 50mM CaCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 7.5] 与原生质体和 DNA 混合, 并将管在冰上孵育 20 分钟。加入 2mL PEG- 溶液, 并将转化溶液转移至 15mL 小瓶中。将小瓶在室温孵育 5 分钟, 加入 4mL RT GTC, 通过将管颠倒而混合。6mL +55℃ 顶层琼脂中补充有 1.2mg 草铵膦并将其加至 6mL 转化混合物中。通过颠倒混合小瓶, 并将含有转化的原生质体的顶层琼脂倒在选择性基本培养基 (MM) - 平板上。

[0177] 将 FGSC A772 原生质体在冰上融化。用于转化的 DNA 用引物 SEQ ID NO:90 和 SEQ ID NO:91 并使用 SEQ ID NO:4 为模板经 PCR 扩增。PCR 扩增的 DNA 用 DpnI 处理并用 Qiagen PCR 纯化试剂盒纯化或用乙醇沉淀。将 5 μg DNA 与 7 μL 100mM 亚精胺混合并在室温下孵育 5-10 分钟。加入 DNA- 亚精胺混合物并混合到 125 μL 原生质体 /PEG- 溶液中以达到亚精胺终浓度为 5mM。将混合物在冰上孵育 30 分钟。加入 1mL PEG 溶液并混合并将原生质体在室温下孵育 20 分钟。加入 10mL 融化 +55℃ TrMM 顶层琼脂 [1.5% KH₂PO₄, 0.4% NH₄SO₄, 2% 葡萄糖, 1M 山梨醇, 微量元素, 3% agar noble], 补充草铵膦至在终体积 30mL 中达终浓

度 400 μ g/mL, 并将原生质体铺在 TrMM 板上。

[0178] 用于 FGSC A4 的平板在 +30℃ 孵育, 并将用于 FGSC A772 的平板在 +37℃ 孵育, 直到转化菌落可见。将来自转化平板的菌落挑至选择 MM- 平板上, 稀释至单核化的菌落, 用 PCR 从所选克隆的基因组验证表达构建体的插入。用于检验表达盒的正义引物为 SEQ ID NO: 5, 基因特异性的反义引物对于构巢曲霉 AN1599 为 SEQ ID NO: 6。经 PCR 证实的阳性克隆在马铃薯葡萄糖平板 [每升 dH₂O 中含 37g Difco™ 马铃薯葡萄糖琼脂] 上生长直至收集孢子。转化体真菌的孢子收集至 0.8% NaCl、0.025% Tween-20 和 20% 甘油中, 并在 -80℃ 保存。

[0179] 实施例 4. 在 FGSC A4 背景中的 AN1599 转化体菌株的表达分析。

[0180] 在构巢曲霉 AN1599 转化体和 FGSC A4 中用 qPCR 定量测定 AN1599 基因组区域中 13 个基因的表达, 以查看哪些基因响应转录因子的过表达。将 AN1599 转化体和 FGSC A4 在 YES- 培养基中在摇瓶中在 +30℃ 250rpm 培养至汇合。通过真空过滤将菌丝体收获到无菌 Miracloth (#475855, Calbiochem), 用 +37℃ dH₂O 漂洗, 并舀取 3 个批次的 100 μ L 各培养物到 1.5mL 微量离心管中, 在液氮中快速冷冻并贮存于 -80℃ 直到 RNA 提取。

[0181] 从每一转化体培养物中进行 3 次 RNA 提取以在具有样品制剂内的统计学变化。RNA 从 100 μ L 冷冻的菌丝体中提取, 所述菌丝体在 450 μ L 添加 β - 巯基乙醇的 RLT- 缓冲液 (RNeasy® Plant Mini Kit, 目录号 74904, Qiagen) 中使用杵和电动混合器 (VWR™ Disposable Pestle, 目录号 47747-358, Pellet Mixer, 目录号 47747-370) 均质化。样品用 QiaShredder 柱 (RNeasy® Plant Mini Kit, 目录号 74904, Qiagen) 进一步均质化, 并且 RNA 提取方案按照 RNeasy® Plant mini Kit- 方案继续。RNA 纯化- 方案前在 DNA 酶消化 RNA 后使用 RNase-Free DNase Set (目录号 79254, Qiagen) 从样品中除去基因组 DNA。使用 Nanodrop (Thermo Scientific) 对 RNA 进行分光光度法定量测定, 并且用琼脂糖凝胶电泳检验 RNA 的质量。

[0182] 按照 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (目录号 04 897030 001, Roche) 的方案用 5 μ g 总 RNA 作为模板进行 cDNA 的合成。cDNA 在 -20℃ 保存直至分析。每个样品用 3 个重复检测, 以查看定量 PCR 反应设置中的变化。实时定量 PCR 分析反应使用 LightCycler® 480 SYBR Green I Master mix (目录号 04887352001, Roche) 的方案设置, 并在 LightCycler® 480 Instrument (Roche) 中分析。在 LightCycler® 480 white Multiwell Plate 96 (目录号 04729692001, Roche) 中使用 0.5 μ M 浓度的引物制备 15 μ L 的反应物。

[0183] AN1588 的表达用引物 SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 8 检查, AN1589 用引物 SEQ ID NO: 9 和 SEQ ID NO: 10 检查, AN1590 用引物 SEQ ID NO: 11 和 SEQ ID NO: 12 检查, AN1591 用引物 SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 检查, AN1592 用引物 SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 16 检查, AN1593 用引物 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 18 检查, AN1594 用引物 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 20 检查, AN1595 用引物 SEQ ID NO: 21 和 SEQ ID NO: 22 检查, AN1596 用引物 SEQ ID NO: 23 和 SEQ ID NO: 24 检查, AN1597 用引物 SEQ ID NO: 25 和 SEQ ID NO: 26 检查, AN1598 用引物 SEQ ID NO: 27 和 SEQ ID NO: 28 检查, AN1599 用引物 SEQ ID NO: 29 和 SEQ ID NO: 30 检查, 和 AN1600 用引物 SEQ ID NO: 31 和 SEQ ID NO: 32 检查。 β - 肌动

蛋白的表达用 SEQ ID NO :33 和 SEQ ID NO :34 检查。

[0184] PCR 参数是：预孵育：以 4.4℃ /s 的变温速率在 95℃ 5 分钟；扩增 50 个循环：95℃ 10 秒，变温速率为 4.4℃ /s，55℃ 10 秒，变温速率为 2.2℃ /s，72℃ 10 秒，变温速率为 4.4℃ /s；解链曲线：95℃ 5 秒，变温速率为 4.4℃ /s，65℃ 1 分钟，变温速率为 4.4℃ /s，然后持续至 97℃；40℃ 冷却 10 秒，变温速率为 1.5℃ /s。

[0185] 所有表达值用 β -肌动蛋白的表达标准化，并将构巢曲霉 AN1599 转化体的倍数比与构巢曲霉 FGSC A4 野生型真菌的倍数比相比较。每个引物组的效率自模板 cDNA 的连续稀释液计算，表达倍数比使用 pfaffl- 公式 (Pfaffl) 定量测定。结果见图 3。

[0186] 对 AN1599 转化体也进行 DNA 阵列分析，使用通过 Nimblegen 制造的用户设计的 DNA 阵列芯片，使用 Custom Eukaryotic 12x135K 阵列格式。在 DNA 阵列设计中的 10597 个转录本的序列来源是：ftp.ensemblensemblgenomes.org/pub/fungi/release4/fasta/aspergillus_nidulans/cdna/Aspergillus_nidulans.CADRE2.4.cdna.all.fa.gz。完整基因组的序列来源是：ftp.ensemblgenomes.org/pub/fungi/release-4/embl/aspergillus_nidulans/Aspergillus_nidulans.0.dat.gz。

[0187] 对于 DNA 阵列，对 FGSC A4 和 AN1599 转化体菌株二者，接种三个 50mL 的培养物。培养物在添加明胶的 YES- 培养基中在 250rpm 振荡培养箱中于 +37℃ 生长过夜。生长期间监测每个培养瓶的 pH 变化，在 pH 值 5.76-5.94 时从培养物中获取用于 DNA 阵列的样品。该 pH 范围对应于构巢曲霉的早期对数生长期（数据未给出）。FGSC A4 在 21.5 小时达到对数生长期，AN1599 转化体菌株在 26 小时达到对数生长期。菌丝体通过无菌 Miracloth 过滤，将三个 100 μ L 的湿菌丝体样品从每个菌株的两个单独的培养瓶中舀出至微量离心管中，每个菌株获得总共 6 个重复，总共 12 个样品。将菌丝体在液氮中冷冻，总 RNA 如在实施例 5 中所述纯化。RNA 品质用 Agilent Technologies 的 Agilent 2100 Bioanalyzer 的标准方案评估。通过 RocheNimblegen 进行 cDNA 合成、探针杂交、扫描和初步分析。

[0188] DNA 阵列数据用 DNASTAR 的 ArrayStar 程序分析。使用用 Student's T- 检验测量的 99% 显著性水平计算表达倍数变化。所有倍数变化差异的 P 值 ≤ 0.01 。萜烯生物合成基因簇的表达谱在图 3 中用定量实时 PCR 的结果描述。DNA 阵列结果与簇基因的 qPCR 数据一致。

[0189] 用定量实时 PCR 和 DNA 阵列表达分析鉴定属于推定的二萜次级代谢产物簇的基因。簇内的基因是 AN1592 (SEQ ID NO :35)、AN1593 (SEQ ID NO :36)、AN1594 (SEQ ID NO :37)、AN1595 (SEQ ID NO :38)、AN1596 (SEQ ID NO :39)、AN1597 (SEQ ID NO :40)、AN1598 (SEQ ID NO :41)、AN1599 (SEQ ID NO :1) 和推定的 AN1591 (SEQ ID NO :42)；和任选 AN1590 和 AN1591。包含第一个推定的簇基因 AN1591 的 1499 个碱基长的启动子区和最后一个推定的簇基因 AN1599 的 1499 个碱基长的终止子区的基因簇的完整基因组序列 (SEQ ID NO :43)，是 26775 个碱基长。

[0190] 此外，使用 NCBI BLASTp- 程序评价推定的萜烯簇内的基因产物的同源性。

[0191] 表 1. 显示在 BLASTp (蛋白-蛋白 BLAST) 检索 (具有非冗余的蛋白序列 (nr) 作为数据库) 中使用推导的氨基酸序列获得的最接近的匹配。

[0192]

蛋白	最接近的匹配	同一性 (%)	阳性 (%)	覆盖 (%)
SEQ ID NO: 44 AN1591	黑曲霉 An07g04480	46	62	84
SEQ ID NO: 45 AN1592	GGPP-合酶 费希新萨托菌 NFIA_009870	85	91	100
SEQ ID NO: 46 AN1593	HMG-CoA 还原酶 费希新萨托菌 NFIA_009850	89	95	100
SEQ ID NO: 47 AN1594	推定蛋白 费希新萨托菌 NFIA_009790	86	92	97
SEQ ID NO: 48 AN1595	延伸因子 1 γ 费希新萨托菌 NFIA_009800	89	95	92
SEQ ID NO: 49 AN1596	保守的推定蛋白 土曲霉 ATEG_00056	89	94	100
SEQ ID NO: 50 AN1597	费希新萨托菌 NFIA_009820	89	95	91
SEQ ID NO: 51 AN1598	推定的细胞色素 P450 单氧酶 费希新萨托菌 NFIA_009830	92	95	99
SEQ ID NO: 52 AN1599	C6 锌指结构域蛋白 费希新萨托菌 NFIA_009840	79	84	99

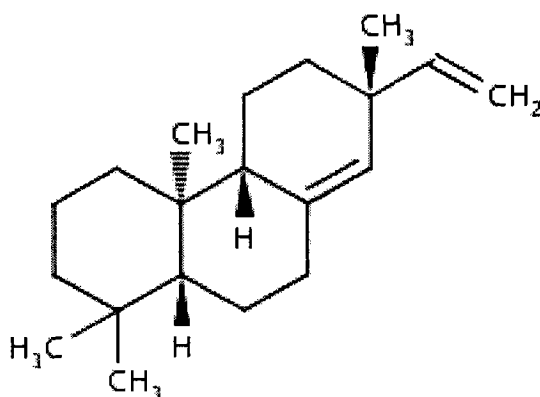
[0193] 实施例 5. 在 FGSC A4 背景中的 AN1599 转化体菌株的气相色谱质谱 (GC/MS) 分析。

[0194] 在 2ml 添加 3% 明胶的 YES- 培养基中接种 AN1599 转化体和 FGSC A4 的分生孢子, 并在 15mL 的培养瓶中于 +30℃ 250rpm 振摇生长 44 小时。接种不同量的分生孢子以在培养结束时获得 AN1599 转化体和 FGSC A4 野生型对照 - 样品二者相似的汇合。对具有匹配汇合的培养物进行固相微提取 (SPME)-GC/MS 分析。

[0195] 将样品转移至气密的 SPME- 小瓶。用 100 μm PDMS 纤维在 +80℃ 进行提取 1 小时。提取后, 分析物在气相色谱的注射器中于 +250℃ 在 5 分钟内解除吸附。分析物在 25mx0.2mm 的 Ultra 2 毛细管柱 (相厚为 0.33 μm) 上分离。温度程序为: +40℃ 保持 1 分钟, 9℃ /min 上升至 130℃, 接着 2℃ /min 上升至 +230℃, 保持 1 分钟。MS 以电子碰撞模式在 70eV 操作, 扫描范围 m/z 40-550。化合物通过使用 PAL 谱库鉴定。

[0196] 对于 AN1599 转化体真菌, SPME- 气相色谱在 35.841 分钟的保留时间显示主峰。该峰在 FGSC A4 对照中不存在 (图 4)。通过其质谱进一步分析该峰为 96% 品质的 ent- 海松 -8(14), 15- 二烯 (图 5)。ent- 海松 -8(14), 15- 二烯的化学结构示于以下。

[0197]



[0198] ent-海松-8(14),15-二烯的化学结构。分子式 $C_{20}H_{32}$,分子量272,46808g/mol, IUPAC名称:(4aS,4bS,7S,10aS)-7-乙烯基-1,1,4a,7-四甲基-3,4,4b,5,6,9,10,10a-八氢-2H-菲和 $5\beta,9\beta,10\alpha,13\alpha$ -海松-8(14),15-二烯。

[0199] 用GC/MS也分析了构巢曲霉AN1599转化体和FGSC A4菌株两者的提取物。将培养物在200mL补充3%明胶的YES-培养基中培养至汇合。菌丝体通过无菌Miracloth过滤,包入铝箔中并在液氮中冷冻。菌丝体沉淀在 -80°C 保存直至用研钵和杵在液氮中均质。将粉状的菌丝体称重,并将2g菌丝体用20mL己烷:乙酸乙酯(1:1)在100mL玻璃锥形瓶中室温超声水浴1小时萃取。通过在 4°C 1500rpm离心样品5分钟分离己烷:乙酸乙酯-提取物的溶剂相。

[0200] 用分裂模式(分裂比率10:1)将 $1\mu\text{L}$ 体积的提取物注射入连接质量选择检测器(Mass Selective Detector)的Agilent 6890气相色谱中。分析物在尺寸 $25\text{m}\times 0.32\text{mm}\times 0.17\mu\text{m}$ 的HP-1毛细管柱上分离。温度程序在 100°C 开始,保持0.5分钟,然后以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率上升至最终温度 320°C ,保持25分钟。载气(He)的流速为 $1.3\text{mL}/\text{min}$ (恒定流速模式)。注射器和MS源的温度分别为 260°C 和 230°C 。MS以电子碰撞模式在70eV用全扫描模式 m/z 40-550操作。结果见图6。这些结果与化合物峰A的SPME/GC-MS分析一致。

[0201] 实施例6. γ -萜品烯合酶在酿酒酵母中的克隆和表达。

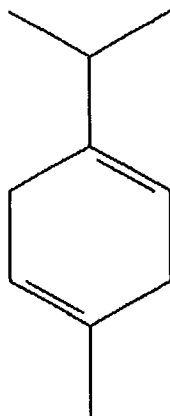
[0202] 使用标准分子生物学方法,构建质粒B1181+CitMTLS61_Sc(图7)和B1181+CitMTLS61_An(图8),在介于酿酒酵母PGK1启动子和终止子之间含有来自温州蜜柑的 γ -萜品烯合酶编码基因SEQ ID NO:53(GI:49659441, γ -萜品烯合酶)。合成的基因对于得自GenScript(USA)的酿酒酵母SEQ ID NO:54或黑曲霉SEQ ID NO:55进行密码子优化。使用PCR引物SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57(对于酿酒酵母优化的基因)和SEQ ID NO:58和SEQ ID NO:59(对于黑曲霉优化的基因)扩增 γ -萜品烯合酶编码基因。得到的片段用BamHI切割并将所得片段连接到介于YEplac195+PGK1PT的PGK1启动子和终止子之间的BglIII位点(B1181,图9)。将得到的质粒引入酿酒酵母CEN.PK113-17A菌株,得到菌株H- γ -terpSc和H- γ -terpAn。将质粒B1181引入菌株CEN.PK113-17A,产生对照菌株。用乙酸锂方法进行酵母转化。

[0203] 为了测定 γ -萜品烯合酶活性,将酵母菌株在50mL SCD-ura培养基上培养。收集细胞,洗涤并用玻璃珠破碎。在含有200 μM GPP,20mM Tris HCl pH 7.8,2mM MgCl_2 ,2mM MnSO_4 ,磷酸酶抑制剂合剂2(Sigma)和细胞提取物的反应混合物中测定 γ -萜品烯合酶活性。通过加入底物(GPP)并立即关闭SPME-GC-MS小管开始反应。将小管在 30°C 孵育1,5

小时,随后在室温下孵育大约 10 小时,然后如实施例 5 所述进行 SPME-GC-MS 分析。也测定无底物的同样的样品作为对照。

[0204] 将具有对酿酒酵母密码子优化和对黑曲霉密码子优化的 γ -萜品烯合酶编码基因的两种构建体,在酿酒酵母中以活性形式表达。SPME-GC-MS 分析显示 γ -萜品烯是主要产物(92%)。 γ -萜品烯的化学结构示于以下。

[0205]



[0206] γ -萜品烯的化学结构。分子量:136.23404[g/mol]。分子式:C₁₀H₁₆。

[0207] 在表达空载体的对照菌株的细胞提取物中或无 GPP 作为底物的反应物中未见 γ -萜品烯。

[0208] 实施例 7. 在酿酒酵母中克隆 HMG-CoA 还原酶的编码基因并生产 γ -萜品烯。

[0209] 使用标准分子生物学方法,构建质粒 B1184+trHMG1(图 11),其含有 3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 还原酶(截短的酿酒酵母 HMG-CoA 还原酶 SEQ ID NO:89)编码基因,而在酿酒酵母 PGK1 启动子和终止子之间没有来自酿酒酵母的靶向信号(SEQ ID NO:60)。使用 PCR 引物 SEQ ID NO:61 和 SEQ ID NO:62 自酿酒酵母基因组 DNA 扩增所述基因。得到的片段用 BamHI 切割并将所得片段连接到细菌载体 pUC19 中的 BamHI 位点。用 BamHI 自 pUC19+trHMG1 构建体释放基因片段并将其克隆到介于 YEplac181+PGK1PT 的 PGK1 启动子和终止子之间的 BglIII 位点(B1184,图 12)。将得到的质粒与实施例 7 中所述的 γ -萜品烯质粒(对于酿酒酵母进行密码子优化的 γ -萜品烯合酶)一起引入酿酒酵母 CEN.PK113-17A 菌株中。对于对照,将分别给予在无尿嘧啶或亮氨酸的情况下生长的能力的空载体 B1181 和 B1184(图 12),转化到 CEN.PK113-17A 菌株中。

[0210] 将得到的酵母菌株在 SCD-ura-leu 培养基上培养 2 天。收获细胞并将其在 SPME-GC-MS 小管中悬浮到体积 500ul 0.9% NaCl 中,并加入葡萄糖至浓度为 20g/l。盖紧盖子并将小管在 30℃孵育,振摇 250rpm/min。按照实施例 5 中所述用 SPME-GC-MS 测定所形成的产物。

[0211] SPME-GC-MS 分析显示在表达 γ -萜品烯合酶和 HMG-CoA 还原酶编码基因的菌株中形成 γ -萜品烯,而在表达空载体的对照菌株中未见 γ -萜品烯。

[0212] 实施例 8. 克隆构建体以将构巢曲霉 gpdA 启动子引入二萜基因簇区域。

[0213] 使用引物 SEQ ID NO:63 和 SEQ ID NO:64,自 pKB1 克隆载体,经 PCR 扩增构巢曲霉 gpdA 启动子。自按照实施例 2 中用于 FGSC A4 基因组 DNA 所述而分离的 AN1599 转化体菌株基因组 DNA,经 PCR 扩增 AN1599 的 5' 侧翼区和启动子交换构建体的 3' 区(AN1599

ORF)。150ng 基因组 DNA 用作模板。用于 5' 侧翼 PCR 的引物是 SEQ ID NO:65 和 SEQ ID NO:66。用于 3' 区的引物是 SEQ ID NO:67 和 SEQ ID NO:68。扩增在热循环仪中用以下参数进行:98℃ 30 秒,1 个循环;98℃ 5 秒,67℃ 30 秒和 72℃ 45 秒,35 个循环;72℃ 7 分钟,1 个循环,并在 +4℃ 冷却。按照制造商的方案用 **Phusion®** High-Fidelity DNA 聚合酶 (Thermo Scientific) 进行 PCR。使用引物 SEQ ID NO:70 和 SEQ ID NO:71,从为 AN1593 设计的敲除盒 [Colot 等人 2006] 经 PCR 扩增具有其自身启动子和终止子的烟曲霉 pyrG (seq ID NO:69)。该盒来自 Fungal Genetics Stock Center。将对应于 gpdA 启动子的 5' 区的 345 个碱基的同源 DNA 区克隆到载体中,侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。用酵母重组,将片段装配到 pRS426 酵母 / 大肠杆菌穿梭载体。质粒 gpdA > AN1599 (图 13, SEQ ID NO:72) 用作模板,用于转化的 PCR 扩增 (在载体中,所需启动子得自构巢曲霉,载体的其余部分得自大肠杆菌、酿酒酵母和烟曲霉)。

[0214] 实施例 9. 将 gpdA 启动子片段转化到构巢曲霉 A772 和 A1155 中。

[0215] 使用引物 SEQ ID NO:73 和 SEQ ID NO:74 在热循环仪中用以下参数进行转化片段的扩增:94℃ 2 分钟,1 个循环;94℃ 15 秒,62℃ 30 秒和 72℃ 6 分钟,35 个循环;72℃ 7 分钟,1 个循环,并在 +4℃ 冷却。A772 和 A1155 (pyrG89;pyroA4;nku:bar) 真菌菌株在补充有 3% 明胶、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于 A1155) 的 YES 培养基中培养。菌株在 +37℃ 培养过夜并按照实施例 3 中对于 A772 所述而进行原生质体化。混合 5ug DNA 并转化到 250uL 原生质体。将 15 μ L 100mM 亚精胺与 DNA 混合并在室温下孵育 5-10 分钟。加入 DNA-亚精胺混合物并混合到 250 μ L 原生质体 / PEG 溶液,以达到亚精胺终浓度为 5mM。将 DNA 与 100mM 亚精胺混合,以达到终浓度为 5mM 的原生质体。将 DNA 和原生质体在冰上孵育 30 分钟并加入 1ml PEG 溶液。将混合物在室温下孵育 20 分钟并加入含有 10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于 A1155) 的 3% 顶层琼脂并将原生质体铺在 TrMM 板上。将平板在 +37 孵育直到形成可见菌落。从单孢子分离各菌落并用 PCR 检查阳性。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸 (5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于菌株 A1155) 的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。如实施例 4 所述用 qPCR 检查 AN1599 的过表达和簇基因的激活。如实施例 5 所述用 GC-MS 分析证实海松二烯的产生。

[0216] 实施例 10. 用于将 AN1594 交换为 γ -萜品烯合酶或另一单萜合酶 (SEQ ID NO:75) 的构建体的克隆。

[0217] 通过 GenScript (USA) 对来自温州蜜柑的 γ -萜品烯合酶进行对于黑曲霉的密码子优化和合成。用合适的引物经 PCR 扩增所述合酶并将其克隆到含有用于替换 AN1594 基因座的侧翼区的载体中。将编码乳清苷-5' -磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1594 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体 (图 14, SEQ ID NO:75) 用作模板,用于转化片段 (含有得自温州蜜柑的载体的所需基因) 的 PCR 扩增。

[0218] 实施例 11. 将 γ -萜品烯交换构建体片段转化至构巢曲霉 A772 和 A1155。

[0219] 使用引物 SEQ ID NO:76 和 SEQ ID NO:77 在热循环仪中用以下参数进行转化片段的扩增:94℃ 2 分钟,1 个循环;94℃ 15 秒,66℃ 30 秒和 68℃ 5 分钟,35 个循环;68℃ 7 分钟,1 个循环,并在 +4℃ 冷却。FGSC A772 和 A1155 (pyrG89;pyroA4;nku:bar) 真菌菌株在补充有 3% 明胶、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于 A1155) 的 YES 培养基中培养。

菌株在 +37℃ 培养过夜并按照实施例 3 中对于 A772 所述而进行原生质体化。混合 5ug DNA 并转化到 250uL 原生质体。将 15 μ L 100mM 亚精胺与 DNA 混合并在室温下孵育 5-10 分钟。加入 DNA-亚精胺混合物并混合到 250 μ L 原生质体 /PEG 溶液,以达到亚精胺终浓度为 5mM。将 DNA 与 100mM 亚精胺混合,以达到终浓度为 5mM 的原生质体。将 DNA 和原生质体在冰上孵育 30 分钟并加入 1ml PEG 溶液。将混合物在室温下孵育 20 分钟并加入含有 10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于 A1155) 的 3% 顶层琼脂并将原生质体铺在 TrMM 板上。将平板在 +37 孵育直到形成可见菌落。从单个子囊孢子分离各菌落并用 PCR 检查阳性。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸 (5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于菌株 A1155) 的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。如实施例 5 所述用 GC-MS 分析证实 γ -萜品烯的产生。

[0220] 实施例 12. 用于将 AN1592 交换为 GPP-合酶 (SEQ ID NOs :80 和 81) 的构建体的克隆以及表达 GPP 合酶和额外的 γ -萜品烯合酶的构巢曲霉菌株的产生。

[0221] 通过 GenScript (USA) 对来自挪威云杉的 GPP 合酶进行对于酿酒酵母的密码子优化和合成。用合适的引物经 PCR 扩增所述合酶并将其克隆到含有用于替换 AN1592 基因座 (SEQ ID NO :82, 其中所需基因得自挪威云杉) 的侧翼区的载体中。将编码乳清苷 -5' -磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1592 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体 (图 15, SEQ ID NO :59) 用 PmlI 消化并转化到亦过表达 AN1599 转录因子的构巢曲霉原生质体中并转化到表达 γ -萜品烯合酶基因的菌株中 (描述于实施例 11)。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸 (5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于菌株 A1155) 的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0222] 实施例 13. 用于将 AN1593 交换为改进的 / 截短的 HmG-CoA 还原酶的构建体的克隆。

[0223] 用合适的引物经 PCR 扩增实施例 7 所述的酿酒酵母截短的 HMG1 还原酶并将其克隆到含有用于替换 AN1593 基因座的侧翼区的载体中。将编码乳清苷 -5' -磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1593 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体用 PmlI 消化并转化到亦表达 γ -萜品烯合酶基因 (描述于实施例 11) 和或者亦表达 GPP 合酶 (实施例 12) 的构巢曲霉原生质体中。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸 (5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇 (对于菌株 A1155) 的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0224] 实施例 14. 用于将 AN1594 交换为 α -法呢烯合酶 (SEQ ID NO :79) 的构建体的克隆。

[0225] 从 GenScript (USA) 获得作为合成基因的来自苹果 (*Malus x domestica*) 的倍半萜合酶 α -法呢烯合酶。用合适的引物经 PCR 扩增所述合酶并将其克隆到含有用于替换 AN1594 基因座的侧翼区的载体中。将编码乳清苷 -5' -磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1594 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到

载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体(图 16, SEQ ID NO:78)用作 PCR 中的模板(具有得自苹果的载体的所需基因)。使用引物 SEQ ID NO:76 和 SEQ ID NO:77 在热循环仪中用以下参数进行转化片段的扩增:94℃ 2 分钟,1 个循环;94℃ 15 秒,66℃ 30 秒和 68℃ 5 分钟,35 个循环;68℃ 7 分钟,1 个循环,并在 +4℃ 冷却。将片段转化到过表达 AN1599 和或者也过表达 FPP 合酶(实施例 15,SEQ ID NO:86)的构巢曲霉原生质体中。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸(5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇(对于菌株 A1155)的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0226] 实施例 15. 用于将 AN1592 交换为 FPP-合酶的构建体的克隆。

[0227] 从 GenScript(USA) 获得作为合成基因的来自酿酒酵母的 FPP 合酶。用合适的引物经 PCR 扩增所述合酶并将其克隆到含有用于替换 AN1592 基因座(SEQ ID NO:88,具有得自酿酒酵母的载体的所需基因)的侧翼区的载体中。将编码乳清苷-5'-磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1592 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体(图 17,SEQ ID NO:86 和 SEQ ID NO:87)用 PmlI 消化并转化到也过表达 AN1599 转录因子的构巢曲霉原生质体中并转化到表达 γ -萜品烯合酶基因的菌株中(描述于实施例 11)。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸(5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇(对于菌株 A1155)的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0228] 实施例 16. 用于将 AN1594 交换为二萜合酶紫杉二烯合酶(SEQ ID NO:83 和 84)的构建体的克隆。

[0229] 从 GenScript(USA) 获得作为合成基因的来自中国红豆杉的二萜合酶紫杉二烯合酶。用合适的引物经 PCR 扩增所述合酶并将其克隆到含有用于替换 AN1594 基因座的侧翼区的载体中。将编码乳清苷-5'-磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1594 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体(图 18, SEQ ID NO:85,具有得自中国红豆杉的载体的所需基因)用作 PCR 中的模板。使用引物 SEQ ID NO:76 和 SEQ ID NO:77 在热循环仪中用以下参数进行转化片段的扩增:94℃ 2 分钟,1 个循环;94℃ 15 秒,66℃ 30 秒和 68℃ 5 分钟,35 个循环;68℃ 7 分钟,1 个循环,并在 +4℃ 冷却。将片段转化到过表达 AN1599 和或者也过表达 FPP 合酶(实施例 15)的构巢曲霉原生质体中。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳清酸(5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇(对于菌株 A1155)的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0230] 实施例 17. 用于将 AN1594 交换为赤霉素合酶(SEQ ID NO:94)的构建体的克隆。

[0231] 用引物 SEQ ID NO:92 和 SEQ ID NO:93,从藤仓镰刀菌(藤仓赤霉)SEQ ID NO:99 的 cDNA 经 PCR 扩增二萜合酶赤霉素合酶(GI:6009475, SEQ ID NO:99(DNA), SEQ ID NO:100(蛋白))并将其克隆到含有用于替换 AN1594 基因座的侧翼区的载体中。将编码乳清

苷-5'-磷酸脱羧酶的烟曲霉 pyrG 基因用于选择在未补充尿嘧啶和尿苷时生长的转化体。将 AN1594 3' 侧翼区的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体(图 20, SEQ ID NO:94, 具有得自藤仓镰刀菌的载体的所需基因)用作 PCR 中的模板。两个 PCR 片段进行转化。5' 片段用 SEQ ID NO:95 和 SEQ ID NO:96 扩增,3' 片段用 SEQ ID NO:97 和 SEQ ID NO:98 扩增。金微粒上包被有经 PCR 扩增的 DNA 片段并且使用本领域已知的方法通过生物射弹递送(biolistic particle delivery)转化过表达 AN1599(A772oe:AN1599)的构巢曲霉 A772 的分生孢子。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体。

[0232] 实施例 18. 用于簇基因的缺失盒的克隆。

[0233] 使用 FGSC A4 基因组 DNA 作为模板,通过扩增来自有待缺失的基因的 5' 区和 3' 区的大约 1,500 碱基对片段,克隆用于簇基因的缺失盒。将侧翼克隆到具有编码乳糖苷-5'-磷酸的烟曲霉 pyrG 基因的载体中。将对应于有待缺失的簇基因的 3' 侧翼区的大约 500 个碱基的同源 DNA 区克隆到载体中侧接烟曲霉 pyrG 基因,用于从最终转化体菌株中移除 pyrG。最终构建体(图 19)用作转化片段的 PCR 扩增的模板,或将片段用 PmlI 切去。将片段转化到过表达 AN1599 和或者也过表达其它修饰的基因的构巢曲霉原生质体中。如实施例 9 和 11 所述进行转化程序。根据在 TrMM 板上的生长而选择转化体并通过 PCR 证实其整合到正确的基因组基因座上。通过将转化体铺到含有 1.5g/L 5-磷酸乳糖酸(5-FOA)、10mM 尿嘧啶、10mM 尿苷和吡哆醇(对于菌株 A1155)的 TrMM 板上,移除 pyrG 基因。

[0234] 实施例 19. γ -萜品烯的生产

[0235] 如比较实施例 1 中所述,用 SPME/GC-MS 分析和用 GC/MS 分析得自实施例 11、12 或 13 的构巢曲霉转化体。对于 GC/MS 分析,将培养物在 200mL 添加 3%明胶的 YES-培养基中培养至汇合。菌丝体通过无菌 Miracloth 过滤,包入铝箔中并在液氮中冷冻。菌丝体沉淀在 -80℃ 保存直至用研钵和杵在液氮中均质。将粉状的菌丝体称重,并将 2g 菌丝体用 20mL 己烷:乙酸乙酯(1:1)在 100mL 玻璃锥形瓶中室温超声水浴 1 小时萃取。通过在 4℃ 1500rpm 离心样品 5 分钟分离己烷:乙酸乙酯-提取物的溶剂相。

[0236] 用分裂模式(分裂比率 10:1)将 1 μ l 体积的提取物注射入连接质量选择检测器(Mass Selective Detector)的 Agilent 6890 气相色谱中。分析物在尺寸 25m $\times$ 0.32mm $\times$ 0.17 μ m 的 HP-1 毛细管柱上分离。温度程序在 100℃ 开始,保持 0.5 分钟,然后以 10℃/min 的速率上升至最终温度 320℃,保持 25 分钟。载气(He)的流速为 1.3mL/min(恒定流速模式)。注射器和 MS 源的温度分别为 260℃ 和 230℃。MS 以电子碰撞模式在 70eV 用全扫描模式 m/z 40-550 操作。

[0237] 实施例 20. α -法呢烯的生产

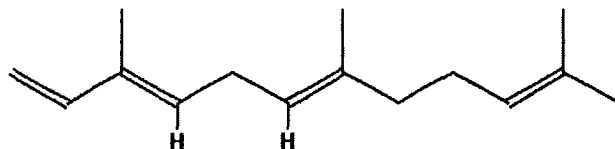
[0238] 如比较实施例 1 中所述,用 GC/MS 分析得自实施例 16 的构巢曲霉转化体。对于 GC/MS 分析,将培养物在 200mL 添加 3%明胶的 YES-培养基中培养至汇合。菌丝体通过无菌 Miracloth 过滤,包入铝箔中并在液氮中冷冻。菌丝体沉淀在 -80℃ 保存直至用研钵和杵在液氮中均质。将粉状的菌丝体称重,并将 2g 菌丝体用 20mL 己烷:乙酸乙酯(1:1)在 100mL 玻璃锥形瓶中室温超声水浴 1 小时萃取。通过在 4℃ 1500rpm 离心样品 5 分钟分离己烷:乙酸乙酯-提取物的溶剂相。

[0239] 用分裂模式(分裂比率 10:1)将 1 μ l 体积的提取物注射入连接质量选择

检测器 (Mass Selective Detector) 的 Agilent 6890 气相色谱中。分析物在尺寸 25mx0.32mmx0.17 μm 的 HP-1 毛细管柱上分离。温度程序在 100℃ 开始, 保持 0.5 分钟, 然后以 10℃ /min 的速率上升至最终温度 320℃, 保持 25 分钟。载气 (He) 的流速为 1.3mL/min (恒定流速模式)。注射器和 MS 源的温度分别为 260℃ 和 230℃。MS 以电子碰撞模式在 70eV 用全扫描模式 m/z 40-550 操作。

[0240] α-法呢烯的化学结构示于以下。

[0241]



[0242] α-法呢烯的化学结构。分子量 :204.35106[g/mol]

[0243] 分子式 :C₁₅H₂₄。

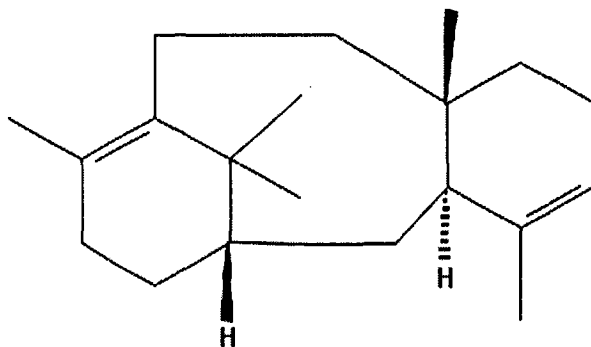
[0244] 实施例 21. 紫杉二烯的生产

[0245] 如比较实施例 1 中所述, 用 GC/MS 分析得自实施例 14 或 15 的构巢曲霉转化体。对于 GC/MS 分析, 将培养物在 200mL 添加 3% 明胶的 YES- 培养基中培养至汇合。菌丝体通过无菌 Miracloth 过滤, 包入铝箔中并在液氮中冷冻。菌丝体沉淀在 -80℃ 保存直至用研钵和杵在液氮中均质。将粉状的菌丝体称重, 并将 2g 菌丝体用 20mL 己烷: 乙酸乙酯 (1 : 1) 在 100mL 玻璃锥形瓶中室温超声水浴 1 小时萃取。通过在 4℃ 1500rpm 离心样品 5 分钟分离己烷: 乙酸乙酯-提取物的溶剂相。

[0246] 用分裂模式 (分裂比率 10 : 1) 将 1 μL 体积的提取物注射入连接质量选择检测器 (Mass Selective Detector) 的 Agilent 6890 气相色谱中。分析物在尺寸 25mx0.32mmx0.17 μm 的 HP-1 毛细管柱上分离。温度程序在 100℃ 开始, 保持 0.5 分钟, 然后以 10℃ /min 的速率上升至最终温度 320℃, 保持 25 分钟。载气 (He) 的流速为 1.3mL/min (恒定流速模式)。注射器和 MS 源的温度分别为 260℃ 和 230℃。MS 以电子碰撞模式在 70eV 用全扫描模式 m/z 40-550 操作。

[0247] 紫杉-4(5), 11(12)-二烯的化学结构示于以下。

[0248]



[0249] 紫杉-4(5), 11(12)-二烯的化学结构。分子量 :272.4681[g/mol]

[0250] 分子式 :C₂₀H₃₂。

[0251] 实施例 22. 用修饰的萜烯簇生产贝壳杉-16-烯 (贝壳杉烯)。

[0252] 将得自实施例 3 的在 A772 背景 (A772 oe ; AN1599) 中的构巢曲霉菌株 A772 和

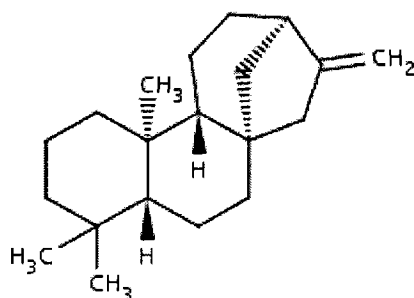
AN1599 转化体菌株用作对照菌株。将得自实施例 17 的构巢曲霉转化体和对照菌株接种在 2mL 添加 3% 明胶的 YES 培养基中并在 15mL 的培养瓶中于 +30℃ 250rpm 振摇生长 44 小时,然后用 SPME-GC/MS 分析。挥发性和半挥发性化合物的提取用预先条件化的 (250℃, 30min) 100 μm PDMS 纤维 (Sulpelco, USA) 在 +80℃ 进行 45 分钟。提取后,分析物在气相色谱 (Agilent 7890A GC System; Palo Alto, CA, USA) 的不分流注射器 (流速 14.9mL/min) 连同 MS 检测器 (带有 Triple-Axis 检测器的 Agilent 5975C inert MSD; Palo Alto, CA, USA) 和 SPME 自动进样器 (Gerstel MPS; Gerstel GmbH & Co. KG, Germany) 中于 +250℃ 在 5 分钟内解除吸附。

[0253] 分析物在 15m x 0.25mm 的 Rtx-5MS 毛细管柱 (相厚为 0.25 μm) (Restek, PA, USA) 上分离。温度程序开始是在 50℃ 保持 1 分钟,接着 10℃ /min 上升至最终温度 270℃,此时保温 7 分钟。MSD 以电子碰撞模式在 70eV 操作,全扫描范围 m/z 40-550。离子源温度为 230℃,界面为 240℃。化合物通过比较 Palisade Complete 600K Mass Spectral Library (Palisade Mass Spectrometry, USA) 上的质谱而鉴定。

[0254] 在对照菌株 A772 中未见主要产物峰,而过表达 AN1599 的菌株的主要产物峰是 ent-海松-8(14),15-二烯。当将合酶基因改变为赤霉素合酶时,主要产物峰是贝壳杉-16-烯,它是藤仓镰刀菌古巴基合酶 / 贝壳杉烯合酶 Gfcps/KS 基因的特定产物。

[0255] 贝壳杉-16-烯的化学结构示于以下。

[0256]



[0257] 贝壳杉-16-烯 (贝壳杉烯) 的化学结构。分子量 :272.46808 [g/mol]

[0258] 分子式 :C₂₀H₃₂。

[0259] 实施例 23. 用赤霉素合酶的随机插入和 AN1594 启动子生产贝壳杉-16-烯 (贝壳杉烯)。

[0260] 将得自实施例 3 的在 A772 背景 (A772 oe :AN1599) 中的构巢曲霉菌株 A772 和 AN1599 转化体菌株用作对照菌株。将得自实施例 17 的构巢曲霉随机整合转化体和对照菌株接种在 2mL 添加 3% 明胶的 YES 培养基中并在 15mL 的培养瓶中于 +30℃ 250rpm 振摇生长 44 小时,然后用 SPME-GC/MS 分析。挥发性和半挥发性化合物的提取用预先条件化的 (250℃, 30min) 100 μm PDMS 纤维 (Sulpelco, USA) 在 +80℃ 进行 45 分钟。提取后,分析物在气相色谱 (Agilent 7890A GC System; Palo Alto, CA, USA) 的不分流注射器 (流速 14.9mL/min) 连同 MS 检测器 (带有 Triple-Axis 检测器的 Agilent 5975C inert MSD; Palo Alto, CA, USA) 和 SPME 自动进样器 (Gerstel MPS; Gerstel GmbH & Co. KG, Germany) 中于 +250℃ 在 5 分钟内解除吸附。

[0261] 分析物在 15m x 0.25mm 的 Rtx-5MS 毛细管柱 (相厚为 0.25 μm) (Restek, PA, USA) 上分离。温度程序开始是在 50℃ 保持 1 分钟,接着 10℃ /min 上升至最终温度 270℃,此时保温

7 分钟。MSD 以电子碰撞模式在 70eV 操作,全扫描范围 m/z 40–550。离子源温度为 230℃,界面为 240℃。化合物通过比较 Palisade Complete 600K Mass Spectral Library (Palisade Mass Spectrometry, USA) 上的质谱而鉴定。

[0262] 在对照菌株 A772 中未见主要产物峰,而过表达 AN1599 的菌株的主要产物峰是 ent-海松-8(14),15-二烯。当将赤霉素合酶基因随机整合到基因组中,但在 AN1594 启动子调控之下时,可见两个主要产物峰。所述峰是 ent-海松-8(14),15-二烯(其是海松二烯合酶(AN1594)的产物)和贝壳杉-16-烯(其是藤仓镰刀菌古巴基合酶/贝壳杉烯合酶 Gfcps/KS 基因的特定产物)。海松二烯合酶基因缺失所致的二萜基因簇的修饰导致特异性贝壳杉烯的产生。

[0263] 实施例 24. 海松二烯合酶(AN1594)缺失载体(SEQ ID NO:101)的克隆。

[0264] 将来自实施例 10 的 γ -萜品烯交换载体(SEQ ID NO:75)用 NotI 消化并在琼脂糖凝胶电泳和 DNA 提取后移除 γ -萜品烯合酶片段。将剩余载体用 T4 DNA 连接酶重新连接并用作模板,用于缺失片段 PCR。用 SEQ ID NO:95 和 SEQ ID NO:98,用最终构建体(图 23, SEQ ID NO:101)作为模板,将转化片段经 PCR 扩增, DpnI 处理和乙醇沉淀。

[0265] 实施例 25. 从 A772 oe:AN1599;Gfcps/KS 菌株中删除 AN1594 海松二烯合酶。

[0266] 用 5 μ g 经 PCR 扩增的 DNA 进行转化。金微载体上包被有该 DNA 并且使用本领域已知的方法通过生物射弹递送进行转化。海松二烯基因簇的这一修饰以及在 AN1594 启动子调控下的随机整合的赤霉素合酶导致特异性贝壳杉-16-烯的生产。

[0267] 参考文献:

[0268] Altschul 等人 (1997), Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. (空位 BLAST 和 PSI-BLAST: 新一代蛋白数据库搜索程序), Nucleic Acids Res., Sep1;25(17):3389–402.

[0269] Arnaud MB 等人 (2010), "Aspergillus Genome Database" www.aspergillusgenome.org/(10.9.2010)。

[0270] Asadollahi 等人 (2009), Enhancing sesquiterpene production in *Saccharomyces cerevisiae* through in silico driven metabolic engineering(通过在电脑中驱动的代谢工程在酿酒酵母中增强倍半萜生产). Metabolic Engineering 11: 328–334.

[0271] Bergmann 等人 (2007), Genomics-Driven Discovery of PKS-NRPS Hybrid Metabolites in *Aspergillus nidulans*(在构巢曲霉中基因组学-驱动的 PKS-NRPS 杂交代谢物的发现), Nature Chemical Biology, 3(4), 213–217.

[0272] Bok 等人 (2006), Genomic mining for *Aspergillus* natural products(用于曲霉天然产物的基因组开发). Chem Biol, Jan;13(1):31–7.

[0273] Bromann 等人 (2012), Identification and Characterization of a Novel Diterpene Gene Cluster in *Aspergillus nidulans*(在构巢曲霉中的新的二萜基因簇的鉴定和表征). PLoS ONE, April 10th.

[0274] Chiou CH 等人 (2002), Chromosomal location plays a role in regulation of aflatoxin gene expression in *Aspergillus parasiticus*(在寄生曲霉中染色体位置在黄曲霉毒素基因表达的调节中起作用). Appl Environ Microbiol 68(1):306–315.

[0275] Colot 等人 (2006) A high-throughput gene knockout procedure for *Neurospora* reveals functions for multiple transcription factors (用于脉孢霉的高通量基因敲除程序揭示了多个转录因子的功能). *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 10352-10357.

[0276] John Wiley and Sons, Inc., (2004) *Current Protocols in Molecular Biology* (分子生物学的现行方案).

[0277] Davis & Hynes (1991), *Regulatory circuits in Aspergillus nidulans* (构巢曲霉中的调节回路). 载于: Bennett JW (编辑) *More gene manipulations in fungi*. Academic, New York, 151-189.

[0278] Dimster-denk 等人 (1994), *Feedback regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in Saccharomyces cerevisiae* (在酿酒酵母中的 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的反馈调节), *Mol Biol Cell*, 5, 655-665.

[0279] Degenhardt 等人 (2009), *Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants* (在植物中的单萜合酶和倍半萜合酶以及萜烯骨架多样性的起源), *Phytochemistry*, 70, 1621-1637

[0280] Donald 等人 (1997), *Effects of overproduction of the catalytic domain of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase on squalene synthesis in Saccharomyces cerevisiae* (在酿酒酵母中的 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶的催化性结构域的过量生产对鲨烯合成的影响). *Appl Environ Microbiol*, 63, 3341-3344.

[0281] Engels 等人 (2008), *Metabolic engineering of taxadiene biosynthesis in yeast as a first step towards Taxol (Paclitaxel) production* (在酵母中的紫杉二烯生物合成的代谢工程, 作为紫杉醇生产的第一步), *Metabolic Engineering* 10, 201-206.

[0282] Galagan 等人 (2005), J.E., *Sequencing of Aspergillus nidulans and comparative analysis with A. fumigatus and A. oryzae* (构巢曲霉的测序以及与烟曲霉和米曲霉的比较分析), *Nature* 438 (7071), 1105-1115.

[0283] Gerke J. (2012), "Breaking the silence: protein stabilization uncovers silenced biosynthetic gene clusters in the fungus *Aspergillus nidulans* (破坏沉默: 在真菌构巢曲霉中的蛋白稳定化揭示沉默的生物合成基因簇)", *The 11th European Conference on Fungal Genetics*, Marburg, Germany March 30th-April 3rd.

[0284] Jones 等人 (2007), *The Response Regulator RRG-1 Functions Upstream of a Mitogen-activated Protein Kinase Pathway Impacting Asexual Development, Female Fertility, Osmotic Stress, and Fungicide Resistance in Neurospora crassa* (在粗糙脉孢霉中, 反应调节剂 RRG-1 作用于促分裂原-激活的蛋白激酶途径的上游, 影响无性发育、雌性生育力、渗透应力和杀真菌剂抗性), *Molecular Biology of the Cell*, Vol. 18, June, 2123-2136.

[0285] Kaminskyj S., Protocol by Susan G.W. Kaminskyj, Dept. Biology, Univ. Saskatchewan, 112 Science Place, Saskatoon, Saskatchewan, CANADA S7N 5E2, 改编自 Fungal Genetics Stock Center 网页, www.fgsc.net/fgn48/Kaminskyj.htm

[0286] Kimura 等人 (2007), Molecular and Genetic Studies of Fusarium Trichothecene Biosynthesis: Pathways, Genes, and Evolution (镰刀菌单端孢霉烯生物合成的分子和遗传学研究: 途径、基因和进化), Biosci Biotechnol Biochem, 71(9), 2105-2123.

[0287] Kuorelahti 等人 (2006), Molecular Microbiology 61(4), 1060-1068.

[0288] Lubertozzi & Keasling (2008), Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 35(10), 1191-1198 CODEN: JIMBFL; ISSN: 1367-5435

[0289] Miller 等人 (1987) Position-dependent and position-independent mechanisms regulate cell-specific expression of the *spo1* gene-cluster of *Aspergillus nidulans* (位置依赖性和位置非依赖性机制调节构巢曲霉的 *spo1* 基因-簇的细胞特异性表达). Mol Cell Biol 7(1): 427-434.

[0290] Mulder 等人 (2005), Nucleic Acids Res Jan 1; 33(Database issue): D201-5, InterPro, progress and status in 2005.

[0291] Osbourn (2010), Secondary metabolic gene clusters: evolutionary toolkits for chemical innovation (次级代谢的基因簇: 用于化学创新的进化工具盒), Trends in Genetics 26, 449-457.

[0292] Palmer & Keller (2010), Secondary metabolism in fungi: does chromosomal location matter? (真菌的次级代谢: 与染色体位置有关吗?), Curr Opin Microbiol. Aug; 13(4): 431-6.

[0293] Pfaffl (2001), A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR (用于在实时 RT-PCR 中的相对定量的一个新数学模型), Nucleic Acids Res, 29(9): e45. 用于计算的微软 Excel 排列表改编自 pathmicro.med.sc.edu/pcr/realtime-home.htm

[0294] Ro 等人 (2008), Induction of multiple pleiotropic drug resistance genes in yeast engineered to produce an increased level of anti-malarial drug precursor, artemisinic acid (在经改造以产生升高水平抗疟药前体青蒿酸的酵母中的多重药物抗性基因的诱导), BMC Biotechnology, 8: 83.

[0295] Ro 等人 (2006) Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast (在经改造的酵母中的抗疟药前体青蒿酸的生产), Nature, 440, 940-943.

[0296] Roze LV 等人 (2007) The initiation and pattern of spread of histone H4 acetylation parallel the order of transcriptional activation of genes in the aflatoxin gene cluster (组蛋白 H4 乙酰化的起始和扩散模式平行于黄曲霉毒素基因簇中的基因转录激活顺序). Mol. Microbiol. 66, 713-726.

[0297] Sakai 等人 (2008), Construction of citrinin gene cluster expression system in heterologous *Aspergillus oryzae* (在异源米曲霉中的橘霉素基因簇表达系统的构建), J Biosci Bioeng 106(5), 466-472.

[0298] Verdoes 等人 (1995), Molecular-genetic strain improvement for the overproduction of fungal proteins by filamentous fungi (用于通过丝状真菌过量生

产真菌蛋白的分子遗传学菌株改进), Appl Microbiol Biotechnol 43(2):195-205.

[0001]

序列表

机构申请人

街道 :
城市 :
州 :
国家 :
邮政编码 :
电话号码 :
传真号码 :
电子邮件地址 :

<110> 机构名称 : VTT 科技研究中心

申请项目

<120> 题目 : 用于生产萜烯的方法

<130> 申请文件号 : VTT355

<140> 当前申请号 :

<141> 当前申请日期 :

<160> 101

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

atgtaccgt ggagttcgac aggaacgtca ccgttttcgc atcccgacaa tgaaggcgcg	60
gaatcggggg atatgagcat gggggaagag cagcagcaac cccaccagag gcgccagaaa	120
ttgtgagtaa aatgtgtcgc aaccgatgag acccccgact tcgagaggaa tgtatttaga	180
gatcaccaac cgacgttttc gacctaacag caacaacctg cgcgcgatgcc agtcctgccg	240
cgcttcgaaa gtacgatgcg accagcctaa cccgggcatg ccctgtcttc ggtgccagaa	300
atcaggcaag ccgtgcgtgg atgccgccag tcaaccgggg aagcgacagc gccaacctat	360
caacagtatc ctggagatgg agtcgcgaat cgaaacgata ttgtcgtccg cagaattgca	420
ggacagcgct ggggacgggg agactgccca ttccaccgca ctccgttcgc cttcccagtt	480
gtcgcaccac atccaaccgt ttcagcacct ccccatggga ttcgcgatac cgttcaatgg	540
tgagtctgcg tagatccagt ctggaatcgt ggcgagttac tttcatcgct aacatggcca	600

[0002]

ccttccgtct gcctaggagg aaattccggg acggaagatc tgaactcgag catccgatca	660
tggctgaatg acaacatcac cgacctggat gctcgtacca cagagacaat cttcagtcac	720
tatttgacca acatggtgcc cacctttccg gtctgtctct ttgcgacagg caccacggcg	780
gccgacgtcc gacggaacaa ccctattctt ttcttagcta ttctcgacgt ggcctcgtcg	840
ggattctgtg cgcttgagac gcagcggaaa ctgcgaaagc tgattgttca agcgtacgtg	900
cattgcatgc tgcgaaccga acagtatact ctcggtatgc tccaggccct gattgtatcc	960
gccacatggt atgcacgat tgagcctgtc gagccggggg agcagatgga tatctaccag	1020
atcagccaca cagcagccaa tatggccttg atcatgaggc taggggagag ttggaatgcc	1080
aaatcttggg ggggtcccat gtttctcctg cgggagatga aaaagggtcc tggaagcgcc	1140
tttcaggcgg actcgtgga agctcggcgc gtgtggcttg ggtgtcatta tatttgctcg	1200
aagttagaaa gacataacca agagcggcgc agcgtaacc tagtctatgc agtacctcca	1260
tgtccctccg cgccccaaac atcatgagat ggaccctct gatggacgaa tgtctggagg	1320
tattggaaaa ttccccggcg gcccttctat cggacaggct tctgtgtcag catatccggc	1380
tgcagcatat cactgaagaa ttgcgatgc attgtccgc agaagagget tcagctcccg	1440
cgaatcccg agcgattcag atccaggtaa cccatcgtgc tttcaaacga cagctcagcg	1500
aatggcgtag gactgttggg gatggttggg atggttaact ctccttgcct gtccttgatc	1560
gcctgcccag cactgatgc ggattgtcta ggtccctcg agttttcgta ttattttca	1620
tgcctgtaca taaacgaagt agccactgc acagcgacga gtgatgatgt tcccgaagat	1680
aacgcccagc gcttgacgcc accaccaccg attgtggcaa tcgagccgca tgcgattacc	1740
gagtttatgg atacgataga taatatTTTT cgggtgttca cctcactgga tatgtcgacc	1800
attcgagccc taccgcgat gtacctgatt cggataatct acacattcat catcctggtc	1860
aaactatact ttgcggcagc caaactacca gcgcaggacg ccgtgttgca agtcgacgga	1920

[0003]

ctgcaggtct ctaggcgctt caatcgctg atccagatga ccgcaggatg gggcccgttg 1980

tggcctgcta cgaaactaac caccgtgttc accaagatgc ggtcgtggtt tgaaagcgga 2040

ggggataaca attgccagag gctgcagcag gccgcggcgt ggctcacggg atgggagctt 2100

aagccccgt cccagggccg agacgctcac gccatgaaca tggccgaagt tgtctcggat 2160

gatggatcaa ttgtcgcttc cagctcacga ggtccggcat cctgggttcc gtcgctggcg 2220

tccacggacg tggatactct tgccttctcg cacgaacccc cctcggcac tgagttttcg 2280

atagcccctc cacctttccg gtcaatgtct tgtgctacaa aatcatgttc tcctcaggcg 2340

ggagctgctg agtttatgca cgacgaggag gticcgttg aaggccaacg tctgggggac 2400

ctcccgaata tagaccagat ggacgacgtg ggcatggatt ggagccagta taccaacatg 2460

ggctttgact tglacaatct agacgcgcca tttttgccaa accctccttc tggttttgat 2520

ccagacgcag caatgaagga taattgcgca gatagaaaca catga 2565

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 2565

序列名称 : Seq_1

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gcactagttc atgtgtttct atctgcgcaa 30

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 30

序列名称 : Seq_2

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gcactagtat gtacccgtgg agttcgaca 29

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 29

[0004]

序列名称 : Seq_3

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```
gcggccgcga cagaagatga tattgaagga gcactttttg ggcttggtg gagctagtgg      60
aggtcaacaa tgaatgccta ttttggttta gtcgtccagg cggtagagcac aaaatttgtg      120
tcgtttgaca agatggttca tttaggcaac tggtcagatc agccccactt gtagcagtag      180
cggcggcgct cgaagtgtga ctcttattag cagacaggaa cgaggacatt attatcatct      240
gctgctllgt gcacgataac ttggtgcgtt tgtcaagcaa ggtaagtga cgaccgggtc      300
ataccttctt aagttcgccc ttcctccctt tatttcagat tcaatctgac ttacctattc      360
tacccaagca aagcttcgat taggaagtaa ccatgagccc agaacgacgc ccggccgaca      420
tccgccgtgc caccgaggcg gacatgccgg cggctcgcac catcgtcaac cactacatcg      480
agacaagcac ggtcaacttc cgtaccgagc cgcaggaacc gcaggagtgg acggacgacc      540
tcgtccgtct gcgggagcgc tatccctggc tcgtcgccga ggtggacggc gaggtcgccg      600
gcatcgcta cgcggtccc tggaaggcac gtaacgccta cgactggacg gccgagtcga      660
ccgtgtacgt ctccccccgc caccagcgga cgggactggg ctccacgctc tacaccacc      720
tgctgaagtc cctggaggca cagggttca agagcgtggt cgctgtcacc gggtgccc      780
acgacccgag cgtgcgcgat cacgagcgcc tcggatatgc cccccgcggc atgtgcggg      840
cggccggctt caagcacggg aactggcatg acgtgggttt ctggcagctg gacttcagcc      900
tgccggtacc gccccgtccg gtcctgcccg tcaccgagat ctgatccgtc accgggatcc      960
acttaagcgg ccgcccttgt atctctacac acaggctcaa atcaataaga agaacggttc     1020
gtctttttcg tttatatctt gcatcgltcc aaagctattg gcgggatatt ctgtttgcag     1080
ttggctgact tgaagtaatc tctgcagatc tttcgacct gaaatacgtc gagcctgctc     1140
cgcttggaag cggcgaggag cctcgtcctg tcacaactac caacatggag tacgataagg     1200
gccagtcccg ccagctcatt aagagccagt tcattggcgt tggcatgatg gccgtcatgc     1260
atctgtactt caagtacacc aacgctcttc tgatccagtc gatcatccgc tgaaggcgct     1320
ttcgaatctg gttaagatcc acgtcttcgg gaagccagcg actggtgacc tccagcgtcc     1380
ctttaaggct gccaacagct ttctcagcca gggccagccc aagaccgaca aggcctccct     1440
ccagaacgcc gagaagaact ggaggggtgg tgtcaaggag gagtaagtc cttattgaag     1500
tcggaggacg gagcgggtgc aagaggatat tcttcgactc tgtattatag ataagatgat     1560
gaggaattgg aggtagcata gcttcatttg gatttgcttt ccaggctgag actctagctt     1620
ggagcataga gggtcctttg gctttcaata ttctcaagta tctcgagttt gaacttattc     1680
cctgtgaacc ttttattcac caatgagcat tggaatgaac atgaatctga ggactgcaat     1740
cgccatgagg ttttcgaaat acatccggat gtcgaaggct tggggcacct gcgttggttg     1800
aathtagaac gtggcactat tgatcatccg atagctctgc aaaggcgctt gcacaatgca     1860
agtcaaacgt tgctagcagt tccagggtga atgttaigat gagcattgta ttaaatcagg     1920
agatatagca tgatctctag ttagctcacc acaaaagtca gacggcgtaa ccaaaagtca     1980
cacaacacaa gctgtaagga tttcggcacg gctacggaag acggagaagc caccttcagt     2040
ggactcgagt accatttaat tctatatttg tttgatcgag acctaataca gccctacaa     2100
cgaccatcaa agtcgtatag ctaccagtga ggaagtggac tcaaatcgac ttcagcaaca     2160
tctcctggat aaactttaag cctaaactat acagaataag ataggtggag agcttatacc     2220
```

[0005]

gagctcccaa atctgtccag atcatggttg accggtgcct ggatcttcct atagaatcat	2280
ccttattcgt tgacctagct gattctggag tgaccagag ggtcatgact tgaccctaaa	2340
atccgcccgc tccaccattt gtagaaaaat gtgacgaact cgtgagctct gtacagtac	2400
cggtagctct ttctggcatg cggagagacg gacggacgca gagagaagg ctgagtaata	2460
agccactggc cagacagctc tggcggctct gaggtgcagt ggatgattat taatccggga	2520
ccggccgccc ctccgccccg aagtggaaag gctggtgtgc ccctcgttga ccaagaatct	2580
attgcatcat cggagaatat ggagcttcat cgaatcaccg gcagtaagcg aaggagaatg	2640
tgaagccagg ggtgtatagc cgtcggcgaa atagcatgcc attaacctag gtacagaagt	2700
ccaattgctt ccgatctggt aaaagattca cgagatagta cttctccga agtaggtaga	2760
gcgagtaccc ggcgcgtaag ctccctaatt ggcccatccg gcactctgtag ggcgctccaa	2820
tatcgtgcct ctctgctttt gcccggtgta tgaaaccgga aaggccgctc aggagctggc	2880
cagcggcgca gaccgggaac acaagctggc agtcgaccca tccggtgctc tgcactcgac	2940
ctgctgaggt ccctcagtc ctggtaggca gctttgcccc gtctgtccgc ccggtgtgic	3000
ggcgggglg acaaggtcgt tgcgtcagtc caacatttgt tgccataatt tctgtctctc	3060
cccaccagct gctcttttct ttctctttc ttttccatc ttcagtatat tcatcttccc	3120
atccaagaac ctttatttcc cctaagtaag tactttgcta catccatact ccactcttcc	3180
catcccttat tctttgaac ctttcagttc gagctttccc acttcacgc agcttgacta	3240
acagctaccc cgtttgagca gacatcaggg cccatcgatt cgatatcact agtatgtacc	3300
cgtggagttc gacaggaacg tcaccgtttt cgcacccga caatgaaggc gcggaatcgg	3360
gggatatgag catgggggaa gagcagcagc aaccccacca gaggcgcccag aaattgtgag	3420
taaaatgtgt cgcaaccgat gagacccccg acttcgagag gaatgtattt agagatcacc	3480
aaccgacgtt ttcgacctaa cagcaacaac ctgcgcgcgt gccagtcctg ccgcgcttcg	3540
aaagtacgat gcgaccagcc taaccggggc atgccctgtc ttcggtgcc gaaatcaggc	3600
aagccgtgcg tggatgccgc cagtcaaccg gggaagcgac agcggcaacc tatcaacagt	3660
atcctggaga tggagtcgcg aatcgaaacg atattgtcgt ccgcagaatt gcaggacagc	3720
gctggggacg gggagactgc ccattccacc gcactccgtt cgccttccca gttgtcgac	3780
cacatccaac cgtttcagca cctccccatg ggattcgcga taccgttcaa tggtagtct	3840
gcgtagatcc agtctggaat cgtggcgagt tactttcatc gctaacatgg ccaccttccg	3900
tctgcctagg aggaaattcc gggacggaag atctgaactc gagcatccga tcatggctga	3960
atgacaacat caccgacctg gatgctcgta ccacagagac aatcttcagt cattatttga	4020
ccaacatggt gccaccttt ccggtcgtcg tctttgcgac aggcaccacg gcggccgacg	4080
tccgacggaa caacctatt cttttctag ctattctcga cgtggcctcg tcgggattct	4140
gtgcgcttga gacgcagcgg aaactgcgaa agctgattgt tcaagcgta gtgcattgca	4200
tgtgcgaac cgaacagtat actctcgat tgctccaggc cctgattgta tccgccacat	4260
ggtatcgac gattgagcct gtcgagccgg gggagcagat ggatatctac cagatcagcc	4320
acacagcagc caatatggcc ttgatcatga ggctagggga gagtttgaat gccaaatctt	4380
gggggggtcc catgtttcct cggcgggaga tgaaaaaggg tcctggaagc gcccttcagg	4440
cggactcgtt ggaagctcgg cgcgtgtggc ttgggtgtca ttatatttgc tcgaagttag	4500
aaagacatac ccaagagcgc ggcagcgta acctagtcta tgcagtacct ccatgtccct	4560
ccgcgcccc aacatcatga gatggaccg tctgatggac gaatgtctgg aggtattgga	4620
aaattcccc gcggcccttc tatcggacag gcttcigtgt cagcatatcc ggctgcagca	4680
tatcactgaa gaattcgcga tgcatttgtc cgcagaagag gcttcagctc ccgcgaaatc	4740
ccgagcgatt cagatccagg taacccatcg tgctttcaaa cgacagctca gcgaatggcg	4800
taggactgtt ggtgatggtt gggatggtaa ctctccctg cttgtccttg atcgccctgc	4860

[0006]

cagccactga	tgcggattgt	ctagagtccc	tcgagttttc	gtattatttc	tcatgcctgt	4920
acataaacga	agtagcccac	tgcacagcga	cgagtgatga	tgttcccga	gataacgccc	4980
agcgcttgac	gccaccacca	ccgattgtgg	caatcgagcc	gcatgcgatt	accgagttta	5040
tggatacgat	agataatatt	tttcgggtgt	tcacctcact	ggatatgtcg	accattcgag	5100
ccctacccgc	gatgtacctg	attcggataa	tctacacatt	catcatcctg	gtcaaaactat	5160
actttgcggc	agccaaacta	ccagcgcagg	acgccgtgtt	gcaagtcgac	ggactgcagg	5220
tctctaggcg	cttcaatcgc	gtgatccaga	tgaccgcagg	atggggcccg	ttgtggcctg	5280
ctacgaaact	aaccaccgtg	ttcaccaaga	tgcggtcgtg	gtttgaaagc	ggaggggata	5340
acaattgcc	gaggctgcag	caggccgcgg	cgtggctcac	gggatgggag	cttaagcccc	5400
cgtcccagg	ccgagacgct	cacgccatga	acatggccga	agttgtctcg	gatgatggat	5460
caattgtcgc	ttccagctca	cgaggtcagg	cactcctggg	tccgtcgtcg	gcgtccacgg	5520
acgtggatac	tcttgccctt	tcgcacgaac	ccccctcgg	cactgagttt	tcgatagccc	5580
ctccaccttt	ccggtcaatg	tcttgtgcta	caaaatcatg	ttctcctcag	gcgggagctg	5640
ctgagtttat	gcacgacgag	gaggttccgc	ttgaaggcca	acgtctgggg	gacctcccga	5700
atatagacca	gatggacgac	gtgggcatgg	attggagcca	gtataccaac	atgggctttg	5760
acttgtacaa	lclagacgcg	ccatttttgc	caaaccctcc	ttctggcttt	gatccagacg	5820
cagcaatgaa	ggataattgc	gcagatagaa	acacatgaac	tagtccgcgg	ggatccactt	5880
aacgttactg	aaatcatcaa	acagcttgac	gaatctggat	ataagatcgt	tgggtgtgat	5940
gtcagctccg	gagttgagac	aaatgggtgt	caggatctcg	ataagatacg	ttcatittgtc	6000
caagcagcaa	agagtgcctt	ctagtatttt	aatagctcca	tgtcaacaag	aataaaacgc	6060
gttttcgggt	ttacctcttc	cagatacagc	tcactctgca	tgcattaatg	cattgactgc	6120
aaacctagtaa	cgccttcagg	ctccggcgaa	gagaagaata	gcttagcaga	gctattttca	6180
ttttcgggag	acgagatcaa	gcagatcaac	ggctcgtcaag	agacctacga	gactgaggaa	6240
tccgctcttg	gtccacgcg	actatatatt	tgtctcta	tgtactttga	catgctcttc	6300
ttctttactc	tgatagcttg	actatgaaaa	ttccgtcacc	agccctgggt	tcgcaaagat	6360
aattgcatgt	ttcttccttg	aactctcaag	cctacaggac	acacattcat	cgtaggtata	6420
aaacctgaaa	tcatttcctac	taagatggta	tacaatagta	accatgcatg	gttgccctagt	6480
gaatgctccg	taacacccaa	tacgccggcc	gaaacttttt	tacaactctc	ctatgagtcg	6540
tttaccaga	atgcacaggt	acacttggtt	agaggtaatc	cttctttcta	gaagtcctcg	6600
tgtactgtgt	aagcgcccac	tccacatctc	cactcgacct	gcaggcatgc	aagcttggca	6660
ctggccgtcg	ttttacaacg	tcgtgactgg	gaaaaccctg	gcgttaccca	acttaatcgc	6720
cttgacgac	atcccccttt	cgcagctgg	cgtaatagcg	aagaggcccg	caccgatcgc	6780
ccttcccaac	agttgcgcag	cctgaatggc	gaatggcgcc	tgatgcggta	ttttctcctt	6840
acgcactctgt	gcggtatttc	acaccgcata	tgggtgcactc	tcagtacaat	ctgctctgat	6900
gccgcatagt	taagccagcc	ccgacacccg	ccaacacccg	ctgacgcgcc	ctgacgggct	6960
tgtctgtctc	cggcatccgc	ttacagacaa	gctgtgaccg	tctccgggag	ctgcatgtgt	7020
cagaggtttt	caccgtcctc	accgaaacgc	gcgagacgaa	agggcctcgt	gatacgccct	7080
tttttatagg	ttaatgtcat	gataataatg	gtttcttaga	cgtcagggtg	cacttttcgg	7140
ggaaatgtgc	gcggaacccc	tatttgttta	ttttctctaa	tacattcaaa	tatgtatccg	7200
ctcatgagac	aataaccctg	ataaatgctt	caataatatt	gaaaaaggaa	gagtatgagt	7260
attcaacatt	tccgtgtcgc	ccttattccc	tttttgcg	cattttgcc	tctgttttt	7320
gctcaccag	aaacgctgg	gaaagtaaaa	gatgctgaag	atcagttggg	tgcacgagtg	7380
ggttacatcg	aactggatcl	caacagcgg	aagatccttg	agagttttcg	ccccgaagaa	7440
cgttttccaa	tgatgagcac	ttttaaggtt	ctgctatgtg	gcgcgggtatt	atcccgtatt	7500

[0007]

```

gacgccgggc aagagcaact cggctcgcgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag 7560
tactcaccag tcacagaaaa gcatccttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt 7620
gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga 7680
ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggagc atgtaactcg cttgatcgt 7740
tggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta 7800
gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaaac tacttactct agcttcccgg 7860
caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc 7920
cttccggctg gctggtttat tgcctgataa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt 7980
atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtc tcgtagtatt ctacacgacg 8040
gggagtcagg caactatgga lgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg 8100
attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa 8160
cttcattttt aatttaaaag gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa 8220
atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga 8280
tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg 8340
ctaccagcgg tggtttggtt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggttaact 8400
ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gtccttctag tgtagccgta gttaggccac 8460
cactcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaactct gttaccagt 8520
gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg 8580
gataaggcgc agcggctcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga 8640
acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc 8700
gaaggagaaa aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg 8760
agggagcttc cagggggaaa cgcctgggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc 8820
tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc 8880
agcaacgcgg ccttttttacg gttcctggcc ttttgcctggc cttttgctca catgttcttt 8940
cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc 9000
gctcgcgcga gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaaag ggaagagcgc 9060
ccaatacgca aaccgcctct cccgcgcgtg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac 9120
aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact 9180
cattagcac cccaggtttt acactttatg cttccggctc gtatgttgtg tggaattgtg 9240
agcggataac aatttcacac aggaacacagc tatgacctg attac 9285

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 9285

序列名称 : Seq_4

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

ccatccttcc catcccttat

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_5

序列描述 :

[0008]

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

caattctgcg gacgacaata

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_6

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gaccagaggg gatgttctac

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_7

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

actctgtccc tggaatgaag

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_8

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

caagattctg cgtcttcatc

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_9

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

[0009]

<400> 前序列行 :
taataggcga atctggtgtc 20
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_10
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gatattgtag ccctgtgtgc 20
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_11
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
acatgetgat cacgtaaagc 20
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_12
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
aaatagacga ctcccacctg 20
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_13
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
ccgtctacca agtagtcacg 20
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20

[0010]

序列名称 : Seq_14

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

tgggctttac tttcagatcc 20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_15

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

tgttcttggc cccttctc 18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_16

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gtcacggcga tttatcttg 19

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 19

序列名称 : Seq_17

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

cagcattgcc ttttgagg 18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_18

序列描述 :

序列

[0011]

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

tggaggtcctt gacagagatg

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_19

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

ctccattgtg cagtaattc

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_20

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gaccgcaagt atctcgtg

18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_21

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

tgggtaaag cacaaccatc

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_22

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gcagcagaag aagctgaac

19

[0012]

<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 19
序列名称 : Seq_23
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gggaggaggt tctgaataaa g
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 21
序列名称 : Seq_24
序列描述 :

21

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gcatagctgg tggatatcg
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_25
序列描述 :

20

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
agctagcatt cttgcgttc
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 19
序列名称 : Seq_26
序列描述 :

19

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gaccactctc aacaagatgc
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 20
序列名称 : Seq_27
序列描述 :

20

[0013]

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

ctgaaatgcg ttcctttg

18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_28

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

gaatggcgta ggactgttg

19

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 19

序列名称 : Seq_29

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

cgtatccata aactcggtaa tc

22

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 22

序列名称 : Seq_30

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

cattcattcg cttgttagagg

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_31

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

[0014]

<400> 前序列行 :
 caccttttct gtttccacac 20
 <212> 类型 : DNA
 <211> 长度 : 20
 序列名称 : Seq_32
 序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
 <400> 前序列行 :
 gtaaggatct gtacggcaac 20
 <212> 类型 : DNA
 <211> 长度 : 20
 序列名称 : Seq_33
 序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
 <400> 前序列行 :
 agatccacat ctgttggaag 20
 <212> 类型 : DNA
 <211> 长度 : 20
 序列名称 : Seq_34
 序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉
 <400> 前序列行 :
 atgtcacccc cacttgactc tgccctggag ccactgtccg aatacaagga aacagccttt 60
 cccagaactg aaaaagaccc gtgcgagtac aaagagcacg accttgtaac gcctgaaaaa 120
 gaaatccaga ctgggtactt ttcgccgcgt ggaagccaca gcagccacgg ttctcacgac 180
 tccagcgccct cctccaatat cagcctcgac gacgcccgga tgcagatgt gaacaattcg 240
 ccaaattgat tccatgacga cccagatacg atcgacgaga agttgtcgat gtactggaag 300
 gcggcgcaatg aaacggtagg gccgtgttca ctcatcagcc atgagagttg accttatctc 360
 ttttactcca caggtgatta gagagccgta tgactacatc gctgggatcc caggcaaaga 420
 gatccgccga aagctcttgg aggccttcaa ccactggtag aaagttgacg aacagtcgtg 480
 ccaggctatt gcaaccactg ttggtatggc acacaatgca tccctgctgt atgttgcatc 540
 cagtctctlg ctcaatcgcg ttttcacgag ctaataagca ctccacagca tcgacgatat 600
 tcaagacagt tccaagctcc gaagaggtgt tccatgcgca catgaagtgt ttggcatcgc 660
 ccagaccatt aactccgcca actatgtcta ctttctggcg caaaaccagc tgtttagact 720
 gcggagctgg ccccaggcaa tttcggtatt caacgaagaa atggtcaatt tgcaccgcgg 780

[0015]

tcaaggcatg gagctattct ggcgggataa cctgctgcct ccgtccatgg atgactatct	840
gcagatgata gctaacaaga cagggtggact gtttcggatg atagtgcggc tgctccagac	900
aagcagcaga caggtcattg acgtcgagca gttggtagat gttcttgggc ttactttca	960
gacctcgac gactacaaga atatcagaga agagaagggt cgtcttcgtc gaaccagatc	1020
gagaactaaa gaagactgac tacttcgcac tagatggccg ccagaaaagg gttcttcgaa	1080
gacctgacgg agggcaaatt ctctgtcccc atttgccatg caatcggaga aggggccaag	1140
aacagaactg ctctgctcca tatgttgagg ctcaaaacgg atgacatgaa gatcaagcaa	1200
gaagcagtct gcatactgga caatgctggc agtttagatt acacgcgaga ggtgctttac	1260
gggctggaca ggaaggctcg cagtctgctt cgggagttca agactccgaa cctttcatg	1320
gaggtctttt tggatgcaat gttgagcagc ctccaggcat gccattga	1368

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1368

序列名称 : Seq_35

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

atgcctgaga gtcagatcat cgaactgggc acgtggggc agatccccct ttacagcctt	60
gaacgcgcgc tccaggaccc tcttcgggct gtcaaactgc gacggcaaatt cgtctcccag	120
catcaagcca ctggcaacat cgacttcaca acggacggct ccgcgctccc gtacgaagga	180
tacgactaca aagcagtcct cggagcctgc tgcgagaacg tgatcgggta tatccccatc	240
cctgtgggcg tcgccgttc gatcaaaatc aacggaaaga tgggtgtttct ccccatgtcc	300
acgacagagg gcgcgttgtt tgcgagcacg aatcgtggct gcatggcgat caacgccggt	360
ggaggcgtga ctgctcttgt gctgggcgat ggcatgaccc gagcgctat cgttcgattt	420
cccagctctg aagaagccgg cgccgcaaaa caatggcttg gctctgatgc aggatttctc	480
atcattgagg acgcgttcaa tgcattccagc cgcttcgctc ggcttcaaaa cattaaggcc	540
acggccgttg gctcggacct ctatatccgg ttacagggcca gcacggggcga cgcaatgggc	600
atgaacatga tctccaaagg ggttgagcaa gcgctggagg cgatgcaaaa gcacgggttc	660
gagtctatgg atgtcgtctc gctgtcgggg aacttctgtg cggataaaaa acctgcggct	720
gtgaactgga ttgaggggcg aggcaagacc gtgaccgcgc aggcgacaat acctgaacat	780
gcggttcgag aaacactcaa gaccagtgtc gagggcctcg tggagctcaa cgtctccaag	840
aacctggtgg gcagtgtgtg tgcaggggct ctgggagggt tcaacgcca tgccgccaat	900
gtgtgtcacg cgatttatct tgccactggt caggatcccc cacagaatgt gcaaagcagc	960
aacactctga ccgtgatgaa aaagttagta cactgcctct aaagatatct tgatagatgt	1020
tgcggcgcta actcccagc agtgtgaatg gtgatttgca aatctctgtt ttcatgcctt	1080
ccattgaagt cggcaccgtt gggggaggga cagtcctggg ccctcaaaag gcaatgctgc	1140
acatgatggg cgtccaaggg gccgaccccg aacagccagg tagaaacgca caggagctgg	1200
ccctgctggt ggcggtggc gtgctggctg gagagctcag tctttgctct gctctgtcag	1260
cgggctcgtt ggtgaaaagc cacttgacct ataatcgga gaaaggatga	1310

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1310

序列名称 : Seq_36

[0016]

序列描述：

序列

<213> 生物名称：构巢曲霉

<400> 前序列行：

tcatgtagag ttactccatt gtgcaggtaa ttcaagcata aaacaatcat gtgcgagatc	60
acatccgact cgcaatatct ctaaagcgta aatctgccc tacacatcag tcacgtcgca	120
aaacatctgc accttctcca gcatcctcat ctggcccta tcctgcgcc ccattctgt	180
caagacctcc aagccccgct tcatgttga ccgctcaaac tcagcgagag agaacagctg	240
cttctgccga accgcatctg attttggccc ggccctgggca aactcgggaa agttgacgca	300
gltgagattc ttctcgtcgc ggtcacgggc aagcgatccg taatcgttgt acatcgggca	360
catcacggcg agatggcggc acattgcttc agccacatac ttctcttcgc aggtctgaaa	420
gcacgcggcg ttgtgggacg cctgctcgaa ccccgagcagg cactggtaga aggcaaacga	480
gtaggggcag gaggtgtggt cggacgaggt ggaagacacc cagcggtaga agctggagcg	540
ggcggctctc aagtcgtcgc ggggtgactc cagttgggcg gcgaagcggc cgttgcgtc	600
ggcctgctct atgtgcgaca gcaggaagac ctgaagctcg ttcttgacgc gctcgtactc	660
gaggggcgcg gcggccttca cgctgggatg gtccatgacg tgggtggacga aggcgctaag	720
gacgcggctc acgtcgttgg ggagttgtga ccccatcttg atgcgtttgg cttgcggtag	780
gacctgttga ccgtttgcgt ctgcgtttct tggaccagac tgggccttga ttgcgtcatt	840
cagctccggt ttgtccttga ggtcgcggaa gatctcgtcg atgcaggacc gggcatgga	900
tctctggctg ctgttcagtc tgccgactac cgcttcata aattcatcgg cttggtagtt	960
gaggaacgaa atcaccatca tctcgacaag ggttttcgtg gagagggaagg tgttcctgcg	1020
gttattgcac aggggtccagg tgaacggaat gtactcaaaa tacttgtctt cttccatgcc	1080
cgtgcgagag aagacggcaa gacgtcgtc gcgcagctgt ggcaggagca ggtatccttc	1140
gacgatggca gcgcggacct tccagagttc catgctcgaa aacaggggaa gcatggagtg	1200
gaagcgtgcg aactcgatga cacgcttctt gctgacgatg aacagattcg ccagacaggc	1260
tggataagaa cgttcgaagg acaccttcag cgcggcgagg acatagctct tactgaggag	1320
aattgagctg tatgtcacct tctctaccca cagatactcc gctttgtcgc ctgcgtgtt	1380
ttgcaggaaac ttgcggcctc gagacacagc cagctgcaca ttcgtccaca gctgattcac	1440
cacgggcaac tggcatgcgt gagcgatggt cagaatagca tatgccgtct cttcgtggga	1500
gtgcgatccc caggatccgt tctcgttctg agtctgtagt gtgcgaacca atgcctgata	1560
caggcagacc gatactcgat ctctgataaa ctgactggaa atcgacttga gtccgccatc	1620
tgaccatacc tgcagcagct tcccaaacgc ctcagccatg agcatggatg gatagtacgg	1680
ggagagggtc tgagagagtc agcgtctctg tatttccatt tctgttgca aaagaagtga	1740
taccatttta tccccaatct cactgtcggc cgtccaccag acatcacaca gaaaggccgc	1800
tgctttttcg atctggggcg acacagtggc cgcacgggc gtattcaaca gcgcaagcaa	1860
tacattgctg tttgcagtga agctgggatc tctctcgccg tgataggtgc ggaagtgcatt	1920
cgggcctcgt aatgcattca ttagtccctg ggccgagact ggtttgtcca acaaggagac	1980
cgcaataagc gatttggcgg tatcgtcggc gtctgccttg atcgacggag ctatacaaca	2040
gaatggtttag ctacglgagg gagagtgata gagccatgtt gtgggatcgt accaaatcct	2100
acaatacctc ctcttttgac caacgcacgc cgaagcatct cgccgaggct gtcggtgtct	2160
tcgalaccga gatgcctgt agaatatcca ttgtccaaga gcgtggttaag ggcttgaagt	2220
tcagtcagct ttgattctag tcgagcaagc tgtccctta cccacgagac ctcgaaatac	2280

[0017]

tttgaaggat acgcgctcgg cattcctcca gtgccccctc cggcgccatt ctgtagcacc	2340
aaccgcaagt actgttcgca ctctctgtcc caggaggagg aaaacatgag aaaggcggcc	2400
gtggacgatg gcgagaacat gaaagagcca ttgaccttct ggtgcgccac tttatcaaag	2460
tcgatcatgc ccacaaacgc ctcaagcgag tgcagcgcg tggttctggc ggagtacagg	2520
tactccggcc tgaacttggg gagcttgatg cgattcagcc ggtcgagctc ggcgcgcccc	2580
tcaaattcaa actcgtgccc tttctcgcgc aggagccgca gaagcgcggg caaaatgatt	2640
tcaaagccaa cgtgaacagt gtcttttaca ctccacgctt gcagttgtcg tgagagggcc	2700
gcgcgtgccc gtccgattcg ctcttctcatt tcttccacgg gaggtcgggt gctggcaatc	2760
cgcttttctg catgggtctc gagggccagt aaggaggctg cgggtgttgag gataccgtcg	2820
acgtcggagg cgtaggctct ccaactgcca tcctctagct gggtcgcag gatgtattcg	2880
aagcattttg gcaggagcca ttgacgcctt tctgtgtcg tcttctggac catggacacc	2940
caggccgtgt cgtagactgc cgcggacata aagcccagct ctccatcttt tgtccggagc	3000
tgttggacca gctgggaggc ttgcgtgcat agatctgtca cgtctgcgca agtcat	3056

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 3056

序列名称 : Seq_37

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

atgaagtact tgaatatattc cttgtcccgt gatatagcat ctgaacattt taattttcta	60
gtactctcaa tgcaccccg aatcccacgc gtcaccacgc tatgaccgag gatacgcttg	120
tcgacgcacc ggctctgccg catcagaatg gcagtacaga agagaaactg aaggagcgcg	180
gaagcttttg aaagctctac acgtacaagg tcagcacctg tttcatgtta tccctatgag	240
tcggaaagcc cagcatatgg tcgcagggtt aactggcaac agcggagccc ccgagcccta	300
ggcatccaag ctgtcgcaaa atccatcggc ttggagctgg agcaagtcga gctgcagccg	360
gccaacggcg tcccagactt ctactggaac ctgaaccgc tgggcaagac cccgacgttt	420
gtcggcgagc acggcctggg gctgacggag tgtatggcga ttgccctgca cgglgcgttc	480
ccccctcgac ttacgatgat acgttgcctt ttgtgctgaa taacactcac aagagcagtg	540
accaacgaag actcgacgac cacgctcctg ggcagcagct cgctcgactt cgtccagatc	600
atccgctgga tctcgttcac caacacggat gtcgtcacc gcattggcgtc ctgggtccgg	660
ccgttgatcg gctacacgcc gtacagcaag gaggaggtgc tcaaggcgca gcagcagacg	720
acgcaggcca tcggcgtctt cgaggacagc ttgcgcgacc gcaagtatct cgtgggcgac	780
cgcctgacgc tggctgatat catgtgtgtc agcttgggtg cgtttgggtt cgcgcagatc	840
ttcgataagg agtggaggga ggcctttcca tacttttcgg gctggtacat gatggttatg	900
catttaccga tcatgaaggc agtgggtggag gaggtgccgt ttgtcgagga gggcttgccg	960
aatgcaccgc ccacggagcc gttcagggcg ccttag	996

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 996

序列名称 : Seq_38

序列描述 :

[0018]

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```

ctatcgatga actgcctggt ccataaggct ctcagtatga tcccaaacca actgaggtat      60
cttctgctcc cgatactgcg ccagaatctt ggtgctcggc ctacatccc ccttccaatt      120
caacaggtag gcgccactcc ccggttcccc agtaatgcct ttagcgacct cgccagcctc      180
cagcggaaaca ccctggggca caatgccctg ctttgctggg tagtgtgccg agctcagatg      240
gaaaagatgt cgctcgccac tctcgccgag atccacggaa aacggcttca tgaacggcca      300
cacgaggtaa ttgtagaagg tcgaaaccgg agctgggaag ctgttggtgt agatgttggt      360
gccaacgaga cccgggtaga cgtgaatgaa actgacggcc ggggtgggtgc gggcgagtg      420
ctccatgctc agggaggtca tggatgatga gtgctttagt gcgttgagca gggagaagtt      480
gtgcttgagg tcgaggtcgg ccgtgtttat ggagtactcg aagccgccgc cgtagacgt      540
aatcacgcgg cttgggctcg acgcctccag cagcgggagg aggttctgaa taaagcgcat      600
ccgggagtag tagcggagag cgaagaggta gtcgatgcct tcgacggttt ctgtatcttt      660
ttgttagcgc aaggtactcc gtggacgggt ctccgtctgc ataccgtttc ggccccctag      720
agaaatcccg cccgggggtca tgaagagaaa gttcagcttc ttctgctgct ggagaatctg      780
ctggcacgcg gcgtccacat tccgtacgag cgacacatcc gcctcgatga agtggaagcg      840
gcccttgggg ttcaattgct gcagttccga caagaacggc cgggtgagcg cctcgttgcg      900
accgatgata taggccgtcg ggctgtcggc gtaacggggc agctggcgca ggggtgctctg      960
gccgatgcca ctggtgccgc caacaaacaa ggccgtaatg ttggggagcg cccgaaggcc      1020
ggcgttagat gcttgaccgc tcttcagaga gaccat                                1056

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1056

序列名称 : Seq_39

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```

atggttgatg caacgtctcc ccccggcgtc aacgcagtgg tgaattacta cgtgccccaac      60
agcgatgggt ctccgectgc caccaacgac atggccgtca tgctgggcca aaaggacatg      120
atttcccaca aaatgcgaat ccgcatctg cgcccttaca aggaggagta ttcgctggat      180
cgcaacggct tccagtacgc gacgatccac tccacgctta cggatgccac cgacgagacc      240
cagatcaaag aggtctacta ccgagagatt gagaaactgg tccaagatat gtgcgtgtgc      300
tcgttcgcct ccatgacgcg ctagtctaata ctgcatgaat actgcagcac cggggccaag      360
cgggtgcttg ccttccacca tgcagtgcgc acccgaccgc gcaacgagtt cggcgagcag      420
atcaaagacc gctaccaggg cgtcgagggg cccgcgtatc gcgtacacat tgaccagacc      480
ccccagggcg cgctcagcat cgtgcagttt atgtttcccg atctcgcgga cgatgtccgc      540
aacggcagtt tccaggtgat caacgtttgg cgcccggtga cgcgggtgca gcgtgacccc      600
ctgatggtgg ctgatgcggc cgagatgccg cccgaggacc tgcttctaata cagccggaag      660
tattacaacg ggctgcattc gtccaacttt gtcattaagt atgatggtcg aatggcggct      720

```

[0019]

```

ggggagggcc cgacggatgg gctgagcggg gatggaaagc atagctgggtg gtatatcggg      780
gaccaggagc ccaccgaagc gttggttttc tcctcatctg gcttccgcaa tggaaaggcg      840
atcatcggca cggcacatgg tgcgttctgt ttgcctgac aagatcagta cccagctcgt      900
cagagcattg agtgtcgggt tgttgctatc tattgataaa tcatgtctag acctttactc      960
ggcagaacca atgataaatg catatgaacg caagaatgct agctcattat atggccatga     1020
tgagtcccag atatag                                     1036

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1036

序列名称 : Seq_40

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```

atggacaact atacctggca ctctgggacc ctcatccctt ccgattcacc atcatccatt      60
gatcgctcgc agctctatct ggagatcctc ggcgttctta gcgtggtcta cctgctccaa     120
accttggtcg catattccaa atccttcaag gcccctttcg tgggcttccg attctggtat     180
gagccgaaat ggttggtagg actacgtttc tcccaggcg ctcctggcga ggtcaatgaa     240
ggatacgcca aggtacgcaa tgctaccgtt ccccaggac tctgtctaat gcgcttgaca     300
gtacaagaac gccatgttca aggtcgcgcc caacgactca gacatcctgg ttatccccaa     360
caagtatgtc gaggaactgc gatccctgcc tgacgagaag atcagcgcca tccgcgcgca     420
tatcaagaat ctccctggga agtactcgac cacgtgac ctcctggaga gcgacctgca     480
tacgcgatg ctgcagacca agctgacccc taatctcggc tccttcatcg aggtcatcga     540
gtcggagctc ctcttcgcca tggaccagga gatccccgcg aacctagacg actggcagag     600
cgtcaatgtg ttccacatcg ttcttcgat cgtggcgcg atctccgcac gcgtgttctt     660
ggcgctcccc gcctgccgca atgaggaatg gctccagacc tctattcact acaccgagaa     720
cgtcttttgc accgtcatgc tgttgcggcg ctccccaa tggatgcacc cgattgtggg     780
acacctctc cccagctact gggcaatcca caggaaacct cggaaccgca agcgcatcat     840
cagtcccatg gtgcgccagc gccgcgcaga agaggccaag cggaaccggg actatgtaaa     900
gcccacgat ctctccagt ggatgatgga cggcgcaaac gagaacgacg ggcagcccga     960
caagctggcg caccgccagc tctcctaag cctggcttcc atccacacaa caaccatggc     1020
ggcggcgcac tgcttctacg atctctgcca acatcccgag tactttgagc cgttgcgcga     1080
ggagatcaac gacgtaattg cccaggatgg cggctggaaa aagaccactc tcaacaagat     1140
gcgcaagctg gacagctttc ttaaagaaag ccaacgcata aaccgcacca gtctctgtag     1200
gtactccttg tcataccga taaacaattc cgctaacgct ttctccagtg gcattcaacc     1260
gcattgtctc ggaagacctg acgctctcgg acggcaccct cctgcccata ggaacgcatt     1320
tcagcatgcc ctccggggc atcctccagg acaacggcgt ggaaccgggt gccgaccaat     1380
tcgatgggtt ccgatactac aagaagcgcc tcaacccgga ggaagccaac aagcaccagt     1440
tcgccaatgac cgacaacaac aacctccatt ttggccacgg caagtactca tgtcccggcc     1500
gcttcttcgc ctccaacgag atcaagatca lcatggcgca cctgttgacc gactacgaat     1560
tcaaataccc ccggggcgcg acaaggccgc ggaatctgac ggccgatgag aacctgtatc     1620
cagatccgtc ggcacgltcg ctcatgagac gacgggtggg ggctccgccg caggcgtcga     1680
tcacgcgcga gcttgctctc gcctag                                     1706

```

[0020]

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1706

序列名称 : Seq_41

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```
algaatcgaa ctgtggggga cgactgggat tatacgattg aagtctgcat cggccggccc      60
aaccttcttg aagagattcg tgaagaactc aggaggagag aagcaatcga gaagaagaca      120
tattccggca atcacaggcc tctgatggcc gaatctccgg aaaaaattgg tgaaaaccgc      180
aagttgcacc ggttgcgcat aagatcgcca acagtgtcga gtcattctga acgtctaacc      240
cgcaagctgg gtaacgggtc tattttgaat gaggaggaca acttggtgtt tatgtacccc      300
ttttacatct taggagtcta tcttgacgac atgcgtgaaa tcctagctga catggagaga      360
ggagtgtctg cgtctggctc tatccccccc agcgagcctg agcccaaagg cctgtctcca      420
tcagtgtcgc cgtcgcccat tgaccagatg aagtgccttc ttcagttcgt ggaaagtctg      480
atcctacca tccataccgc tctccgacag ctggacgccc aaaccagtag aagattgtct      540
tatgcggaaa tctcattgct gcttgagccg ggtgagctaa tctacgtcgc cccctcgtc      600
atgacgacga agatgctgga tcgatcagca gtccagactg ttttccgatg ttgacccga      660
atcccagccg atcatccgat cagcatcgac gacagcggtt ggctgtcttc cgacatagga      720
cgtcttcttg cggatgtata ctgcctggac catgatggtg aagaatacac cgtctgttgg      780
cgcaaatgga agatggaata tttcgacggg gaaaaagaca ttaccgcttt gcccttctat      840
cccttgaaat ttcattcaaa ttacgagcga ttcctatcaa accgtgctcg gcaggaaca      900
gcattccgag cgctcgtgga ggacgaaaac ttgcaccact actacgcagg ttggacgtc      960
attactggtc tctttgaacg gaccgagtca gacggaaagt ccacggagtc caagccggag      1020
gattcagagt atgtcgatag cgaggtcttt ctggacacce aggaagcacg acgacatatg      1080
gacgactggt cctctctccg tgagcctttc acaacgaagg gaagccttgc catcaacgac      1140
ggcgcgaaat tctgtctatg gcatatgact gaaaaagaaga ctgtggcaga gaagctgaac      1200
aggatactca cgcgcgaaga ccttgtctac tggcgagcaa gggagcgata tctcctcgac      1260
aacaattggg tgatcgacga cgggtcttt ataaaagagg aatggacgga cgaagatcta      1320
gcgctgcttc ccaaagagt ctacggatac tcgttacggg acaggaagtt cttgcgctg      1380
gatgttgaca aattccgacc acacacgtc aagaccaaag ccaatctgga caagatcgag      1440
atcaaagata gccaccgcat gataattaga gctgcggtca agtccattt tgacagagcg      1500
gcacaggctc tgaaccgaga cgaggccact catgtccccg acatcttcga gggcaaaggc      1560
cgcggtctcg tcatccttct tcatggcgcc cccggcgctg gcaagactgc cacagcgga      1620
gcagtggcgc tagaattcga caaacctta ttccagatta cttgcggcga tctgggcacg      1680
gggcccgcgg aggtggaaac gtcactgaag gcgattttcc gctacgcgaa catgtggagc      1740
tgcatcttgc tcctagatga agcagatgtt ttctgactc agagaaaccg gacagatgta      1800
gagcggaatg cgttggtctc aggtacgtat ccattttgtc aggcagtgtt ggtggaccag      1860
ttgtgctgca gatcgagata tgtaaataat aaggcatcct cacttcaca ccgcaatagt      1920
gtttctcagg gtcctagagt actacagcgg ggtcctcttc ttgaccacca accgagtgtg      1980
cgcactagac gaagccttcc ggtcgcgtgt gcacctcagc ctgttctatc cgcattctgaa      2040
ccgcaactgat atggcgaaga tcctagagag caacctacag cgactaccgc gggacgacaa      2100
```

[0021]

```

attgagccct ggagccactg caggcccaaa ccatgtcact gtgatggaca gtgagatccg      2160
ggagtttgtc ctgcagcagt tcgacgagca ctataagttg cagagagag gaccctggaa      2220
tggaaggcag atccgcaatg ctgttcatat tgccatgtgc ctggccttct ttgagaacgg      2280
caggaagggc cgcagggtc cggccattct aaccgcggag cattttcgca aagtcacga      2340
aactattgcc gaattcgagg actatttgag agccgctcga accgtggatg atgagaccct      2400
ggctcagatg gaaggattgc gatatgataa agaagggcag gcgtacaaa ggcaacttgt      2460
cggctctact aaatttcaca gatggtcaga aaatgagcgt caagtgactc atcaacgcca      2520
atccgtccgc gagcaaggac agtcatatcg ggaaacgacc tcttatacac cgtctaggcg      2580
ctcattcctg ggtggggata tcgactctcc accagaatcc aggttttagcg gatcgggggc      2640
cgcagcgaga ccaaccagcc agcggtagcc gccgcgagaa atagacgact cccacctggc      2700
gcacgagaga tataacatgt ctgactctgg ttacggagag acaggtctgc gtgggactcc      2760
gaggaactac aatttgtctc cagacagacc acgaactcca aatcgtgact acttggtaga      2820
cggctcgctt gaatcagttc gctcaaggtc ttcggtccga gggagagatt ga      2872

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 2872

序列名称 : Seq_42

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

```

cgtctaagat tttagctctg ttctcaatcc cctgtagtgc aacctgaaaa gtcaagagcg      60
caatcttagt gagggtctct tatttgttgt gactgttcta gcagggccat actcgaaaca      120
ttaagcccag gatgcccttg actgtaccca gtccgaacte agctggcaag gtttcgaatg      180
ctgatagggt cacgtccaac gccatcccgg tccgttgccc gcaaccagta tttttggcat      240
aagcgtcttg ggcttgagta agcgattgga tgaccaccte ccaggagcat tggtagaatt      300
ttggctcccc gggttggtg tcgtcgtgct tgcggagaag gttttccaga tacctacgga      360
aaagaaagtc attcgatacc ccattacaat gggtagctat tggccgtaa gaggactcac      420
tcaatgcctt gtcctcctc ggagatgtac cgcttttcgc ttcgatcgta atcgccggc      480
gtcctgaagg ctgggtgatg agcccctgct ttccttcgga tccatgccte atcctcatcc      540
gttgctggct cagattttct ccatggaagg cgagaaaaat gatgcttctc ttgcccattg      600
atagtttctg aggttggaag gcgtaagggt tcggtgtgtt gggaggagcg cagaagagat      660
aaaatggttt ctcgatattt atcccattgc tgacatgctg ccataggctc gccaggctga      720
gaggctgagc tgagtagtcg gaggttccccc tcttctactc gtctatgact gcttggtatt      780
gcaaggatac gtgaatgaca gcagtgggat gagcaatcag ctagegcagc ctggtttctt      840
cacgctgag cctgttgccc acaacccttg ctactactga caggaccgcc gttctgtctt      900
cggtgacaa tgaagggtgc cctcttctct catccacgac tgtttgttga tgcaaggata      960
tgttcatgac agcagtgagg tgaaggccac tactgcagcc tcgttactcc acgcctgagg      1020
ctgcggctag cactctcggt aatgctgaca gggcgtcgc cgagttcacg taggagtatt      1080
aaatacgctg cgtcagctct tgagtcgaca atcctcgcta cgtctcgttt ttctttctc      1140
gcttaaagcc tttctgttcc ggtcttgacg cttactcaac taccttttcc atagaaacca      1200
aggaggaaaa ataatgaaag aagagctgca catgtcttct attaattccc aagaggattc      1260

```

[0022]

caggcccaat cctgaccagg agctgggtccc tatgtctaaa gaaccttcca cgtctactac	1320
cacgagcgct aggagtgaag gggcagaagc taggatgact gaggaggaga ccatgacggg	1380
aagaaagaga cggagaagag aacggaaagc tcaccggacg tgccaaaaaa ctctgaagat	1440
gaagtgaag aggaccggag agtaaatctc ggggtaagat actataattt ccagggtttt	1500
atgaatcgaa ctgtggggga cgactgggat tatacgattg aagtctgcat cggccggccc	1560
aaccttcttg aagagattcg tgaagaactc aggaggagag aagcaatcga gaagaagaca	1620
tattccggca atcacaggcc tctgatggcc gaatctccgg aaaaaattgg tgaaaaccgc	1680
aagttgcacc ggggtgcgcat aagatcgcca acagtgtcga gtcattctga acgtctaacc	1740
cgcaagctgg gtaacggttc tattttgaat gaggaggaca acttgggtgtt tatgtacccc	1800
ttttacatct taggagtcta tcttgacgac atgcgtgaaa tcctagctga catggagaga	1860
ggagtgtctg cgtctggctc tatcccccc agcgagcctg agcccaaagg cctgtctcca	1920
tcagtgtcgc cgtcgcccat tgaccagatg aagtgtcttc ttcagttcgt ggaaagtctg	1980
atcctacca tccataccgc tctccgacag ctggacgccc aaaccagtag aagattgtct	2040
tatgcggaaa tctcattgct gcttgagccg ggtgagctaa tctacgtcgc cccctcgtc	2100
atgacgacga agatgtctgga tcgatcagca gtccagactg ttttccgatg tttgaccgga	2160
atcccagccg atcatccgat cagcatcgac gacagcggt ggctgtctc cgacatagga	2220
cgtcttcttg cggatgtata ctgcctggac catgatggtg aagaatacac cgtctgttgg	2280
cgcaaatgg agatggaata tttcgacggg gagaaagaca ttaccgttt gcccttctat	2340
cccttgaaat ttcattccaa ttacgagcga ttctatcaa accgtgctcg gcagggaaca	2400
gcattccgag cgctcgtgga ggacgaaaac ttgcaccact actacgcagg ttggacgtc	2460
attactggtc tctttgaacg gaccgagtca gacggaaagt ccacggagtc caagccggag	2520
gattcagagt atgtcgatag cgaggtcttt ctggacaccc aggaagcacg acgacatatg	2580
gacgactggt cctctctccg tgagccttcc acaacgaagg gaagccttgc catcaacgac	2640
ggcgcaagt tctgtctatg gcatatgact gaaaagaaga ctgtggcaga gaagctgaac	2700
aggatactca cgcgcgaaga ccttgtctac tggcgagcaa gggagcgata tctcctcgac	2760
aacaaatggg tgatcgacga ccgggtcttt ataaaagagg aatggacgga cgaagatcta	2820
gcgctgcttc ccaaagagt ctacggatac tcgttacggg acaggaagtt cttgcggctg	2880
gatgttgaca aattccgacc acacacgtc aagaccaaag ccaatctgga caagatcgag	2940
atcaaagata gccaccgat gataattaga gctgcggtca agtccattt tgacagagcg	3000
gcacaggtec tgaaccgaga cgaggccact catgtcccc acatcttcga gggcaaaggc	3060
cgcggtctcg tcatccttct tcatggcgcc ccggtcgctg gcaagactgc cacagcgga	3120
gcagtggcgc tagaattcga caaacctta ttccagatta cttgcggcga tctgggcacg	3180
gggcccgcgg aggtggaaac gtcactgaag gcgattttcc gctacgcgaa catgtggagc	3240
tgcattctgc tcttagatga agcagatgtt ttcctgactc agagaaaccg gacagatgta	3300
gagcggaatg cgttggctc aggtacgtat ccattttgtc aggcagtgt ggtggaccag	3360
ttgtgctgca gatcgagata tgtaaatatg aaggcatcct cactctcaca ccgcaatagt	3420
gtttctcagg gtcttagagt actacagcgg ggtcctcttc ttgaccacca accgagttgg	3480
cgcactagac gaagccttcc ggtcgcgtgt gcacctcagc ctgttctatc cgcattctgaa	3540
ccgcaatgat atggcgaaga tcctagagag caacctacag cgactaccgc gggacgacaa	3600
attgagccct ggagccactg caggcccaaa ccatgtcact gtgatggaca gtgagatccg	3660
ggagtttctc ctgcagcagt tcgacgagca ctataagtlg cacgagagag gacctggaa	3720
tggacggcag atccgcaatg ctgttcatat tgccatgtgc ctggccttct ttgagaacgg	3780
caggaaggcg cgcagggtc cggccattct aaccgcgag cattttcgca aagtccacga	3840
aactattgcc gaattcgagg actatttgag agccgtcga accgtggatg atgagaccct	3900

[0023]

ggctcagatg	gaaggattgc	gatatgataa	agaagggcag	gcgtacaaaa	ggcaacttgt	3960
cggtcttact	aaatttcaca	gatggtcaga	aatgagcgt	caagtgactc	atcaacgcc	4020
atccgtccgc	gagcaaggac	agtcatatcg	ggaaacgacc	tcttatacac	cgtctaggcg	4080
ctcattcctg	ggtggggata	tgcactctcc	accagaatcc	aggtttagcg	gatlccggggc	4140
cgcagcgaga	ccaaccagcc	agcgggtacc	gccgcgagaa	atagacgact	cccacctggc	4200
gcacgagaga	tataacatgt	ctgactctgg	ttacggagag	acaggtctgc	gtgggactcc	4260
gaggaaactac	aatttgtctc	cagacagacc	acgaactcca	aatcgtgact	acttggtaga	4320
cggtctgcct	gaatcagttc	gctcaaggtc	ttcggtcgga	gggagagatt	gactttacgg	4380
gtaccctaag	gggcagtaaa	ggatgaagct	agggtgttgg	accattttgg	cagatcaaca	4440
gtagttcgtg	gaatcgagag	gtagtgccct	ttcctgggct	ggtgctggta	ccctaacacg	4500
ggaaactggaa	ttcctcatta	tctgatatat	gaaaggggca	gtcattcaag	agtccatggg	4560
agtccagtta	ctcgcgtcca	gtcctcgaga	aaaccattat	catggacagt	tggcgatata	4620
ccagaccgta	tatctgtatg	tacattttta	tctctccttt	tccgtccacc	attctgcacc	4680
agccctctct	tgtaacagca	laggaagtaa	tatagccctt	tgtgttcgca	gcacagctta	4740
gagaggctgt	aattggtaag	atagggtgcc	agctaaagta	aactatataa	attatataag	4800
cagttctgcc	agtttgctaa	tacgccaatc	tctataatg	cccattgcgt	tacactgcaa	4860
tagtggccag	ccagtgtctt	ctatcagttg	cccattgggt	cacccatagc	ctgatagtcc	4920
catcatcaga	tgcagagcca	atctgcttac	cgctgaaga	gcggtgacta	cataagacca	4980
gaaaccgcca	gaagacgcta	agagggctca	agtcgcgac	attactcgac	caattcgttc	5040
acgcggccag	atccagcccc	tggcggctca	tctgacagc	agtgctcaat	atgcgtatct	5100
acagaacagc	aagagcagaa	gctgactttg	ggagtggggg	gacagggtat	ggttggagta	5160
taataacttc	gtgatattg	tcaccaagca	gacaagttga	acaagttggg	atccattata	5220
tcagcatggg	cttctttaga	tcaacctcaa	agtgtttatt	tatatcttga	agacgagaca	5280
taaagagcgg	atagagcaac	tgaggaattt	tttgatgcca	atatctctcc	aggatagatc	5340
tgctgtgggt	caatttgtat	gaactgaaga	atactgcgtg	atattatgaa	agaggtttcc	5400
acaggacgag	ctattttacac	acgatagttc	ttggtatacg	gagatcgggc	ttttctaggt	5460
ttcaatttiag	agcgaaatga	gatatcaaca	agccagaaga	atacaggagc	ggctatacgg	5520
caccggcttg	ctaaagcttt	attggacctt	aacgagctct	ttaaagtaaca	tgattttggc	5580
acagttgaag	agattttaaat	cgggaaatca	acggcctgcc	atctcggctg	agccgatcaa	5640
catattctat	tcttcatccc	actaaaataa	tctacatga	agagaatgtc	tagatcaact	5700
aactcagatg	gggaacgatg	gcggtcattt	gctgattcta	tcataaggct	ggcgttgtct	5760
gcgaatcata	cactgccgaa	tctgctgggc	tataactga	cggatggaca	gcggcgagta	5820
cagcctgaac	ggcgaacgac	caggccttct	atgttttccc	ttccagtatg	accatagacc	5880
tcttcagta	ctattattcc	aacgcattct	ctgatttttt	gactatcagt	ttactgttcg	5940
gggtccctct	acgagggatc	tgttgagaat	aagcacgggt	gacggatccc	gctgatccct	6000
ctgctccgtc	cgaatacaat	atcacatcga	agtaagacac	aagcgagttc	ccgattgcaa	6060
gtattaacac	ccttagataa	catcgttcag	cctcgtctca	agggatataa	tcaacactga	6120
gctctatggc	ctcgtatatt	gagtcaactc	acattgacca	acatgtcacc	cccacttgac	6180
tctgccttgg	agccactgtc	cgaatacaag	gaaacagcct	ttcccagaac	tgaaaaagac	6240
ccgtcgcagt	acaaagagca	cgaccttgta	acgcctgaaa	aagaaatcca	gactgggtac	6300
ttttgcgcgc	gtgggaagcca	cagcagccac	ggttctcacg	actccagcgc	ctcctccaat	6360
atcagcctcg	acgacgcccg	gatgtcagat	gtgaacaatt	cgccaaatgt	attccatgac	6420
gacccagata	cgatcgacga	gaagtgtctg	atgtactgga	aggcggcgaa	tgaaacggta	6480
gggcctgggt	cactcatcag	ccatgagagt	tgaccttata	tcttttactc	cacaggtgat	6540

[0024]

tagagagccg	tatgactaca	tcgctgggat	cccaggcaaa	gagatccgcc	gaaagctctt	6600
ggaggccttc	aaccactggt	acaaaagtga	cgaacagtcg	tgccaggcta	ttgcaaccac	6660
tgttggatatg	gcacacaatg	catccctgct	gtatgttgca	tccagtctct	ggctcaatcg	6720
cgttttcacg	agctaataag	cactccacag	catcgacgat	attcaagaca	gttccaagct	6780
ccgaagaggt	gttccatgcg	cacatgaagt	gtttggcatc	gcccagacca	ttaactccgc	6840
caactatgtc	tactttctgg	cgcaaaacca	gctgtttaga	ctgcggagct	ggccccaggc	6900
aatttcggta	ttcaacgaag	aaatgggtcaa	tttgaccgcg	ggtcaaggca	tggagctatt	6960
ctggcgggat	aacctgctgc	ctccgtccat	ggatgactat	ctgcagatga	tcgctaacaa	7020
gacaggtgga	ctgtttcggg	tgatagtgcg	gctgctccag	acaagcagca	gacaggtcat	7080
tgacgtcgag	cagttggtgg	atgtttctgg	gctttacttt	cagatcctcg	acgactacaa	7140
gaatatcaga	gaagagaagg	ttcgtcttcg	tcgaaccaga	tcgagaacta	aagaagactg	7200
actacttcgc	actagatggc	cgcccagaaa	gggttcttcg	aagacctgac	ggagggcaaa	7260
ttctcgttcc	ccatttgcca	tgcaatcgga	gaagggggcca	agaacagaa	tgctctgctc	7320
catatgttga	ggctcaaaac	ggatgacatg	aagatcaagc	aagaagcagt	ctgcatactg	7380
gacaatgctg	gcagttttaga	ttacacgcga	gaggtgcttt	acgggctgga	caggaaggct	7440
cgcagctctgc	ttcggggagt	caagactccg	aaccttttca	tggaggctct	tttggatgca	7500
atgttgagca	gccttcaggc	atgccattga	ggtttatcag	actgaatatg	acagtcctgc	7560
gcatttgatg	agataatgac	attgtttctt	cttgacttta	tgtatctcta	agggcctgtc	7620
ctaaacacta	catatctttc	cgaccatata	ggatcatgga	ctatcttcta	gatacaagcg	7680
cagtacttat	gcctatgttt	accggggact	tactcgggac	acttgatccg	gttggagctg	7740
tttctgctgc	ccaatgctac	tgtagaagac	tgcatgtcac	actactacgg	cgaaagggcc	7800
cagcacggcg	actacgagca	tggaaatgtt	atggctaata	gccactgatt	cattcacatt	7860
cctagcttac	agccgtataa	aatagagata	cagcattccg	aacgcacat	tcttcaactag	7920
gagtgaattg	ataggggttga	gtaggcgatc	ccacggcggtg	cagcgggtgcc	acgttctgcc	7980
acgttctact	atgcgtggat	gataggatat	cccaattgtc	agatttagcc	tagaggcgta	8040
atcagctagc	taacactacc	gtttcggccc	tgtctcgaat	cctcccctat	ggtgccgatc	8100
ccaacctgcc	gaatgtggtc	ggatccccct	gcgatccctc	gatccccctg	acggattgcg	8160
gcggtggatt	ttcagtagca	taatttccct	cagtacatct	gactcttagt	cagaaatgct	8220
aataaataca	cgcgtgtgta	tatactgaat	gaattcgtgt	agcgaaccgg	aggctctctc	8280
tcccaaaacg	ttcttggtca	ggaagacagg	acgtcaataa	gaaacaccaa	cagtcttccc	8340
acggccgcac	caaaccacac	gatatggaca	ctttcacatc	cctgacgcca	ccgtggaatg	8400
caggaggggg	cttcatgcga	tcctatttcg	actcggcggc	ctcagcaggg	aaggccgcca	8460
gggactttct	ccggagccac	gaacgttttt	cccagcatg	cctgtgtata	tgcatcggtt	8520
acgctttgtc	cgtatggatg	ctgcctgita	ggatcccaat	cacaatcgag	ggcttcacga	8580
cgtcgtgac	gataccccag	acccagcgct	tggatcaagg	agacaccatt	ctgcaagtgc	8640
atgctgaccc	aagtgcgaag	atccggatcc	ataatgatag	gtaagttagg	cacaacacag	8700
agtcctgccg	tgagaccaac	tactaacaga	catgcagtca	tacagagtct	cctatccagc	8760
atagcgaagc	atggctggaa	gctgttcgcc	aggcctgtgg	gagcagcgct	gaggccgaaa	8820
cgcagatgct	ggccatgcac	cgaggctctg	cgaagcgaga	catigcaagt	gtatcggtat	8880
cgtctgccga	cggtagtggc	caagcgcaag	catatcagca	ggtctatctc	ttcaagtgtg	8940
gtgatgtcgc	cggggctttt	gataagagcg	atgatgcccg	gttgaaccgt	gcctttgtac	9000
acaatatcac	gatcggcgcc	tatcttaata	gccgggcaac	aggagcttta	tcgatcagcg	9060
cactcgcgta	ctgggtaccc	cagctcgtcc	tggcggcagc	attggccctg	gctgtactcg	9120
ggtcatggaa	tcccaagcaa	aaggcctcct	cgccttcggg	accagcgacc	agatcagcac	9180

[0025]

gttcacgaac agtagtgact caacccccag tgccaaaggc agtggcagcc cgacccattg	9240
tcggttcttg ccacagcaaa cgtccatctg atgtggagat acgcgccatg cctgagagtc	9300
agatcatcga actgggcacg ctgggccaga tcccccttta cagccttgaa cgcgcgctcc	9360
aggacctctt tcgggctgtc aaactgcgac ggcaaatcgt ctcccagcat caagccactg	9420
gcaacatcga cttcacaacg gacggctccg cgtccccgta cgaaggatac gactacaaag	9480
cagtctctcg agcctgctgc gagaacgtga tcgggtatat gcccatccct gtagggcgctg	9540
ccggtccgat caaaatcaac ggaaagatgg tgtttctccc catgtccacg acagagggcg	9600
cgtggtttgc gagcacgaat cgtggctgca tggcgatcaa cgcgggtgga ggcgtgactg	9660
ctctggtgct gggcgatggc atgaccgcag cgcctatcgt tcgatttccc agtctcgaag	9720
aagccggcgc cgcaaaacaa tggctgggct ctgatgcagg atttctcctc attgaggacg	9780
cgttcaatgc atccagccgc ttcgctcggc ttcaaaacat taaggccacg gccgttggct	9840
cggacctcta tatccggttc acggccagca cgggcgacgc aatgggcatg aacatgatct	9900
ccaaaggggt tgagcaagcg ctggaggcga tgcaaaagca cgggttcgag tctatggatg	9960
tcgtctcgct gtcggggaac ttctgtgcgg ataaaaaacc tgcggctgtg aactggattg	10020
aggggcgagg caagaccgtg accgcgcagg cgacaatacc tgaacatgcg gttcgagaaa	10080
cactcaagac cagtgtcgag gccctcgtgg agctcaacgt ctccaagaac ctggtgggca	10140
gtgctgttgc aggggctctg ggagggttca acgcccacgc cgccaatgtt gtcacggcga	10200
tttatcttgc cactggtcag gatcccgcac agaattgtca aagcagcaac actctgaccg	10260
tgatgaaaaa gtgagtacac tgcctctaaa gatattctga tagatgttgc ggcgctaact	10320
cccagacagt gtgaatggtg atttgcaaat ctctgttttc atgccttcca ttgaagtcgg	10380
caccgttggg ggagggacag tcctgggccc tcaaaaggca atgctgcaca tgatgggcgt	10440
ccaaggggcc gaccccgaa acgacaggtg aaacgcacag gagctggccc tgctggtggc	10500
ggctggcgtg ctggctggag agctcagctt ttgctctgct ctgtcagcgg gctcgttgg	10560
gaaaagccac ttgaccata atcggaagaa aggatgatga gcatgatgac tatttcagaa	10620
tatgactata gagtagatga atcaggagag ggtctagatt atatgaaagc gtaacatagc	10680
aatagtgtct gggatctagg actacttttt ttctaagtgt tgttctatat acctggctca	10740
tgcttctaca atacggttcc ttaggcactt gcagatgtct ctgagaagct aacaaccatc	10800
atattcaaca atatgectcc ttgaacata actttggtgc tcgaggtctc gggctgtcga	10860
aagctggcgg tatcataggc ccagggtctt gattcatcaa tgtaaaagg taggacacca	10920
tatagattag aagtgatcat gtagagttac tccattgtgc aggtaatca agcataaaac	10980
aatcatgtgc gagatcacat ccgactcgca atatctctaa agcgtaaatc tgcccgtaca	11040
catcagtcac gtcgcaaaac atctgcacct tctccagcat cctcatcttg gccctatcct	11100
gcgcgcgat ctctgtcaag acctccaagc cccgttctat gttggaccgc tcaaaactcag	11160
cgagagagaa cagctgcttc tgccgaaccg catctgattt tggcccggcc tgggcaaaact	11220
cgggaaagtt gacgcagttg agattcttct cgtcgcggtc acgggcaagc gatccgtaat	11280
cgttgtacat cgggcacatc acggcgagat ggcggcacat tgcttcagcc acatacttct	11340
cttcgcaggt ctgaaagcac gcggcggtgt gggacgcctg ctcgaaacccc agcaggcact	11400
ggtagaagge aaacgagtag gggcaggagg tgtggtcgga cgaggtggaa gacaccagc	11460
ggtagaagct ggagcgggcg gtctcgaagt cgtcgcgggt ggactccagt tgggcggcga	11520
agcggccgtt gtcgicggcc tgctctatgt gcgacagcag gaagacctga agctcgttct	11580
tgacgcgctc gtactcgagg ggcgcggcgg ccttcacgct gggatggctc atgacgtggt	11640
ggacgaagge gctaaggacg cggctcacgt cgttgggag ttgtgacccc atcttgatgc	11700
glttggttg cgttaggacg ctgtgaccgt ttgctctgct gtttcttga ccagactggg	11760
cctggattgc gtcattcagc tccggtttgt ccttgaggte gcggaagatc tcgtcgatgc	11820

[0026]

aggaccgggt catggatctc tggctgtgt tcagtctgcc gactaccgct tccataaatt	11880
catcggttgg tagttgagg aacgaaatca ccatcatctc gacaagggtt ttcgtggaga	11940
ggaagggtgt cctgcggtta ttgcacaggg tccagggtgaa cggaatgtac tcaaaatact	12000
tgtcttcttc catgcccgtg cgagagaaga cggcaagacg tcggctcgcg agctgtggca	12060
ggagcaggta tccttcgacg atggcagcgc ggaccttcca gagttccatg ctgaaaaaca	12120
ggggaagcat ggagtgggaag cgtgcgaact cgatgacacg ctctttgtg acgatgaaca	12180
gattcgccag acaggctgga taagaacgtt cgaaggacac cttcagcgcg gcgaggacat	12240
agctcttact gaggagaatt gagctgtatg tcaccttctc taccacaga tactccgctt	12300
tgtcgcttgc gctgttttgc aggaacttgc ggcttcgaga cacagccagc tgcacattcg	12360
tccacagctg attcaccacg ggcaactggc atgcgtgagc gatggtcaga atagcatatg	12420
ccgtctcttc gtgggagtgc gatccccagg atccgttctc gttctgagtc tgtagtgtgc	12480
gaaccaatgc ctgatacagg cagaccgata ctgcgtctct gataaactga ctggaaatcg	12540
acttgagtcc gccatctgac catacctgca gcagcttccc aaacgcctca gccatgagca	12600
tggatggata gtacggggag aggttctgag agagtcagcg ctctgtctatt tccatttctg	12660
ttgcgaaaag aagtgtatcc catttatccc caatctcact gtccggcgtc caccagacat	12720
cacacagaaa ggccgctgct ttttcgatct ggggcgacac agtggccgca tcgggcgtat	12780
tcaacagcgc aagcaatata ttgctgtttg cagtgaagct gggatctctc tcgccgtgat	12840
aggtgcggaa gtgcatcggg ccctcgaatg catctattag tccctgggcc gagactggtt	12900
tgtccaacaa ggagaccgca ataagcgatt tggcgggtatc gtccggcgtct gcctggatcg	12960
acggagctat acaacagaaat ggtagctac gtgagggaga gtgatagagc catgttgttg	13020
gatcgtacca aatcctacaa tacctctcc tttgaccaac gcctcgcgaa gcctctcgcc	13080
gaggctgtcg gtgtcttcga taccgagatc gcctgtagaa tatccattgt ccaagagcgt	13140
ggtaagggcc tgaagttcag tcagctttga ttctagtcca gcaagctgtc cccttaccga	13200
cgagacctcg aaatactttg aaggatacgc gtcggcatt cctccagtgc cccctccggc	13260
gccattctgt agcaccaacc gcaagtactg ttcgcactcg tcgtcccagg aggaggaaaa	13320
catgagaaag gcggccgtgg acgatggcga gaacatgaaa gagccattga cttctggtg	13380
cgccacttta tcaaagtcga tcatgccac aaacgcctca agcgagtga gcgcgggtgt	13440
tctggcggag tacaggtagt ccggcctgaa ctggagagc ttgatgcgat tcagccggtc	13500
gagctcggcg cgccgtcaa attcaaactc gtgccctttc tcgcgcagga gccgcagaag	13560
cgcgggcaaa atgatttcaa agccaacgtg aacagtgtct ttactactcc acgcttgacg	13620
ttgtcgtgag agggccgcgc gtgccgtccc gattcgctcc ttcatttctt ccacgggagg	13680
gtcgggtgtg gcaatccggc tttctgcatg ggtctcgagg gccagtaagg aggtcgcggt	13740
gttagaggata ccgtcgacgt cggaggcgta ggtctcccaa ctgccatcct ctagctgggt	13800
ccgcaggatg tattegaagc attttggcag gagccattga cgcccttctg gtgtcgtctt	13860
ctggaccatg gacaccagg ccgtgtcgta gactccgcg gacataaagc ccagctctcc	13920
atcttttgtc cggagctgtt ggaccagctg ggaggcttgc gtgcatagat ctgtcacgtc	13980
tgcgcaagtc atggttcgtc tgactgcgag gagaagctga gcatgtagac tgaacgatag	14040
agagggagtt ccaggatatt gatgtcagcc agagtcaacc tggacattgt tcaagaggca	14100
ctccagactg actattgcgg tcggtgacgg agtgaacggg cacggaggga tcatcttctg	14160
ccccggggga gcagtcctta aaatagcctg ggcaactggc tatgtctcta ggagcaatgc	14220
ctgcagcctc aagatttgtt tcgagtcagt gaagttgtc tatggattag acggactgac	14280
aggcctacca cccggcgaac tacatggggg ctgcatatat gctcaatccg gcggtaacag	14340
tcaccgagat aatcaattgc ttatggattg tctgcccag ggaactagag ctctctggag	14400
agcatggaat cgtctacggc aagcaataac atgagctgta atcattgtc aatccatgtt	14460

[0027]

cggatgacct agcttcacca tcttgtctac cttagacca tcaattgctt aaagctttcg	14520
agctagcagt cggaaggcca gatatgggcc gcaagatttc cctgggatat tccctgacgc	14580
acagagtgcg acacaatgag tcgtaggagc tgatatacac aaaattgatt gcattttctcg	14640
ctaatacagt ttctagagac cctgaacttc cttagagaaa tgtaccgtcc ctatagggtt	14700
tcgcgtataa tcccggcggg tcgggggact gatccttcgg tgctcggaatg atccatcgct	14760
ccgatgcatg agttcccaat gaagtacttg aatatttctt tgtcccgta tatagcatct	14820
gaacatttta attttctagt actctcaatg caccgccgaa tcccacgcgt caccagcta	14880
tgaccgcgga tacgcttgac gacgcaccgg ctcgtccgca tcagaatggc agtacagaag	14940
agaaactgaa ggagcgcgga agctttggaa agctctacac gtacaaggta agcaccgttt	15000
tcatgttata cctatgagtc ggaaagccca gcataatggc gcagggctaa ctggcaacag	15060
cggagccccc gagccctagg catccaagct gtcgcaaaat ccatcggtt ggagctggag	15120
caagtcgagc tgcagccggc caacggcgtc ccagacttct actggaacct gaaccgcgtg	15180
ggcaagaccc cgacgtttgt cggcgcagac ggccctggta tgacggagtg tatggcgatt	15240
gccccgcagc gtgcgttccc ccttcgactt acgatgatac gcttgctttt gtgtgaata	15300
acactcaca gagcagtgc caacgaagac tcgacgacca cgctcctggg cagcagctcg	15360
ctcgacttcg tccagatcat ccgttgatc tcgttcacca acacggatgt cgtcaccgc	15420
atggcgctct gggtccggcc gttgatcgcc tacacgccgt acagcaagga ggaggtgctc	15480
aaggcgcagc agcagacgac gcaggccatc ggctcttcg aggacagctt gcgcaccgc	15540
aagtatctcg tgggcgaccg cctgacgctg gctgatatac tgtgtgtcag cttggtgtcg	15600
tttgggttcg cgcagatccl cgataaggag tggagggagg cctttccata cttttcgggc	15660
tggtacatga tggttatgca ttaccatc atgaaggcag tggtaggagga ggtgccgttt	15720
gtcagaggag gcttgccgaa tgcaccgccc acggagccgt tcaggcgccc ttagaacagt	15780
aatactgcga tctatatatg ggtagaataa ttgtggaaga tctggattaa tcagataggc	15840
ggatctgttc cgcagtatac agtatctagt cgagcaacta cttggtctct gggatgtata	15900
gaagatcagg tcaaatcttc gttgcttgc ctataaagta ctagtacatt ccaccaccc	15960
atacaaagcg acgaaaacaa caattgctta ttattcatc tatcgatgaa ctgcctggtc	16020
cataaggctc tcagtatgat cccaaaccaa ctgaggtatc ttctgctccc gatactgcgc	16080
cagaatcttg gtgctcgcc taacatcccc ctccaattc aacaggtagg cgccactccc	16140
cggttcccca gtaatgcctt tagcgacctc gccagcctcc agcggaaacac cctggggcac	16200
aatgccctgc tttgctgggt agtgtgccga gctcagatgg aaaagatgtc gctcgccact	16260
ctcgccgaga tccacggaaa acggcttcac gaacggccac acgaggtaat tgtagaaggt	16320
cgaaaccgga gctgggaagc tgttggtgta gatgttggtg ccaacgagac ccgggtagac	16380
gtgaatgaaa ctgacggccg ggtgggtgcg ggcgaggtgc tccatgctca gggaggtcat	16440
ggatgatggag tgctttagg cgttgagcag ggagaagttg tgcttgaggt cgaggtcggc	16500
cgtgtttatg gactactcga agccgccgcc gtagacgcta atcacgcggc ttgggtcga	16560
cgctccagc agcgggagga ggttctgaat aaagcgcac cgggagtagt agcggagagc	16620
gaagaggtag tcgatgcctt cgacggtttc tgtatctttt tgttagcgca aggtactccg	16680
tggacgggtc tccgtctgca taccgtttcg gcccctaga gaaatccgc ccggggcat	16740
gaagagaaag ttcagcttct tctgctgctg gagaatctgc tggcacgcgg cgtccacatt	16800
ccgtacgagc gacacatccg cctcgatgaa gtggaagcgg cccttggggg tcaattgctg	16860
cagttccgac aagaacggcc ggggtgcgac ctcgttcgca ccgatgatat aggcgcgcg	16920
gctgtcggcg taacgggcca gctggcgcag ggtgctctgg ccgatgccac tgggtgccgc	16980
aacaaacaag gccgtaattg tggggagcgc ccgaaggcgc gcgttagatg cttgcaccgt	17040
cttcagagag accattctcg ttctcaatgg aaggaatcaa aaacgaatgg aaggactgcg	17100

[0028]

ctggccgtgt	tatttacatc	gaccactgaa	agccacctcg	gtgatccac	gccgaaggat	17160
cagccagagt	gggcccacgc	gatccctccc	gtccgacggc	gcagatcaga	tcgtcacaat	17220
ccacattcca	cagcggccat	tcgttcgcat	ttatcagatc	accatgctgg	acaagatggc	17280
tgcgaccagc	agaacagtcg	gtacctgtct	acactgtctg	aaccatgggt	gatgcaacgt	17340
ctccccccgg	cgtcaacgca	gtgggtgaatt	actacgtgcc	caacagcgat	gggtctccgc	17400
ctgccacca	cgacatggcc	gtcatgctgg	gccaaaagga	catgatttcc	cacaaaatgc	17460
gaatccgcga	tctgcgccct	tacaaggagg	agtattcgtc	ggatcgcaac	ggcttcagat	17520
acgcgacgat	ccactccacg	cttacggatg	ccaccgacga	gaccagatc	aaagaggctc	17580
actaccgaga	gattgagaaa	ctgggtccaag	atatgtgcgt	gtgctcgttc	gcctccatga	17640
cgcgctagtc	taatctgcat	gaatactgca	gcaccggggc	caagcgggtg	cttgcccttc	17700
accatgcagt	gcgcacccgc	accggcaacg	agttcggcga	gcagatcaaa	gaccgctacc	17760
agggcgctga	ggggcccgcg	tatcgcgtac	acattgacca	gacccccag	ggcgcgctca	17820
gcacgtgca	gtttatgttt	cccgatctcg	cggacgatgt	ccgcaacggc	agtttcagg	17880
tgatcaacgt	ttggcgcccg	ttgacgcggg	tgcagcgtga	ccccctgatg	gtggctgatg	17940
cggccgagat	gccgccccgag	gacctgcttc	taatcagccg	gaagtattac	aacgggctgc	18000
attcgtccaa	cttltgcatt	aagtatgatg	gtcgaatggc	ggctggggag	ggcccgacgg	18060
atgggctgag	cggatgatga	aagcatagct	ggttggtatat	cggggaccag	gagcccaccg	18120
aagcgtlgtt	tttctctca	tctggcttcc	gcaatggaaa	ggcgatcatc	ggcacggcac	18180
atggtgcgtt	ctgtttgcct	gatcaagatc	agtaccacgc	tcgtcagagc	attgagtgtc	18240
ggtgtgttgc	tatctattga	taaatcatgt	ctagaccttt	actcggcaga	accaatgata	18300
aatgcatatg	aacgcaagaa	tgctagctca	ttatatggcc	atgatgagtc	ccagatatag	18360
aacttgttca	tctattgacg	ctctgacgtc	aacggagtga	cgcaagaggg	gacagctcgt	18420
gcacgaccaa	tgctagctga	tgctctagac	gatttgtttc	tctattcggg	tattgatcta	18480
tgcaatttcc	cgttaccatt	caccgacgac	atcgccgggc	cgcctcgtgc	gcattccgcg	18540
cggagctgcg	taagaaaacc	gcacacacga	aggaacaccg	cagcttcgcc	gattcccccc	18600
ttcgctcccg	ctgggtgtgc	gtcaggttac	ttcgattgga	aaataatcgg	ccattgcaac	18660
aggattccca	gcaccggaat	gtttcagact	tttcggatgc	tgtttctcga	gaggggagac	18720
cattgcctgg	ttgttctgg	tggtcgggtg	gttggaatt	ttggctggaa	tggttggaag	18780
agtggaaatc	gcgcatgct	aaaagcgctt	gaactgggta	tatgggaata	ctcacctggc	18840
cgactgtagt	tctcgcaatt	cttgtcgaag	ccgctggagc	tctaagatga	gttctgtttt	18900
cggatctgtt	gtgctcgatg	ccgcgctctg	atcggggctg	atcgctctcc	tccaaggcc	18960
tgttcctgta	gatatactga	cggatattctc	gtcttggaag	agaccccaag	cttcgctatg	19020
tactggatta	gtccttgagt	ctggattcca	tcatgatgat	cgtaccgata	tgtggccatt	19080
gtggtgggtc	gtcaatgtaa	tctaacagga	gaagaataga	cgaagggaag	aggcggacag	19140
tgtacggtag	agaggctgat	gtcggcgggg	ccacctatcc	caggcgactc	ccgtggggcg	19200
gtggagttat	tactagcgtc	gataaggata	gagacgaagt	cctcgtaatt	attggatggc	19260
cgacatggcc	gccttgcccg	cctatatagc	ttactaaata	ctgactaagc	tattcagacc	19320
ccaagggcag	gcggtcaaga	aagcaatatg	ccccgcctgt	cgagtctggt	catgtgacta	19380
acattgcaac	gaatgactgt	attgagagtc	ttgatctcct	aactacgac	tatataaaca	19440
atatatagct	tttcgatagc	ttcaaaaaaa	atcctcatta	tctgtaggta	gctcagtttc	19500
tatggatagc	tgtggattgt	ctaagcgggtg	tgatcgtccc	tttgcaaaaa	aaaacagagt	19560
tatataataa	tgggttaata	gttacaggac	agaaggctct	gcacttttat	tggtaagtcg	19620
agcgtttgcc	ggttgacatc	tcgttttctt	ttggtctagt	cagtgcact	actatgaatg	19680
gttactgcct	gtggattgag	gattatcttg	aaggattcaa	gggatgatcc	cttgccgacc	19740

[0029]

cgccgacacc	atccgctcgga	gggagtcgta	ggattgatta	caggtaggag	tgtatagtag	19800
gaattcttgt	atagggtcgt	cgagtttggg	catatttagc	ccagtattcc	cgtcaacatg	19860
tcgactaaac	tatgtgcatt	gttgatacag	ctaaaacaaa	cttgagaaaa	cgctaagtcc	19920
tgcagataatg	gacaactata	cctggcactc	tgggaccctc	atcccttccg	attcaccatc	19980
atccattgat	cgctcgcagc	tctatctgga	gatcctcggc	gttcttagcg	tggctctacct	20040
gctccaaacc	ctggctcgcat	attccaaatc	cttcaaggcc	cctttcgtgg	gcttccgatt	20100
ctggatatgag	ccgaaatggt	tggtaggact	acgtttctcc	cagggcgctc	tggcgcaggt	20160
caatgaagga	tacgccaagg	tacgcaatgc	taccgttccc	ccaggactct	gtctaattcg	20220
cttgacagta	caagaacgcc	atgttcaagg	tcgcccgcga	cgactcagac	atcctgggta	20280
tcccaacaa	gtatgtcgag	gaactgcgat	ccctgcctga	cgagaagatc	agcgccatcc	20340
gcgcgcatat	caagaatctc	ctgggaaagt	actcgaccac	gctgatcctc	ctggagagcg	20400
acctgcatac	gcgcgatgclg	cagaccaagc	tgacccttaa	tctcggtccc	ttcatcgagg	20460
tcacgcagtc	ggagctcctc	ttcgccatgg	accaggagat	ccccgcgaac	ctagacgact	20520
ggcagagcgt	caatgtgttc	cacatcggtc	ttcgcatcgt	ggcgcgcac	tccgcacgcg	20580
tgttcttggg	cgccccgcc	tgccgcaatg	aggaatggct	ccagacctct	attcactaca	20640
ccgagaacgl	ctttgcgacc	gtcatgctgt	tgccggcgtt	ccccaaagtg	atgcacccga	20700
ttgtgggaca	cctcctcccc	agctactggg	caatccacag	gaacctgcgg	accgcgaagc	20760
gcacatcatg	tcccatggtg	cgccagcgcc	gcgcagaaga	ggccaagcgg	aaccgggact	20820
atgtaaagcc	caacgatctc	ctccagtggg	tgatggacgg	cgcaaacgag	aacgacgggc	20880
agcccgacaa	gctggcgcac	cgccagctcc	tcctaagcct	ggcttccatc	cacacaacaa	20940
ccatggcggc	ggcgcactgc	ttctacgac	tctgccaaca	tcccagtagc	tttgagccgt	21000
tgcgcgagga	gatcaacgac	gtaattgccc	aggatggcgg	ctggaaaaag	accactctca	21060
acaagatgcg	caagctggac	agctttctta	aagaaagcca	acgcatcaac	ccgcccagtc	21120
tctgttaggt	ctccttgtca	tatccgataa	acaattccgc	taacgcttcc	tccagtggca	21180
ttcaaccgca	ttgtctcgga	agacctgacg	ctctcgacg	gcacctcct	gccccaaagga	21240
acgcatttca	gcatgccctc	cgccggccatc	ctccaggaca	acggcgtgga	acccgggtgcc	21300
gaccaattcg	atgggttccg	atactacaag	aagcgctcca	accccgagga	agccaacaag	21360
caccagtctg	ccatgaccga	caacaacaac	ctccattttg	gccacggcaa	gtactcatgt	21420
cccggccgct	tcttcgcctc	caacgagatc	aagatcatca	tggcgcacct	gttgaccgac	21480
tacgaattca	aataaccccc	gggcgcgaca	aggccgcgga	atctgacggc	cgatgagaac	21540
ctgtatccag	atccgctcgcc	acgtctgctc	atgagacgac	gggtggtggc	tccgccgcag	21600
gcgtcgatca	cgccgcagct	tgtctcagcc	tagaccggtg	gagagggatg	cctcgcctgt	21660
ggagtagccc	aaggctcaatt	gcggatatgt	gattcgtgct	caccagataa	tgcgcagtga	21720
acgattttac	tttcctttgt	ggtgtctaat	caatattaca	catagaatta	agcctaccag	21780
cgcccaagct	gcattctctc	tactagggaa	tctagaccac	tgtaatcacg	gattccttcc	21840
gagtaggata	gctcgtctag	agcctacttt	tccctgatcc	gctggctcgt	ctgggggggg	21900
ctttggcact	aaaactagct	taatatagaa	atccaggagg	cagcacgggg	ctggcggcgg	21960
cccaaagtac	caacgccact	caggaacat	gtcgcaggac	gggctctgct	ccgtgcagta	22020
ttcgtctccc	ctatcatggc	tccataagag	tcatcctctg	gcagtgttac	atcgtcccct	22080
tcgttgaacg	ggagatatga	caggccccaa	cgcttgccct	cgccggcgagt	gaagtgttta	22140
acagagctaa	gcgtactcga	gcgtgagala	tttgccaagt	caacacccaa	gacgcgattc	22200
tactcgtctg	ctcgtaacgc	cgcacgaata	cagtcagcac	tatctgcgca	ccttgagaga	22260
ccatgttcag	ccgclaccag	cttagtcttg	gcggatgggg	ctgaacccta	ggcacccaat	22320
cttcaacgct	ctttgtactc	agtatcgaca	caacttgccg	tgctattcgc	ttttgacgcc	22380

[0030]

agagacgacc	agcgctagga	ttcttgctgg	ggctgctcaa	ggccgttgat	tctcgtgagc	22440
gcaatgcggg	gtgcctatgc	tgacgtagcc	cctccttcag	ccagctttct	atcgcccttc	22500
tctcccttct	gatecctgac	tcctacctga	ccaatataca	acatgtaccc	gtggagttcg	22560
acaggaacgt	caccgttttc	gcatcccgac	aatgaaggcg	cggaatcggg	ggatatgagc	22620
atgggggaag	agcagcagca	accccaccag	aggcgccaga	aattgtgagt	aaaatgtgtc	22680
gcaaccgatg	agacccccga	cttcgagagg	aatgtattta	gagatcacca	accgacgttt	22740
tcgacctaac	agcaacaacc	tgcgcgcatg	ccagtcctgc	cgcgcttcga	aagtacgatg	22800
cgaccagcct	aacccgggca	tgccctgtct	tcggtgccag	aaatcaggca	agccgtgcgt	22860
ggatgccgcc	agtcaaccgg	ggaagcgaca	gcgccaacct	atcaacagta	tcctggagat	22920
ggagtcgcca	atcgaaacga	tattgtcgtc	cgcagaattg	caggacagcg	ctggggacgg	22980
ggagactgcc	cattccaccg	cactccgttc	gccttcccag	ttgtcgcacc	acatccaacc	23040
gtttcagcac	ctcccatgg	gattcgcgat	accgttcaat	ggtgagtctg	cgtagatcca	23100
gtcttggaatc	gtggcgagtt	actttcatcg	ctaacatggc	caccttccgt	ctgcctagga	23160
ggaaatlccg	ggacggaaga	tctgaactcg	agcatccgat	catggctgaa	tgacaacatc	23220
accgacctgg	atgctcgtac	cacagagaca	atcttcagtc	attatttgac	caacatggtg	23280
cccacctttc	cggtcgltcgt	ctttgcgaca	ggcaccacgg	cggccgacgt	ccgacggaac	23340
aaccctattc	tttttctagc	tattctcgac	gtggcctcgt	cgggattctg	tgcgcttgag	23400
acgcagcgga	aactgcgaaa	gctgattgtt	caagcgtacg	tgcattgcat	gctgcgaacc	23460
gaacagtata	ctctcggatt	gctccaggcc	ctgattgtat	ccgccacatg	gtatcgcacg	23520
attgagcctg	lcgagccggg	ggagcagatg	gatatctacc	agatcagcca	cacagcagcc	23580
aatatggcct	tgatcatgag	gctaggggag	agtttgaaatg	ccaaatcttg	gggggggtccc	23640
atgtttccctc	ggcgggagat	gaaaaaggg	cctggaagcg	cctttcaggc	ggactcgtctg	23700
gaagctcggc	gcgtgtggct	tgggtgtcat	tatatattgct	cgaagtgaga	aagacatacc	23760
caagagcgcg	gcagcgttaa	cctagtctat	gcagtacctc	catgtccctc	cgcgccccaa	23820
acatcatgag	atggacccgt	ctgatggacg	aatgtctgga	ggtattggaa	aattccccgg	23880
cggcccttct	atcgacaggg	cttctgtgtc	agcatatccg	gctgcagcat	atcactgaag	23940
aattcgcgat	gcatttgtcc	gcagaagagg	cttcagctcc	cgcgaaatcc	cgagcgattc	24000
agatccaggt	aaccatcgt	gctttcaaac	gacagctcag	cgaatggcgt	aggactgttg	24060
gtgatgggtg	ggatggtaac	tcctccctgc	ttgtccttga	tcgcctgccc	agccactgat	24120
gcggattgtc	tagagtcctt	cgagttttcg	tattatttct	catgcctgta	cataaacgaa	24180
gtagccact	gcacagcgac	gagtgatgat	gttcccgaag	ataacgcca	gcgcttgacg	24240
ccaccaccac	cgattgtggc	aatcgagccg	catgcgatta	ccgagtttat	ggatacgata	24300
gataatattt	ttcgggtgtt	cacctactg	gatatgtcga	ccattcgagc	cctaccgcg	24360
atgtacctga	ttcgataat	ctacacattc	atcatcctgg	tcaaaactata	ctttgcggca	24420
gccaaactac	cagcgcagga	cgccgtgttg	caagtcgacg	gactgcaggt	ctctaggcgc	24480
ttcaatcgcg	tgatccagat	gaccgcagga	tggggcccgt	tgtggcctgc	tacgaaacta	24540
accaccgtgt	tcaccaagat	gcggtcgtgg	tttgaaagcg	gaggggataa	caattgccag	24600
aggctgcagc	aggccgcggc	gtggctcacg	ggatgggagc	ttaagcccc	gtcccagggc	24660
cgagacgctc	acgcatgaa	catggccgaa	gttgtctcgg	atgatggatc	aattgtcgt	24720
tccagctcac	gaggtccggc	atcctgggtt	ccgtcgtcgg	cgtccacgga	cgtggatact	24780
cttgcccttct	cgcacgaacc	ccccctcggc	actgagtttt	cgatagcccc	tccacctttc	24840
cggtcfaatgt	cttgtgtctac	aaaatcatgt	tctcctcagg	cgggagctgc	tgagtttatg	24900
cacgacgagg	aggttccgct	tgaaggccaa	cgtctggggg	acctcccga	tatagaccag	24960
atggacgacg	tgggcatgga	ttggagccag	tataccaaca	tgggctttga	cttgtacaat	25020

[0031]

ctagacgcgc cttttttgcc aaacctctct tctggctttg atccagacgc agcaatgaag	25080
gataattgcg cagatagaaa cacatgatca tcccttggga ggttttctgg ttigcaacta	25140
gcgttctgag ctttgtgtgt ctttgattag atcgagcagt tcatggatat tattcacaca	25200
tgggcgagtc atatatggcc gcatccaatc atcttcaatc aatgatcaac cgctgaagat	25260
tactgtccta tgctctagtc tctatcctga accatcttga gaaatatctt catgttttca	25320
ctttctagat gctcttccaa gctctcctag gaagtttgtg gcgctcatac tgctgctttc	25380
catcgccgtt cgtggagtta gctggtgact gggaattttc agtagtcggg ataagtcgga	25440
ggagtcccaa tcgttcaggc cgtggggagt ttgctgattg gttttcgata ttccatccta	25500
tattagaagc tgtgcagagt cgtataacct atatccatat atatatcttg ggcctatagg	25560
atttcataa tgtagctagg tatagaaaca ccattgttac tagaagtcag aggggacctc	25620
tgttgcattt cctccacgat tctgatggaa aagatccaac aagcttgttg atagaacaat	25680
tattttcccg tttcccatct tgagtttita acagcatcaa attttagctt tcacaccact	25740
ttttgcattt aagaacatct ccagccaagt taagatcaga gcaaaataga ggatgctagg	25800
ccacttgcaa ccaagatttt tcaacagact acgaaaagaa ggcttttact gatggcctac	25860
cggccgctga gcacactaca tgagcagaat tccaactggc gatggcagaa gcatctgact	25920
aggcagaaat tagctcgggt aaagagggtc cgatgcttag agcgagagca agtgtatatg	25980
gcagtgtctc tttccatctg gcattacgac gttgactcga gtggtttgct ctctcgtctc	26040
aaagtgctg atccctaattg cagctgacac ctctgacatt gcaagataat acatctcata	26100
ctatgtgcat ttcggctaag gccgtttcat gtagagccat gtatgggatg catcaacaac	26160
cgaggactgt gaaagaggca acgtatggga ctacggacag gtattctaag acagggagga	26220
tttttgccag tagtctgaac ggacagtgc accgggactg ggatcgggtg tctaaacagt	26280
gccttacitt cgttgctggg agagatgcc tataacgcct ctctcgtccc cataccaatt	26340
acgtgtcagt gctccttgtc ctagtacaga aacagtctca aaataaacag atttggttag	26400
tgcatattat atacattgcc ccccgaatt acgcaaagtg aagagttttg gcaaaactct	26460
cgatggtaat aaggcgtcct gtgacctgct ggatcgacca ctcaaccacc ttttctgttt	26520
ccacaccata gtacccatag tcttgaataa acagaaacat attcacaatg ctgtccgcac	26580
catcaggagg acagaaggat cggaacttgg actccggcat caccacatac ttaactgtcc	26640
tgccagacac cttgtctgaga atctgcgcca cctctacaag cgaatgaatg caagacgagg	26700
ccccaagcac cttaaccgtc tactttctctg gctgctcgag aatggcacca acaaa	26755

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 26755

序列名称 : Seq_43

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MNRTVGDDWD YTIEVCIGRP NLLEEIREEL RRREAIEKKT YSGNHRPLMA ESPEKIGENR	60
KLHVRVIRSP TVLSHLERLT RKLGNLSILN EEDNLVFMYP FYILGVYLD MREILADMER	120
GVLASGSIPP SEPEPKGLSP SVSPSPIDQM KCFVQFVESS ILPIHTALRQ LDAQTSRRLS	180
YAEISLLLEP GELIYVAPSL MTKMLDRSA VQTVFRCLTR IPADHPISID DSGWLSDDIG	240
RLADVYCLD HDGEETVCW RKLEMEYFDG EKDITALPFY PLKFHPNYER FLSNRARQGT	300

[0032]

AFRALVEDEN LHYYAGWTL ITGLFERTES DGKSTESKPE DSEYVDSEVF LDTQEARRHM	360
DDWSSLREPF TTKGSLAIND GAKFCLWHMT EKKTVAEKLN RILTREDLVY WRARERYLLD	420
NKWVIDDRVF IKEEWTDDEL ALLPKRVYGY SLRDRKFLRL DVDKFRPHTL KTKANLDKIE	480
IKDSHRMIIR AAVKSHFDRA AQVLNRDEAT HVPDIFEGKG RGLVILLHGA PGVGKTATAE	540
AVALEFDKPL FQITCGDLGT GPAEVETSLK AIFRYANMWS CILLLEADV FLTQRNRTDV	600
ERNALVSVFL RVLEYYSGLV FLTTNRVGAL DEAFRSRVHL SLFYPHLNRT DMAKILESNL	660
QRLPRDDKLS PGATAGPNHV TVMDSEIREF VLQQFDEHYK LHERGPWNGR QIRNAVHIAM	720
CLAFFENGRK GRRAPAILTA EHFRKVHETI AEFEDYLRAA RTVDDETLAQ MEGLRYDKEG	780
QAYKRQLVGS TKFHRWSENE RQVTHQRQSV REQGQSYRET TSYTPSRRSF LGGDIDSPPE	840
SRFSGSGAAA RPTSQRYPFR EIDDSHLAHE RYNMSDSGYG ETGLRGTPRN YNLSPDRPRT	900
PNRDYLDVGS PESVRSRSSV RGRD	924

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 924

序列名称 : Seq_44

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MSPPLDSALE PLSEYKETAF PRTEKDPSQY KEHDLVTPEK EIQTGYFSR GSHSSHGSHD	60
SSASSNISLD DARMSDVNNS PNVFHDDPDT IDEKLSMYWK AANETVIREP YDYIAGIPGK	120
EIRRKILLEAF NHWYKVDEQS CQAIATTVGM AHNASLLIDD IQDSSKLRRG VPCAHEVFGI	180
AQTINSANYV YFLAQNLFR LRSWPQAISV FNEEMVNLHR GQGMELFWRD NLLPPSMDDY	240
LQMIANKTGG LFRMIVRLLQ TSSRQVIDVE QLVVDVGLYF QILDDYKNIR EEKMAAQKGF	300
FEDLTEGKFS FPICHAIGEG AKNRTALLHM LRLKTDDMKI KQEAVCILDN AGSLDYTREV	360
LYGLDRKARS LLREFKTPNP FMEALLDAML SSLQACH	397

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 397

序列名称 : Seq_45

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MPESQIIELG TLGQIPLYSL ERALQDPLRA VKLRRQIVSQ HQATGNIDFT TDGSALPYEG	60
YDYKAVLGAC CENVIGYMPI PVGVAGPIKI NGKMVFLPMS TTEGALVAST NRGCMANAG	120
GGVTALVLGD GMTRAPIVRF PSLEEAGAAK QWLGSDAGFL IIEDAFNASS RFARLQNIKA	180
TAVGSDLYIR FFASTGDAMG MNMISKGVEQ ALEAMQKHGF ESMDVVSLSG NFCADKKPAA	240
VNWIEGRGKT VTAQATIPEH AVRETLKTSV EALVELNVSK NLVGSVAVAGA LGGFNAHAAN	300
VVTAIYLATG QDPAQNVQSS NTLTMKNVN GDLQISVFMP SIEVGTVGGG TVLGPQKAML	360
HMMGVQGADP EQPGRNAQEL ALLVAAGVLA GELSLSALS AGSLVKSHLT HNRKKG	416

[0033]

<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 416
序列名称 : Seq_46
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MTCADVTDLCTQASQLVQQLRTKDGEIGFM	60
YILRTQLEDGSWETYASDVGILNTAASLL	120
LSRQLQAWSVKDTVHVGFELPALLRLLR	180
YSARTTALHSLEAFVGMIDFKVAHQKVNG	240
LQNGAGGGTGGMPSAYPSKYFEVSWVRGQL	300
TDSLGEMLRDALVKGGGIVGFAPSIQADAD	360
FRTYHGERDPSFTANSNVLLALLNTPDAAT	420
PYYPSMLMAEAFGKLLQVWS DGGLKSTSSQ	480
SHEETAYAILTIAHACQLPVVNQLWTVNQL	540
LLSKSYVLAA LKVSFERSYPAALANLFIVS	600
EGYLLLPQLRDRRLAVFSRTGMEEDKYFEY	660
NYQADEFMEA VVGRNLSSQR SMTRSCIDEI	720
LPQAKRIKMGSQLPSDVSRVLSAFVHHVMD	780
DDNGRFAAQLESTRDDFETARSSFYRWVSS	840
FQTCEEKYVAEAMCRHLAVMCRMYNDYGSL	900
QLFSLAEFERSNMKRGLEVLTEMAAQDRAK	960
DLAHDCEFMLELPAQWSNST	979

<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 979
序列名称 : Seq_47
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MNTLNAPRNPTRHPAMTADTLVDAPALPHQ	60
AVAKSIGLELEQVELQPANGVPDFYWNLNP	120
TTTTLGSSSLDFVQIIRWISFTNTDVVTRM	180
VFEDSLRDRKYLVDGRLTLADIMCVSLVSF	240
KAVVEEVPFVEEGLPNAPPT EPPRAP	266

<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 266
序列名称 : Seq_48
序列描述 :

[0034]

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MVSLKTVQAS NAGLRALPNI TALFVGGTSG IGQSTLRQLA RYADSPTAYI IGRNEARTRP	60
FLSELQQLNP KGRFHFIEAD VSLVRNVDA CQQLQQQKK LNFLFMTPGG ISLGGRNETV	120
EGIDYLFALR YYSRMRFIQN LLPLLEASSP SRVISVYGGG FEYSINTADL DLKHNFSLLN	180
AYKHSITMTS LSMEHLARTH PAVSFIHVYP GLVGTNIYTN SFPAPVSTFY NYLVWPFMKP	240
FSVDLGESGE RHLFHLSSAH YPAKQGIVPQ GVPLEAGEVA KGITGEPGSG AYLLNWKGDV	300
RPSTKILAQY REQKIPQLVW DHTESLMDQA VHR	333

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 333

序列名称 : Seq_49

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MVDATSPPGV NAVVNYVPN SDGSPPATND MAVMLGQKDM ISHKMRIRDL RPYKEEYSLD	60
RNGFYQYATIH STLTATDET QIKEVYYREI EKLVDITGA KRVLAFHHAV RTRTGNEFGE	120
QIKDRYQGV GPAYRVHIDQ TPQGALSIVQ FMFPDLADDV RNSGFQVINV WRPLTRVQRD	180
PLMVADAAEM PPEDLLLISR KYNGLHSSN FVIKYDGRMA AGEPTDGLS GDGKHSWWYI	240
GDQEPTEALV FSSSGFRNGK AIIGTAHDLY SAEPMINAYE RKNASSLYGH DESQI	295

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 295

序列名称 : Seq_50

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MDNYTWHSGT LIPSDSPSSI DRSQLYLEIL GVLSVVYLLQ TLVAYSJSFK APFVGFRFWY	60
EPKWLVLGRF SQGALAQVNE GYAKYKNAMF KVARNDSDIL VIPNKYVEEL RSLPDEKISA	120
IRAHIKNLLG KYSTTLILLE SDLHTRMLQT KLTPNLGSFI EVIESELLFA MDQEIPANLD	180
DWQSVNVFHI VLRIVARISA RVFLGVPACR NEEWLQTSIH YTENVFATVM LLRRFPKWMH	240
PIVGHLLPSY WAIHRNLRTA KRIISPMVRQ RRAEEAKRNP DYVKPNDLLQ WMMDGANEND	300
GQPDKLAHRQ LLLSLASIHT TTMAAAHCYF DLCQHPEYFE PLREEINDVI AQDGGWKKTT	360
LNKMRKLDSE LKESQRINPP SLLAFNRIVS EDLTLSDGTL LPKGTHFSMP SAAILQDNGV	420
EPGADQFDGF RYYKKRLNPE EANKHQFAMT DNNNLHFGHG KYSCPGRFFA SNEIKIIMAH	480
LLTDYEFKYP RGATRPRNLT ADENLYPDPS ARLLMRRRVV APPQASITPQ LVSA	534

[0035]

<212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 534
 序列名称 : Seq_51
 序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 前序列行 :

MYPWSSTGTS PFSHPDNEGA ESGDMSMGEE QQQPHQRRQK FNNLRACQSC RASKVRCDQP	60
NPGMPCLRCQ KSGKPCVDAA SQPGKRQRQP INSILEMESR IETILSSAEL QDSAGDGETA	120
HSTALRSPSQ LSHHIQPFQH LPMGFAIPFN GGNSGTEDLN SSIRSWLNDN ITDL DARTTE	180
TIFSHYLTNM VPTFPVVVFA TGTTAADVRR NNPILFLAIL DVASSGFCAL ETQRKLRKLI	240
VQAYVHCLMR TEQYTLGLLQ ALIVSATWYR TIEPVEPGEQ MDIYQISHTA ANMALIMRLG	300
ESLNAKSWG GPMFPRREMKK GPGSAFQADS LEARRVWLGC HYICSNTSMS LRAPNIMRWT	360
RLMDECLEVL ENSPAALLSD RLLCQHRLQ HITEEFAMHL SAEASAPAK SRAIQIVTH	420
RAFKRQLSEW RRTVGDGWD HCTATSDDVP EDNAQRLTPP PPIVAIEPHA ITEFMDTIDN	480
IFRVFTSLDM STIRALPAMY LIRIYTFII LVKLYFAAAK LPAQDAVLQV DGLQVSRRFN	540
RVIQMTAGWG PLWPATKLT VFTKMRSWFE SGGDNQCRL QQAAAWLTGW ELKPPSQGRD	600
AHAMNMAEVV SDDGSIVASS SRGPASWVPS LASTDVDTLA FSHEPPLGTE FSIAPPPFRS	660
MSCATKSCSP QAGAAEFMHD EEVPLEGQRL GDLPNIDQMD DVGMDWSQYT NMGFDLYNLD	720
APFLPNPPSG FDPDAAMKDN CADRNT	746

<212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 746
 序列名称 : Seq_52
 序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 温州蜜柑

<400> 前序列行 :

MRRSADYGPT IWSFDYIQL DSKYKGESYA RQLEKLKEQV SAMLQQDNKV VDLDPLHQLE	60
LIDNLHRLGV SYHFEDEIKR TLDRIHNKNT NENLYATALK FRILRQYGYN TPVKETFSHF	120
MDEKGSFKSS SHSDDCKGML ALYEAAYLLV EEESIFRDA IRFTTAYLKE WVKHDIDKN	180
DDEYLCTLVK HALELPLHWR MRRLEARWFI DYESGPD MN PILLELAKLD YNIVQAIHQE	240
DLKYVSRWWM KTGLGEKLN ARDRVVENFF WTVGDIFEPQ FGYCRRMSAM VNCLLTSIDD	300
VYDVYGTLD LELFTDAVER WDATATEQLP YYMKLCFHAL YNSVNEMGFI ALRDQEVGMI	360
IPYLKAWAD QCKSYLVEAK WYNSGYIPTL QEYMENAWIS VTAPVMLLHA YAFTANPITK	420
EALFLQDSP DIIRISSMIV RLEDDLGTSS DELKRGDVPK SIQCYMHETG VSEDEAREHI	480
RDLIAETWMK MNSARFGNPP YLPDVFIGIA MNLVRMSQCM YLYGDGHGVQ ENTKDRVLSL	540
FIDPIP	546

<212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 546

[0036]

序列名称 : Seq_53

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 温州蜜柑

<400> 前序列行 :

```
atgagaagaa gtgctgacta tggctcctact atatggtcctt tcgattacat ccaaagttta      60
gactctaagt acaagggtga aagttacgcc agacaattgg aaaaattgaa ggaacaagtt      120
cttgctatgt tgcaacaaga taataagggt gttgatttgg acccattgca tcaattggaa      180
ttgatcgata acttacatag attgggtgtc tcataccact tcgaagatga aattaagaga      240
acattggaca gaatacacaa taagaacaca aacgaaaact tatacgcaac cgccttgaag      300
tttagaattt taagacaata cggttacaac actccagtta aggaaacatt ttctcatttc      360
atggatgaaa aaggttcatt caagtcttca tcccactccg atgactgtaa gggcatgttg      420
gctttatatg aagccgctta cttgttggtt gaagaagaaa gttctatctt tagagatgct      480
atcagattca ccactgcata ttigaaagaa tgggtagtta agcatgatat agacaagaac      540
gatgacgaat acttatgcac tttggtcaaa catgctttgg aattaccatt gcactggaga      600
atgagaagat tggaagcaag atggtttatc gatgtatatg aatctggtcc agacatgaac      660
cctatcttgt tggaattggc taagttggat tataacatcg tacaagcaat tcaccaagaa      720
gatttgaaat acgtttctag atggtggatg aagaccggtt taggtgaaaa attgaatttc      780
gccagagata gtagctgtaga aaactttttc tggacagtag gtgacatctt tgaacctcaa      840
ttcggttatt gtagaagaat gtcagctatg gttaatgtct tgtaacatc catagatgac      900
gtttatgatg tctacggtac tttggacgaa ttggaattgt ttacagatgc agttgaaaga      960
tgggacgcta cagcaaccga acaattgcca tactacatga aatttgtgtt ccatgcatta     1020
tacaattctg tcaacgaaat gggtttcatt gccttgagag atcaagaagt tggatatgatc     1080
ataccttatt tgaaaaaggc ttgggctgat caatgcaaga gttacttggg tgaagctaaa     1140
tggtacaact ctggttacat cccaacattg caagaataca tggaaaacgc ctggatctct     1200
gtaaccgctc cagtatatgtt gttacatgca tacgccttta ccgcaaacc tataactaag     1260
gaagccttag aattcttgca agattcacca gacataatca gaatatcatc catgatcggt     1320
agattagaag atgacttggg tactagtctt gatgaattga agagaggatga cgttcctaag     1380
tcaatccaat gttacatgca tgaaactggg gtctccgaag atgaagccag agaacacatt     1440
agagacttaa tcgctgaaac atggatgaag atgaactcag caagatttgg taaccacct     1500
tacttgccag atgttttcat tggatcgca atgaatttgg tcagaatgtc ccaatgtatg     1560
tatttgtagc gtgacgggtca tgggtgttcaa gaaaatacca aagacagagt ttatcattg     1620
ttcatcgacc ctatccctta a                                     1641
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1641

序列名称 : Seq_54

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 温州蜜柑

<400> 前序列行 :

[0037]

```

atgcgccggt cggctgacta cggaccaaca atctgggtcat tgcattatat tcaaagtctc      60
gactccaagt acaaggggga gagttatgcg cgccagctcg aaaagttgaa ggagcaagtc      120
tccgccatgc tgcagcaaga taacaaggctc gtggatcttg accccctgca ccagctggag      180
ctcatcgaca atctccaccg gttgggcgtg agctaccatt tcgaagatga gatcaagcgt      240
accctcgacc gaattcataa caagaatacg aacgagaatc tctatgccac agctttgaag      300
ttccgcatcc ttccggcagta cggttataac acgcctgtta aggaaacatt ctctcacttt      360
atggatgaga agggcagctt taagtccagc tctcattctg atgactgcaa gggcatgttg      420
gccctttacg aggcagcgta tctgctcgtg gaggaagagt cgtcaatctt ccgcgacgcc      480
attcggttta cgacagctta cctcaaggaa tgggttgtca agcacgatat cgacaagaat      540
gatgacgaat atctttgtac cctggtgaag cagcgcttgg agctcccctt gcattggcgc      600
atgcgtcgac tgaagcccg gtggttcacg gatgtttacg agtccggacc cgacatgaac      660
cctattttgc ttgagctcgc aaagttggat tacaatatcg ttcaggcgat tcatcaagaa      720
gacctgaagt atgtctcccg ctggtggatg aagaccggcc tcggtgaaaa gttgaacttc      780
gctcgtgacg gagtggttga gaatttcttt tggactgttg gcgacatctt cgaacctcaa      840
tttggttact gccgtcgcat gagtgcaatg gtcaactgtc tgctcacttc cattgatgac      900
gtctacgaig tgtatggaac cctcgacgaa cttgagctgt tcatgtatgc tgtcgaacgt      960
tgggacgcaa ccgcgactga gcagctgccg tactatatga agctgtgctt ccacgctctc     1020
tacaacagcg tgaatgaaat gggctttatc gcactgcgag atcaggaagt cggtatgatc     1080
attccatacc tcaagaaggc ctgggctgac cagtgttaaga gctatttggg ggaggccaag     1140
tggtacaact ctgggtatat cccaccctc caggaataca tggagaatgc atggatttcg     1200
gttactgcgc ccgtcatgtt gcttcatgca tatgcgttca ccgccaaccc tatcactaag     1260
gaagctcttg agtttctgca agattcaccg gacatcattc gtatcagttc catgattgtc     1320
cgacttgaag atgacctggg aaccagctct gatgagctga agcgcgggga cgtccctaag     1380
tcgatccagt gctacatgca cgagacgggt gtgtcagaag atgaggcccg tgaacatata     1440
cgagacctta ttgctgagac atggatgaag atgaacagcg cacgcttcgg aaatccgcca     1500
tatttgcggg atgtctttat cgggattgcc atgaacttgg tgcggatgtc tcagtgtatg     1560
tacctttatg gagacgggca cggagttcag gaaaacacca aggaccgagt tctgtcgcctc     1620
tttattgacc ccatccata g                                     1641

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1641

序列名称 : Seq_55

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

```
catgctggat ccaaaatgag aagaagtgct gactatggtc      40
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 40

序列名称 : Seq_56

序列描述 :

序列

[0038]

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

cgctttggat ccttaaggga tagggtcgat gaac

34

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 34

序列名称 : Seq_57

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

catgctggat ccaaaatgcg ccggtcggct gactacgg

38

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 38

序列名称 : Seq_58

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

cgctttggat ccctatggga tggggccaat aa

32

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 32

序列名称 : Seq_59

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 酿酒酵母

<400> 前序列行 :

atggaccaat tggtgaaaac tgaagtcacc aagaagtctt ttactgctcc tgtacaaaag

60

gcttctacac cagttttaac caataaaaca gtcatttctg gatcgaaagt caaaagtta

120

tcactgcgc aatcgagctc atcaggacct tcactatcta gtgaggaaga tgattccgc

180

gatattgaaa gcttgataa gaaaatacgt cctttagaag aattagaagc attattaagt

240

agtggaaata caaaacaatt gaagaacaaa gaggtcgctg ccttggttat tcacggtaag

300

ttaccttgt acgctttgga gaaaaatta ggtgatacta cgagagcggg tgcggtacgt

360

aggaaggctc tttcaatlll ggcagaagct cctgtattag catctgatcg tttaccatat

420

aaaaattatg actacgaccg cgtatttggc gcttgttgtg aaaatgttat aggttacatg

480

cctttgcccg ttggtgttat aggccccttg gttatcgatg gtacatctta lcatatacca

540

atggcaacta cagaggggtg tttagtagct tctgccatgc gtggctgtaa ggcaatcaat

600

gctggcgggtg gtgcaacaac tgttttaact aaggatggta tgacaagagg ccagtagtc

660

[0039]

```

cgtttcccaa ctttgaaaag atctgggtgcc tgtaagatat ggtagactc agaagagga      720
caaaacgcaa ttaaaaaagc ttttaactct acatcaagat ttgcacgtct gcaacatatt      780
caaacttgtc tagcaggaga tttactcttc atgagattta gaacaactac tggtgacgca      840
atgggtatga atatgatttc taaagggtgc gaatactcat taaagcaaat ggtagaagag      900
tatggctggg aagatatgga ggttgtctcc gtttctggta actactgtac cgacaaaaaa      960
ccagctgcca tcaactggat cgaaggctcg ggtaagagtg tcgtcgcaga agctactatt     1020
cctggtgatg ttgtcagaaa agtggttaaaa agtgatgttt ccgcattggt tgagttgaac     1080
attgctaaga atttggttgg atctgcaatg gctgggtctg ttggtggatt taacgcacat     1140
gcagctaatt tagtgacagc tgttttcttg gcattaggac aagatcctgc acaaaatggt     1200
gaaagtcca actgtataac attgatgaaa gaagtggacg gtgatttgag aatttccgta     1260
tccatgccat ccatcgaagt aggtaccatc gggtgggtgta ctgttctaga accacaaggt     1320
gccatgttgg acttattagg tgtaagaggc ccgcattgta ccgctcctgg taccaacgca     1380
cgtcaattag caagaatagt tgcctgtgcc gtcttggcag gtgaattatc cttatgtgct     1440
gccctagcag ccggccattt ggttcaaagt catatgaccc acaacaggaa acctgctgaa     1500
ccaacaaaac ctaacaattt ggacgccact gatataaatc gtttgaaaga tgggtccgct     1560
acctgcatta aatcctaa

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1578

序列名称 : Seq_60

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

```
agcgcggatc catggaccaa ttggtgaaaa ctgaag      36
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 36

序列名称 : Seq_61

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

```
agcgcggatc ccacatggtg ctgttgtgct tc      32
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 32

序列名称 : Seq_62

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

[0040]

<400> 前序列行 :
gcggccgccc ttgtatctc 19
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 19
序列名称 : Seq_63
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gcggccgctg atgtctgctc aagcggg 27
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 27
序列名称 : Seq_64
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
tacgactcac tatagggcga attgggtacc gggccccccc acgtggatga tggacggcgc 60
aaac 64
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 64
序列名称 : Seq_65
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
attgatttga gcctgtgtgt agagatacaa gggcggccgc gttgtatatt ggtcaggtag 60
gagtcaa 67
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 67
序列名称 : Seq_66
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gactaacagc taccgcgctt gagcagacat cagcggccgc atgtaccggt ggagttcgac 60

[0041]

<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 60
序列名称 : Seq_67
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物
<400> 前序列行 :
gccaaagcgcg caattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tgcacgtggc tgggcaggcg 60
atcaag 66
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 66
序列名称 : Seq_68
序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 烟曲霉
<400> 前序列行 :
gatttcagta acgttaagtg gatcaaagac atgatctctt actgagagtt attctgtgtc 60

tgacgaaata tgttgtgtat atatatatat gtacgttaaa agttccgtgg agttaccagt 120

gattgaccaa tgttttatct tctacagttc tgccgtgtcta cccattcta gctgtacctg 180

actacagaat agtttaattg tggttgaccc cacagtcgga ggcggaggaa tacagcaccg 240

atgtggcctg tctccatcca gattggcacg caatttttac acgcggaaaa gatcgagata 300

gagtacgact ttaaatttag tccccggcgg cttctatttt agaataattg agatttgatt 360

ctcaagcaat tgatttggtt gggtcaccct caattggata atatacctca ttgctcggtc 420

acttcaactc atcaatcacc gtcatacccc gcatataacc ctccattccc acgatgtcgt 480

ccaagtcgca atigacttac ggtgctcgag ccagcaagca cccaatcct ctggcaaaga 540

gactttttga gattgccgaa gcaaagaaga caaacgttac cgtctctgct gatgtgacga 600

caacccgaga actcctggac ctcgtgacc gtacggaagc tgttgatcc aatacatatg 660

ccgtctagca atggactaat caacttttga tgatacaggt ctcggtcctt acatcgccgt 720

[0042]

catcaagaca cacatcgaca tcctcaccga tttcagcgtc gacactatca atggcctgaa	780
tgctgtggct caaaagcaca actttttgat cttcgaggac cgcaaattca tcgacatcgg	840
caataaccgtc cagaagcaat accacggcgg tgctctgagg atctccgaat gggcccat	900
tatcaactgc agcgttctcc ctggcgaggg catcgtcgag gctctggccc agaccgcac	960
tgcgcaagac ttcccctatg gtcctgagag aggactgttg gtcctggcag agatgacctc	1020
caaaggatcg ctggctacgg gcgagtatac caaggcatcg gttgactacg ctcgcaaata	1080
caagaacttc gttatgggtt tcgtgtcgac gcggggccctg acggaagtgc agtcggatgt	1140
gtcttcagcc tcggaggatg aagatttcgt ggtcttcacg acgggtgtga acctctcttc	1200
caaaggagat aagcttggac agcaatacca gactcctgca tcggctattg gacgcggtgc	1260
cgactttatc atcgccggtc gaggcaccta cgctgtctcc gaccgggttg aagctgcaca	1320
gcggtaccag aaagaaggct gggaagccta tatggccaga gtatgcggca agtcatgatt	1380
tcctcttga gcaaaagtgt agtgccagta cgagtgttgt ggaggaaggc tgcatacatt	1440
gtgcctgtca ttaaacgatg agctcgtccg tattggcccc tgtaatgcca tgttttccgc	1500
ccccaatcgt caaggttttc cctttgtag attcctacca gtcatctagc aagtgaggta	1560
agctttgcca gaaacgcca ggctttatct atgtagtcga taagcaaagt ggactgatag	1620
cttaatatgg aaggtcctc aggacaagtc gacctgtgca gaagagataa cagcttgga	1680
tcacgcatca gtgcctctc tcagacaggc tccttcaata tcattctctg tc	1732

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 1732

序列名称 : Seq_69

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

[0043]

<400> 前序列行：

gatttcagta acgttaagtg gatcaaag

28

<212> 类型：DNA

<211> 长度：28

序列名称：Seq_70

序列描述：

序列

<213> 生物名称：引物

<400> 前序列行：

gacagaagat gatattgaag gaggc

24

<212> 类型：DNA

<211> 长度：24

序列名称：Seq_71

序列描述：

序列

<213> 生物名称：构巢曲霉

<400> 前序列行：

acgtggatga tggacggcgc aaacgagaac gacgggcagc cgcacaagct ggcgcaccgc	60
cagctcctcc taagcctggc ttccatccac acaacaacca tggcggcggc gcactgcttc	120
tacgatctct gccaacatcc cgagtacttt gagccgttgc gcgaggagat caacgacgta	180
attgcccagg atggcggtcg gaaaaagacc actctcaaca agatgcgcaa gctggacagc	240
tttcttaaag aaagccaacg catcaacccg cccagtctct gtaggtactc ctgtcatat	300
ccgataaaca attccgctaa cgctttctcc agtggcattc aaccgcattg tctcggaaga	360
cctgacgctc tcggacggca ccctcctgcc caaaggaacg catttcagca tgccctccgc	420
ggccatcctc caggacaacg gcgtggaacc cggtgccgac caattcgatg ggttccgata	480
ctacaagaag cgcctcaacc ccgaggaagc caacaagcac cagttcgcca tgaccgacaa	540
caacaacctc cattttggcc acggcaagta ctcatgtccc ggccgcttct tcgcctccaa	600
cgagatcaag atcatcatgg cgcacctgtt gaccgactac gaattcaaat acccccgggg	660
cgcgacaagg ccgcggaatc tgacggccga tgagaacctg tatccagatc cgtcggcacg	720
tctgtcatg agacgacggg tggtagctcc gccgcaggcg tcgatcacgc cgcagcttgt	780
ctcagcctag accggtggag agggatgcct cgcctgtgga gtagcccaag gtcaattgcg	840
gatatgtgat tcgtgtcac cagataatgc gcatgtaacg attttacttt ctttgttgt	900
gtctaataca tattacacat agaattaagc ctaccagcgg ccaagctgca tctctctac	960
tagggaatct agaccactgt aatcacggat tccttccgag taggatagct cgctaagagc	1020
ctacttttcc ctgatccgct ggtcggctcg gggggggctt tggcactaaa actagcttaa	1080
tatagaaatc caggaggcag cacggggctg gcggcgcccc aaagtaccaa cgccactcag	1140
gaaccatgtc gcaggacggg ctctgtctcg tcagtatctc gtctcccta tcatggctcc	1200
ataagagtca tcctctggca gtgttacatc gtccccctcg ttgaacggga gatatgacag	1260
gccccaacgc ttgcctacgc gggcagtgaa gtgtttaaca gagctaagcg tactcgagcg	1320
tgagatatit gccaaagtcaa caccgaagac gcgattctac tcgtctgctc gtaacgccgc	1380

[0044]

acgaatacag	tcagcactat	ctgcgcacct	tgagagacca	tgttcagccg	ctaccagctt	1440
agtctgggcg	gatggggctg	aaccctaggc	acccaatctt	caacgctctt	tgtactcagt	1500
atcgacacaa	cttgccgtgt	cattcgcttt	tgacgccaga	gacgaccagc	gctaggattc	1560
ttgctggggc	tgctcaaggc	cgttgattct	cgtgagcgca	atgcgggggtg	cctatgctga	1620
cgtagccctt	ccttcageca	gctttctatc	gcctctctct	cccttcgat	ccttgactcc	1680
tacctgacca	atatacaacg	cggccgccc	tgtatctcta	cacacaggct	caaatcaata	1740
agaagaacgg	tctgtctttt	tgttttatat	cttgcatcgt	cccaaagcta	ttggcgggat	1800
attctgtttg	cagttggctg	acttgaagta	atctctgcag	atctttcgac	actgaaatac	1860
gtcgagcctg	ctccgcttgg	aagcggcgag	gagcctcgte	ctgtcacaac	taccaacatg	1920
gagtacgata	agggccagtt	ccgccagctc	attaagagcc	agttcatggg	cgttggcatg	1980
atggccgtca	tgcattctgt	cttcaagtac	accaacgctc	ttctgatcca	gtcgatcatc	2040
cgtgaaggc	gttttcgaat	ctgggttaaga	tccacgtctt	cgggaagcca	gcgactgggtg	2100
acctccagcg	tccctttaag	gctgccaaaca	gctttctcag	ccaggggccag	cccaagaccg	2160
acaaggcctc	cctccagaac	gccgagaaga	acgcggccgc	gatttcagta	acgttaagtg	2220
gatcaaagac	atgatctctt	actgagagtt	attctgtgtc	tgacgaaata	tgttgtgtat	2280
atatatata	gtacgttaaa	agttccgtgg	agttaccagt	gattgaccaa	tgttttatct	2340
tctacagttc	tgctgtctta	ccccattcta	gctgtacctg	actacagaat	agtttaattg	2400
tggttgaccc	cacagtcgga	ggcggaggaa	tacagcaccg	atgtggcctg	tctccatcca	2460
gattggcacg	caatttttac	acgcggaaaa	gatcgagata	gagtacgact	ttaaatttag	2520
tccccggcgg	cttctatttt	agaatatattg	agatttgatt	ctcaagcaat	tgatttggtt	2580
gggtcaccct	caattggata	atatacctca	ttgctcggtt	acttcaactc	atcaatcacc	2640
gtcatacccc	gcataatacc	ctccattccc	acgatgtcgt	ccaagtcgca	attgacttac	2700
gggtgctcgag	ccagcaagca	ccccaatcct	ctggcaaaga	gactttttga	gattgccgaa	2760
gcaaagaaga	caaacgttac	cgtctctgct	gatgtgacga	caacccgaga	actcctggac	2820
ctcgtcgacc	gtacggaagc	tgttggatcc	aatacatatg	ccgtctagca	atggactaat	2880
caacttttga	tgatacaggt	ctcggtcctt	acatcgccgt	catcaagaca	cacatcgaca	2940
tcctcaccga	tttcagcgtc	gacactatca	atggcctgaa	tgtgctggct	caaaagcaca	3000
actttttgat	cttcgaggac	cgcaaattca	tcgacatcgg	caataccgtc	cagaagcaat	3060
accacggcgg	tgctctgagg	atctccgaat	ggggccacat	tatcaactgc	agcgttctcc	3120
ctggcgaggg	catcgtcgag	gctctggccc	agaccgcata	tgcgcaagac	ttcccctatg	3180
gtcctgagag	aggactgttg	gtcctggcag	agatgacctc	caaaggatcg	ctggctacgg	3240
gcgagtatac	caaggcatcg	gttgactacg	ctcgcaaata	caagaacttc	gttatgggtt	3300
tcgtgtcgac	gcgggccctg	acggaagtgc	agtcggatgt	gtcttcagcc	tcggaggatg	3360
aagatttcgt	ggtcttcacg	acgggtgtga	acctctcttc	caaaggagat	aagcttggac	3420
agcaatacca	gactcctgca	tcggctattg	gacgcggtgc	cgactttatc	atcgccggtc	3480
gaggcatcta	cgctgctccc	gacccggttg	aagctgcaca	gcggtaccag	aaagaaggct	3540
gggaagctta	tatggccaga	gtatgcggca	agtcatgatt	tcctcttgga	gcaaaagtgt	3600
agtgccagta	cgagtgttgt	ggaggaaggc	tgcatacatt	gtgcctgtca	ttaaacgatg	3660
agctcgtccg	tattggcccc	tgtaatgcca	tgttttccgc	ccccaatcgt	caaggttttc	3720
cctttgttag	attcctacca	gtcatctagc	aagtgaggta	agctttgcca	gaaacgcaa	3780
ggctttatct	atglagtcga	taagcaaagt	ggactgatag	cttaatatgg	aaggtccctc	3840
aggacaagtc	gacctgtgca	gaagagataa	cagcttggca	tcacgcatca	gtgcctcctc	3900
tcagacaggc	tccttcaata	tcattctctg	tcgcggccgc	ccttgatatc	ctacacacag	3960
gtcacaatca	ataagaagaa	cggttcgtct	ttttcgttta	tatcttgcat	cgtcccaaag	4020

[0045]

ctattggcgg gatattctgt ttgcagttgg ctgacttgaa gtaatctctg cagatctttc	4080
gacactgaaa tacgtcgagc ctgctccgct tggaaagcggc gaggagcctc gtcctgtcac	4140
aactaccaac atggagtacg ataagggcca gtccgcccag ctcattaaga gccagttcat	4200
ggcggtlggc atgatggcgg tcatgcatct gtacttcaag tacaccaacg ctcttctgat	4260
ccagtcgac atccgctgaa ggcgctttcg aatctggtta agatccacgt cttcggggaag	4320
ccagcgactg gtgacctcca gcgtcccttt aaggttgcca acagctttct cagccagggc	4380
cagcccaaga ccgacaaggc ctccctccag aacgcccaga agaactggag ggggtggtgc	4440
aaggaggagt aagctcctta ttgaagtcgg aggacggagc ggtgtcaaga ggatattctt	4500
cgactctgta ttatagataa gatgatgagg aattggaggt agcatagctt catttggaatt	4560
tgctttccag gctgagactc tagcttgagg catagagggt cctttggctt tcaatattct	4620
caagtatctc gagtttgaac ttattccctg tgaacctttt attcaccaat gagcattgga	4680
atgaacatga atctgaggac tgcaatcgcc atgaggtttt cgaataacat ccggatgtcg	4740
aaggcttggg gcacctgcgt tggttgaatt tagaacgtgg cactattgat catccgatag	4800
ctctgcaaag ggcgttgcac aatgcaagtc aaacgttgct agcagttcca ggtggaatgt	4860
tatgatgagc attgtattaa atcaggagat atagcatgat ctctagttag ctcaccacaa	4920
aagtcagacg gcgtaaccaa aagtcacaca acacaagctg taaggatttc ggcacggcta	4980
cggaagacgg agaagccacc ttcagtggac tcgagtacca ttttaattcta tttgtgtttg	5040
atcgagacct aatacagccc ctacaacgac catcaaagtc gtatagctac cagtgaggaa	5100
gtggactcaa atcgacttca gcaacatctc ctggataaac ttttaagccta aactatacag	5160
aataagatag gtggagagct tataccgagc tcccaaatct gtccagatca tggttgaccg	5220
gtgcctggat ctctctatag aatcatctt attcgttgac ctactgtatt ctggagtgc	5280
ccagagggtc atgacttgag cctaaatcc gccgcctcca ccattttagt aaaaatgtga	5340
cgaactcgtg agctctgtac agtgaccggt gactctttct ggcatgcgga gagacggacg	5400
gacgcagaga gaagggtga gtaataagcc actggccaga cagctctggc ggctctgagg	5460
tgcagtggtg gattattaat ccgggaccgg ccgccctcc gccccgaagt ggaaaggctg	5520
gtgtgcccct cgttgaccaa gaatctattg catcatcgga gaatatggag ctcatcgaa	5580
tcaccggcag taagcgaagg agaattgtga gccagggtg tatagccgtc ggcgaaatag	5640
catgccatta acctaggtac agaagtccaa ttgcttccga tctggtaaaa gattcacgag	5700
atagtacctt ctccgaagta ggtagagcga gtaccggcg cgtaagctcc ctaattggcc	5760
catccggcat ctgtaggcg tccaaatate gtccctctcc tgccttgccc ggtgtatgaa	5820
accggaaagg ccgctcagga gctggccagc ggccgagacc gggaacacaa gctggcagtc	5880
gacccatccg gtgctctgca ctcgacctgc tgaggctcct cagtccttgg taggcagctt	5940
tgccccgtct gtccgcccgg tgtgtcggcg gggttgacaa ggtcgtlgcg tcagtccaac	6000
atttgttgcc atattttcct gctctcccca ccagctgtc ttttctttt tctttctttt	6060
cccattctca gtatatctat ctteccatcc aagaaccttt atttccccta agtaagtact	6120
ttgctacatc catactccat ctttcccatc cttatttctt ttgaaccttt cagttcgagc	6180
tttcccactt catcgagct tgactaacag ctaccccgct tgagcagaca tcagcggccg	6240
catgtaccgg tggagttcga caggaaagtc accgttttcg catcccgaca atgaaggcgc	6300
ggaatcgggg gatattgagca tgggggaaga gcagcagcaa ccccaccaga ggccgagaa	6360
attgtgagta aaatgtgtcg caaccgatga gacccccgac ttcgagagga atgtatttag	6420
agatcaccaa ccgacgtttt cgaccttaaca gcaacaacct gcgcgcatgc cagtcctgcc	6480
gcgcttcgaa agtacgatgc gaccagccta acccgggcat gccctgtctt cggtgccaga	6540
aatcaggcaa gccgtgcgtg gatgccgcca gtcaaccggg gaagcgacag cgccaacct	6600
tcaacagtat cctggagatg gagtgcgcaa tcgaaacgat attgtcgtcc gcagaattgc	6660

[0046]

aggacagcgc	tggggacggg	gagactgccc	attccaccgc	actccgttcg	ccttcccagt	6720
tgtcgcacca	catccaaccg	tttcagcacc	tccccatggg	attcgcgata	ccgttcaatg	6780
gtgagtctgc	gtagatccag	tctggaatcg	tggcgcagtt	ctttcatcgc	taacatggcc	6840
accttccgtc	tgcctaggag	gaaattccgg	gacggaagat	ctgaactcga	gcatccgata	6900
atggctgaat	gacaacatca	ccgacctgga	tgctcgtacc	acagagacaa	tcttcagtca	6960
ttatttgacc	aacatgggtgc	ccacctttcc	ggtcgtcgtc	tttgcgacag	gcaccacggc	7020
ggccgacgtc	cgacggaaca	accctattct	ttttctagct	attctcgacg	tggcctcgtc	7080
gggattctgt	gcgcttgaga	cgcagcggaa	actgcgaaag	ctgattgttc	aagcgtacgt	7140
gcattgcatg	ctgcgaaccg	aacagtatac	tctcggattg	ctccaggccc	tgattgtatc	7200
cgcacatgg	tatcgcacga	tlgagccigt	cagaccgggg	gagcagatgg	atatctacca	7260
gatcagccac	acagcagcca	atatggcctt	gatcatgagg	ctagggggaga	gtttgaatgc	7320
caaactcttg	gggggtccca	tgtttcctcg	gcgggagatg	aaaaagggtc	ctggaagcgc	7380
ctttcaggcg	gactcgtctg	aagctcggcg	cgtgtggctt	gggtgtcatt	atatttgctc	7440
gaagtggaga	agacataccc	aagagcgcgg	cagcgttaac	ctagtctatg	cagtacctcc	7500
atgtccctcc	gcgccccaaa	catcatgaga	tggaccgcgc	tgatggacga	atgtctggag	7560
gtattggaaa	attccccggc	ggcccttcta	tcggacaggg	ttctgtgtca	gcatatccgg	7620
ctgcagcata	tcactgaaga	attcgcgatg	catttgtccg	cagaagaggc	ttcagctccc	7680
gcgaaalccc	gagcgattca	gatccaggta	acccatcgtg	ctttcaaacg	acagctcagc	7740
gaatggcgta	ggactgttgg	tgatggttgg	gatggtaact	cctccctgct	tgtccttgat	7800
cgcctgcccc	gccacgtgca	gcttttgttc	cctttagtga	gggttaattg	cgcgcttggc	7860
gtaatcatgg	tcatagctgt	ttcctgtgtg	aaattgttat	ccgttcacaa	ttccacacaa	7920
cataggagcc	ggaagcataa	agtgtaaagc	ctgggggtgcc	taatgagtga	ggtaactcac	7980
attaattgcg	ttgcgctcac	tgcccgtttt	ccagtcggga	aacctgtcgt	gccagctgca	8040
ttaatgaatc	ggccaacgcg	cggggagagg	cggtttgctg	attgggcgct	cttcgccttc	8100
ctcgcctact	gactcgtctg	gctcggctgt	tcggctgcgg	cgagcggtat	cagctcactc	8160
aaaggcggta	atacggttat	ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	8220
aaaaggccag	caaaaggcca	ggaaccgtaa	aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	8280
gctccgcccc	cctgacgagc	atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaaccc	8340
gacaggacta	taaagatacc	aggcgtttcc	ccctggaagc	tcctcgtgct	gctctcctgt	8400
tcgacccttg	ccgcttaccg	gatacctgtc	cgcctttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	8460
ttctcatagc	tcacgctgta	ggtatctcag	ttcgggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	8520
ctgtgtgcac	gaaccccccg	ttcagcccga	ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	8580
tgagtccaac	ccgtaagac	acgacttata	gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	8640
tagcagagcg	aggtatgtag	gcggtgctac	agagtctctg	aagtgggtggc	ctaactacgg	8700
ctacactaga	aggacagtat	ttggtatctg	cgtctgtcgt	aagccagtta	ccttcggaaa	8760
aagagttggt	agctcttgat	ccggcaaaaca	aaccaccgct	ggtagcgggtg	gtttttttgt	8820
ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	8880
tacggggtct	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcatgagatt	8940
atcaaaaaag	atcttcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	aatcaatcta	9000
aagtatatat	gagtaaactt	ggtctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagtg	aggcacctat	9060
ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agtlgcctga	ctccccgtcg	tgtagataac	9120
tacgatacgg	gagggtttac	catctggccc	cagtgtctga	atgataccgc	gagaccacgc	9180
ctcaccggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaagggccg	agcgcagaag	9240
tggtcctgca	actttatccg	cctccatcca	gtctattaat	tgttgccggg	aagctagagt	9300

[0047]

aagtagttcg	ccagttaata	gtttgcgcaa	cgttggtgcc	attgctacag	gcacgtggt	9360
gtcacgctcg	tcgtttggta	tggcttcatt	cagctccgg	tcccaacgat	caaggcgagt	9420
tacatgatcc	cccatgttgt	gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggctctc	cgatcgttgt	9480
cagaagtaag	ttggccgcag	tgttatcact	catggttatg	gcagcactgc	ataattctct	9540
tactgtcatg	ccatccgtaa	gatgcctttc	tgtgactggt	gagtactcaa	ccaagtcatt	9600
ctgagaatag	tgtatgcggc	gaccgagttg	ctcttgcccc	gcgtcaatac	gggataatac	9660
cgcgccacat	agcagaactt	taaaagtgtc	catcattgga	aaacgttctt	cggggcgaaa	9720
actctcaagg	atcttaccgc	tgttgagatc	cagttcgatg	taaccactc	gtgcacccaa	9780
ctgatcttca	gcacctttta	ctttcaccag	cgtttctggg	tgagcaaaaa	caggaaggca	9840
aaatgccgca	aaaaagggaa	taaggcgac	acggaaatgt	tgaatactca	tactcttcct	9900
ttttcaatat	tattgaagca	tttatcagg	ttatgtctc	atgagcggat	acatatttga	9960
atgtatttag	aaaaataaac	aaataggggt	tccgcgcaca	tttccccgaa	aagtccacc	10020
tgaacgaagc	atctgtgctt	cattttgtag	aacaaaaatg	caacgcgaga	gcgctaattt	10080
ttcaacaaaa	gaatcigagc	tgcattttta	cagaacagaa	atgcaacgcg	aaagcgctat	10140
tttaccacag	aagaatctgt	gcttcatitt	tgtaaaacaa	aaatgcaacg	cgagagcgct	10200
aatttttcaa	acaaagaatc	tgagctgcat	ttttacagaa	cagaaatgca	acgcgagagc	10260
gctattttac	caacaaagaa	tctatacttc	ttttttgttc	tacaaaaatg	catcccagaga	10320
gcgtatlttt	tctaacaaag	catcttagat	tacttttttt	ctcctttgtg	cgctctataa	10380
tgcagctctc	tgataacttt	ttgcaactgt	ggtccggtta	ggttagaaga	aggctacttt	10440
ggtgltctatt	ttctcttcca	taaaaaagc	ctgactccac	ttcccgcgtt	tactgattac	10500
tagcgaagct	gcgggtgcat	tttttcaaga	taaaggcatc	cccattata	ttctataaccg	10560
atgtggattg	cgcatacttt	gtgaacagaa	agtgatagcg	ttgatgattc	ttcattggtc	10620
agaaaattat	gaacggtttc	ttctattttg	tctctatata	ctacgtatag	gaaatgttta	10680
cattttcgta	ttgttttcga	ttcactctat	gaatagttct	tactacaatt	ttttgtcta	10740
aagagtaata	ctagagataa	acataaaaaa	tgtagaggtc	gagtttagat	gcaagttcaa	10800
ggagcgaaag	gtgatgggt	aggttatata	gggatatagc	acagagatat	atagcaaaga	10860
gatacttttg	agcaatgttt	gtggaagcgg	tattcgcaat	attttagtag	ctcgttacag	10920
tccggtgcgt	ttttggtttt	ttgaaagtgc	gtcttcagag	cgtttttggt	tttcaaagc	10980
gctctgaagt	tcctatactt	tctagagaat	aggaacttcg	gaataggaa	ttcaaagcgt	11040
ttccgaaaac	gagcgcttcc	gaaaatgcaa	cgcgagctgc	gcacatacag	ctcactgttc	11100
acgtcgacc	tatatctgcg	tgttgccgtg	atatatatat	acatgagaag	aacggcatag	11160
tgcgtgttta	tgcttaaatg	cgtacttata	tgcgtctatt	tatgtaggat	gaaaggtagt	11220
ctagtacctc	ctgtgatatt	atcccatcc	atgcggggta	tcgtatgctt	ccttcagcac	11280
taccctttag	ctgttctata	tgttgccact	cctcaattgg	attagtctca	tccttcaatg	11340
ctatcatttc	ctttgatatt	ggatcatact	aagaaacat	tattatcatg	acattaacct	11400
ataaaaaatag	gcgtatcacg	aggccctttc	gtctcgcgcg	tttcggtgat	gacggtgaaa	11460
acctctgaca	catgcagctc	ccggagacgg	tcacagcttg	tctgtaagcg	gatgccggga	11520
gcagacaagc	ccgtcagggc	gcgtcagcgg	gtgttgccgg	gtgtcggggc	tggcttaact	11580
atgcggcatc	agagcagatt	gtactgagag	tgcaccatac	cacagctttt	caattcaatt	11640
catcattttt	tttttattct	tttttttgat	ttcggtttct	ttgaaatttt	tttgattcgg	11700
taatctccga	acagaaggaa	gaacgaagga	aggagcacag	acttagattg	gtatatatac	11760
gcatatgtag	tgttgaagaa	acatgaaatt	gccagttatt	cttaacccaa	ctgcacagaa	11820
caaaaacctg	caggaaacga	agataaatca	tgtcgaaagc	tacatataag	gaacgtgctg	11880
ctactcatcc	tagtcctgtt	gttgccaagc	tatttaatat	catgcacgaa	aagcaaacaa	11940

[0048]

```
acttgtgtgc ttcattggat gttcgtacca ccaaggaatt actggagtta gttgaagcat 12000
taggtcccaa aatttgttta ctaaaaacac atgtggatat ctigactgat tttccatgg 12060
agggcacagt taagccgcta aaggcattat ccgccaagta caatttttta ctcttcgaag 12120
acagaaaatt tgctgacatt ggtaatacag tcaaattgca gtactctgcg ggtgtataca 12180
gaatagcaga atgggcagac attacgaatg cacacggtgt ggtgggcccc ggtattgtta 12240
gcggtttgaa gcaggcggca gaagaagtaa caaaggaacc tagaggcctt ttgatgttag 12300
cagaattgtc atgcaagggc tccctatcta ctggagaata tactaagggt actgttgaca 12360
ttgcgaagag cgacaaagat ttgtttatcg gctttattgc tcaaagagac atgggtggaa 12420
gagatgaagg ttacgattgg ttgattatga caccgcgtgt gggtttagat gacaaggag 12480
acgcattggg tcaacagtat agaaccgtgg atgatgtggt ctctacagga tctgacatta 12540
ttattgttgg aagaggacta ttgcaaagg gaagggatgc taaggtagag ggtgaacgtt 12600
acagaaaagc aggctgggaa gcatatttga gaagatgcgg ccagcaaaac taaaaaactg 12660
tattataagt aaatgcatgt atactaaact cacaaattag agcttcaatt taattatata 12720
agttattacc ctatgcggtg tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa ataccgcac 12780
aggaaattgt aaacgttaat attttgttaa aattcgcgtt aaatttttgt taaatcagct 12840
cattttttta ccaataggcc gaaatcgga aaatccctta taaatcaaaa gaatagaccg 12900
agatagggtt gagtgttgtt ccagtttga acaagagtcc actattaaag aacgtggact 12960
ccaacgtcaa agggcgaaaa accgtctatc agggcgatgg cccactacgt gaaccatcac 13020
cctaatacaag ttttttgggg tcgagggtgcc gtaaagcact aaatcggaac cctaaaggga 13080
gcccccgatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaacgt ggcgagaaag gaagggaaga 13140
aagcgaaagg agcgggcgct agggcgctgg caagtgtagc ggtcacgctg cgcgtaacca 13200
ccacacccgc cgcgcttaat gcgccgtac agggcgcgtc gcgccattcg ccattcaggc 13260
tgcgcaactg ttgggaaggg cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga 13320
aagggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac 13380
gttgtaaaac gacggccagt gacgcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta 13440
ccgggcccc cc 13452
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 13452

序列名称 : Seq_72

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

<400> 前序列行 :

atgatggacg gcgcaaac

18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_73

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 引物

[0049]

<400> 前序列行：

gctgggcagg cgatcaag

18

<212> 类型：DNA

<211> 长度：18

序列名称：Seq_74

序列描述：

序列

<213> 生物名称：温州蜜柑

<400> 前序列行：

gigtacccga tcaacggccg gaccaggac gccatgcsgg tgacgacatc cgtgttggtg	60
aacgagatcc agcggatgat ctggacgaag tcgagcgagc tgctgccag gagcgtggc	120
gtcagatctt cgttggtcac tgctcttggt agtgttatc agcacaaaag caagcgtatc	180
atcgtaatgc gaggggggaa cgcaccgtgc agggcaatcg ccatacactc cgtcagcacc	240
aggccgtctg cgccgacaaa cgtcgggggc ttgccagcg gggtcagggt ccagtagaag	300
tctgggacgc cgttggccgg ctgcagctcg acttgctcca gctccaagcc gatggatttt	360
gcgacagctt ggatgcctag ggctcggggg ctccgctgtt gccagttagc cctgcgacca	420
tatgctgggc ttccgactc atagggataa catgaaaacg gtgctgacct tgtacgtgta	480
gagctttcca aagcttcgc gctccttcag tttctctct gtactgccat tctgatgcgg	540
cagagccggt gcgtcgacaa gcgtatccgc ggctatagct gggtgacgcg tgggattccg	600
gggtgcattg agagtactag aaaattaaaa tgttcagatg ctatatcacg ggacaaggaa	660
atattcaagt acttcattgg gaactcatgc atcggagcga tggatcattc cgacaccgaa	720
ggatcagtc cccgaccgc cgggattata cgcgaaaccc tatagggacg gtacatttct	780
ctaaggaagt tcagggtctc tagaactctg attagcgaga aatgcaatca attttgtgta	840
tatcagctcc tacgactcat tgtgtcgac tctgtgcgc agggaaatc ccagggaat	900
cttgcgccc atatctggcc ttccgactgc tagctcgaaa gctttaagca atlgatgggt	960
ctaaggtaga caagatggtg aagctaggtc atccgaacat ggattgacaa tgaattacag	1020
ctcatgatat tgcttgccgt agacgattcc atgctctcca gagagctcta gttcccttgg	1080
gcagacaatc cataagcaat tgattatctc ggtgactgtt accgccgat tgagcatata	1140
tgagccccc atgtagtctg ccgggtggta ggctgtcag tccgtcta atccatagacaa	1200
acttccatga ctgcaacaca atcttgagc tgcaggcatt gctcctagag acataagcca	1260
gtgcccagc tattttaagg actgctccc cggggcgaaa gatgatccct ccgtgccgt	1320
tactccgtc accgaccgca atagtcagtc tggagtgcct cttgaacaat gtccaggtt	1380
actctggctg acatcaaata cctggaactc cctctctatc gttcagtcta catgctcagc	1440
ttctcctcgc agtcagacga accgcggccg caaaatgcgc cggctcgctg actacggacc	1500
aacaatctgg tcattcgatt atattcaaag tctcgactcc aagtacaagg gggagagtta	1560
tgcgcgccag ctgaaaaagt tgaaggagca agtctccgc atgctgcagc aagataacaa	1620
ggctgtggat ctgaccccc tgcaccagct ggagctcctc gacaatctcc accggttggg	1680
cgtgagctac catttcgaag atgagatcaa gcgtaccctc gaccgaattc ataacaagaa	1740
tacgaacgag aatctctatg ccacagcttt gaagttccgc atccttcggc agtacggtta	1800
taacacgcct gtaaggaaa cattctctca ctttatggat gagaagggca gctttaagtc	1860
cagctctcat tctgatgact gcaagggcat gttggccctt tacgaggcag cgtatctgct	1920
cgtggaggaa gagtcgtcaa tcttcgcga cgccattcgg ttacgacag cttacctcaa	1980

[0050]

ggaatgggtt gtcaagcacg ataatcgacaa gaatgatgac gaatatcttt gtaccctggt	2040
gaagcacgcg ctggagctcc ccttgcatg ggcgatgcgt cgactggaag cccggtggtt	2100
catcgatggt tacgagtcg gacccgacat gaacctatt ttgcttgagc tcgcaaagtt	2160
ggattacaat atcgttcagg cgattcatca agaagacctg aagtatgtct cccgctgggtg	2220
gatgaagacc ggcctcgggtg aaaagttgaa cttcgctcgt gatcgagtgg ttgagaattt	2280
cttttggact gttggcgaca tcttcgaacc tcaatttgggt tactgccgtc gcatgagtgc	2340
aatggtcaac tgtctgctca cttccattga tgacgtctac gatgtgtatg gaacctcga	2400
cgaacttgag ctgttcactg atgctgtcga acgttgggac gcaaccgcga ctgagcagct	2460
gccgtactat atgaagctgt gcttcacgc tctctacaac agcgtgaatg aaatgggctt	2520
tatcgactg cgagatcagg aagtcgggtat gatcattcca tacctcaaga aggcctgggc	2580
tgaccagtgt aagagctatt tgggtggaggc caagtgggtac aactctgggt atatccccac	2640
cctccaggaa tacatggaga atgcatggat ttcggttact gcgccgtca tgttgcttca	2700
tgcatatgcg ttaccgccca acctatcac taaggaaagt cttgagtttc tgcaagattc	2760
accggacatc attcglatca gtccatgat tgtccgactt gaagatgacc tgggaaccag	2820
ctctgatgag ctgaagcgcg gggacgtccc taagtcgac cagtgtctaca tgcacgagac	2880
gggtgtgtca gaagatgagg cccgtgaaca tatccgagac cttattgctg agacatggat	2940
gaagatgaac agcgcacgct tcggaaatcc gccatatttg ccggtatgtct ttatcgggat	3000
tgccaalgaac ttggtgcgga tgtctcagtgt tatgtacctt tatggagacg ggcacggagt	3060
tcaggaaaac accaaggacc gagttctgtc gctctttatt gaccccatcc cataggcggc	3120
cgctcacttc taatctatat ggtgtcctaa cctttttacat tgatgaatca agacctggg	3180
cctatgatac cgccagcttt cgacagcccg agacctcgag caccaaaagt atgttcaaag	3240
gaggcatatt gtigaatatg atggttgtta gcttctcaga gacatctgca gatgcctaag	3300
gaaccgtatt gtagaagcat gagccaggta tatagaacaa cacttagaaa aaaagtagtc	3360
ctagatccca gacactattg ctatgttacg ctttcatata atctagacce tctcctgatt	3420
catctactct atagtcatat tctgaaatag tcatcatgct cagatttcag taacgttaag	3480
tggatcaaag acatgatctc ttactgagag ttattctgtg tctgacgaaa tatgttgtgt	3540
atatatatat atgtacgtta aaagtccgt ggagttacca gtgattgacc aatgttttat	3600
cttctacagt tctgcctgtc taccctatc tagctgtacc tgactacaga atagttaaat	3660
tgtggttgac ccacagtcg gaggcggagg aatacagcac cgatgtggcc tgtctccatc	3720
cagattggca cgcaattttt acacgcggaa aagatcgaga tagagtacga ctttaaattt	3780
agtcceggcg ggcttctatt ttagaatatt tgagatttga ttctcaagca attgatttgg	3840
ttgggtcacc ctcaattgga taatatacct cattgtctcg ctacttcaac tcatcaatca	3900
ccgtcatacc ccgcataata ccttcattc ccacgatgtc gtccaagtcg caattgactt	3960
acgggtgctcg agccagcaag caccccaatc ctctggcaaa gagacttttt gagattgccg	4020
aagcaaagaa gacaaacgtt accgtctctg ctgatgtgac gacaaccga gaactcctgg	4080
acctcgctga ccgtacggaa gctgttggat ccaatacata tgccgtctag caatggacta	4140
atcaactttt gatgatacag gtctcgggtc ctacatcgcc gtcatacaaga cacacatcga	4200
catcctcacc gatttcagcg tcgacactat caatggcctg aatgtgtctg ctcaaaagca	4260
caactttttg atcttcgagg accgcaaatt catcgacatc ggcaataaccg tccagaagca	4320
ataccacggc ggtgctctga ggatctccga atgggcccac attatcaact gcagcgttct	4380
ccctggcgag ggcatcgtcg aggtcttggc ccagaccgca tctgcgcaag acttccccta	4440
tggctcctgag agaggactgt tggctcctggc agagatgacc tccaaaggat cgctggctac	4500
gggcgagtat accaaggcat cggttgacta cgctcgcaaa tacaagaact tcgttatggg	4560
ttctgtgtcg acgcgggccc tgacggaagt gcagtcggat gtgtcttcag cctcggagga	4620

[0051]

tgaagatttc	gtggtcttca	cgacgggtgt	gaacctctct	tccaaaggag	ataagcttgg	4680
acagcaatac	cagactcctg	categgctat	tggacgcggt	gcegacttta	tcacgcgcgg	4740
tcgaggcatc	tacgctgctc	ccgacccggt	tgaagctgca	cagcggtagc	agaaagaagg	4800
ctgggaagct	tatatggcca	gagtatgcgg	caagtcatga	tttcctcttg	gagcaaaagt	4860
gtagtgccag	tacgagtgtt	gtggaggaag	gctgcataca	ttgtgcctgt	cattaaacga	4920
tgagctcgtc	cgtattggcc	cctgtaatgc	catgttttcc	gcccccaatc	gtcaaggttt	4980
tccctttgtt	agattcctac	cagtcactta	gcaagtgagg	taagctttgc	cagaaacgcc	5040
aaggctttat	ctatgtagtc	gataagcaaa	gtggactgat	agcttaatat	ggaagggtcc	5100
tcaggacaag	tcgacctgtg	cagaagagat	aacagcttgg	catcacgcat	cagtgcctcc	5160
tctcagacag	gtccttcaa	tatcatcttc	tgtcctagta	acggccgcca	gtgtgctgga	5220
attcgccctt	aattccagct	gaccacatg	tcacttctaa	tctatatggt	gtcctaacct	5280
tttacattga	tgaatcaaga	ccctgggcct	atgataccgc	cagctttcga	cagcccgaga	5340
cctcgagcac	caaagttatg	ttcaaaggag	gcataattgt	gaatatgatg	gttgtagct	5400
tctcagagac	atctgcagat	gcctaaggaa	ccgtattgta	gaagcatgag	ccaggtatat	5460
agaacaacac	ttagaaaaaa	agtagtccta	gatcccagac	actattgcta	tgttacgctt	5520
tcatataatc	tagaccctct	cctgattcat	ctactctata	gtcatattct	gaaatagtca	5580
tcatgctcat	catcctttct	tccgattatg	ggtcaagtgg	cttttcacca	acgagcccgc	5640
tgacagagca	gagcaaagac	tgagctctcc	agccagcacg	ccagccgcca	ccagcagggc	5700
cagctcctgt	gcgtttctac	ctggctgttc	ggggctcgcc	ccttggacgc	ccatcatgtg	5760
cagcattgcc	tttgaggggc	ccaggactgt	ccctccccc	acgggtgccga	cttcaatgga	5820
aggcatgaaa	acagagattt	gcaaataacc	attcacactg	ctcgggagtt	agcggccgaa	5880
catctatcag	aatatcttta	gaggcagtgt	actcactttt	tcatacagg	cagagtgttg	5940
ctgctttgca	cattctgtgc	gggatcctga	ccagtggcaa	gataaatcgc	cgtgacaaca	6000
ttggcggcat	ggcggttgaa	ccctcccaga	gcccctgcaa	cagcactgcc	caccaggttc	6060
ttggagacgt	tgagctccac	gagggcctcg	acactggtct	tgagtgtttc	tcgaaccgca	6120
tgttcaggta	ttgtcgctg	cgcggtcacg	gtcttgcttc	gcccccaat	ccagttcaca	6180
gccgcagggt	ttttatccgc	acagaagttc	cccgcacagc	agacgacatc	catagactcg	6240
aacccgtgct	tttgcatcgc	ctccagcgt	tgtcaaccc	ctttggagat	catgttcatg	6300
cccattgcgt	cgcccggtgt	ggccgtgaac	cggatataga	ggtcgagacc	aacggccgtg	6360
gccttaaatgt	tttgaagccg	agcgaagcgg	ctggatgcat	tgaacgcgtc	ctcaatgatg	6420
agaaatcctg	catcagagcc	cagccattgt	tttgcggcgc	cggttctctc	gagactggga	6480
aatcgaacga	taggcgctcg	ggtcatgcca	tcgccagca	ccagagcagt	cacgcctcca	6540
ccggcggtga	tcgccatgca	gccacgattc	gtgctcgcaa	ccagcgcgcc	ctctgtcgtg	6600
gacatgggga	gaaacaccat	ctttccgttg	attttgatcg	gaccggcgac	gcccacaggg	6660
atgggcataat	acccgatcac	gtgcagcttt	tgttcccttt	agtgagggtt	aattgcgcgc	6720
ttggcgtaat	catggtcata	gctgtttcct	gtgtgaaatt	gttatccgct	cacaattcca	6780
cacaacatag	gagccggaag	cataaagtgt	aaagcctggg	gtgcctaata	agtgaggtaa	6840
ctcacattaa	ttgcgttgcg	ctcactgccc	gctttccagt	cgggaaacct	gtcgtgccag	6900
ctgcattaat	gaatcggcca	acgcgcgggg	agaggcgggt	tgcgtattgg	gcgtcttcc	6960
gcttctctgc	tactgactc	gctgcgctcg	gtcgttcggc	tgcggcgagc	ggtatcagct	7020
cactcaaagg	cggtaatacg	gttatccaca	gaatcagggg	ataacgcagg	aaagaacatg	7080
tgagcaaaag	gccagcaaaa	ggccaggaac	cgtaaaaagg	ccgcgttgct	ggcgtttttc	7140
cataggtccc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gtcaagtca	gaggtggcga	7200
aacccgacag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	cgtgcgctct	7260

[0052]

cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc gggaagcgtg	7320
gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctacagttcg tgtaggtcgt tcgctccaag	7380
ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag ccgaccgct gcgccttata cggtaactat	7440
cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac	7500
aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac	7560
tacggctaca ctagaaggac agtatattgt atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc	7620
ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtaggttt	7680
tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc	7740
ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg	7800
agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag ttttaaatca	7860
atctaaagta tatatgagta aacttggctt gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca	7920
cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag	7980
ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac	8040
ccacgctcac cggtccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc	8100
agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagttcta ttaattgttg ccgggaagct	8160
agagtaagta gtccgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc	8220
gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtaggtct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg	8280
cgagtlacat gatcccccatt gttgtgcaaa aaagcgggta gctccttcgg tcctccgatc	8340
gttgcagaaa gtaagtggc cgcagtggtt tcactcatgg ttatggcagc actgcataat	8400
tccttactg tcatgccatc cgtaagatgc tttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag	8460
tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gccggcgctc aatacgggat	8520
aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg	8580
cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca	8640
cccaactgat ctacagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga	8700
aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcacttc	8760
ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata	8820
tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagt	8880
ccacctgaac gaagcatctg tgcttcattt tgtagaacaa aaatgcaacg cgagagcgct	8940
aatttttcaa acaaagaatc tgagctgcat ttttacagaa cagaaatgca acgcgaaagc	9000
gctattttac caacgaagaa tctgtgcttc atttttgtaa aacaaaaatg caacgcgaga	9060
gcgctaattt ttaaaacaaa gaatctgagc tgcattttta cagaacagaa atgcaacgcg	9120
agagcgctat tttaacca aagaatctat acttcttttt tgttctacaa aaatgcatcc	9180
cgagagcgct atttttctaa caaagcatct tagattactt tttttctcct ttgtgcgctc	9240
tataatgcag tctcttgata actttttgca ctgtaggtcc gtttaaggta gaagaaggct	9300
actttggtgt ctattttctc ttccataaaa aaagcctgac tccacttccc gcgtttactg	9360
attactagcg aagctgcggg tgcatttttt caagataaag gcatccccga ttatatctta	9420
taccgatgtg gattgcgcat actttgtgaa cagaaagtga tagcgttgat gattcttcat	9480
tggtcagaaa attatgaacg gtttcttcta tttgtctct atatactacg tataggaaat	9540
gtttacattt tcgtattgtt ttcgattcac tctatgaata gttcttacta caattttttt	9600
gtctaaagag taataactaga gataaacata aaaaatgtag aggtcgagtt tagatgcaag	9660
ttcaaggagc gaaagggtga tgggtagggt alalagggat atagcacaga gatatatagc	9720
aaagagatac ttttgagcaa tgtttgtgga agcgggtatt gcaatatatt agtagctcgt	9780
tacagtccgg tgcgtttttg gttttttgaa agtgcgtctt cagagcgctt ttggttttca	9840
aaagcgctct gaagttccta tactttctag agaataggaa cticggaata ggaacttcaa	9900

[0053]

```

agcgtttccg aaaacgagcg cttccgaaaa tgcaacgcga gctgcgcaca tacagctcac    9960
tgttcacgtc gcacctatat ctgcgtgttg cctgtatata tatatacatg agaagaacgg    10020
catagtgcgt gtttatgctt aaatgcgtac ttatatgcgt ctatttatgt aggatgaaag    10080
gtagtctagt acctcctgtg atattatccc attccatgcg gggatcgtg tgcttccttc    10140
agcactaccc tttagctgtt ctatatgctg ccactcctca attggattag tctcactcct    10200
caatgctatc atttcctttg atattggatc atactaagaa accattatta tcatgacatt    10260
aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg    10320
tgaaaaccic lgacacatgc agctcccga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc    10380
cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggcgggtgtc ggggctggct    10440
taaciatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac cataccacag cttttcaatt    10500
caattcatca tttttttttt attctttttt ttgatttcgg tttctttgaa atttttttga    10560
ttcggtaatc tccgaacaga aggaagaacg aaggaaggag cacagactta gattggtata    10620
tatacgcata tgtagtgttg aagaaacatg aaattgcccc gtattcttaa cccaactgca    10680
cagaacaaaa acctgcagga aacgaagata aatcatgtcg aaagctacat ataaggaacg    10740
tgctgctact catcctagtc ctgttgcgtc caagctatct aatcatgc acgaaaagca    10800
aacaacttgg tgtgcttcat tggatgttcg taccaccaag gaattactgg agttagttag    10860
agcattaggt cccaaaattt gtttactaaa aacacatgtg gatatcttga ctgatttttc    10920
catggagggc acagttaagc cgctaaaggc attatccgcc aagtacaatt ttttactctt    10980
cgaagacaga aaatttgcgt acattggtaa tacagtcaaa ttgcagtact ctgcgggtgt    11040
atacagaata gcagaatggg cagacattac gaatgcacac ggtgtggtgg gccaggtat    11100
tgttagcggg ttgaagcagg cggcagaaga agtaacaaag gaacctagag gccttttgat    11160
gttagcagaa ttgtcatgca agggctccct atctactgga gaatatacta agggtagtgt    11220
tgacattgcg aagagcgaca aagattttgt tatcggtctt attgctcaaa gagacatggg    11280
tggaagagat gaaggttacg attggttgat tatgacaccc ggtgtgggtt tagatgacaa    11340
gggagacgca ttgggtcaac agtatagaac cgtggatgat gtggtctcta caggatctga    11400
cattattatt gttggaagag gactatttgc aaagggaagg gatgctaagg tagagggtga    11460
acgttacaga aaagcaggct gggaagcata tttgagaaga tgcggccagc aaaactaaaa    11520
aactgtatta taagtaaatg catgtatact aaactcacia attagagctt caatttaatt    11580
atatcagtta ttaccctatg cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc    11640
gcatcaggaa attgtaaacg ttaatatatt gttaaaattc gcgttaaatt tttgttaaat    11700
cagctcatct ttaaccaat aggccgaaat cggcaaaatc cttataaat caaaagaata    11760
gaccgagata gggttgagtg ttgttccagt ttggaacaag agtccactat taaagaacgt    11820
ggactccaac gtcaaagggc gaaaaaccgt ctatcagggc gatggcccac tacgtgaacc    11880
atcacccata tcaagttttt tggggtcgag gtgccgtaaa gcactaaatc ggaaccctaa    11940
agggagcccc cgatttagag cttagcgggg aaagccggcg aacgtggcga gaaaggaagg    12000
gaagaaagcg aaaggagcgg gcgctagggc gctggcaagt gtagcggta cgctgcgcgt    12060
aaccaccaca cccgccgcgc ttaatgcgcc gctacagggc gcgtcgcgcc attcgccatt    12120
caggctgcgc aactgttggg aagggcgacg ggtgcgggcc tcttcgctat tacgccagct    12180
ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt tttcccagtc    12240
acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgcgag cgcgtaatac gactcactat agggcgaatt    12300
gggtaccggg cccccccac

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 12319

序列名称 : Seq_75

[0054]

序列描述：

序列

<213> 生物名称：引物

<400> 前序列行：

gtagccgatc aacggccgga

20

<212> 类型：DNA

<211> 长度：20

序列名称：Seq_76

序列描述：

序列

<213> 生物名称：引物

<400> 前序列行：

gatcgggtat atgcccattcc ctg

23

<212> 类型：DNA

<211> 长度：23

序列名称：Seq_77

序列描述：

序列

<213> 生物名称：苹果

<400> 前序列行：

gtgtagccga tcaacggccg gacccaggac gccatgcggg tgacgacatc cgtgttggtg	60
aacgagatcc agcggatgat ctggacgaag tcgagcgagc tgctgcccag gacgctggtc	120
gtcgagtctt cggttggtcac tgctcttggt agtggttattc agcacaaaag caagcgtatc	180
atcgtaagtc gaggggggaa cgcaccgtgc agggcaatcg ccatacactc cgtcagcacc	240
aggccgtctg cgccgacaaa cgtcggggtc ttgccagcg ggttcaggtt ccagtagaag	300
tctgggacgc cggttgcccg ctgcagctcg acttgctcca gctccaagcc gatggatttt	360
gcgacagctt ggatgcctag ggctcggggg ctccgctgtt gccagttagc cctgcgacca	420
tatgctgggc tttccgactc atagggataa catgaaaacg gtgctgacct tgtacgtgta	480
gagctttcca aagcttccgc gtccttcag tttctcttct gtactgcat tctgatgcgg	540
cagagccggt gcgtcgacaa gcgtatccgc ggcatagct gggtgacgcg tgggattccg	600
gggtgcattg agagtactag aaaattaaaa tgttcagatg ctatatcacg ggacaaggaa	660
atattcaagt acttcattgg gaactcatgc atcggagcga tggatcattc cgacaccgaa	720
ggatcagtc cccgaccgc cgggattata cgcgaaacc tatagggacg gtacatttct	780
ctaaggaagt tcagggtctc tagaactctg attagcgaga aatgcaatca attttgtgta	840
tatcagctcc tacgactcat tgtgtcgac tctgtgcgtc agggaaatc ccagggaaat	900
cttgcgccc atatctggcc ttccgactgc tagctcgaat gctttaagca attgatgggt	960
ctaaggtaga caagatgggt aagctaggtc atccgaacat ggattgacaa tgaattacag	1020
ctcatgatat tgcttgccgt agacgattcc atgctctcca gagagctcta gttcccttgg	1080

[0055]

gcagacaatc cataagcaat tgattatctc ggtgactgtt accgccggat tgagcatata	1140
tgcagccccc atgtagttcg ccgggtggta ggccgtgcag tccgtcta atccatagacaa	1200
acttccatga ctgcgaacaca atcttgaggc tgcaggcatt gctcctagag acataagcca	1260
gtgccaggc tattttaagg actgctcccc cggggcgaaa gatgatccct ccgtgccgt	1320
tcactccgtc accgaccgca atagtcagtc tggagtgcct cttgaacaat gtccaggttg	1380
actctggctg acatcaaata cctggaaact cctctctatc gttcagtcta catgctcagc	1440
ttctcctcgc agtcagacga accgcggcgc catggaaattc agagtactact tgcaagctga	1500
taatgagcag aaaatttttc aaaaccagat gaaacccgaa cctgaagcct cttacttgat	1560
taatcaaaga cggctctgcaa attacaagcc aaatatitgg aagaacgatt tcctagatca	1620
atctcttatac agcaaatacg atggagatga gtatcggaag ctgtctgaga agttaataga	1680
agaagttaag atttatatat ctgctgaaac aatggattta gtagctaagt tggagctcat	1740
tgacagcgtc cgaaaactag gcctcgcgaa cctcttcgaa aaggaaatca aggaagccct	1800
agacagcatt gcagctatcg aaagcgacaa tctcggcaca agagacgac tctatggtac	1860
tgcattacac ttcaagatcc tcaggcagca tggctataaa gtttcacaag atatatitgg	1920
tagattcatg gatgaaaagg gcacattaga gaaccacat ttcgcgcatt taaaaggaat	1980
gctggaactt ttcgaggcct caaacctggg tttcgaaggt gaagatattt tagatgaggc	2040
gaaagcttcc ttgacgctag ctctcagaga tagtgggtcat atttgttatc cagacagtaa	2100
cctttccagg gacgtagtcc attccctgga gcttccatca caccgcagag tgcagtgggt	2160
tgatgtcaaa tggcaaatca acgcctatga aaaagacatt tgcgcgtca acgccacgtt	2220
actcgaatta gcaaagctta atttcaacgt agttcaggcc caactccaaa aaaacttaag	2280
ggaagcatcc aggtgggtggg caaacctggg catcgcagac aacttgaaat ttgcaagaga	2340
tagactgggt gaattgttcc catgtgctgt gggagtagca ttcgagcctg agcactcatc	2400
ttttagaata tgtcttacca aagtcataca cttagtactg atcatagacg acgtctatga	2460
tatttatggc tcagaggaag agctaaagca cttaccaat gctgttgata ggtgggattc	2520
tagggaaact gagcagcttc cagagtgtat gaagatgtgt ttccaagtac tctacaacac	2580
tacttgtgaa attgctcgtg aaattgagga ggagaatggg tggaaaccaag tattacctca	2640
attgaccaa gtgtgggcag atttttgtaa agcattattg gtggaggcag agtggtataa	2700
taagagccat ataccaaccc ttgaagagta cctaagaaac ggatgcattt catcatcagt	2760
ttcagtgcct ttggttcact cgtttttctc tataactcat gagggaacca aagagatggc	2820
tgattttctt cacaagaatg aagatctttt gtataatata tctctcatcg ttcgcctcaa	2880
caatgatttg ggaacttccg cggtcgaaca agagagagg gattctcctt catcaatcgt	2940
atgttacatg agagaagtga atgcctctga agaaacagct aggaagaaca ttaagggcac	3000
gatagacaat gcatggaaga aagtaaattg aaaatgcttc acaacaaacc aagtgccttt	3060
tctgtcatca ttcattgaaca atgccacaaa catggcacgt gtggcgcaca gcctttacaa	3120
agatggagat gggtttggtg accaagagaa agggcctcgg acccacatcc tgtctttact	3180
attccaacct ctgttaaact agtactcata tagtttggaa taaatagcag caaaagttag	3240
cggttcagtt cgtcatggat aaattaatct ttacagtttg taacgttggt gccaaagatt	3300
atgagcggcc gctcacttct aatctatatg gtgtcctaac cttttacatt gatgaatcaa	3360
gaccctgggc ctatgatacc gccagctttc gacagcccga gacctcgagc accaaagtta	3420
tgttcaaagg aggcattatg ttgaatatga tggttgtag cttctcagag acatctgcag	3480
atgcctaagg aaccgtattg tagaagcatg agccaggat atagaacaac acttagaaaa	3540
aaagtagtcc tagatcccag aactatttgc tatgttacgc tttcatataa tctagacct	3600
ctctgattc atctactcta tagtcatatt ctgaaatagt catcatgctc agatttcagt	3660
aacgttaagt ggatcaaaga catgatctct tactgagagt tattctgtgt ctgacgaaat	3720

[0056]

atgtttgtga tatatatata tgtacgttaa aagtccgtg gagttaccag tgattgacca	3780
atgttttate ttctacagtt ctgcctgtct accccattct agctgtacct gactacagaa	3840
tagtttaatt gtggttgacc ccacagtcgg aggcggagga atacagcacc gatgtggcct	3900
gtctccatcc agattggcac gcaattttta cagcggaaa agatcgagat agagtacgac	3960
tttaaattha gtccccggcg gcttctatth tagaatatth gagatttgat tctcaagcaa	4020
tigatttggg tgggtcacc tcaattggat aatatactc attgctcggc tacttcaact	4080
catcaatcac cgicataccc cgcataaac cctccattcc cacgatgtcg tccaagtcgc	4140
aattgactta cgggtctcga gccagcaagc accccaatcc tctggcaaag agactttttg	4200
agattgccga agcaaagaag acaaacgtta ccgtctctgc tgatgtgacg acaacccgag	4260
aactcctgga cctcgtcagc cgtacggaag ctggtggatc caatacatat gccgtctagc	4320
aatggactaa tcaacttttg atgatacagg tctcggctcc tacatcgccg tcatcaagac	4380
acacatcgac atcctcaccg atttcagcgt cgacactatc aatggcctga atgtgtcggc	4440
tcaaaagcac aactttttga tcttcgagga ccgcaaattc atcgacatcg gcaataccgt	4500
ccagaagcaa taccacggcg gtgctctgag gatctccgaa tgggcccaca ttatcaactg	4560
cagcgttctc cctggcgagg gcatcgtcga ggctctggcc cagaccgcat ctgcgcaaga	4620
cttccctat ggtcctgaga gaggactgtt ggtcctggca gagatgacct ccaaaggatc	4680
gctggctacg ggcgagtata ccaaggcatc ggttgactac gctcgcaaat acaagaactt	4740
cgttatgggt ttcgtgtcga cgcgggccct gacggaagtg cagtcggatg tgtcttcagc	4800
ctcggaggat gaagatttcg tggctttcac gacgggtgtg aacctctctt ccaaaggaga	4860
taagcttggg cagcaatacc agactcctgc atcgctatt ggacgcggtg ccgactttat	4920
catcgccggt cgaggcatct acgctgtctc cgaccgggtt gaagctgcac agcggtagca	4980
gaaagaaggc tgggaagctt atatggccag agtatcggc aagtcatgat ttcctcttgg	5040
agcaaaagtg tagtccagt acgagtgtt tggaggaagg ctgcatacat tgtgcctgtc	5100
attaaacgat gagctcgtc gtattggccc ctgtaatgcc atgttttccg ccccaatcg	5160
tcaaggtttt ccttttgta gattcctacc agtcatctag caagtgaggt aagctttgcc	5220
agaaacgcca aggctttatc tatgtagtcg ataagcaaag tggactgata gcttaatatg	5280
gaaggtccct caggacaagt cgacctgtgc agaagagata acagcttggc atcacgcac	5340
agtgcctcct ctcagacagg ctcttcaat atcatcttct gtcttagtaa cggccgccag	5400
tgtgctggaa ttcgccctta attccagctg accaccatgt cacttctaata ctatatggtg	5460
tcctaacctt ttacattgat gaatcaagac cctgggccta tgataccgcc agctttcgac	5520
agcccgagac ctcgagcacc aaagtattgt tcaaaggagg catattgttg aatatgatgg	5580
ttgttagctt ctcagagaca tctgcagatg cctaaggaa cgtattgtag aagcatgagc	5640
caggatatata gaacaacact tagaaaaaaa gtagtcctag atcccagaca ctattgctat	5700
gttacgcttt catataatct agaccctctc ctgattcacc tactctatag tcatattctg	5760
aaatagtcac catgtcacc atcctttctt ccgattatgg gtcaagtggc ttttcaccaa	5820
cgagcccgtc gacagagcag agcaaagact gagctctcca gccagcacgc cagccgccac	5880
cagcagggcc agctcctgtg cgtttctacc tggctgttcg gggctggccc cttagcagcc	5940
catcatgtgc agcattgcct tttgagggcc caggactgtc cctcccccaa cgggtgccgac	6000
ttcaatggaa ggcatgaaaa cagagatttg caaatcacca ttcacactgc tcgggagtta	6060
gcgcgcaac atctatcaga atacttttag aggcagtgtc ctacttttt catcacggtc	6120
agagtgttgc tgctttgcac attctgtgcg ggatcctgac cagtggcaag ataaatcgcc	6180
gtgacaacal tggcggcatg ggcgttgaac cctccagag cccctgcaac agcactgcc	6240
accaggttct tggagacgtt gagctccacg agggcctcga cactggtctt gagtgtttct	6300
cgaaccgcat gttcaggat tgtcgcctgc gcggtcacgg tcttgccctc cccctcaatc	6360

[0057]

cagttcacag cgcaggttt ttatccgca cagaagttcc ccgacagcga gacgacatcc	6420
atagactcga acccgtgctt ttgcatcgcc tccagcgctt gctcaacccc tttggagatc	6480
atgttcatgc ccattgcgtc gcccggtgctg gccgtgaacc ggatatagag gtccgagcca	6540
acggccgtgg ccttaatgtt ttgaagccga gcgaagcggc tggatgcatt gaacgcgtcc	6600
tcaatgatga gaaatcctgc atcagagccc agccattgtt ttgcggcgcc ggcttcttcg	6660
agactgggaa atcgaacgat aggcgctcgg gtcatgccat cggccagcac cagagcagtc	6720
acgcctccac cggcggttgat cgccatgcag ccacgattcg tgctcgcaac cagcgcgccc	6780
tctgtcgtgg acatggggag aaacaccatc ttccggttga ttttgatcgg accggcgacg	6840
cccacaggga tgggcatata cccgatcacg tgcagctttt gtcccttta gtgagggtta	6900
attgcgcgct tggcgtaatc atggtcatag ctgtttcctg tgtgaaattg ttatccgctc	6960
acaattccac acaacatagg agccggaagc ataaagtgtg aagcctgggg tgcctaataa	7020
gtgaggtaac tcacattaat tgcgttgcgc tctactgccc ctttccagtc gggaaacctg	7080
tcgtgccagc tgcattaatg aatcgcccaa cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg	7140
cgctcttccg ctctctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg	7200
gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga	7260
aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg	7320
gcgtttttcc ataggctccg cccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag	7380
aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc	7440
gtgcgctctc ctgttccgac cctgcgcgtt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg	7500
ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggg ttaggtcggt	7560
cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaacce cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc	7620
ggtaactatc gctttagtc caaccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc	7680
actggttaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcgggt ctacagagtt cttgaagtgg	7740
tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca	7800
gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc	7860
ggtgggtttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat	7920
cctttgatct ttctacggg gtctgacgct cagtggaaacg aaaactcacg ttaagggatt	7980
ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaaatgaagt	8040
tttaaataca tctaaagtat atatgagtaa acttggctctg acagttacca atgcttaatc	8100
agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc	8160
gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg gcccagtgcc tgcaatgata	8220
ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg	8280
gccgagcgca gaagtgggtc tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc	8340
cgggaagcta gagtaagtag ttccgaggtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct	8400
acaggcatcg tgggtgcacg ctgcgtggtt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa	8460
cgatcaaggc gagttacatg atccccatg ttgtgcaaaa aagcgggttag ctcttccggt	8520
cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtggtat cactcatggt tatggcagca	8580
ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtagtlac	8640
tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgta	8700
atacgggata ataccgcgcc acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt	8760
tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc	8820
actcgtgcac ccaactgate ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca	8880
aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggc cgacacggaa atgttgaata	8940
ctcatactct tcctttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc	9000

[0058]

ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc	9060
cgaaaagtgc cacctgaacg aagcatctgt gcttcatttt gtagaacaaa aatgcaacgc	9120
<u>gagagcgcta atttttcaaa caaagaatct gagctgcatt tttacagaac agaaatgcaa</u>	9180
cgcgaaagcg ctattttacc aacgaagaat ctgtgcttca tttttgtaaa acaaaaatgc	9240
aacgcgagag cgctaatttt tcaaacaag aatctgagct gcatttttac agaacagaaa	9300
tgcaacgcga gagcgctatt ttaccaacaa agaacttata cttctttttt gttctacaaa	9360
aatgcatccc gagagcgcta tttttctaac aaagcatctt agattacttt tttctcctt	9420
tgtgcgctct ataatgcagt ctcttgataa ctttttgca tgtagggtccg ttaagggttag	9480
aagaaggcta ctttggtgtc tattttctct tccataaaaa aagcctgact ccacttccc	9540
cgtttactga ttactagcga agctgcgggt gcattttttc aagataaagg catccccgat	9600
tatattctat accgatgtgg attgcgcata ctttgtaac agaaagtat agcgttgatg	9660
attcttcatt ggtagaaaa ttatgaacgg tttcttctat tttgtctcta tatactacgt	9720
ataggaaatg tttacatttt cgtattgttt tcgattcact ctatgaatag ttcttactac	9780
aatttttttg tctaaagagt aatactagag ataaacataa aaaatgtaga ggtcgagttt	9840
agatgcaagt tcaaggagcg aaagggtgat gggtaggtta tatagggtata tagcacagag	9900
atatatagca aagagatact tttagcaat gtttggtgaa gcggtattcg caatatttta	9960
gtagctcggt acagtcgggt gcgtttttgg tttttgaaa gtgcgtcttc agagcgcttt	10020
tggttttcaa aagcgctcig aagttcctat actttctaga gaataggaac ttcggaatag	10080
gaacttcaaa gcgtttccga aaacgagcgc ttccgaaaat gcaacgcgag ctgcgcacat	10140
acagctcact gtacacgtcg cacctatata tgcgtgttgc ctgtatatat atatacatga	10200
gaagaacggc atagtgcgtg tttatgccta aatgcgtact tataatgcgtc tatttatgta	10260
ggatgaaagg tagtctagta cctcctgtga tattatccca ttccatgcgg ggtatcgat	10320
gcttcttca gcactaccct ttagctgttc tatatgctgc cactcctcaa ttggattagt	10380
ctcatccttc aatgctatca tttcctttga tattggatca tactaagaaa ccattattat	10440
catgacatta acctataaaa ataggcgtat cagcaggccc tttcgtctcg cgcgtttcgg	10500
tgatgacgggt gaaaacctct gacacatgca gctcccggag acggtcacag cttgtctgta	10560
agcggatgcc gggagcagac aagcccgtca gggcgcgtca gcgggtgttg gcgggtgtcg	10620
gggctggtt aactatgcgg catcagagca gattgtactg agagtgcacc ataccacagc	10680
ttttcaattc aattcatcat ttttttttta ttcttttttt tgatttcgggt ttctttgaaa	10740
tttttttgat tcggtaatct ccgaacagaa ggaagaacga aggaaggagc acagacttag	10800
attggtatat atacgcatat gtagtggtga agaacaatga aattgcccag tattcttaac	10860
ccaactgcac agaacaaaaa cctgcaggaa acgaagataa atcatgtcga aagctacata	10920
taaggaaagt gctgctactc atcctagtc tgttgctgcc aagctattta atatcatgca	10980
cgaaaagcaa acaaacttgt gtgcttcatt ggatgttcgt accaccaagg aattactgga	11040
gttagttgaa gcattaggtc ccaaaatttg tttactaaaa acacatgtgg atatcttgac	11100
tgatttttcc atggagggca cagttaagcc gctaaaggca ttatccgcca agtacaattt	11160
tttactcttc gaagacagaa aatttgctga catttggtaat acagtcaaat tgcagtactc	11220
tgcgggtgta tacagaatag cagaatgggc agacattacg aatgcacacg gtgtggtggg	11280
cccaggatatt gtiagcgggt tgaagcaggc ggcagaagaa gtaacaaagg aacctagagg	11340
ccttttgatg ttagcagaat tgtcatgcaa gggctcccta tctactggag aatatactaa	11400
gggtactgtt gacattgcga agagcgacaa agattttgtt atcggcttta ttgctcaaag	11460
agacatgggt ggaagagatg aaggttacga ttggttgatt atgacaccg gtgtgggttt	11520
agatgacaag ggagacgcat tgggtcaaca gtatagaacc gtggatgatg tggctcttac	11580
aggatctgac attattattg ttggaagagg actatttgca aagggaaggg atgctaaggt	11640

[0059]

```

agagggtgaa cggttacagaa aagcaggctg ggaagcatat ttgagaagat gcggccagca 11700
aaactaaaaa actgtattat aagtaaagtc atgtatacta aactcacaaa ttagagcttc 11760
aatttaatta tatcagttat taccctatgc ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga 11820
gaaaataaccg catcaggaaa ttgtaaacgt taatattttg ttaaaattcg cgttaaattt 11880
ttgttaaate agctcatttt ttaaccaata ggccgaaatc ggcaaaatcc cttataaatc 11940
aaaagaatag accgagatag ggttgagtgt tgttccagtt tggaacaaga gtccactatt 12000
aaagaacgtg gactccaacg tcaaaggcg aaaaaccgtc tatcaggcg atggccact 12060
acgtgaacca lcaccclaat caagtttttt ggggtcgagg tgccgtaaag cactaaatcg 12120
gaaccctaaa gggagcccc gatttagagc ttgacgggga aagccggcga acgtggcgag 12180
aaaggaaggg aagaaagcga aaggagcggg cgctagggcg ctggcaagt tagcggtcac 12240
gctgcgcgta accaccacac ccgccgcgt taatgcgcg ctacaggcg cgtcgcgcca 12300
ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggctt cttegtatt 12360
acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt 12420
ttcccagtea cgacgttgta aaacgacggc cagtgcgcgc gcgtaatacg actcactata 12480
gggcgaattg ggtaccgggc cccccac 12508

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 12508

序列名称 : Seq_78

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 苹果

<400> 前序列行 :

```

MEFRVHLQAD NEQKIFQNM KPEPEASYLI NQRRSANYKP NIWKNDFLDQ SLISKYDGDE 60
YRKLSEKLIE EVKIYISAET MDLVAKLELI DSVRKLGLAN LFEKEIKEAL DSIAAIESDN 120
LGTRDDLYGT ALHFKILRQH GYKVSQDIFG RFMDEKGTLE NHHFAHLKGM LELFEASNLG 180
FEGEDILDEA KASLTALRD SGHICYPDSN LSRDVVHSLE LPSHRRVQWF DVKWQINAYE 240
KDICRVNATL LELAKLNFV VQAQLQKNLR EASRWWANLG IADNLKFARD RLVECFACAV 300
GVAFEPEHSS FRICLTKVIN LVLIIDVDYD IYGSEEELKH FTNAVDRWDS RETEQLPECM 360
KMCFQVLYNT TCEIAREIEE ENGWNQVLPQ LTKVWADFCK ALLVEAEWYN KSHIPTLECY 420
LRNGCISSSV SVLLVHSFFS ITHEGTKEMA DFLHKNEPLL YNISLIVRLN NDLGTSAAEQ 480
ERGDSPSSIV CYMREVNASE ETARKNIKGM IDNAWKKVNG KCFTTNQVPF LSSFMNNATN 540
MARVAHSLYK DGDGFGDQEK GPRTHLSLL FQPLVN 576

```

<212> 类型 : PRT

[0060]

<211> 长度 : 576

序列名称 : Seq_79

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 挪威云杉

<400> 前序列行 :

atgcgccggt cggctgacta cggaccaaca atctggtcac tcgattatat tcaaagtctc	60
gactccaagt acaaggggga gagttatgcg cgccagctcg aaaagttgaa ggagcaagtc	120
tccgccatgc tgcagcaaga taacaaggtc gtggatcttg accccctgca ccagctggag	180
ctcatcgaca atctccaccg gttgggcgtg agctaccatt tcgaagatga gatcaagcgt	240
accctcgacc gaattcataa caagaatacg aacgagaatc tctatgccac agctttgaag	300
ttccgcatcc ttccggcagta cggttataac acgccctgta aggaaacatt ctctcacttt	360
atggatgaga agggcagctt taagtcacgc tctcattctg atgactgcaa gggcatgttg	420
gccctttacg aggcagcgta tctgctcgtg gaggaagagt cgtcaatctt ccgcgacgcc	480
attcggttta cgacagctta cctcaaggaa tgggttgtca agcacgatat cgacaagaat	540
gatgacgaat atctttgtac cctgggtgaag cacgcgctgg agctccccctt gcattggcgc	600
atgcgtcgac tggaagcccg gtggttcacg gatgtttacg agtccggacc cgacatgaac	660
cctattttgc ttgagctcgc aaagttggat tacaatatcg ttcaggcgat tcatcaagaa	720
gacctgaagt atgtctcccg ctggtggatg aagaccggcc tcggtgaaaa gttgaacttc	780
gctcgtgacg gagtgggtga gaatttcctt tggactgttg gcgacatctt cgaacctcaa	840
tttggttact gccgtcgcat gagtgcaatg gtcaactgtc tgctcacttc catlgatgac	900
gtctacgatg tgtatggaac cctcgacgaa cttgagctgt tcactgatgc tgcgaacgt	960
tgggacgcaa ccgcgactga gcagctgccg tactatatga agctgtgctt ccacgctctc	1020
tacaacagcg tgaatgaaat gggctttatc gcactgcgag atcaggaagt cggtatgac	1080

[0061]

```

attccatacc tcaagaaggc ctgggctgac cagtgtgaaga gctatttggg ggaggccaag      1140

tggtacaact ctgggtatat cccaccctc caggaatata tggagaatgc atggatttcg      1200

gttactgcgc ccgtcatgtt gcttcatgca tatgcgttca ccgccaaccc tactactaag      1260

gaagctcttg agtttctgca agattcaccc gacatcattc gtatcagttc catgattgtc      1320

cgacttgaag atgacctggg aaccagctct gatgagctga agcgcgggga cgtccctaag      1380

tcgatccagt gctacatgca cgagacgggt gtgtcagaag atgaggcccg tgaacatatc      1440

cgagacctta ttgctgagac atggatgaag atgaacagcg cacgcttcgg aaatccgcca      1500

tatttgccgg atgtctttat cgggattgcc atgaacttgg tgcggatgtc tcagtgtatg      1560

tacctttatg gagacgggca cggagttcag gaaaacacca aggaccgagt tctgtcgtc      1620

tttattgacc ccatcccata g                                          1641
<212> 类型 : DNA
<211> 长度 : 1641
      序列名称 : Seq_80
      序列描述 :

```

序列

```

-----
<213> 生物名称 : 挪威云杉
<400> 前序列行 :
MRRSADYGPT IWSFDYIQLS DSKYKGESYA RQLEKLKEQV SAMLQQDNKV VLDLPLHGLE      60
LIDNLHRLGV SYHFEDEIKR TLDRIHNKNT NENLYATALK FRILRQYGYN TPVKETFSHF      120
MDEKGSFKSS SHSDDCKGML ALYEAAYLLV EEESIFRDA IRFTTAYLKE WVKHHDIDKN      180
DDEYLCTLVK HALELPLHWR MRRLEARWFI DVYESGPD MN PILLELAKLD YNIVQAIHQE      240
DLKYVSRWWM KTGLGEKLN F ARDRVVENFF WTVGDIFEPQ FGYCRRMSAM VNCLTSIDD      300
VYDVYGTLD E LELFTDAVER WDATATEQLP YYMKLCFHAL YNSVNEMGFI ALRDQEVGMI      360
IPYLKKA WAD QCKSYLVEAK WYNSGYIPTL QEYMENAWIS VTAPVMLLHA YAFTANPITK      420
EALEFLQDSP DIIRISSMIV RLEDDLGTSS DELKRGDVPK SIQCYMHETG VSEDEAREHI      480
RDLIAETWMK MNSARFGNPP YLPDVFIGIA MNLVRMSQCM YLYGDGHGVQ ENTKDRVLSL      540
FIDPIP                                          546
<212> 类型 : PRT
<211> 长度 : 546
      序列名称 : Seq_81
      序列描述 :

```

序列

[0062]

 <213> 生物名称：挪威云杉

<400> 前序列行：

cacgtgttcg cagcacagct tagagaggtc gtaattggta agataggttg ccagctaaag	60
taaactatat aaattatata agcagttctg ccagtttgct aatacgccaa tctcctataa	120
tgcccatgcg ttactactgc aatagtgccc agccagtgtc ttctatcagt tgcccatggt	180
tgcaccataa gcctgatagt cccatcatca gatgcagagc caatctgctt accgtctgaa	240
gagcgggtgac tacataagac cagaaaccgc cagaagagcg taagagggtc caagtcgca	300
tcattactcg accaattcgt tcacgcggcc agatccagcc cctggcggtc catcgtgcag	360
gcagtgtcaa ttatgcgtat ttacagaaca gcaagagcag aagctgactt tgggagtggg	420
gggacagggt atggttggag tataatatac tcgtggatat tgtcaccaag cagacaagtt	480
gaacaagttg ggaaccatta tatcagcatg ggcttcttta gatcaacctc aaagtgttta	540
tttatactct gaagacgaga cataaagagc ggatagagca actgaggaat tttttgatgc	600
caatatctct ccaggataga tctgctgtgg ttcaattgtg atgaactgaa gaatactgcg	660
tgatttatga aaagaggttt ccacaggacg agctatttac acacgatagt tcttggata	720
cggagatcgg gcttttctag gtttcaattt agagcgaaat gagatatcaa caagccagaa	780
gaatacagga gcggctatac ggcaccggct tgctaaagct ttattggacc taaacgagct	840
cttaaagtaa catgattttg gcacagtga agagatttaa atcgggaaat caacggcctg	900
ccatctcggc tgagccgate aacatattct attcttcac ccactaaaat aattctacat	960
gaagagaatg tctagatcaa ctaactcaga tggggaacga tggcggtcac ttgctgattc	1020
tatcataagg ctggcgttgt ctgcgaatca tacactgccg aatctgctgg gctatacact	1080
gacggatgga cagcggcgag tacagcctga acggcgaaac accaggcctt ctatgttttc	1140
ccttcagta tgaccataga cctcctcag tactattatt ccaacgcatt ctctgatttt	1200
ttgactatca gtttactgtt cggggtcctt ctacgaggga tctgttgaga ataagcacgg	1260
gtgacggatc ccgtgatcc ttctgctccg tccgaataca atatcacatc gaagtaagac	1320
acaagcgagt tcccgattgc aagtattaac acccttagat aacatcgttc agcctcgtct	1380
caagggatat aatcaacact gagctctatg gcctcgtat ttgagtcaac tcacattgac	1440
caacgcggcc gcatgcgccg gtcggctgac tacggaccaa caatctggtc attcgattat	1500
attcaaagtc tcgactccaa gtacaagggg gagagtatat cgccagct cgaaaagttg	1560
aaggagcaag tctccgcat gctgcagcaa gataacaagg tcgtggatct tgacccctg	1620
caccagctgg agctcatga caatctccac cggttggcg tgagctacca tttcgaagat	1680
gagatcaagc gtaccctcga ccgaattcat aacaagaata cgaacgagaa tctctatgcc	1740
acagctttga agttccgcat ccttcggcag tacggttata acacgcctgt taaggaaaca	1800
ttctctcact ttatggatga gaagggcagc tttaagtcca gctctcattc tgatgactgc	1860
aagggcatgt tggcccttta cgaggcagcg tatctgctcg tggaggaaga gtcgtcaatc	1920
ttccgcgacg ccattcgggt tacgacagct tacctcaagg aatgggttgt caagcacgat	1980
atcgacaaga atgatgacga atatctttgt accctggatga agcacgcgt ggagctcccc	2040
ttgcattggc gcatgcgtcg actggaagcc cgggtgttca tcgatgttta cgagtcgga	2100
cccgacatga accctatttt gcttgagctc gcaaagttgg attacaatat cgttcaggcg	2160
attcatcaag aagacctgaa gtatgtctcc cgctgggtga tgaagaccgg cctcggtgaa	2220
aagttgaact tcgctcgtga tcgagtgggt gagaatttct tttggactgt tggcgacatc	2280
ttcgaacctc aatttgggtta ctgccgtcgc atgagtgcga lggtaactg tctgctcact	2340
tccattgatg acgtctacga tgtgtatgga accctcgacg aacttgagct gttcactgat	2400
gctgtcgaac gttgggacgc aaccgcgact gagcagctgc cgtactatat gaagctgtgc	2460

[0063]

ttccacgctc tctacaacag cgtgaatgaa atgggcttta tcgcaactgcg agatcaggaa	2520
gtcggtatga tcattccata cctcaagaag gccctgggctg accagtgtaa gagctatattg	2580
gtggaggcca agtggtacaa ctctgggtat atccccaccc tccaggaata catggagaat	2640
gcatggattt cggttactgc gcccgctcatg ttgcttcctg catatgcgtt caccgccaac	2700
cctatcacta aggaagctct tgagtttctg caagattcac cggacatcat tcgtatcagt	2760
tccatgattg tccgacttga agatgacctg ggaaccagct ctgatgagct gaagcgcggg	2820
gacgtcccta agtcgatcca gtgctacatg cagcagacgg gtgtgtcaga agatgaggcc	2880
cgtgaacata tccgagacct tattgctgag acatggatga agatgaacag cgcacgcctc	2940
ggaaatccgc catatttgcc ggatgtcttt atcgggattg ccatgaactt ggtgcggatg	3000
tctcagtgtg tgtaccttta tggagacggg caggagttc agggaaacac caaggaccga	3060
gttctgtcgc tctttattga ccccatccca tagcggccgc ggttttatcag actgaatatg	3120
acagtccctg gcatttgatg agataatgac attgtttctt ctgacttta tgtatctcta	3180
agggcctgtc ctaaactacta catatcttcc cgaccatata ggatcatgga ctattttcta	3240
gatacaagcg cagtacttat gcctatgttt accggggact tactcgggac acttgatccg	3300
gttggagctg tttctgtctg ccaatgctac tgtagaagac tgcattgcac actactacgg	3360
cgaaggggcc cagcagggcg actacgagca tggaaatgtt atggctaata gccactgatt	3420
cattcacatt cctagcttac agccgtataa aatagagata cagcattcgg aacgcatcat	3480
tcttacttag gattgaattg atagggttga gtaggcgac ccacggcgtg cagcggtgcc	3540
acgttctgcc acgttctact atgcgtggat gataggatat cgatttcagt aacgttaagt	3600
ggatcaaaga catgatctct tactgagagt tattctgtgt ctgacgaaat atgttgtgta	3660
tatatatata tgtacgttaa aagttccgtg gagttaccag tgattgacca atgttttata	3720
ttctacagtt ctgcctgtct accccattct agctgtacct gactacagaa tagtttaatt	3780
gtggttgacc ccacagtcgg aggcggagga atacagcacc gatgtggcct gtctccatcc	3840
agattggcac gcaattttta cagcgggaaa agatcgagat agagtacgac tttaaattta	3900
gtccccggcg gcttctatth tagaatatth gagatttgat tctcaagcaa ttgatttggt	3960
tgggtcacc ccaattggat aatatacctc attgctcggc tacttcaact catcaatcac	4020
cgtcataccc cgcataatac cctccattcc cagcatgtcg tccaagtcgc aattgactta	4080
cgggtgctga gccagcaagc accccaatcc tctggcaaag agactttttg agattgccga	4140
agcaaagaag acaaacgtta ccgtctctgc tgaatgtgacg acaaccgag aactcctgga	4200
cctcgtgac cgtacggaag ctgttggatc caatacatat gccgtctagc aatggactaa	4260
tcaacttttg atgatacagg tctcgggtccc tacatcgccg tcatcaagac acacatcgac	4320
atcctcaccg atttcagcgt cgacactatc aatggcctga atgtgctggc tcaaaagcac	4380
aactttttga tcttcgagga ccgcaaattc atcgacatcg gcaataccgt ccagaagcaa	4440
taccacggcg gtgctctgag gatctccgaa tgggcccaca ttatcaactg cagcgttctc	4500
cctggcagg gcatcgctga ggctctggcc cagaccgcat ctgcgcaaga ctccccctat	4560
ggctctgaga gaggactgtt ggctctggca gagatgacct ccaaaggatc gctggctacg	4620
ggcgagtata ccaaggcatc ggttgactac gctcgcaaat acaagaactt cgttatgggt	4680
ttcgtgtcga cgcgggccct gacggaagtg cagtcggatg tgtcttcagc ctcgaggat	4740
gaagatttcg tggctctcac gacgggtgtg aacctctctt ccaaaggaga taagcttga	4800
cagcaatacc agactcctgc atcggtatt ggacgcgggt ccgactttat catcgccggt	4860
cgaggcatct acgtcgtcc cgaccgggtt gaagctgcac agcggtagca gaaagaaggc	4920
tgggaagctt atatggccag agtatgcggc aagtcatgat ttctctttgg agcaaaagt	4980
tagtgccagt acgagtgttg tggaggaagg ctgcatacat tgtgcctgtc attaaacgat	5040
gagctcgtcc gtattggccc ctgtaatgcc atgttttccg ccccaatcg tcaaggtttt	5100

[0064]

ccctttgtta gattcctacc agtcatctag caagtgaggt aagctttgcc agaaacgcca	5160
aggctttatc tatgtagtcg ataagcaaag tggactgata gcttaatatg gaaggccct	5220
caggacaagt cgacctgtgc agaagagata acagcttgge atcacgcac agtgccctct	5280
ctcagacagg ctcttcaat atcatcttct gtcggtttat cagactgaat atgacagtcc	5340
tgcgcatttg atgagataat gacattgttt ctctttgact ttatgtatct ctaagggcct	5400
gtcctaaaca ctacatatct ttccgacct atcggatcat ggactatitt ctagatacaa	5460
gcgcagtact tatgcctatg ttaccgggg acttactcgg gacacttgat ccggttgag	5520
ctgtttctgc tgcccaatgc tactgtagaa gactgcattg cactacta cggcgaaagg	5580
gcccagcag gcgactacga gcatggaaat gttatggcta atagccactg attcattcac	5640
attcctagct tacagccgta taaaatagag atacagcatt cggaacgcac cattcttcac	5700
taggagtga ttgatagggt tgagtaggcg atcccacggc gtgcagcggg gccacgttct	5760
gccacgttct actatgcgtg gatgatagga tatcccaatt gtcagattta gcctagaggc	5820
gtaatcagct agctaacact accgtttcgg ccctgtctcg aatccctccc tatggtgccg	5880
atcccaacct gccgaatgtg gtcggatccc cctgcgaccc tccgatcccc tggacggatt	5940
gcggcggttg attttcagta gcataatttc cctcagtaca tctgactctt agtcagaaat	6000
gctaataaat acacgtctgt gtatatactg aatgaattcg ttagcgaaac cggaggctct	6060
ctctcccaa acgttcttgt tcaggaagac aggacgtcaa taagaaacac caacagtctt	6120
cccacggccg caccaaaccc aacgatatgg acactttcac atccctgacg ccaccgtgga	6180
atgcaggagg gggcttcag cgatcctatt tcgactcggc ggccctcagca gggaaggccg	6240
ccagggactt tctccggagc cagcaacgtt ttcccgagc atgccttgtt atatgcatcg	6300
gtacgcttt gtccgtatgg atgtgcctg ttaggatccc aatcacaatc gagggcttca	6360
cgacgtcgt gacgataccc cagaccagc gcttgatca aggagacacc attctgcaag	6420
tgcattgctg ccaagtgcg aagatccgga tccataatga taggtaagtt aggcacaaca	6480
cagagtctg ccgtgagacc aactactaac agacatgcag tcatacagag tctcctatcc	6540
agcatagcga agcatggctg gaagctgttc gccaggcctg tgggagcagc gctgaggccg	6600
aaacgcagat gctggccatg caccgaggtc ttgcgaagcg agacattgca agtgtatcgg	6660
tatcgictgc cgacggtagt ggccaagcgc aagcatatca gcaggcttat ctcttcaagt	6720
gtggtgatgt cgccggggct ttgtataaga gcgatgatgc ccggttgaac cgtgcctttg	6780
tacacaatat cagcatcggc gcctatctta atagccgggc aacaggagct ttatcgatca	6840
gcgcacgtgc agcttttgtt cccttttagtg agggtttaatt gcgcgcttgg cgtaatcatg	6900
gtcatagctg ttctcttgtt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acataggagc	6960
cgggaagcata aagtgtaaag cctggggctg ctaatgagtg aggttaactca cattaatgc	7020
gttgcgctca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat	7080
cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgtcac	7140
tgactcgtg cgctcggctg ttccgctgcg gcgagcggtc tcagctcact caaaggcggg	7200
aatacgttta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca	7260
gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc	7320
ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact	7380
ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgtctcctg ttccgacct	7440
gccgttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc ttctcatag	7500
ctcacgtgt aggtatctca gttcgggtga ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca	7560
cgaaccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtcaa	7620
cccggtaaga cagacitct cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc	7680
gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag	7740

[0065]

aaggacagta	tttggatatct	gcgctctgct	gaagccagtt	accttcggaa	aaagagttgg	7800
tagctcttga	tccggcaaac	aaaccaccgc	tggtagcggg	ggtttttttg	tttgcaagca	7860
gcagattacg	cgcagaaaaa	aaggatctca	agaagatcct	ttgatctttt	ctacggggtc	7920
tgacgctcag	tggaacgaaa	actcacgtta	agggattttg	gtcatgagat	tatcaaaaag	7980
gatcttcacc	tagatccttt	taaattaaaa	atgaagtttt	aaatcaatct	aaagtatata	8040
tgagtaaact	tggtctgaca	gttaccaatg	cttaatcagt	gaggcaccta	tctcagcgat	8100
ctgtctattt	cgttcatcca	tagttgcctg	actccccgct	gtgtagataa	ctacgatacg	8160
ggagggctta	ccatctggcc	ccagtgcigc	aalgataccg	cgagaccac	gctcaccggc	8220
tccagattta	tcagcaataa	accagccagc	cggaaaggcc	gagcgcagaa	gtggtcctgc	8280
aactttatcc	gcctccatcc	agtctattaa	ttgttgccgg	gaagctagag	taagtagttc	8340
gccagttaat	agtttgcgca	acgttgttgc	cattgctaca	ggcatcgttg	tgtcacgctc	8400
gtcgtttggg	atggcttcat	tcagttccgg	ttcccaacga	tcaaggcgag	ttacatgatc	8460
ccccatgttg	tgcaaaaaag	cggttagctc	cttcggctct	ccgatcgttg	tcagaagtaa	8520
gttggccgca	gtgttatcac	tcattggttat	ggcagcactg	cataattctc	ttactgtcat	8580
gccatccgta	agatgctttt	ctgtgactgg	tgagtactca	accaagtcac	tctgagaata	8640
gtgtatgcgg	cgaccgagtt	gctcttgccc	ggcgtcaata	cgggataata	ccgcgccaca	8700
tagcagaact	ttaaaagtgc	tcatcattgg	aaaacgttct	tcggggcgaa	aactctcaag	8760
gatcttaccg	ctgttgagat	ccagttcgat	gtaaccact	cgtgcacca	actgatcttc	8820
agcatctttt	actttcacca	gcgtttctgg	gtgagcaaaa	acaggaaggc	aaaatgccgc	8880
aaaaaaggga	ataagggcga	cacggaaatg	ttgaatactc	atactcttcc	ttttcaata	8940
ttattgaagc	atttatcagg	gttattgtct	catgagcgga	tacatatattg	aatgtattta	9000
gaaaaataaa	caaatagggg	ttccgcgcac	atttccccga	aaagtgccac	ctgaacgaag	9060
catctgtgct	tcatttttga	gaacaaaaat	gcaacgcgag	agcgctaatt	tttcaaacaa	9120
agaatctgag	ctgcattttt	acagaacaga	aatgcaacgc	gaaagcgcta	ttttaccaac	9180
gaagaatctg	tgcttcattt	ttgtaaaaca	aaaatgcaac	gcgagagcgc	taatttttca	9240
aacaaagaat	ctgagctgca	tttttacaga	acagaaatgc	aacgcgagag	cgtattttta	9300
ccaacaaaga	atctataact	cttttttgtt	ctacaaaaat	gcatcccgag	agcgctattt	9360
ttctaacaaa	gcactcttaga	ttactttttt	tctcctttgt	gcgctctata	atgcagtctc	9420
ttgataactt	tttgcaactgt	aggtccgtta	aggttagaag	aaggctactt	tggtgtctat	9480
tttctcttcc	ataaaaaaag	cctgactcca	cttcccgcgt	ttactgatta	ctagcgaagc	9540
tgcgggtgca	ttttttcaag	ataaaggcat	ccccgattat	attctatacc	gatgtggatt	9600
gcgcatactt	tgtgaacaga	aagtgatagc	gttgatgatt	cttcattggg	cagaaaatta	9660
tgaacggttt	cttctatttt	gtctctatat	actacgtata	ggaaatgttt	acattttcgt	9720
attgttttcg	attcactcta	tgaatagttc	ttactacaat	ttttttgtct	aaagagtaat	9780
actagagata	aacataaaaa	atgtagaggt	cgagtttaga	tgcaagttca	aggagcgaaa	9840
ggiggatggg	taggttatat	agggatatag	cacagagata	tatagcaaag	agatactttt	9900
gagcaatgtt	tgtggaagcg	gtattcgcaa	tatttttagta	gctcgttaca	gtccgggtgcg	9960
tttttggttt	tttgaaagtg	cgtcttcaga	gcgcttttgg	ttttcaaaag	cgctctgaag	10020
ttcctatact	ttctagagaa	taggaacttc	ggaataggaa	cttcaaagcg	tttccgaaaa	10080
cgagcgcttc	cgaaaatgca	acgcgagctg	cgcacatata	gctcactgtt	cacgtcgcac	10140
ctatatctgc	gtgttgccctg	tatatatata	tacatgagaa	gaacggcata	gtgcgtgttt	10200
atgcttaaat	gcgtacttat	atgcgtctat	ttatgtagga	tgaaggtag	tctagtacct	10260
cctgtgatat	tatcccattc	catgcggggg	atcgatgctt	tccttcagca	ctacccttta	10320
gctgttctat	atgctgccac	tcctcaattg	gattagtctc	atccttcaat	gctatcattt	10380

[0066]

```

cctttgatat tggatcatac taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaaata 10440
ggcgtatcac gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcgggtga tgacggtgaa aacctctgac 10500
acatgcagct cccggagacg gtcacagctt gtcgtgaagc ggatgccggg agcagacaag 10560
cccgtcaggg cgcgtcagcg ggtgttgccg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat 10620
cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata ccacagcttt tcaattcaat tcatcatttt 10680
ttttttattc tttttttga tttcggtttc tttgaaattt ttttgattcg gtaatctccg 10740
aacagaagga agaacgaagg aaggagcaca gacttagatt ggtatatata cgcatatgta 10800
gtgttgaaga aacatgaaat tgcccagtat tcttaacca actgcacaga acaaaaacct 10860
gcaggaaacg aagataaatc atgtcgaaag ctacatataa ggaacgtgct gctactcatc 10920
ctagtccgtg tgcigccaag ctatttaata tcatgcacga aaagcaaaca aacttgtgtg 10980
cttcattgga tgttcgtacc accaaggaat tactggagtt agttgaagca ttaggtccca 11040
aaatttgttt actaaaaaca catgtggata tcttgactga tttttccatg gagggcacag 11100
ttaagccgct aaaggcatta tccgccaagt acaatttttt actcttcgaa gacagaaaat 11160
ttgctgacat tggtaataca gtcaaattgc agtactctgc ggggtgtatac agaatagcag 11220
aatgggcaga cattacgaat gcacacggtg tgggtgggcc aggtattgtt agcggtttga 11280
agcagcgccg agaagaagta acaaaggaac ctagaggcct tttgatgtta gcagaattgt 11340
catgcaaggg ctccctatct actggagaat atactaaggg tactgttgac attgcgaaga 11400
gcgacaaaga tttgttalc ggctttattg ctcaaagaga catgggtgga agagatgaag 11460
gttacgattg gttgattatg acaccgggtg tgggtttaga tgacaaggga gacgcattgg 11520
gtcaacagta tagaaccgtg gatgatgtgg tctctacagg atctgacatt attattgttg 11580
gaagaggact atttgcaaag ggaagggatg ctaaggtaga ggggtgaacgt tacagaaaag 11640
caggctggga agcatatttg agaagatgcg gccagcaaaa ctaaaaaact gtattataag 11700
taaatgcattg tatactaaac tcacaaatta gagcttcaat ttaattatat cagttattac 11760
ccatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggaaattg 11820
taaacgttaa tattttgta aaattcgcgt taaatttttg ttaaatcagc tcatttttta 11880
accaatagcg cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa agaataagacc gagatagggt 11940
tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa gaacgtggac tccaacgtca 12000
aaggcgcaaa aaccgtctat caggcgcatg gccactacg tgaacctca ccctaataca 12060
gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcgga ccctaaaggg agccccgat 12120
ttagagcttg acggggaaag ccggcgaaac tggcgagaaa ggaagggaag aaagcgaaag 12180
gagcgggcgc tagggcgctg gcaagtgtag cggtcacgct gcgcgtaacc accacaccg 12240
ccgcgcttaa tgcgccgcta cagggcgcgt cgcgccattc gccattcagg ctgcgcaact 12300
gttggaagg gcgacgggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaaggggat 12360
gtgctgaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa 12420
cgacggccag tgagcgcgcg taatacgact cactataggg cgaattgggt accgggcccc 12480
cccac 12485

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 12485

序列名称 : Seq_82

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 中国红豆杉

[0067]

<400> 前序列行：

atggctcagc tctcatttaa tgcagcgctg aagatgaatg cattggggaa caaggcaatc	60
cacgatccaa cgaattgcag agccaaatct gagggccaaa tgatgtgggt ttgctccaaa	120
tcagggcgaa ccagagtaaa aatgtcgaga ggaagtgggt gtcctgggcc tgcgtaatg	180
atgagcagca gcaactggcac tagcaagggtg gtttccgaga cttccagtac cattgtggat	240
gatatccctc gactctccgc caattatcat ggcgatctgt ggcaccacaa tgttatacaa	300
actctggaga caccatttcg tgagagtctt acttaccaag aacgggcaga tgagctgggt	360
gtgaaaatta aagatatgtt caatgcgctc ggagacggag atatcagtc gtctgcatac	420
gacactgcgt ggggtggcgag ggtggcgacc atttcctctg atggatctga gaagccacgg	480
tttccicagg ctctcaactg ggttttcaac aaccagctcc aggatggatc gtggggatc	540
gaatcgcact ttagtttatg cgatcgattg cttaacacga ccaattctgt tatcgccctc	600
tcggtttgga aaacagggca cagccaagta gaacaaggta ctgagtttat tgcagagaat	660
ctaagattac tcaatgagga agatgagttg tccccggatt tcgaaataat ctttctgct	720
ctgctgcaaa aggcaaaagc gttggggatc aatcttcctt acgatcttcc atttatcaaa	780
tatttgcga caacacggga agccaggctt acagatgttt ctgcggcagc agacaatatt	840
ccagccaaca tgttgaatgc gttggagggt cttgaggaag ttatggactg gaagaagatt	900
atgaggtttc aaagtaaaga tggatcttcc ctgagctccc ctgcttccac tgcctgtgta	960
ctgatgaata caggggacga aaaatgttcc acttttctca acaatctgct ggtcaaattc	1020
ggcggtcgcg tgccctgtat gtattccatc gatctgctgg aacgccttcc gctggttgat	1080
aacattgagc atctcggaat cggctgccat ttcaaacaag aaatcaaagt agctcttgat	1140
tatgtctaca gacattggag tgaaaggggc atcggttggg gcagagacag cctcgttcca	1200
gatctcaaca caacagccct cggcctgcga actcttcgca cgcacggata cgatgtttct	1260
tcagatgttt tgaataattt caaagatgaa aacggcggtg tcttctctcc tgcgggccaa	1320
acccatgtgg aattgagaag cgttgtgatt ctttccagag cttccgacct tgcatttctt	1380
gacgaaggag ctatggacga tgctagaaaa ttgcagaac catatcttag agacgcactt	1440
gcaacaaaaa tctcaaccaa tacaaaacta ttcaaagaga ttgagtacgt ggtggagtac	1500
ccttggcaca tgagtatccc acgctcagaa gccagaagtt atatlgattc gtatgatgac	1560
gattatgtat gggagaggaa gactctatat agaatgccat ctttgagtaa ttcaaaatgt	1620
ttagaattgg caaaattgga cttcaatata gtacaatctt tgcatcaaga ggagttgaag	1680
cttctaacaa gatggtggaa ggaatccggc atggcagata taaatttcac tcgacaccga	1740
gtggcggagg tttatttttc atcagctaca ttgaaccgg aatattctgc cactagaatt	1800
gccttcacaa aaattggttg tttacaagtc ctttttgatg atatggctga catctttgca	1860
acactagatg aattgaaaag tttactgag ggagtaaaga gatgggatac atctttgcta	1920
catgagattc cagagtgtat gcaaacttgc tttaaagttt ggttcaaatt aattgaagaa	1980
gtaaataatg atgtggttaa ggtacaagga cgtgacatgc tcgctcacat aagaaaaccc	2040
tgggagttgt acttcaattg ttatgtacaa gaaagggagt ggcttgacgc tgggtatata	2100
ccaacttttg aagagtactt aaagacitac gctatatcag taggccttgg accgtgtacc	2160
ctacaaccaa tactactaat ggggtgagctt gtgaaagatg atgttgttga gaaagtgcac	2220
tatccctcaa atatgtttga gcttgtatcc ttgagttggc gactaacaaa cgacacaaaa	2280
acatatcagg ctgaaaaggc tcgaggacaa caagcctcag gcatagcatg ctatatgaag	2340
gataatctag gagcaactga ggaagatgcc atcaagcaca tatgtcgtgt tgttgaccgg	2400
gccttgaaag aagcaagctt tgaatatctc aaaccatcca atgatatccc aatgggttgc	2460
aagtccttta ttttaacct tagattgtgt gtccaaatct tttacaagtt tatagatggg	2520
tacggaatcg ccaatgagga gattaaggat tatataagaa aagtttatat tgatccaatt	2580

[0068]

caagtatga 2589
 <212> 类型 : DNA
 <211> 长度 : 2589
 序列名称 : Seq_83
 序列描述 :

序列

 <213> 生物名称 : 中国红豆杉
 <400> 前序列行 :
 MAQLSFNAAL KMNALGNKAI HDPTNCRKAS EGQMMWVCSK SGRTRVKMSR GSGGPGPVVM 60
 MSSSTGTSKV VSETSSTIVD DIPRLSANYH GDLWHHNVIQ TLETPFPRESS TYQERADELV 120
 VKIKDMFNAL GDGDISPAY DTAWVARVAT ISSDGSEKPR FPQALNWVFN NQLQDGSWGI 180
 ESHFSLCDRL LNTTNSVIAL SVWKTGHSQV EQGTEFIAEN LRLNNEEDEL SPDFEIIFPA 240
 LLQKAKALGI NLPYDLPFIK YLSTTREARL TDVSAAADNI PANMLNALEG LEEVMDWKKI 300
 MRFQSKDGSF LSSPASTACV LMNTGDEKCF TFLNNLLVKF GGCVPCMYSI DLLERLSLVD 360
 NIEHLGIGRH FKQEIKVALD YVYRHWSEHG IGWGRDSLVP DLNTTALGLR TLRTHGYDVS 420
 SDVLNNFKDE NGRFFSSAGQ THVELRSVVI LFRASDLAFP DEGAMDDARK FAEPYLRDAL 480
 ATKISTNTKL FKEIEYVVEY PWHMSIPRSE ARSYIDSYDD DYVWERKTLY RMPSLSNSKC 540
 LELAKLDFNI VQSLHQEELK LLTRWWKESG MADINFTRHR VAEVYFSSAT FEPEYSATRI 600
 AFTKIGCLQV LFDDMADIFA TLDELKSFTE GVKRWDTSLL HEIPECMQTC FKVWFKLIEE 660
 VNNDVVKVQG RDMLAHIRKP WELYFNCYVQ EREWLDAGYI PTFEEYLKTY AISVGLGPCT 720
 LQPIILLGEL VKDDVVEKVH YPSNMFELVS LSWRLTNDTK TYQAEKARGQ QASGIACYMK 780
 DNLGATEEDA IKHICRVVDR ALKEASFEYF KPSNDIPMGC KSFIFNLRLC VQIFYKFIDG 840
 YGIANEEIKD YIRKVIIDPI QV 862
 <212> 类型 : PRT
 <211> 长度 : 862
 序列名称 : Seq_84
 序列描述 :

序列

 <213> 生物名称 : 中国红豆杉
 <400> 前序列行 :
 gtgtagccga tcaacggccg gaccaggac gccatgcggg tgacgacatc cgtgttggtg 60
 aacgagatcc agcggatgat ctggacgaag tcgagcgagc tgctgcccag gacggtggtc 120
 gtcgagtctt cgttggtcac tgctcttggt agtggttattc agcacaaaag caagcgtatc 180
 atcgtaagtc gaggggggaa cgcaccgtgc agggcaatcg ccatacactc cgtcagcacc 240
 aggccgtctg cgccgacaaa cgtcggggtc ttgcccagcg gggtcaggtt ccagtagaag 300

[0069]

tctgggacgc cgttggccgg ctgcagctcg acttgctcca gctccaagcc gatggatttt	360
gcgacagctt ggatgcctag ggctcggggg ctccgctgtt gccagttagc cctgcgacca	420
taigctgggc tttccgactc atagggataa catgaaaacg gtgctgacct tgtacgtgta	480
gagctttcca aagcttccgc gctccttcag tttctcttct gtactgccat tctgatgcgg	540
cagagccggt gcgtcgacaa gcgtatccgc ggtcatagct gggtgacgcg tgggattccg	600
gggtgcattg agagtactag aaaattaaaa tgttcagatg ctatatcacg ggacaaggaa	660
atattcaagt acttcattgg gaactcatgc atcggagcga tggatcattc cgacaccgaa	720
ggatcagtc cccgacccgc cgggattata cgcgaaaccc tatagggacg gtacatttct	780
ctaaggaagt tcagggtctc tagaactctg attagcgaga aatgcaatca attttgtgta	840
tatcagctcc tacgactcat tgtgtcgac tctgtgcgtc agggaaatc ccagggaat	900
cttgccggccc atatctggcc ttccgactgc tagctcgaaa gctttaagca attgatgggt	960
ctaaggtaga caagatggtg aagctaggtc atccgaacat ggattgacaa tgaattacag	1020
ctcatgatat tgcttgccgt agacgattcc atgctctcca gagagctcta gttcccttgg	1080
gcagacaatc cataagcaat tgattatctc ggtgactgtt accgccggat tgagcatata	1140
tgcagccccc atgtagtctg ccgggtggta ggctgtcag tccgtctaata ccatagacaa	1200
acttccatga ctcgacaca atcttgaggc tgcaggcatt gctcctagag acataagcca	1260
gtgcccaggc tattttaagg actgtcccc cggggcgaaa gatgatccct ccgtgcccg	1320
tcactccgtc accgaccgca atagtcagtc tggagtgcct cttgaacaat gtccaggttg	1380
actctggctg acatcaaata cctggaactc cctctctatc gttcagtcta catgctcagc	1440
ttctcctcgc agtcagacga accgcggccg catggctcag ctctcattta atgcagcgt	1500
gaagatgaat gcattgggga acaaggcaat ccacgatcca acgaattgca gagccaaatc	1560
tgagggccaa atgatgtggg ttgtctccaa atcagggcga accagagtaa aaatgtcgag	1620

[0070]

aggaagtggg ggtcctgggc ctgtcgtaat gatgagcagc agcactggca ctagcaaggt	1680
ggtttccgag acttccagta ccattgtgga tgatatccct cgactctccg ccaattatca	1740
tggcgatctg tggcaccaca atgttataca aactctggag acaccatttc gtgagagtgc	1800
tacttaccaa gaacgggcag atgagctggg tgtgaaaatt aaagatatgt tcaatgcgct	1860
cggagacgga gatatcagtc cgtctgcata cgacactgcg tgggtggcga ggggtggcgac	1920
catttctctc gatggatctg agaagccacg gtttctcag gctctcaact gggttttcaa	1980
caaccagctc caggatggat cgtgggggat cgaatcgac tttagtttat gcgatcgatt	2040
gcttaacacg accaattctg ttatcgccct ctcggtttgg aaaacagggc acagccaagt	2100
agaacaaggt actgagttta ttgcagagaa tctaagatta ctcaatgagg aagatgagtt	2160
gtccccggat ttcgaaataa tctttctgc tctgtgcaa aaggcaaaag cgttggggat	2220
caatcttcct tacgatcttc catttatcaa atatttgtcg acaacacggg aagccaggct	2280
tacagatggt tctgcggcag cagacaatat tccagccaac atgttgaatg cgttggaggg	2340
tcttgaggaa gttatggact ggaagaagat tatgaggttt caaagtaaag atggatcttt	2400
cctgagctcc cctgcttcca ctgcctgtgt actgatgaat acaggggacg aaaaatgttt	2460
cacttttctc aacaatctgc tgggtcaaatt cggcggctgc gtgccctgta tgtattccat	2520
cgatctgctg gaacgccttt cgtcggttga taacattgag catctcgaa tcggtcgcca	2580
tttcaaacaa gaaatcaaag tagctcttga ttatgtctac agacattgga gtgaaagggg	2640
catcggttgg ggcagagaca gcctcgttcc agatctcaac acaacagccc tcggcctgcg	2700
aactcttcgc acgcacggat acgatgttcc ttcagatggt ttgaataatt tcaaagatga	2760
aaacgggcgg tctttctcct ctgcgggcca aacctatgtg gaattgagaa gcgtgggtgat	2820
tcttttcaga gcttccgacc ttgcatttcc tgacgaagga gctatggacg atgctagaaa	2880
atttgcagaa ccatatctta gagacgcact tgcaacaaaa atctcaacca atacaaaact	2940

[0071]

attcaaagag attgagtacg tggtaggagta cccttggcac atgagtatcc cacgctcaga	3000
agccagaagt tatattgatt cgtatgatga cgattatgta tgggagagga agactctata	3060
tagaatgcca tctttgagta attcaaaatg tttagaattg gcaaaattgg acttcaatat	3120
cgtacaatct ttgcatcaag aggagttgaa gcttctaaca agatgggtgga aggaatccgg	3180
catggcagat ataaatttca ctcgacaccg agtggcggag gtttattttt catcagctac	3240
atttgaaccc gaatattctg ccactagaat tgccttcaca aaaattgggtt gtttacaagt	3300
cctttttgat gatatggctg acatctttgc aacactagat gaattgaaaa gtttcactga	3360
gggagtaaag agatgggata catctttgct acatgagatt ccagagtgtg tgcaaacttg	3420
ctttaagtt tggttcaaatt taattgaaga agtaaataat gatgtgggtt aggtacaagg	3480
acgtgacatg ctcgctcaca taagaaaacc ctgggagttg tacttcaatt gttatgtaca	3540
agaaaggag tggcttgacg ctgggtatat accaactttt gaagagtact taaagactta	3600
tgtatatca gtaggccttg gaccgtgtac cctacaacca atactactaa tgggtgagct	3660
tgtgaaagat gatgttgttg agaaagtgca ctatccctca aatatgtttg agcttgtatc	3720
cttgagttgg cgactaacaac acgacaccaa aacatatcag gctgaaaagg ctcgaggaca	3780
acaagcctca ggcatagcat gctatatgaa ggataatcta ggagcaactg aggaagatgc	3840
catcaagcac atatgtcgtg ttgttgaccg ggccctgaaa gaagcaagct ttgaatat	3900
caaaccatcc aatgatatcc caatgggttg caagtccttt atttttaacc ttagattgtg	3960
tgtccaaatc ttttacaagt ttatagatgg gtacggaatc gccaatgagg agattaagga	4020
ttatataaga aaagtttata ttgatccaat tcaagtatga gcggccgctc acttctaate	4080
tatatggigt cctaaccctt tacattgatg aatcaagacc ctgggcctat gataccgcca	4140
gctttcgaca gcccgagacc tcgagcacca aagttatgtt caaaggaggc atattgttga	4200
atatgatggt tgtttagctt tcagagacat ctgcagatgc ctaaggaacc gtattgtaga	4260

[0072]

agcatgagcc aggtatatag aacaacactt agaaaaaag tagtcctaga tcccagacac	4320
tattgctatg ttacgctttc atataatcta gaccctctcc tgattcatct actctatagt	4380
catattctga aatagtcac c atgctcagat ttcagtaacg ttaagtggat caaagacatg	4440
atctcttact gagagttatt ctgtgtctga cgaaatatgt tgtgtatata tatatatgta	4500
cgttaaaagt tccgtggagt taccagtgat tgaccaatgt tttatcttct acagttctgc	4560
ctgtctaccc cattctagct gtacctgact acagaatagt ttaattgtgg ttgacccac	4620
agtcggaggc ggaggaatac agcaccgatg tggcctgtct ccatccagat tggcacgcaa	4680
tttttacacg cggaaaagat cgagatagag tacgacttta aatttagtcc ccggcggtt	4740
ctattttaga atatttgaga tttgattctc aagcaattga tttggttggg tcacctcaa	4800
ttggataata tacctcattg ctcggtact tcaactcacc aatcacgctc ataccccga	4860
tataaccctc cattcccacg atgtcgtcca agtcgcaatt gacttacggt gctcgagcca	4920
gcaagcacc ccaatcctctg gcaaagagac tttttgagat tgccgaagca aagaagacaa	4980
acgttaccgt ctctgtgat gtgacgacaa cccgagaact cctggacctc gctgaccgta	5040
cggaagctgt tggatccaat acatatgccg tctagcaatg gactaatcaa cttttgatga	5100
tacaggtctc ggtccctaca tcgccgtcat caagacacac atcgacatcc tcaccgattt	5160
cagcgtcgac actatcaatg gcctgaatgt gctggctcaa aagcacaact ttttgatctt	5220
cgaggaccgc aaattcatcg acatcggcaa taccgtccag aagcaatacc acggcggtgc	5280
tctgaggatc tccgaatggg cccacattat caactgcagc gttctccctg gcgaggcat	5340
cgtcgaggct ctggcccaga ccgcatctgc gcaagacttc ccctatggtc ctgagagagg	5400
actgttggtc ctggcagaga tgacctcaa aggatcgctg gctacgggcg agtataccaa	5460
ggcatcggtt gactacgctc gcaaatacaa gaacttcgtt atgggtttcg gtctgacgcg	5520
ggccctgacg gaagtgcagt cggatgtgtc ttcagcctcg gaggatgaag atttcgtggt	5580

[0073]

cttcacgacg ggtgtgaacc tctcttccaa aggagataag cttggacagc aataccagac	5640
tcctgcatcg gctattggac gcggtgccga ctttatcatc gccggtcgag gcatctacgc	5700
tgctccccgac ccggttgaag ctgcacagcg gtaccagaaa gaaggctggg aagcttatat	5760
ggccagagta tgccgcaagt catgatttcc tcttgagca aaagtgtagt gccagtacga	5820
gtgttggtga ggaaggctgc atacattgtg cctgtcatta aacgatgagc tcgtccgtat	5880
tgccccctgt aatgccatgt tttccgeccc caatcgtcaa ggttttccct ttgttagatt	5940
cctaccagtc atctagcaag tgaggtgaagc ttgcccagaa acgccaaggc tttatctatg	6000
tagtcgataa gcaaagtga ctgatagctt aatatggaag gtccctcagg acaagtcgac	6060
ctgtgcagaa gagataacag cttggcatca cgcacagtg cctcctctca gacaggctcc	6120
ttcaatatca tcttctgtcc tagtaacggc cgccagtgtg ctggaattcg cccttaattc	6180
cagctgacca ccatgtcact tctaattctat atggtgtcct aaccttttac attgatgaat	6240
caagaccctg ggcctatgat accgccagct ttcgacagcc cgagacctcg agcaccaaag	6300
ttatgttcaa aggaggcata ttgttgaata tgatggttgt tagcttctca gagacatctg	6360
cagatgccta aggaaccgta ttgtagaagc atgagccagg tatatagaac aacacttaga	6420
aaaaaagtag tcttagatcc cagacactat tgctatgtta cgctttcata taatctagac	6480
cctctctga ttcattact ctatagtcatt attctgaaat agtcattcatg ctcatcatcc	6540
tttcttcga ttatgggtca agtggctttt caccaacgag cccgctgaca gagcagagca	6600
aagactgagc tctccagcca gcacgccagc cgccaccagc agggccagct cctgtgcgtt	6660
tctacctggc tgttcggggc cgcccccttg gacgcccac atgtgcagca ttgccttttg	6720
agggcccagg actgtccctc cccaacggg gccgacttca atggaaggca tgaaaacaga	6780
gatttgcaaa tcaccattca cactgctcgg gagttagcgc cgcaacatct atcagaatat	6840
ctttagaggc agtgtactca ctttttcac acggtcagag tgttgctgct ttgcacattc	6900

[0074]

tgtagcgggat cctgaccagt ggcaagataa atcgccgtga caacattggc ggcatgggcg	6960
ttgaaccctc ccagagcccc tgcaacagca ctgcccacca ggttcttgga gacgttgagc	7020
tccacgaggg cctcgacact ggtcttgagt gtttctcgaa ccgcatgttc aggtattgtc	7080
gcctgcgcgg tcacggtctt gcctcgcccc tcaatccagt tcacagccgc aggtttttta	7140
tccgcacaga agttccccga cagcgagacg acatccatag actcgaacct gtgcttttgc	7200
atgcctcca gcgttgctc aaccttttg gagatcatgt tcatgccc atgcgtcgccc	7260
gtgctggcgg tgaaccggat atagaggctc gagccaacgg ccgtggcctt aatgttttga	7320
agccgagcga agcggctgga tgcattgaac gcgtcctcaa tgatgagaaa tcctgcatca	7380
gagcccagcc attgttttgc ggcgccggct tcttcgagac tgggaaatcg aacgataggc	7440
gctcgggtca tgccatcgcc cagcaccaga gcagtcacgc ctccaccggc gttgatcgcc	7500
atgcagccac gattcgtgct cgcaaccagc gcgccctctg tcgtggacat ggggagaaac	7560
accatcttcc cgttgatttt gatcggaccg gcgacccca cagggatggg catatacccg	7620
atcacgtgca gcttttgtc cctttagtga gggtttaattg cgcgcttggc gtaatcatgg	7680
tcatagctgt ttccgtgtg aaattgttat ccgctcaca ttccacacaa cataggagcc	7740
ggaagcataa agtgtaaagc ctgggggtgcc taatgagtga ggtaactcac attaattgcg	7800
ttgcgctcac tgcccgctt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc	7860
ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct ctccgcttc ctcgctcact	7920
gactcgctgc gctcggtcgt tcggctgcgg cgagcggat cagctcactc aaaggcggta	7980
atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag	8040
caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt tttccatag gctccgcccc	8100
cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgtca agtcagaggt ggcgaaacct gacaggacta	8160
taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgacctg	8220

[0075]

ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc	8280
tcacgctgta ggtatctcag ttcgggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac	8340
gaaccccccg ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac	8400
ccggtaagac acgacttata gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg	8460
aggatatgtag gcggtgctac agagtcttg aagtgggtgc ctaactacgg ctacactaga	8520
aggacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta ccttcgaaa aagagttggt	8580
agctcttgat ccggcaaaaca aaccaccgct ggtagcgggtg gtttttttgt ttgcaagcag	8640
cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct	8700
gacgctcagt ggaacgaaaa ctacagttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg	8760
atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat	8820
gagtaaacct ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc	8880
tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg	8940
gagggttac catctggccc cagtgcctga atgataccgc gagaccacg ctcaccggct	9000
ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggctctgca	9060
actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg	9120
ccagttaata gtttgcgcaa cgttggtgcc attgctacag gcacgttggt gtcacgctcg	9180
tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc	9240
cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggctctc cgatcgttgt cagaagtaag	9300
ttggccgcag tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg	9360
ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag	9420
tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccc gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat	9480
agcagaactt taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg	9540

[0076]

atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc gtgcacccaa ctgatcttca	9600
gcattctttaa ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca	9660
aaaaaggga taaggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttcct ttttcaatat	9720
tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag	9780
aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgaacgaagc	9840
atctgtgctt cattttgtag aacaaaaatg caacgcgaga gcgctaattt ttcaaacaaa	9900
gaatctgagc tgcattttta cagaacagaa atgcaacgcg aaagcgctat ttaccaacg	9960
aagaatctgt gcttcatttt tgtaaaacaa aaatgcaacg cgagagcgct aatttttcaa	10020
acaagaatc tgagctgcat ttttacagaa cagaaatgca acgcgagagc gctattttac	10080
caacaagaa tctatacttc tttttgttc tacaaaaatg catcccgaga gcgctatttt	10140
tctaacaag catcttagat tacttttttt ctctttgtg cgctctataa tgcagtctct	10200
tgataacttt ttgcactgta ggtccgttaa ggttagaaga aggctacttt ggtgtctatt	10260
ttctcttcca taaaaaagc ctgactccac ttcccgctt tactgattac tagcgaagct	10320
gcgggtgcat tttttcaaga taaaggcatc cccgattata ttctataccg atgtggattg	10380
cgcatacttt gtgaacagaa agtgatagcg ttgatgattc ttcatgggc agaaaattat	10440
gaacggtttc ttctattttg tctctatata ctacgtatag gaaatgttta cattttcgta	10500
ttgttttcga ttactctat gaatagttct tactacaatt ttttgtcta aagagtaata	10560
ctagagataa acataaaaaa tgtagaggtc gagtttagat gcaagttcaa ggagcgaaag	10620
giggatgggt aggttatata gggatatagc acagagatat atagcaaaga gatacttttg	10680
agcaatgttt gtggaagcgg tattcgcaat attttagtag ctcggtacag tccgggtcgt	10740
ttttggtttt ttgaaagtgc gtcttcagag cgcttttggg tttcaaaagc gtctgaagt	10800
tcctatactt tctagagaat aggaacttcg gaataggaac ttcaaagcgt ttccgaaaac	10860

[0077]

gagcgcttcc gaaaatgcaa cgcgagctgc gcacatacag ctcactgttc acgtcgcacc	10920
tatatctgcg tgttgccctgt atatatatat acatgagaag aacggcatag tgcgtgttta	10980
tgcttaaatg cgtacttata tgcgtctatt tatgtaggat gaaaggtagt ctagtacctc	11040
ctgtgatatt atcccattec atgcggggta tcgtatgctt ccttcagcac taccctttag	11100
ctgttctata tgctgccact cctcaattgg attagtctca tccttcaatg ctatcatttc	11160
ctttgatatt ggatcatact aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag	11220
gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcgggtgat gacggtgaaa acctctgaca	11280
catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc	11340
ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc	11400
agagcagatt gtactgagag tgcaccatac cacagctttt caattcaatt catcattttt	11460
tttttattct tttttttgat ttcggtttct ttgaaatttt ttgattcgg taatctccga	11520
acagaaggaa gaacgaagga aggagcacag acttagattg gtatatatac gcatatgtag	11580
tgttgaagaa acatgaaatt gccagttatt cttaacccaa ctgcacagaa caaaaacctg	11640
caggaaacga agataaatca tgtcgaaagc tacatataag gaacgtgctg ctactcatcc	11700
tagtctctgtt gctgccaaagc tatttaatat catgcacgaa aagcaaaca acttgtgtgc	11760
ttcattggat gttcgtacca ccaaggaatt actggagtta gttgaagcat taggtcccaa	11820
aatttgttta ctaaaaacac atgtggatat cttgactgat tttccatgg agggcacagt	11880
taagccgcta aaggcattat ccgccaagta caatttttta ctcttcgaag acagaaaatt	11940
tgctgacatt ggtaatacag tcaaattgca gtactctgcg ggtgtataca gaatagcaga	12000
atgggcagac attacgaatg cacacgggtg ggtgggcccc ggtattgtta gcggtttgaa	12060
gcaggcggca gaagaagtaa caaaggaacc tagaggcctt ttgatgttag cagaattgtc	12120
atgcaagggc tcctatcta ctggagaata tactaagggt actgttgaca ttgcgaagag	12180

[0078]

cgacaaagat ttgtttatcg gctttattgc tcaaagagac atgggtggaa gagatgaagg	12240
ttacgattgg ttgattatga cacccggtgt gggttttagat gacaaggag acgcattggg	12300
tcaacagtat agaaccgtgg atgatgtggt ctctacagga tctgacatta ttattgttgg	12360
aagaggacta ttgcaaagg gaagggatgc taaggtagag ggtgaacgtt acagaaaagc	12420
aggctgggaa gcatatttga gaagatgcgg ccagcaaac taaaaactg tattataagt	12480
aaatgcatgt atactaaact cacaaattag agcttcaatt taattatac agttattacc	12540
ctatgcggtg tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa ataccgcac aggaaattgt	12600
aaacgttaat attttgtaa aattcgcgtt aaattttgt taaatcagct cattttttaa	12660
ccaataggcc gaaatcgga aaatccctta taaatcaaaa gaatagaccg agatagggtt	12720
gagtgttgtt ccagtttga acaagagtcc actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa	12780
agggcgaaaa accgtctatc agggcgatgg ccactacgt gaaccatcac cctaatcaag	12840
ttttttggg tcgaggtgcc gtaaagcact aaatcggaac cctaaaggga gccccgatt	12900
tagagcttga cggggaaagc cggcgaacgt ggcgagaaag gaagggaaga aagcgaaagg	12960
agcgggcgct agggcgctgg caagtgtagc ggtcacgctg cgcgtaacca ccacaccgc	13020
cgcgcttaat gcgccgtac agggcgcgtc gcgccattcg ccattcaggc tgcgcaactg	13080
ttgggaagg cgatcgggtgc gggcctcttc gctattacgc cagctggcga aagggggatg	13140
tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac gttgtaaaac	13200
gacggccagt gagegcgcgt aatacgactc actatagggc gaattgggta ccgggcccc	13260
ccac	13264

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 13264

序列名称 : Seq_85

序列描述 :

序列

[0079]

<213> 生物名称：酿酒酵母

<400> 前序列行：

atggcttcag aaaaagaaat taggagagag agattcttga acgttttccc taaattagta	60
gaggaattga acgcatcgct tttaggttac ggtatgccta aggaagcatg tgactgggtat	120
gccactcat tgaactacaa cactccaggc ggtaagctaa atagagggtt gtccgttgtg	180
gacacgtatg ctattctctc caacaagacc gttgaacaat tggggcaaga agaatacgaa	240
aagggtgcc a ttctaggttg gtgcattgag ttgttgagg cttacttctt ggtcgccgat	300
gatatgatgg acaagtcctat taccagaaga ggccaacct gttggtacaa ggttcctgaa	360
gttggggaaa ttgcatcaa tgacgcattc atgttagagg ctgctatcta caagcttttg	420
aaatctcact tcagaaacga aaaatactac atagatatca ccgaattgtt ccatgaggtc	480
accttccaaa ccgaattggg ccaattgatg gacttaatca ctgcacctga agacaaagtc	540
gacttgagta agttcctcct aaagaagcac tccttcatag ttactttcaa gactgcttac	600
tattctttct acttgctgt cgcatggcc atgtacgttg ccggtatcac ggatgaaaag	660
gatttgaaac aagccagaga tgtcttgatt ccattgggtg aatacttcca aattcaagat	720
gactacttag actgcttcgg taccacagaa cagatcggtg agatcggtac agatatccaa	780
gataacaaat gtcttggtt aatcaacaag gcattggaac ttgcttccgc agaacaaga	840
aagactttag acgaaaatta cggtaagaag gactcagtcg cagaagccaa atgcaaaaag	900
atittcaatg acttgaaaat tgaacagcta taccacgaat atgaagagtc tattgccaag	960
gatttgaagg ccaaaatttc tcaggtcgat gagtctcgtg gcttcaaagc tgatgtctta	1020
actgcgttct tgaacaaagt ttacaagaga agcaaatag	1059

<212> 类型：DNA

<211> 长度：1059

序列名称：Seq_86

序列描述：

序列

<213> 生物名称：酿酒酵母

<400> 前序列行：

MASEKEIRRE RFLNVFPKLV EELNASLLAY GMPKEACDWY AHSLNYNTPG GKLNRGLSVV	60
DTYAILSNTK VEQLGQEEYE KVAILWCIE LLQAYFLVAD DMDKSITRR GQPCWYKYPE	120
VGEIAINDAF MLEAAIYKLL KSHFRNEKYY IDITELFHEV TFQTELGQLM DLITAPEDKV	180
DLSKFSLKKH SFIIVFKTAY YSFYLPVALA MYVAGITDEK DLKQARDVLI PLGEYFQIQD	240
DYLD CFGTPE QIGKIGTDIQ DNKCSWVINK ALELASAEQR KTLDENYGGK DSVAEAKCKK	300
IFNDLKIEQL YHEYEEESIAK DLKAKISQVD ESRGFKADV LTAFLNKVYKR SK	352

<212> 类型：PRT

<211> 长度：352

序列名称：Seq_87

序列描述：

序列

<213> 生物名称：酿酒酵母

[0080]

<400> 前序列行：

cacgtgttcg cagcacagct tagagaggtc gtaattggta agataggttg ccagctaaag	60
taaactatat aaattatata agcagttctg ccagtttgcg aatacgccaa tctcctataa	120
tgcccatgcg ttacactgc aatagtggcc agccagtgtc ttctatcagt tgcccatggt	180
tgcaccata gcctgatagt cccatcatca gatgcagagc caatctgctt accgtctgaa	240
gagcggtgac tacataagac cagaaaccgc cagaagacgc taagagggtc caagtcgca	300
tcattactcg accaattcgt tcacgcggcc agatccagcc cctggcggtc catcgtgcag	360
gcagtgtcaa ttatgcgtat ttacagaaca gcaagagcag aagctgactt tgggagtggg	420
gggacagggt atggttggag tataatatac tcgtggatat tgtcaccaag cagacaagtt	480
gaacaagttg ggatccatta tatcagcatg ggcttcttta gatcaacctc aaagtgttta	540
tttatatctt gaagacgaga cataaagagc ggatagagca actgaggaat tttttgatgc	600
caatatctct ccaggataga tctgctgtgg ttcaattgtg atgaactgaa gaatactgcg	660
tgatttatga aaagagggtt ccacaggacg agctattttac acacgatagt tcttggtata	720
cggagatcgg gcttttctag gtttcaattt agagcgaaat gagatatcaa caagccagaa	780
gaatacagga gcggtctatac ggcaccggct tgctaaagct ttattggacc taaacgagct	840
cttaaaagtaa catgattttg gcacagtga agagatttaa atcgggaaat caacggcctg	900
ccatctcggc tgagccgac aacatattct attcttcac ccactaaaat aattctacat	960
gaagagaatg tctagatcaa ctaactcaga tggggaacga tggcggtcac ttgctgattc	1020
tatcataagg ctggcggtgt ctgcgaatca tacactgccg aatctgcttg gctatacact	1080
gacggatgga cagcggcgag tacagcctga acggcgaaac accaggcctt ctatgttttc	1140
ccttcagta tgaccataga cctccttcag tactattatt ccaacgcatt ctctgatatt	1200
ttgactatca gtttactgtt cggggtccct ctacgaggga tctgttgaga ataagcacgg	1260
gtgacggatc ccgctgatcc ttctgtcccg tccgaataca atatcacatc gaagtaagac	1320
acaagcgagt tcccgaattg aagtattaac acccttagat aacatcgctc agcctcgctc	1380
caagggatat aatcaacact gagctctatg gcctcgctat ttgagtcaac tcacatgac	1440
caacgcggcc gcatggcttc agaaaaagaa attaggagag agagattctt gaacgttttc	1500
cctaaattag tagaggaatt gaacgcacg cttttggctt acggtatgcc taaggaagca	1560
tgtgactggt atgccactc attgaactac aacactccag gcggtaaagc aaatagagggt	1620
ttgtccgttg tggacacgta tgctattctc tccaacaaga ccgttgaaca attggggcaa	1680
gaagaatacg aaaagggtgc cattctaggt tgggtcattg agttgttgca ggcttacttc	1740
ttggtcgccg atgatatgat ggacaagtc attaccagaa gaggccaacc atgttggtac	1800
aaggttctcg aagttgggga aattgccatc aatgacgcac tcatgttaga ggctgctatc	1860
tacaagcttt tgaaatctca cticagaaac gaaaaatac acatagatat caccgaattg	1920
ttccatgagg tcaccttcca aaccgaattg ggccaattga tggacttaat cactgcacct	1980
gaagacaaag tcgacttgag taagttctcc ctaagaagc actccttcat agttactttc	2040
aagactgctt actattcttt ctacttgcct gtcgcattgg ccatgtacgt tgccggtatc	2100
acggatgaaa aggatttgaa acaagccaga gatgtcttga ttccattggg tgaatacttc	2160
caaattcaag atgactactt agactgcttc ggtaccccag aacagatcgg taagatcggt	2220
acagatatcc aagataacaa atgttcttgg gtaatcaaca aggcattgga acttgcttcc	2280
gcagaacaaa gaaagacttt agacgaaaat tacggtaaga aggactcagt cgcagaagcc	2340
aaatgcaaaa agattttcaa tgacttgaag attgaacagc tataccacga atatgaagag	2400
tctattgcca aggatttgaa ggccaaaatt tctcaggtcg atgagtctcg tggcttcaaa	2460
gctgatgtct taactgcgtt ctggaacaaa gtttacaaga gaagcaaata ggccggccgcg	2520
gtttatcaga ctgaatatga cagtcctgcg catttgatga gataatgaca ttgtttcttc	2580

[0081]

ttgactttat gtatctctaa gggcctgtcc taaacactac atatctttcc gaccatatcg	2640
gatcatggac tattttctag atacaagcgc agtacttatg cctatgttta ccggggactt	2700
actcgggaca cttgatccgg ttggagctgt ttctgtctgc caatgtctact gtagaagact	2760
gcattgcaca ctactacggc gaaagggccc agcacggcga ctacgagcat ggaaatgtta	2820
tggctaatag ccactgattc attcacattc ctagcttaca gccgtataaa atagagatac	2880
agcattcgga acgcatcatt cttcactagg agtgaattga tagggttgag taggcgatcc	2940
cacggcgtgc agcgggtgcca cgttctgcca cgttctacta tgcgtggatg ataggatatac	3000
gatttcagta acgttaagtg gatcaaagac atgatctctt actgagagtt attctgtgtc	3060
tgacgaaata tgttgtgtat atatatatat gtacgttaaa agttccgtgg agttaccagt	3120
gattgaccaa tgttttatct tctacagttc tgccgtgtcta ccccatctta gctgtacctg	3180
actacagaat agtttaattg tggttgacct cacagtcgga ggcgaggagaa tacagcacccg	3240
atgtggcctg tctccatcca gattggcacg caatttttac acgcggaaaa gatcgagata	3300
gagtacgact ttaaatttag tccccggcgg cttctatttt agaataattg agatttgatt	3360
ctcaagcaat tgatttggtt gggtcacccct caattggata atatacctca ttgctcggct	3420
acttcaactc atcaatcacc gtcatacccc gcataataacc ctccattccc acgatgtcgt	3480
ccaagtcgca attgacttac ggtgctcgag ccagcaagca cccaatcct ctggcaaaga	3540
gactttttga gatggccgaa gcaaagaaga caaacgttac cgtctctgct gatgtgacga	3600
caacccgaga actcctggac ctgcgtgacc gtacggaagc tgttgatcc aatacatatg	3660
ccgtctagca atggactaat caacttttga tgatacaggt ctcggtccct acatcgccgt	3720
catcaagaca cacatcgaca tcttcaccga ttctcagctc gacactatca atggcctgaa	3780
tgtgctggct caaaagcaca actttttgat cttcgaggac cgcaaattca tcgacatcgg	3840
caataaccgtc cagaagcaat accacggcgg tgctctgagg atctccgaat gggcccacat	3900
tatcaactgc agcgttctcc ctggcgaggg catcgtcgag gctctggccc agaccgcac	3960
tgcgcaagac ttccctatg gtcttgagag aggactgttg gtcttgagcag agatgacctc	4020
caaaggatcg ctggctacgg gcgagtatac caaggcatcg gttgactacg ctcgcaata	4080
caagaacttc gttatgggtt tcgtgtcgac gcgggccctg acggaagtgc agtcggatgt	4140
gtcttcagcc tcggaggatg aagatttcgt ggtcttcacg acgggtgtga acctctcttc	4200
caaaggagat aagcttggac agcaatacca gactcctgca tcggctattg gacgcggtgc	4260
cgactttatc atcgccggtc gaggcattcta cgtgtctccc gaccgggttg aagctgcaca	4320
gcggtaccag aaagaaggct gggaagctta tatggccaga gtatgcggca agtcatgatt	4380
tcctcttggg gcaaaagtgt agtgccagta cgagtgttgt ggaggaaggc tgcatacatt	4440
gtgcctgtca ttaaagcatg agctcgtccg tattggcccc tgtaatgcca tgttttccgc	4500
ccccaatcgt caaggttttc cctttgttag attcctacca gtcattctagc aagtgaggta	4560
agctttgcca gaaacgccaa ggctttatct atgtagtcga taagcaaagt ggactgatag	4620
cttaatatgg aaggtcctc aggacaagtc gacctgtgca gaagagataa cagcttggca	4680
tcacgcatca gtgcctctc tcagacaggc tcttcaata tcattctctg tcggtttatc	4740
agactgaata tgacagtcct gcgcatttga tgagataatg acattgtttc ttcttgactt	4800
tatgtatctc taagggcctg tcttaaacac tacatatctt tccgaccata tcggatcatg	4860
gactattttc tagatacaag cgcagtactt atgcctatgt ttaccgggga cttactcggg	4920
acacttgatc cggttggagc tgtttctgct gcccaatgct actgtagaag actgcattgc	4980
acactactac ggcgaaaggg ccagcacgg cgactacgag calggaaatg ttatggctaa	5040
tagccactga ttcattcaca ttcctagctt acagccgtat aaaatagaga tacagcattc	5100
ggaacgcac attcttcaact aggagtgaat tgataggggt gagtaggcga tcccacggcg	5160
tgcagcgggt ccacgttctg ccacgttcta ctatgcgtgg atgataggat atcccaattg	5220

[0082]

tcagatttag cctagaggcg taatcagcta gctaacacta ccgtttcggc cctgtctcga	5280
atccctccct atgggtccga tcccaacctg ccgaatgtgg tcggatcccc ctgcgacct	5340
ccgatccct ggacggattg cggcgggtgga ttttcagtag cataatttcc ctcagtacat	5400
ctgactctta gtcagaaatg ctaataaata cacgctgtgg tatatactga atgaattcgt	5460
gtagcgaacc ggaggctctc tctcccaaaa cgttcttggt caggaagaca ggacgtcaat	5520
aagaaacacc aacagtcttc ccacggccgc accaaaccca acgatatgga cactttcaca	5580
tccttgacgc caccgtggaa tgcaggaggg ggcttcatgc gatcctatct cgactcggcg	5640
gcctcagcag ggaaggccgc cagggaactt ctcggagcc acgaacgttt ttcccgagca	5700
tgctgtgta tatgcatcgg ctacgctttg tccgtatgga tgctgcctgt taggatccca	5760
atcacaatcg agggcttcac gacgtcgtg acgatacccc agaccagcg ctggatcaa	5820
ggagacacca ttctgcaagt gcatgctgac ccaagtgcga agatccggat ccataatgat	5880
aggtaagtta ggcacaacac agagtctgc cgtgagacca actactaaca gacatgcagt	5940
catacagagt ctctatcca gcatagcgaa gcatggctgg aagctgttcg ccaggcctgt	6000
gggagcagcg ctgaggccga aacgcagatg ctggccatgc accgaggtct tgcgaagcga	6060
gacattgcaa gtgtatcggg atcgtctgcc gacggtagtg gccaaagcga agcatatcag	6120
caggctctatc tcttcaagtg tggtagtg cccggggctt ttgataagag cgatgatgcc	6180
cggttgaacc gtgccttgt acacaatatc acgatcggcg cctatcttaa tagccgggca	6240
acaggagctt tatcgatcag cgcacgtgca gctttgttc cctttagtga gggtaattg	6300
cgcgcttgge gtaatcatgg tcatagctgt ttcctgtgtg aaattgttat ccgctcaca	6360
ttccacacaa cataggagcc ggaagcataa agtgtaaagc ctgggggtgcc taatgagtga	6420
ggtaactcac attaattgag ttgcgtcac tgcccgctt ccagtcggga aacctgtcgt	6480
gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attgggcgct	6540
cttcgccttc ctgcctact gactcgtgc gctcggtcgt tcggctgcgg cgagcggat	6600
cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga	6660
acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt	6720
ttttccatag gctccgccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt	6780
ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccttggaagc tccctcgtgc	6840
gctctcctgt tccgacctg ccgcttaccg gatacctgtc cgctttctc ccttcgggaa	6900
gcgtggcgct ttctcatagc tcacgtgta ggtatctcag ttcggtgtag gtcgttcgt	6960
ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccg ttcagccga ccgctgcgc ttatccggt	7020
actatcgtct tgagtccaac ccgtaagac acgacttacc gccactggca gcagccactg	7080
gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgtac agagtctctg aagtgggtggc	7140
ctaactacgg ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgctctgctg aagccagtta	7200
ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaacaa aaccaccgct ggtagcgggtg	7260
gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt	7320
tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggatttttg	7380
tcattgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta	7440
aatcaatcta aagtatatat gagtaacctt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagt	7500
aggcacttat ctacagcgtc gtctatttc gttcaccat agttgcctga ctccccgtcg	7560
tgtagalaac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgtgca atgataccgc	7620
gagaccacag ctacacggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaaggccgc	7680
agcgcagaag tggcctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg	7740
aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgccga cgttgttgcc attgtctacag	7800
gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat	7860

[0083]

caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggtcctc	7920
cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact catggttatg gcagcactgc	7980
ataattctct tactgtcatg ccattccgtaa gatgcttttc tgtgactggg gagtactcaa	8040
ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac	8100
gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga aaacgttctt	8160
cggggcgaaa acitctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgaig taaccactc	8220
gtgcacccaa ctgatcttca gcattcttta ctctcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa	8280
caggaaggca aaatgccgca aaaaaggga taaggcgac acggaaatgt tgaatactca	8340
tactcttctt ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat	8400
acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa	8460
aagtgccacc tgaacgaagc atctgtgctt catttttag aacaaaaatg caacgcgaga	8520
gcgctaattt ttcaacaaa gaatctgagc tgcattttta cagaacagaa atgcaacgcg	8580
aaagcgctat ttaccaacg aagaatctgt gcttcatttt tgtaaaacaa aaatgcaacg	8640
cgagagcgct aatttttcaa acaagaatc tgagctgcat ttttacagaa cagaaatgca	8700
acgcgagagc gctattttac caacaagaa tctatacttc tttttgttc tacaaaaatg	8760
catcccgaga gcgtatltt tctaacaag catcttagat tactttttt ctctttgtg	8820
cgctctataa tgcagtctct tgataacttt ttgcactgta ggtccgttaa ggttagaaga	8880
aggctacttt ggtgtctatt ttctcttcca taaaaaagc ctgactccac ttcccgctt	8940
tactgattac tagcgaagct gcgggtgcat ttttcaaga taaaggcatc cccgattata	9000
ttctataccg atgtggattg cgcatacttt gtgaacagaa agtgatagcg ttgatgattc	9060
ttcattggct agaaaattat gaacggtttc ttctattttg tctctatata ctacgtatag	9120
gaaatgttla cattttctga ttgttttctga ttcactctat gaatagtctt tactacaatt	9180
tttttgtcta aagagtaata ctagagataa acataaaaa tgtagaggtc gagtttagat	9240
gcaagttcaa ggagcgaaag gtggatgggt aggttatata gggatatagc acagagatat	9300
atagcaaaga gatacttttg agcaatgttt gtggaagcgg tattcgcaat attttagtag	9360
ctcgttacag tccggtgcgt ttttggtttt ttgaaagtgc gtcttcagag cgttttggt	9420
tttcaaaagc gctctgaagt tcctatactt tctagagaat aggaacttcg gaataggaac	9480
ttcaaagcgt ttccgaaaac gagcgcttc gaaaaatgcaa cgcgagctgc gcacatacag	9540
ctcactgttc acgtcgacc tatatctgcg tgttcctgt atatataat acatgagaag	9600
aacggcatag tgcgtgttta tgcttaaatg cgtacttata tgcgtctatt tatgtaggat	9660
gaaaggtagt ctagtacctc ctgtgatatt atcccattcc atgcggggta tcgtatgctt	9720
ccctcagcac tacccttttag ctgttctata tgcgtccact cctcaattgg attagtctca	9780
tccttcaatg ctatcatttc ctttgatatt ggatcatact aagaaacat tattatcatg	9840
acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggcccttct gtctcgcgcg tttcggtgat	9900
gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg	9960
gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc	10020
tggtttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatac cacagctttt	10080
caattcaatt catcattttt tttttattct ttttttgat ttcggtttct ttgaaatttt	10140
tttgattcgg taatctccga acagaaggaa gaacgaagga aggagcacag acttagattg	10200
gtatatatac gcatatgtag tgttgaagaa acatgaaatt gccagattt cttacccaa	10260
ctgcacagaa caaaaacctg caggaaacga agataaatca tgcgaaagc tacatataag	10320
gaacgtgctg ctactcatcc tagtctgtt gctgccaagc tatttaatat catgcacgaa	10380
aagcaacaa acttgtgtgc ttcattggat gttcgtacca ccaaggaatt actggagtta	10440
gttgaagcat taggtcccaa aatttgttta ctaaaacac atgtggatat cttgactgat	10500

[0084]

```

ttttccatgg agggcacagt taagccgcta aaggcattat ccgccaagta caatTTTTTT 10560
ctcttcgaag acagaaaatt tgctgacatt ggtaatacag tcaaattgca gtactctgcg 10620
ggtgtatata gaatagcaga atgggcagac attacgaatg cacacggtgt ggtgggcca 10680
ggtattgtta gcggtttgaa gcaggcggca gaagaagtaa caaaggaacc tagaggcctt 10740
ttgatgttag cagaattgtc atgcaagggc tccctatcta ctggagaata tactaagggt 10800
actgttgaca ttgcaagag cgacaaagat tttgttatcg gctttattgc tcaaagagac 10860
atgggtggaa gagatgaagg ttacgattgg ttgattatga caccggtgt ggggttagat 10920
gacaaggag acgcattggg tcaacagtat agaaccgtgg atgatgtggt ctctacagga 10980
tctgacatta ttattgttgg aagaggacta ttgcaaagg gaagggatgc taaggtagag 11040
ggtgaacgtt acagaaaagc aggcaggaa gcatatttga gaagatgcgg ccagcaaac 11100
taaaaaactg tattataagt aaatgcatgt atactaaact cacaattag agcttcaatt 11160
taattatata agttattacc ctatcggtg tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa 11220
ataccgcatac aggaattgt aaacgttaat attttgttaa aattcgcgtt aaattttgt 11280
taaatcagct catTTTTTaa ccaataggcc gaaatcgga aaatccctta taaatcaaaa 11340
gaatagaccg agatagggtt gagtgtgtt ccagtttga acaagagtc actattaaag 11400
aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa accgtctatc agggcgatgg cccactacgt 11460
gaaccatacac ctaatacaag tttttgggg tcgaggtgcc gtaaagcact aaatcggaac 11520
cctaaaggga gccccgatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaaacgt ggcgagaaag 11580
gaagggaaga aagcgaaagg agcggcgct agggcgctgg caagtgtagc ggtcacgctg 11640
cgcgtaacca ccacaccgc cgcgcttaat gcgcgctac agggcgcgtc gcgccattcg 11700
ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaagg cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc 11760
cagctggcga aaggggatg tgctgcaagg cgattaagtt gggtaacgcc agggtttcc 11820
cagtcacgac gttgtaaaac gacggccagt gagcgcgct aatacgactc actatagggc 11880
gaattgggta ccgggcccc ccac 11904

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 11904

序列名称 : Seq_88

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 酿酒酵母

<400> 前序列行 :

```

MDQLVKTEVT KKSFTAPVQK ASTPVLTNKT VISGSKVKSLSAQQSSSSGP SSSSEEDDSR 60
DIESLDKKIR PLEELEALLS SGNTKQLKNK EVAALVIHGK LPLYALEKKL GDTTRAVAVR 120
RKALSILAEA PVLASDRLPY KNYDYDRVFG ACCENVIGYM PLPVGVIGPL VIDGTSYHIP 180
MATTEGCLVA SAMRGCKAIN AGGGATTVLT KDGMRGPV RFPTLKRSGA CKIWL DSEEG 240
QNAIKKAFNS TSRFARLQHI QTCLAGDLLF MRFRTTTGDA MGMNMISKGV EYSLKQMVVEE 300
YGWEDMEVVS VSGNYCTDKK PAAINWIEGR GKSVAEATI PGDVVRKVLK SDVSALVELN 360
IAKNLVGSAM AGSVGGFNAH AANLVTAVFL ALGQDPAQNV ESSNCITLMK EVDGDLRISV 420
SMPSIEVGTI GGGTVLEPQG AMLDLLGVRG PHATAPGTNA RQLARIVACA VLAGELSLCA 480
ALAAGHLVQS HMTHNRKPAE PTKPNNLDAT DINRLKDGVS TCIS 525

```

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 525

[0085]

序列名称 : Seq_89

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : AN1599 转化体片段引物

<400> ptrpC F :

gcggccgcga cagaagatga

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_90

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : AN1599 转化体片段引物

<400> ttrpC R :

gagtggagat gtggagtg

18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_91

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : cDNA 引物

<400> Gib 合酶 NotI F2

ataatgcggc cgcctgcctg gcaaaatcga gaa

33

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 33

序列名称 : Seq_92

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : cDNA 引物

<400> Gib 合酶 NotI R

agaatgcggc cgctcacttc atgctgcttg aaaggt

36

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 36

序列名称 : Seq_93

序列描述 :

序列

[0086]

<213> 生物名称：构巢曲霉

<400> Gfcps 交换载体

```

ggccgcatgc ctggcaaaat cgagaacggc acccccaaag acctcaagac aggaaatgac      60
ttlgtatcag cagcaaagtc gctgctggac cgcgccttca agagccatca tagctactat      120
ggctctatgtt ccaccagctg tcaggtatat gacactgctt gggtaggcat gatacccaag      180
acgagagaca atgtcaagca atggctgttt cctgagtgtt tccactatct tctgaagact      240
caggccgctg atggtagttg gggtagtctc cccacgaccc agactgctgg tattctagac      300
actgtctcag ctgtgcttgc actcttatgt cagcacaag agcctctgca gatactggac      360
gtctcgccag acgagatggg tctcaggatc gagcacgggg taacttcttt gaagcgacag      420
ctagctgttt ggaacgatgt tgaagatacc aatcacattg gtgtcgagtt tattattcca      480
gctttacttt ccatgcttga gaaagagctc gacgtgccat cttttgagtt tccttcgaga      540
agtatcttgg agaggatgca cggagagaag ctcgccatt tcgatttggg gcaagtatat      600
ggcaagccgt cticactact tcaactccctt gaagcctttc ttggaaagct tgactttgat      660
cgctttctc accatcttta tcatggtctt atgatggctt cacttcttc cactgcagcc      720
tacctcattg gtgcaaccaa gtgggacgac gaggttgaag attacctgag gcacgttatg      780
agaaatgggt ctggtcacgg gaatggtggc atctcaggca cctttcctac aacacatttt      840
gagtgtagct ggatcatagc gacactcctg aaggttggct tcactttgaa acaaatcgat      900
ggtgatggct tgcgcggctt gtcaactata ctctcgaag cgttgaggga cgagaatgga      960
gtaattggct ttgcaccccg tactgtgtat gttgatgaca ctgcaaaagc tcttctggca     1020
ttgagccttg tcaatcaacc tgtcagccca gatatcatga tcaaggtctt tgaaggaaaa     1080
gatcacttca ccacgttcgg atctgaacgt gatccagct tgacttccaa cctccatgtg     1140
ctgtgagtc tcctgaagca gtccaatcta tcgcaatacc acccacaat cctgaagacc     1200
acgttgttca cttgccgatg gtggtggggc agcgaccatt gcgtcaaaga taaatggaat     1260
ttgagtcate tatacccaac catgtctctg gtggaagctt tcaccgaggt acttcatctc     1320
attgatgggt gcgagctttc tagtctcttt gacgagagct tcaagtgcaa gatcggcctg     1380
tcaatcttcc aggtgtact acgtatcate ctacccaag ataacgacgg atcttgga     1440
ggatatcgcg agcaaacatg ctacgccatt ctagctcttg tacaggcacg ccatgtatgt     1500
ttcttcactc acatggtgga caggctacag agttgcgtcg accgtggtt ttcgtggctc     1560
aagtcttgca gctttcattc tcaggacctc acttgacgt caaagacagc atatgaggtt     1620
gggtttgttg ctgaagcgta caagctagca gcccttcagt cagcaagcct agaggtgccc     1680
gccgtacta ttggccacag cgtcacctcg gcggttccat catcggaatt ggagaagtac     1740
atgaggttg tgcgaagac tgccttgctc tcgccactgg acgagtgggg actcatggcg     1800
tcaatcattg agtcctcgtt cttcgtgccc ctctlacaag ctacgcgct tgagatttat     1860
ccgagggaca acatcaaggt cgacgaggac aaatacctga gcatcattcc ttttacttgg     1920
gtcggatgca acaacagatc ccgcacattt gcatctaaca gatggctcta cgatatgatg     1980
tacctgtccc tcctgggcta ccagaccgat gagtacatgg aagctgtcgc tgggccggtg     2040
ttcggtagtg tctctctgct tcaccagacc atcgacaagg tcatagacaa cacaatggga     2100
aacttagcca gggccaatgg tacctgacac agtggcaatg gtcacagca tgagtcaccc     2160
aacattggac aagttgagga tactctcact cgcttcacca acagcgtgct caaccacaaa     2220
gatgttctga attcaagctc ttctgaccaa gacactcttc gccgagaatt cagaacgttc     2280
atgcatgccc atatcacaca gatagaggac aacagtcgct tctccaagca ggcctccagc     2340
gacgttttct ctccccaga acaatcgtac ttccaatggg tcaacagtac aggaggcagt     2400
cacgtcgctt gcgcgtactc attcgcttct tccaactgcc taatgtcagc gaatctgctc     2460

```

[0087]

caaggcaagg acgcatttcc ctccggcact cagaaatata tcatttcata cgttatgcgt	2520
cacgctacaa atatgtgtcg tatgtacaac gactttgggt ccatagctcg cgataacgct	2580
gagcggaaatg tgaactcgat ccacttcccc gagttcacgt tatgtaacgg aacgtcacag	2640
aatctcgatg aaaggaaaaga gagactttta aagatagcta cgtatgagca aggttatctt	2700
gatcgtgctc tcgaagctct ggaacgacag tctcgtgatg atgcaggtga tcgtgctggg	2760
tctaaggata tgaggaagct caagattgta aaactgttct gtgatgtcac cgacttgtat	2820
gatcagcttt acgtgatcaa ggacctttca agcagcatga agtgagcggc cgctcacttc	2880
taatctatat ggtgtcctaa ccttttacct tgaatgaatca agacctggg cctatgatac	2940
cgccagcttt cgacagcccg agacctcgag caccaaagtt atgttcaaag gaggcatatt	3000
gttgaatatg atggttgta gcttctcaga gacatctgca gatgcctaag gaaccgtatt	3060
gtagaagcat gagccaggta tatagaacaa cacttagaaa aaaagtagtc ctagatccca	3120
gacactattg ctatgttacg ctttcatata atctagacct tctcctgatt catctactct	3180
atagtcatat tctgaaatag tcatcatgct cagatttcag taacgttaag tggatcaaag	3240
acatgatctc ttactgagag ttattctgtg tctgacgaaa tatgttgtgt atatatatat	3300
atgtacgtta aaagttccgt ggagttacca gtgattgacc aatgttttat cttctacagt	3360
tctgctgtc tacccttctc tagctgtacc tgactacaga atagttaa atgtgttgac	3420
cccacagtcg gaggcggagg aatacagcac cgatgtggcc tgtctccatc cagattggca	3480
cgcaattttt acacgcggaa aagatcgaga tagagtacga ctttaaattt agtccccggc	3540
ggcttctatt ttagaatatt tgagatttga ttctcaagca attgatttgg ttgggtcacc	3600
ctcaattgga taatatacct cattgctcgg ctacttcaac tcatcaatca ccgtcatacc	3660
ccgcatataa ccctccattc ccacgatgtc gtccaagtcg caattgactt acgggtgctc	3720
agccagcaag caccccaatc ctctggcaaa gagacttttt gagattgccg aagcaaagaa	3780
gacaaacgtt accgtctctg ctgatgtgac gacaaccgga gaactcctgg acctcgctga	3840
ccglacgga gctgttggat ccaatacata tgcctcttag caatggacta atcaactttt	3900
gatgatacag gtctcgggtc ctacatcgcc gtcatcaaga cacacatcga catcctcacc	3960
gatttcagcg tcgacactat caatggcctg aatgtgtcgg ctcaaaagca caactttttg	4020
atcttcgagg accgcaaat catcgacatc ggcaatacgg tccagaagca ataccacggc	4080
ggtgctctga ggatctccga atgggcccac attatcaact gcagcgttct ccctggcgag	4140
ggcatcgtcg aggtctcggc ccagaccgca tctcgcgaag acttccccta tggctctgag	4200
agaggactgt tggctcctggc agagatgacc tccaaaggat cgctggctac gggcgagtat	4260
accaaggcat cggttgacta cgctcgcaaa tacaagaact tcgttatggg ttctgtgtcg	4320
acgcggggcc tgacggaagt gcagtcggat gtgtcttcag cctcggagga tgaagatttc	4380
gtggctctca cgacgggtgt gaacctctct tccaaaggag ataagcttgg acagcaatac	4440
cagactcctg catcggctat tggacgcggg gccgacttta tcatcgccgg tcgaggcatc	4500
tacgtgctc ccgaccgggt tgaagctgca cagcggatcc agaaagaagg ctgggaagct	4560
tatatggcca gatatgcgg caagtcatga tttctcttg gagcaaaagt gtagtgccag	4620
tacgagtgtt gtggaggaag gctgcataca ttgtccctgt catlaaacga tgagctcgtc	4680
cgtattggcc cctgtaatgc catgttttcc gcccccaatc gtcaaggttt tccctttgtt	4740
agattcctac cagtcattct gcaagtggag taagctttgc cagaaacgcc aaggctttat	4800
ctatgtagtc gataagcaaa gtggactgat agcttaatat ggaagggtccc tcaggacaag	4860
tcgacctgtg cagaagagat aacagcttgg cateacgat cagtgcctcc tctcagacag	4920
gtccttcaa tatcatcttc tgcctagta acggccgcca gtgtgctgga attcgcctt	4980
aattccagct gaccacatg tcacttctaa tctatatggt gtccctaacct ttacattga	5040
tgaatcaaga ccctgggcct atgataccgc cagctttcga cagccccgaga cctcagacac	5100

[0088]

caaagttatg ttcaaaggag gcatattgtt gaatatgatg gttgtagct tctcagagac	5160
atctgcagat gcctaaggaa ccgtattgta gaagcatgag ccaggtatat agaacaacac	5220
ttagaaaaaa agtagtccta gatcccagac actattgcta tgttacgctt tcatataatc	5280
tagaccctct ccigattcat ctactctata gtcataattct gaaatagtea tcatgctcat	5340
catcctttct tccgattatg ggtcaagtgg cttttcacca acgagcccg ctagacagagca	5400
gagcaaagac tgagctctcc agccagcacg ccagccgcca ccagcagggc cagctcctgt	5460
gcgtttctac ctggctgttc ggggtcggcc ccttgacgc ccatcatgtg cagcattgcc	5520
ttttgagggc ccaggactgt cctccccca acggtgccga cttcaatgga aggcataaaa	5580
acagagattt gcaaatacacc attcacactg ctccggaggt agcgccgcaa catctatcag	5640
aatactctta gaggcagtgt actcactttt lcatcacggt cagagtgttg ctgctttgca	5700
cattctgtgc gggatcctga ccagtgga gataaatcgc cgtgacaaca ttggcggcat	5760
ggcggttgaa cctcccaga gccccgcaa cagcactgcc caccagggtt ttggagacgt	5820
tgagctccac gagggcctcg acaactggtt tgagtgtttc tcgaaccgca tgttcaggta	5880
ttgtcgctg cgcggtcacg gtcttgctc gccctcaat ccagttcaca gccgcagggt	5940
ttttatccgc acagaagttc cccgacagcg agacgacatc catagactcg aaccctgtct	6000
tttgcatcgc ctccagcgt tgcacaaccc ctttgagat catgttcacg cccattgcgt	6060
cgcctgtct ggccgtgaac cggatataga ggtccgagcc aacggccgtg gccttaatgt	6120
tttgaagccg agcgaagcgg ctggatgcat tgaacgcgtc ctcaatgatg agaaatcctg	6180
catcagagcc cagccattgt tttgcggcgc cggtctcttc gagactggga aatcgaacga	6240
taggcgtctg ggtcatgcca tcgccagca ccagagcagt cacgcctcca ccggcgttga	6300
tcgccatgca gccacgattc gtgctcgcaa ccagcgcgc ctctgtctg gacatgggga	6360
gaaacacat ctttcggttg attttgatcg gaccggcgac gccacaggg atgggcatat	6420
acccgatcac gtgcagctt tgttccctt agtgagggtt aattgcgcgc ttggcgtaat	6480
catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgt cacaattcca cacaacatag	6540
gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg agtgaggtaa ctcacattaa	6600
ttgcgttgc ctactgccc gctttccagt cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat	6660
gaatcgcca acgcgcggg agaggcgggt tgcgtatttg gcgctcttc gcttcctcgc	6720
tcactgactc gtcgcgtcg gtcttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg	6780
cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag	6840
gccagcaaaa ggcaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct ggcgttttc cataggctcc	6900
gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aaccgacag	6960
gactataaag ataccaggcg ttccccctg gaagctccct cgtgcgtct cctgttccga	7020
ccctgccgt taccggatac ctgtccgct tctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc	7080
atagctcag ctgtagggtat ctcaattcgg ttaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg	7140
tgcacgaacc cccgttcag cccgaccgt gcgccttacc cggtaactat cgtcttgagt	7200
ccaaccgggt aagacacgac ttatgccac tggcagcag cactggtaac aggattagca	7260
gagcgaggta ttaggcgggt gctacagagt tcttgaagt gtggcctaac tacggctaca	7320
ctagaaggac agtatattgt atctgcgtc tgcgaagcc agttacctc ggaaaaagag	7380
ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cgggtgtttt ttgtttgca	7440
agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc tttctacgg	7500
ggtctgacgc tcagtggaaac gaaaactcac gttaagggt tttggtcatg agattatcaa	7560
aaaggatctt cacctagatc cttttaaat aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta	7620
tatatagta aacttggctt gacagttacc aatgcttaat cagtaggca cctatctcag	7680
cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga	7740

[0089]

tacgggaggg	cttaccatct	ggccccagtg	ctgcaatgat	accgcgagac	ccacgctcac	7800
eggctccaga	tttatcagca	ataaaccagc	cagccggaag	ggccgagcgc	agaagtggtc	7860
ctgcaacttt	atccgcctcc	atccagtcta	ttaattgttg	ccgggaagct	agagtaagta	7920
gttcgccagt	taatagtgtg	cgcaacgttg	ttgccattgc	tacaggcatc	gtgggtgcac	7980
gctcgtcggt	tggtatggct	tcattcagct	ccggttccca	acgatcaagg	cgagttacat	8040
gatcccccat	gttgtgcaaa	aaagcgggta	gtccttcggg	tcctccgata	gttgtcagaa	8100
gtaagttggc	cgcagtgtta	tcactcatgg	ttatggcagc	actgcataat	tctcttactg	8160
tcattgccatc	cgtaagatgc	ttttctgtga	ctgggtgagta	ctcaaccaag	tcattctgag	8220
aatagtgtat	gcggcgaccg	agttgctctt	gcccggcgctc	aatacgggat	aataccgcgc	8280
cacatagcag	aactttaaaa	gtgctcatca	ttggaaaaacg	ttcttcgggg	cgaaaactct	8340
caaggatctt	accgctgttg	agatccagtt	cgatgtaacc	cactcgtgca	cccaactgat	8400
cttcagcatc	ttttactttc	accagcgttt	ctgggtgagc	aaaaacagga	aggcaaaatg	8460
ccgcaaaaaa	gggaataagg	gcgacacgga	aatgttgaat	actcatactc	ttcctttttc	8520
aataattattg	aagcatttat	cagggttatt	gtctcatgag	cggatacata	tttgaatgta	8580
tttagaaaaa	taaacaataa	gggggtccgc	gcacatttcc	ccgaaaagtg	ccacctgaac	8640
gaagcatctg	tgtttcattt	tgtagaacia	aaatgcaacg	cgagagcgct	aatttttcaa	8700
acaaagaatc	tgagctgcat	ttttacagaa	cagaaatgca	acgcgaaagc	gctattttac	8760
caacgaagaa	tcgtgtcttc	atttttgtaa	aacaaaaatg	caacgcgaga	gcgctaattt	8820
ttcaacaaaa	gaatctgagc	tgcattttta	cagaacagaa	atgcaacgcg	agagcgctat	8880
tttaccacaa	aagaatctat	acttcttttt	tgtctacaa	aaatgcatcc	cgagagcgct	8940
atttttctaa	caaagcatct	tagattactt	ttttctctct	ttgtgcgctc	tataatgcag	9000
tctcttgata	actllltgca	ctgtaggtcc	gttaaggtta	gaagaaggct	actttgggtg	9060
ctattttctc	ttccataaaa	aaagcctgac	tccacttccc	gcgtttactg	attactagcg	9120
aagclcgggg	tgcatttttt	caagataaag	gcatecccca	ttatattcta	taccgatgtg	9180
gattgcgcat	actttgtgaa	cagaaagtga	tagcgttgat	gattcttcat	tggtcagaaa	9240
attatgaacg	gtttcttcta	ttttgtctct	atatactacg	tataggaaat	gtttacattt	9300
tcgtattggt	ttcgattcac	tctatgaata	gttcttacta	caattttttt	gtctaaagag	9360
taatactaga	gataaacata	aaaaatgtag	aggtcgagtt	tagatgcaag	ttcaaggagc	9420
gaaagggtgga	tggttaggtt	atatagggat	atagcacaga	gatatatagc	aaagagatac	9480
ttttgagcaa	tgtttggtga	agcgggtattc	gcaatatattt	agtagctcgt	tacagtcggg	9540
tgcgtttttg	gttttttgaa	agtgcgtctt	cagagcgctt	ttggttttca	aaagcgctct	9600
gaagttccta	tactttctag	agaataggaa	cttcggaata	ggaacttcaa	agcgtttccg	9660
aaaacgagcg	cttcgaaaaa	tgcaacgcga	gctgcgcaca	tacagctcac	tgttcacgtc	9720
gcacctatat	ctgcgtgttg	cctgtatata	tatatcatg	agaagaacgg	catagtgcgt	9780
gtttatgctt	aaatgcgtac	ttatatgcgt	ctatttatgt	aggatgaaag	gtagtctagt	9840
acctctctgt	atattatccc	attccatgcg	gggtatcgta	tgcttctctc	agcactaccc	9900
tttagctgtt	ctatatgctg	ccactctca	attggattag	tctcatcctt	caatgctatc	9960
atttcttttg	atattggatc	atactaagaa	accattatta	tcatgacatt	aacctataaa	10020
aataggcgta	tcacgaggcc	ctttcgtctc	gcgcgtttcg	gtgatgacgg	tgaaaacctc	10080
tgacacatgc	agctcccggg	gacgggtcaca	gcttgtctgt	aagcgggatgc	cgggagcaga	10140
caagccccgc	agggcgcgtc	agcgggtgtt	ggcggglgtc	ggggctggct	taactatgcg	10200
gcacagagc	agattgtact	gagagtgcac	cataccacag	cttttcaatt	caattcatca	10260
tttttttttt	attctttttt	ttgatttcgg	tttctttgaa	atttttttga	ttcggtaatc	10320
tccgaacaga	aggaagaacg	aaggaaggag	cacagactta	gatttggtata	tatacgcata	10380

[0090]

tgtagtggtg aagaacatg aaattgccca gtattcttaa cccaactgca cagaacaaaa	10440
acctgcagga aacgaagata aatcatgtcg aaagctacat ataaggaacg tgcigctact	10500
catcctagtc ctgttgctgc caagctatatt aatatcatgc acgaaaagca aacaaacttg	10560
tgtgttcat tggatgttcg taccaccaag gaattactgg agttagtga agcattaggt	10620
cccaaaattt gtttactaaa aacacatgtg gatattctga ctgatttttc catggagggc	10680
acagttaagc cgctaaaggc attatccgcc aagtacaatt ttttactctt cgaagacaga	10740
aaatttgctg acattggtaa tacagtcaaa ttgcagtact ctgcgggtgt atacagaata	10800
gcagaatggg cagacattac gaatgcacac ggtgtggtgg gccaggtat tgttagcggt	10860
ttgaagcagg cggcagaaga agtaacaaag gaacctagag gccttttgat gttagcagaa	10920
ttgtcatgca agggctccct atctactgga gaataacta agggtagtgt tgacattgcg	10980
aagagcgaca aagattttgt tatcggtttt attgctcaaa gagacatggg tggaagagat	11040
gaaggttacg attggttgat tatgacaccg ggtgtgggtt tagatgacaa gggagacgca	11100
ttgggtcaac agtatagaac cgtggatgat gtggtctcta caggatctga cattattatt	11160
gttgaagag gactatttgc aaagggaagg gatgctaagg tagagggtga acgttacaga	11220
aaagcaggct gggaagcata tttgagaaga tgcggccagc aaaactaaaa aactgtatta	11280
taagtaaatg catgtatact aaactacaa attagagctt caatttaatt atatcagtta	11340
ttaccctatg cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggaa	11400
attgtaaacg ttaatatatt gttaaaattc gcgttaaatt ttgtttaat cagctcattt	11460
tttaaccaat aggccgaaat cggcaaaatc cttataaat caaaagaata gaccgagata	11520
gggttgagtg ttgttccagt ttggaacaag agtccactat taaagaacgt ggactccaac	11580
gtcaaagggc gaaaaaccgt ctatcagggc gatggccac tacgtgaacc atcacctaa	11640
tcaagttttt tggggtcgag gtgccgtaa gactaaatc ggaaccctaa agggagcccc	11700
cgatttagag ctgacgggg aaagccggcg aacgtggcga gaaagggaagg gaagaaagcg	11760
aaaggagcgg gcgctagggc gctggcaagt gtacgggtca cgctgcgcgt aaccaccaca	11820
cccgccgcgc ttaatgcgcc gctacagggc gcgtgcgcc attcgccatt caggctgcgc	11880
aactgttggg aaggcgatc ggtgcgggcc tcttcgtat tacgccagct ggcgaaaggg	11940
ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggtg acgccagggt tttcccagtc acgacgttgt	12000
aaaacgacgg ccagtgagcg cgcgtaatac gactactat agggcggaatt gggtagccgg	12060
ccccccacg ttagccgat caacggccgg acccaggacg ccatgcgggt gacgacatcc	12120
gtgttggtga acgagatcca gcggatgac tggacgaagt cgagcgagct gctgccagg	12180
agcgtggtcg tcgagtcttc gttggtcact gctcttgta gtgttattca gcacaaaagc	12240
aagcgtatca tcgtaagtc aggggggaac gcaccgtgca gggcaatcgc catacactcc	12300
gtcagacca ggccgtctgc gccgacaaac gtcggggtct tggccagcgg gttcaggttc	12360
cagtagaagt ctgggacgcc gttggccggc tgcagctcga cttgctccag ctccaagccg	12420
atggattttg cgacagcttg gatgcctagg gctcgggggc tccgctgttg ccagttagcc	12480
ctgcgaccat atgctgggct ttccgactca tagggataac atgaaaacgg tgctgacctt	12540
gtacgtgtag agctttccaa agcttccgcg ctcttcagt ttctcttctg tactgccatt	12600
ctgatgcggc agagccggtg cgtcgacaag cgtatccgcg gtcatactg ggtgacgcgt	12660
gggattccgg ggtgcattga gactactaga aaattaaaaa gttcagatgc tatatcacgg	12720
gacaaggaat tattcaagta cttcattggg aactcatgca tcggagcgat ggatcatcc	12780
gacaccgaag gatcagtcgc ccgaccgcc gggattatac gcgaaacct atagggacgg	12840
tacatttctc taagggaagt cagggtctct agaacactga ttagcgagaa atgcaatcaa	12900
ttttgtgtat atcagctcct acgactcatt gtgtcgcact ctgtgcgtca gggaatatcc	12960
cagggaatc ttgcggccca tatctggcct tccgactgct agctcgaaag ctttaagcaa	13020

[0091]

```
ttgatgggtc taaggtagac aagatgggtga agctagggtca tccgaacatg gattgacaat 13080
gaattacagc tcatgatatt gcttgccgta gacgattcca tgctctccag agagctctag 13140
ttcccttggg cagacaatcc ataagcaatt gattatctcg gtgactgtta ccgccggatt 13200
gagcatatat gcagccccc ttagtctcgc cgggtggtag gcctgtcagt ccgtctaata 13260
catagacaaa cttccatgac tcgaacacaa tcttgaggct gcaggcattg ctcctagaga 13320
cataagccag tgcccaggct attttaagga ctgtccccc ggggcgaaag atgatccctc 13380
cgtgcccggt cactccgtca ccgaccgcaa tagtcagtct ggagtgcctc ttgaacaatg 13440
tccaggttga ctctggctga catcaaatac ctggaactcc ctctctatcg ttcagtctac 13500
atgtcagct tctcctcgca gtcagacgaa ccgc 13534
```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 13534

序列名称 : Seq_94

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 5' 片段引物 (DNA)

<400> 5' AN1594_F

cgtgtagccg atcaacgg

18

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 18

序列名称 : Seq_95

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 5' 片段引物 (DNA)

<400> pyrGAF2/3_R3

cagcttcaac cgggtcggga gcag

24

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 24

序列名称 : Seq_96

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 3' 片段引物 (DNA)

<400> pyrGAF2/3_F

atatgccgtc tagcaatgga ct

22

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 22

序列名称 : Seq_97

序列描述 :

[0092]

序列

<213> 生物名称 : 3' 片段引物 (DNA)

<400> 3' AN1594R

acgtgatcgg gtatatgccc

20

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 20

序列名称 : Seq_98

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : KS cDNA

<400>

atgcctggca aaatcgagaa cggcaccccc aaagacctca agacaggaaa tgactttgta	60
tcagcagcaa agtcgctgct ggaccgcgcc ttcaagagcc atcatagcta ctatggctcta	120
tgttccacca gctgtcaggt atatgacact gcttgggtgg ccatgatacc caagacgaga	180
gacaatgtca agcaatggct gtttcctgag tgcttccact atcttctgaa gactcaggcc	240
gctgatggta gttggggtag tctccccacg acccagactg ctggtattct agacactgct	300
tcagctgtgc ttgcaactct atgtcacgca caagagcctc tgcagatact ggacgtctcg	360
ccagacgaga tgggtctcag gatcgagcac ggggtaactt ctttgaagcg acagctagct	420
gtttggaacg atgttgaaga taccaatcac attggtgtcg agtttattat tccagcttta	480
ctttccatgc ttgagaaaga gctcgacgtg ccatcttttg agtttcttg cagaagtatc	540
ttggagagga tgcacggaga gaagctcggc catttcgatt tggagcaagt atatggcaag	600
ccgtcttcac tacttcactc ccttgaagcc tttcttgga agcttgactt tgatcgctt	660
tctcaccatc tttatcatgg ctctatgatg gcttcacctt ctccactgc agcctacctc	720
attggtgcaa ccaagtggga cgacgaggct gaagattacc tgaggcacgt tatgagaaat	780
gggtgctggc acgggaatgg tggcatctca ggcaccttct ctacaacaca ttttgagtgt	840
agctggatca tagcgacact cctgaaggtt ggcttcactt tgaacaaaat cgatggtgat	900
ggcttgcgcg gcttgtcaac tatacttctc gaagcgttga gggacgagaa tggagtaatt	960
ggctttgcac cccgtactgc tgatgttgat gacactgcaa aagctcttct ggcatgagc	1020
cttgtcaatc aacctgtcag ccagataatc atgatcaagg tctttgaagg aaaagatcac	1080
ttcaccacgt tcggatctga acgtgatccc agcttgactt ccaacctcca tgtgctgctg	1140
agtctcctga agcagtccaa tctatcgcaa taccacccac aaatcctgaa gaccacgttg	1200
ttcacttgcc gatggtgggtg gggcagcgac cattgcgtca aagataaatg gaatttgagt	1260
catctatacc caacctgct tctggtggaa gctttcaccc aggtacttca tctcattgat	1320
gggtggcgagc tttctagtct ctttgacgag agcttcaagt gcaagatcgg cctgtcaatc	1380
ttccaggctg tactacgtat catcctcacc caagataacg acggatcttg gagaggatat	1440
cgcgagcaaa catgctacgc cattctagct cttgtacagg cacgccatgt atgtttcttc	1500
actcacatgg tggacaggct acagagttgc gtcgaccgtg gcttttcgtg gctcaagtcc	1560
tgcagctttc attctcagga cctcacttgg acgtcaaaaga cagcatatga ggttgggttt	1620
gttgcgtgaag cgtacaagct agcagccctt cagtcagcaa gcctagaggt gcccgcgcgt	1680
actattggcc acagcgtcac ctcggcggtt ccatcatcgg acttgagaaa gtacatgagg	1740

[0093]

```

cttgtgcgca agactgcttt gttctcgcca ctggacgagt ggggactcat ggcgtcaatc 1800
attgagtect cgttcttcgt gccccttcta caagctcagc gcgttgagat ttatccgagg 1860
gacaacatca aggtcgacga ggacaaatac ctgagcatca ttccttttac ttgggtcgga 1920
tgcaacaaca gateccgcac atttgcatct aacagatggc tctacgatat gatgtacctg 1980
tccctcctgg gctaccagac cgatgagtag atggaagctg tcgctgggcc ggtattcggt 2040
gatgtctctc tgcttcacca gaccatcgac aaggctcatg acaacacaat gggaaactta 2100
gccagggccca atggtaccgt gcacagtggc aatggctatc agcatgagtc acccaacatt 2160
ggacaagttg aggatactcl cactcgttc accaacagcg tgctcaacca caaagatgtt 2220
ctgaattcaa gctcttctga ccaagacact cttcgccgag aattcagaac gttcatgcat 2280
gcccataatc cacagataga ggacaacagt cgcttctcca agcaggcctc cagcgacgct 2340
ttctcttccc cagaacaatc gtacttccaa tgggtcaaca gtacaggagg cagtcacgct 2400
gcctgcgctg actcattcgc tttctccaac tgcctaattg cagcgaatct gctccaaggc 2460
aaggacgcat ttccctccgg cactcagaaa tatctcattt catccgttat gcgtcacgct 2520
acaaatatgt gtcgtatgta caacgacttt ggggccatag ctgcgataa cgctgagcgg 2580
aatgtgaact cgatccactt ccccagttc acgttatgta acggaacgtc acagaatctc 2640
gatgaaagga aagagagact tttaaagata gctacgtatg agcaaggta tcttgatcgt 2700
gctctcgaag ctctggaacg acagtctcgt gatgatgcag gtgatcgtgc tgggtctaag 2760
gatatgagga agctcaagat tgtaaaactg tttctgtgat tcaccgactt gtatgatcag 2820
ctttacgtga tcaaggacct ttcaagcagc atgaagtga 2859

```

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 2859

序列名称 : Seq_99

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : KS 蛋白质

<400>

```

MPGKIENGTP KDLKTGNDFV SAAKSLLDRA FKSHHSYYGL CSTSCQVYDT AWMAMIPKTR 60
DNVKQWLFPE CFHYLLKTQA ADGSWGS LPT TQTAGILDTA SAVLALLCHA QEPLQILDVS 120
PDEMLRIEH GVTSLKRQLA VWNDVEDTNH IGVEFIIPAL LSMLEKELDV PSFEFPCRSI 180
LERMHGEKLG HFDLEQVYVK PSSLLHSLEA FLGKLDFDRL SHHLYHGSMM ASPSSTAAYL 240
IGATKWDEA EDYL RHVMRN GAGHGNGGIS GTFPTTHFEC SWIIATLLKV GFTLKQIDGD 300
GLRGLSTILL EALRDENGVI GFAPRTADV DTA KALLALS LVNQPVSPDI MIKVFEKGDH 360
FTTFGSRDP SLTSNLHVLL SLLKQSNLSQ YHPQILK TTL FCRWWWGSD HCVKDKWNLS 420
HLYPTMLLVE AFTEVLHLID GGELSSLFDE SFKCKIGLSI FQAVLRIILT QDNDG SWRGY 480
REQTCYAILA LVQARHVCFF THMVDRLQSC VDRGFSWLKS CSFHSQDLTW TSKTAYEVGF 540
VAEAYKLAAL QSASLEVPAA TIGHSVTSV PSSDLEK YMR LVRKTALFSP LDEWGLMASI 600
IESSFFVPLL QAQRVEIYPR DNIKVDEDKY LSIIPFTWVG CNNRSRTFAS NRWLYDMMYL 660
SLLGYQTDEY MEAVAGPVFG DVSLLHQTID KVIDNTMGNL ARANGTVHSG NGH QHESPNI 720
GQVEDTLTRF TNSVLNHKDV LNSSSDQDT LRREFRTFMH AHITQIEDNS RFSKQASSDA 780
FSSPEQSYFQ WVNSTGGSHV ACAYSFAFSN CLMSANLLQG KDAFPSGTQK YLISSVMRHA 840
TNMCRMYNDF GSIARDNAER NVNSIHFPEF TLCNGTSQNL DERKERLLKI ATYEQGYLDR 900
ALEALERQSR DDAGDRAGSK DMRKLKIVKL FCDVTDLYDQ LYVIKDLSSS MK 952

```

[0094]

<212> 类型 : PRT

<211> 长度 : 952

序列名称 : Seq_100

序列描述 :

序列

<213> 生物名称 : 构巢曲霉

<400> 缺失载体

```

gtgtagccga tcaacggccg gacccaggac gccatgcggg tgacgacatc cgtgttggtg      60
aacgagatcc agcggalga ctggacgaag tcgagcgagc tgctgcccag gagcgtggtc      120
gtcagagtctt cgttggtcac tgctcttgtg agtgttattc agcacaaaag caagcgtatc      180
atcgtaagtc gaggggggaa cgcaccgtgc agggcaatcg ccatacactc cgtcagcacc      240
aggccgtctg cgcgcacaaa cgtcggggtc ttgccagcg ggttcaggtt ccagtagaag      300
tctgggacgc cgttgccgg ctgcagctcg acttgctcca gctccaagcc gatggatttt      360
gcgacagctt ggatgcctag ggctcggggg ctccgctgtt gccagttagc cctgcgacca      420
tatgctgggc ttccgactc atagggataa catgaaaacg gtgtgacct tgtacgtgta      480
gagcttlcca aagcttcgc gctccttcag ttctcttct gtactgcat tctgatgcgg      540
cagagccggt gcgtcgacaa gcgtatccgc ggtcatagct gggtagcgc tgggattccg      600
gggtgcattg agagtactag aaaattaaaa tgttcagatg ctatatcacg ggacaaggaa      660
atattcaagt acttcattgg gaactcatgc atcggagcga tggatcattc cgacaccgaa      720
ggatcagtc cccgaccgc cgggattata cgcgaaaccc tatagggacg gtacatttct      780
ctaaggaagt tcagggtctc tagaactctg attagcgaga aatgcaatca attttgtgta      840
tatcagctcc tacgactcat tgtgtcgac tctgtgcgc agggaaatc ccagggaat      900
cttgccggcc atatctggcc ttccgactgc tagctcgaaa gctttaagca attgatgggt      960
ctaaggtaga caagatggtg aagctaggtc atccgaacat ggattgacaa tgaattacag     1020
ctcatgatat tgettgccgt agacgattcc atgtctctca gagagctcta gttcccttgg     1080
gcagacaatc cataagcaat tgattatctc ggtgactgtt accgccgat tgagcatata     1140
tgcagccccc atgtagttcg ccgggtggta ggcctgtcag tccgtcta atccatagacaa     1200
acttccatga ctcgaaacaa atcttgaggc tgcaggcatt gctcctagag acataagcca     1260
gtgccaggc tattttaagg actgtctccc cggggcgaaa gatgatccct ccgtgcccg     1320
tcactccgtc accgaccgca atagtcagtc tggagtgcct cttgaacaat gtccaggttg     1380
actctggctg acatcaataa cctggaactc cctctctatc gttcagtcta catgctcagc     1440
ttctcctcgc agtcagacga accgcggccg ctcaattcta atctatatgg tgtcctaacc     1500
ttttacattg atgaatcaag accctgggcc tatgataccg ccagctttcg acagcccgag     1560
acctcgagca ccaaagttat gttcaaagga ggcatattgt tgaatatgat ggttgtagc     1620
ttctcagaga catctgcaga tgccaaagga accgtattgt agaagcatga gccaggtata     1680
tagaacaaca cttagaaaaa aagtagtcct agatcccaga cactattgct atgttacgct     1740
ttcatataat ctagaccctc tctgattca tctactctat agtcatatc tgaaatagtc     1800
atcatgctca gatttcagta acgttaagt gatcaaagac atgatctctt actgagagtt     1860
attctgtgtc tgacgaaata tgttgtgtat atatatatat gtacgttaaa agtlccgtgg     1920
agttaccagt gattgaccaa tgtttatct tctacagttc tgccgtgteta cccattcta     1980
gctgtacctg actacagaat agtttaattg tggttgaccc cacagtcgga ggccggaggaa     2040

```

[0095]

tacagcaccg atgtggcctg tctccatcca gattggcacg caattttttac acgcggaaaa	2100
gatcgagata gactacgact ttaaattttag tccccggcgg cttctatttt agaataattg	2160
agatttgatt ctcaagcaat tgatttgggtt gggtcaccct caattggata atataacctca	2220
ttgtcgggt acttcaactc atcaatcacc gtcatacccc gcatataacc ctccattccc	2280
acgatgtcgt ccaagtcgca attgacttac ggtgtcgcag ccagcaagca ccccaatcct	2340
ctggcaaaga gactttttga gattgccgaa gcaaagaaga caaacgttac cgtctctgct	2400
gatgtgacga caaccggaga actcctggac ctgcctgacc gtacgggaagc tgttggatcc	2460
aatacatatg cgtctagca atggactaat caacttttga tgatacaggt ctcggtccct	2520
acatgccgt catcaagaca cacatcgaca tctcaccga tttcagcgtc gacactatca	2580
atggcctgaa tgtgtgtggct caaaagcaca actttttgat cttcgaggac cgcaaattca	2640
tcgacatcgg caataccgtc cagaagcaat accacggcgg tgctctgagg atctccgaat	2700
gggcccacat tatcaactgc agcgttctcc ctggcgaggg catcgtcgag gctctggccc	2760
agaccgcac tgcgcaagac ttcccctatg gtcttgagag aggactgttg gtcttggcag	2820
agatgacctc caaaggatcg ctggctacgg gcgagtatac caaggcatcg gttgactacg	2880
ctcgaaata caagaacttc gttatgggtt tctgtcgcag gcgggccctg acggaagtgc	2940
agtcggatgt gtcttcagcc tcggaggatg aagatttcgt ggtcttcacg acgggtgtga	3000
acctctcttc caaaggagat aagcttggac agcaatacca gactcctgca tcggctattg	3060
gacgcgggtc cgactttatc atcgccggtc gaggcattca cgtgtctccc gacccggttg	3120
aagctgcaca gcggtaccag aaagaaggct ggggaagctta tatggccaga gtatcgcgca	3180
agtcattgatt tctctttgga gcaaaagtgt agtgccagta cgagtgttgt ggagggaaggc	3240
tgatacatatt gtgcctgtca ttaaactgat agctcgtccg tattggcccc tgtaatgcca	3300
tgttttccgc ccccaatcgt caaggttttc ctttgtttag attcctacca gtcactatgc	3360
aagttaggta agctttgcca gaaacgcaa ggctttatct atgtagtcca taagcaaagt	3420
ggactgatag ctaatatgg aaggtccctc aggacaagtc gacctgtgca gaagagataa	3480
cagcttggca tcacgcatca gtgcctcctc tcagacaggc tcttcaata tcatctctg	3540
tctagtaac ggccgccagt gtgttggaaat tcgcccttaa ttccagctga ccaccatgtc	3600
acttctaate tatatggtgt cctaaccttt tacattgatg aatcaagacc ctgggcctat	3660
gataccgcca gctttcgaca gcccagacc tcgagcacca aagttatgtt caaaggaggc	3720
atattgttga atatgatggt tgttagcttc tcagagacat ctgcagatgc ctaaggaacc	3780
gtattgtaga agcatgagcc aggtatatag aacaacactt agaaaaaag tagtcctaga	3840
tcccagacac tattgtctatg ttacgcttcc atataatcta gacctctcc tgattcatct	3900
actctatagt catattctga aatagtcac atgctcatca tctttcttc cgattatggg	3960
tcaagtggct tttaccaac gagcccgtg acagagcaga gcaaagactg agctctccag	4020
ccagcacgcc agccgccacc agcagggcca gctcctgtgc gtttctacct ggctgttcgg	4080
ggtcggcccc ttggacgccc atcatgtgca gcattgcctt ttgagggccc aggactgtcc	4140
ctcccccaac ggtgccgact tcaatggaag gcatgaaaac agagatttgc aaatcaccat	4200
tcacactgct cgggagttag cgccgcaaca tctatcagaa tatctttaga ggaggtgtac	4260
tcacttttcc atcacggtca gagtgttgc gctttgcaca ttctgtgcgg gatcctgacc	4320
agtggaaga taaatcgccg tgacaacatt ggccgcatgg gcgttgaacc ctcccagagc	4380
ccctgcaaca gcaatgcca ccaggttctt ggagacgttg agctccacga gggcctcgac	4440
actggtcttg agtgtttctc gaaccgcatg ttcaggtatt gtcgctgcg cggtcacggt	4500
cttgctctgc cctcaatcc agttcacagc cgcaggtttt ttatccgcac agaagttccc	4560
cgacagcgag acgacatcca tagactcgaa cccgtgcttt tgcacgcct ccagcgcttg	4620
ctcaaccctt ttggagatca tgttcatgcc cattgcgtcg cccgtgctgg ccgtgaaccg	4680

[0096]

gatatagagg	tccgagccaa	cggccgtggc	cttaatgttt	tgaagccgag	cgaagcggct	4740
ggatgcattg	aacgcgtcct	caatgatgag	aaatcctgca	tcagagccca	gccattgttt	4800
tgcggcgccg	gcttcttcga	gactgggaaa	tcgaacgata	ggcgctcggg	tcatgccatc	4860
gcccagcacc	agagcagtea	cgctccacc	ggcgttgatc	gccatgcage	cacgattcgt	4920
gctcgcaacc	agcgcgccct	ctgtcgtgga	catggggaga	aacaccatct	ttccgttgat	4980
tttgatcgga	cggcgagcgc	ccacagggat	gggcatatac	ccgatcacgt	gcagcttttg	5040
ttccctttag	tgagggttaa	ttgcgcgctt	ggcgtaatca	tggtcatagc	tgtttcctgt	5100
gtgaaattgt	tatccgtcca	caattccaca	caacatagga	gccggaagca	taaagtgtaa	5160
agcctggggg	gcctaattgag	tgaggtaact	cacattaatt	gcgttgcgct	cactgccgcg	5220
tttccagtcg	ggaaacctgt	cgtgccagct	gcattaatga	atcgccaac	gcgcggggag	5280
aggcggtttg	cgtattgggc	gctcttcgcg	ttctcgcctc	actgactcgc	tgcgctcggt	5340
cgttcggctg	cggcgagcgg	tatcagctca	ctcaaaggcg	gtaatacggg	tatccacaga	5400
atcaggggat	aacgcaggaa	agaacatgtg	agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccaggaaccg	5460
taaaaaggcc	gcgttgctgg	cgtttttcca	taggtcgcgc	ccccctgacg	agcatcacaa	5520
aaatcgacgc	tcaagtcaga	ggtggcgaaa	cccgcagga	ctataaagat	accaggcggt	5580
tccccctgga	agctccctcg	tgcgctctcc	tgttcgcacc	ctgcgcctta	ccggatacct	5640
gtccgccttt	ctcccttcgg	gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	5700
cagttcggtg	taggtcggtc	gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	5760
cgaccgctgc	gccttatccg	gtaactatcg	tcttgagtcc	aacccggtaa	gacacgactt	5820
atcgccactg	gcagcagcca	ctggtaacag	gattagcaga	gcgagglatg	taggcgggtg	5880
tacagagttc	ttgaagtggg	ggcctaacta	cggctacact	agaaggacag	tatttggtat	5940
ctgcgctctg	ctgaagccag	ttaccttcgg	aaaaagagtt	ggtagctctt	gatccggcaa	6000
acaaaccacc	gctggtagcg	gtggtttttt	tgtttgcaag	cagcagatta	cgcgcagaaa	6060
aaaaggatct	caagaagatc	ctttgatctt	ttctacgggg	tctgacgctc	agtggaaacga	6120
aaactcacgt	taagggtatt	tggtcatgag	attatcaaaa	aggatcttca	cctagatcct	6180
tttaaattaa	aatgaagtgt	ttaaataaat	ctaaagtata	tatgagtaaa	cttggtctga	6240
cagttacca	tgcttaatca	gtaggcacc	tatctcagcg	atctgtctat	ttcgttcac	6300
catagttgcc	tgactccccg	tcgtgtagat	aactacgata	cgggagggct	taccatctgg	6360
ccccagtgt	gcaatgatac	cgcgagaccc	acgtcacccg	gctccagatt	tatcagcaat	6420
aaaccagcca	gccggaaggg	ccgagcgcag	aagtggctct	gcaactttat	ccgcctccat	6480
ccagtctatt	aattgttgcc	gggaagctag	agtaagtagt	tcgccagtta	atagtttgcg	6540
caacgttggt	gccattgcta	caggcatcgt	ggtgtcacgc	tcgtcgtttg	gtatggcttc	6600
attcagctcc	ggttcccaac	gatcaaggcg	agttacatga	tccccatgt	tgtgcaaaaa	6660
agcggttagc	tccttcggtc	ctccgatcgt	tgtcagaagt	aagtggcccg	cagtgttata	6720
actcatgggt	atggcagcac	tgcataatct	tcttactgtc	atgccatccg	taagatgctt	6780
ttctgtgact	ggtgagtact	caaccaagtc	attctgagaa	tagtgtatgc	ggcgaccgag	6840
ttgctcttgc	ccggcgtaaa	tacgggataa	taccgcgcca	catagcagaa	ctttaaaagt	6900
gctcatcatt	ggaaaacgtt	cttcggggcg	aaaactctca	aggatcttac	cgctgttgag	6960
atccagttcg	atgtaaccca	ctcgtgcacc	caactgatct	tcagcatctt	ttactttcac	7020
cagcgtttct	gggtgagcaa	aaacaggaag	gcaaaatgcc	gcaaaaaagg	gaataagggc	7080
gacacggaaa	tgttgaatac	tcatactctt	cttttttcaa	tattattgaa	gcattttatca	7140
gggttattgt	ctcatgagcg	gatacatatt	tgaatgtatt	tagaaaaata	aacaaatagg	7200
ggttcgcgcg	acatttcccc	gaaaagtgcc	accigaacga	agcatctgtg	cttcattttg	7260
tagaacaata	atgcaacgcg	agagcgctaa	tttttcaaac	aaagaatctg	agctgcattt	7320

[0097]

ttacagaaca	gaaatgcaac	gcgaaagcgc	tattttacca	acgaagaatc	tgtgcttcat	7380
ttttgtaaaa	caaaaatgca	acgcgagagc	gctaattttt	caaacaaaga	atctgagctg	7440
catttttaca	gaacagaaat	gcaacgcgag	agcgtatatt	taccaacaaa	gaatctatac	7500
ttcttttttg	ttctacaaaa	atgcatcccg	agagcgctat	ttttctaaca	aagcatctta	7560
gattactttt	tttctccttt	gtgcgctcta	taatgcagtc	tcttgataac	tttttgcact	7620
gtaggtcctg	taaggttaga	agaaggctac	tttgggtgtc	attttctctt	ccataaaaaa	7680
agcctgactc	cacttcccgc	gtttactgat	tactagcgaa	gctgcgggtg	cattttttca	7740
agataaaggc	atccccgatt	atattctata	ccgatgtgga	ttgcgcatac	tttgtgaaca	7800
gaaagtgata	gcgttgatga	ttcttcatig	gtcagaaaat	tatgaacggg	ttcttctatt	7860
ttgtctctat	atactacgta	taggaaatgt	ttacattttc	gtattgtttt	cgattcactc	7920
tatgaatagt	tcttactaca	atttttttgt	ctaaagagta	atactagaga	taaacataaa	7980
aaatgtagag	gtcaggttta	gaigcaagtt	caaggagcga	aagggtggatg	ggtaggttat	8040
atagggatat	agcacagaga	tatatagcaa	agagatactt	ttgagcaatg	tttgtggaag	8100
cggatattcg	aataattttag	tagctcgtta	cagtccgggtg	cgtttttggg	tttttgaaag	8160
tgcgtcttca	gagcgctttt	ggttttcaaa	agcgcctctga	agttcctata	ctttctagag	8220
aataggaact	tcggaatagg	aacttcaaag	cgtttccgaa	aacgagcgct	tccgaaaatg	8280
caacgcgagc	tgcgcacata	cagctcactg	ttcacgtcgc	acctatactc	gcgtgttgcc	8340
tgtatatata	tatacatgag	aagaacggca	tagtgcgtgt	ttatgcttaa	atgcgtactt	8400
atatgcgtct	atttatgtag	gatgaaaggt	agctagtagc	ctcctgtgat	attatcccat	8460
tccatgcggg	glatcglatg	cttcttccag	cactaccctt	tagctgttct	atatgctgcc	8520
actcctcaat	tggattagtc	tcattcctca	atgetatcat	ttcctttgat	attggatcat	8580
actaagaaac	cattattatc	atgacattaa	cctataaaaa	taggcgtatc	acgaggccct	8640
ttcgtctcgc	gcgtttcggg	gatgacgggtg	aaaacctctg	acacatgcag	ctcccggaga	8700
cggtcacagc	ttgtctgtaa	gcggatgccg	ggagcagaca	agcccgtcag	ggcgcgtcag	8760
cgggtgttgg	cgggtgtcgg	ggctggctta	actatgcggc	atcagagcag	attgtactga	8820
gaglgcacca	taccacagct	tttcaattca	attcatcatt	ttttttttat	tctttttttt	8880
gatttcgggt	tctttgaaat	ttttttgatt	cggtaatctc	cgaacagaag	gaagaacgaa	8940
ggaaggagca	cagacttaga	ttggtatata	tacgcataatg	tagtgttgaa	gaaacatgaa	9000
attgcccagt	attcttaacc	caactgcaca	gaacaaaaac	ctgcaggaaa	cgaagataaa	9060
tcattgtcgaa	agctacatat	aaggaacgtg	ctgctactca	tcctagtctc	gttgtgtcca	9120
agctattttaa	tatcatgcac	gaaaagcaaa	caaacttgtg	tgcttcattg	gatgttcgta	9180
ccaccaagga	attactggag	ttagttgaag	cattaggtcc	caaaatttgt	ttactaaaaa	9240
cacatgtgga	tatcttgact	gattttttcca	tggagggcac	agttaagccg	ctaaaggcat	9300
tatccgccaa	gtacaatttt	ttactcttcg	aagacagaaa	atttgcgtac	atttgtaata	9360
cagtcaaatt	gcagtactct	gcgggtgtat	acagaatagc	agaatgggca	gacattacga	9420
atgcacacgg	tgtggtgggc	ccagggtattg	ttagcggttt	gaagcaggcg	gcagaagaag	9480
taacaaagga	acctagaggc	cttttgatgt	tagcagaatt	gtcatgcaag	ggctccctat	9540
ctactggaga	atatactaag	ggtactgttg	acattgcgaa	gagcgacaaa	gattttgtta	9600
tcggctttat	tgtctaaaaga	gacatgggtg	gaagagatga	aggttacgat	tggttgatta	9660
tgacacccgg	tgtgggttta	gatgacaagg	gagacgcatt	gggtcaacag	tatagaaccg	9720
tggatgatgt	ggctcttaca	ggatctgaca	ttattattgt	tgggaagagga	ctatttgcaa	9780
aggggaaggga	tgctaaggta	gaggggtgaac	gttacagaaa	agcaggctgg	gaagcatatt	9840
tgagaagatg	cggccagcaa	aactaaaaaa	cigtattata	agtaaatgca	tgtatactaa	9900
actcacaat	tagagcttca	atttaattat	atcagttatt	accctatgcg	gtgtgaaata	9960

[0098]

ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggaaat tgtaaacgtt aatattttgt	10020
taaaattcgc gttaaatttt tgtaaataca gtcattttt taaccaatag gccgaaatcg	10080
gcaaaatccc ttataaatca aaagaataga ccgagatagg gttgagtgtt gttccagttt	10140
ggaacaagag tccactatta aagaacgtgg actccaacgt caaaggcgga aaaaccgtct	10200
atcaggcgga tggcccacta cgtgaacat caccctaatac aagttttttg gggtcgaggt	10260
gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaag ggagcccccg atttagagct tgacggggaa	10320
agccggcgaa cgtggcgaga aaggaaggga agaaagcgaa aggagcgggc gctagggcgc	10380
tggcaagtgt agcggtcacg ctgcgcgtaa ccaccacacc cgccgcgctt aatgcgccgc	10440
tacagggcgc gtcgcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg	10500
tcggggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa	10560
gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgagcgcg	10620
cgtaatacga ctcactatag gggaattgg gtaccgggcc cccccac	10667

<212> 类型 : DNA

<211> 长度 : 10667

序列名称 : Seq_101

序列描述 :



图 1

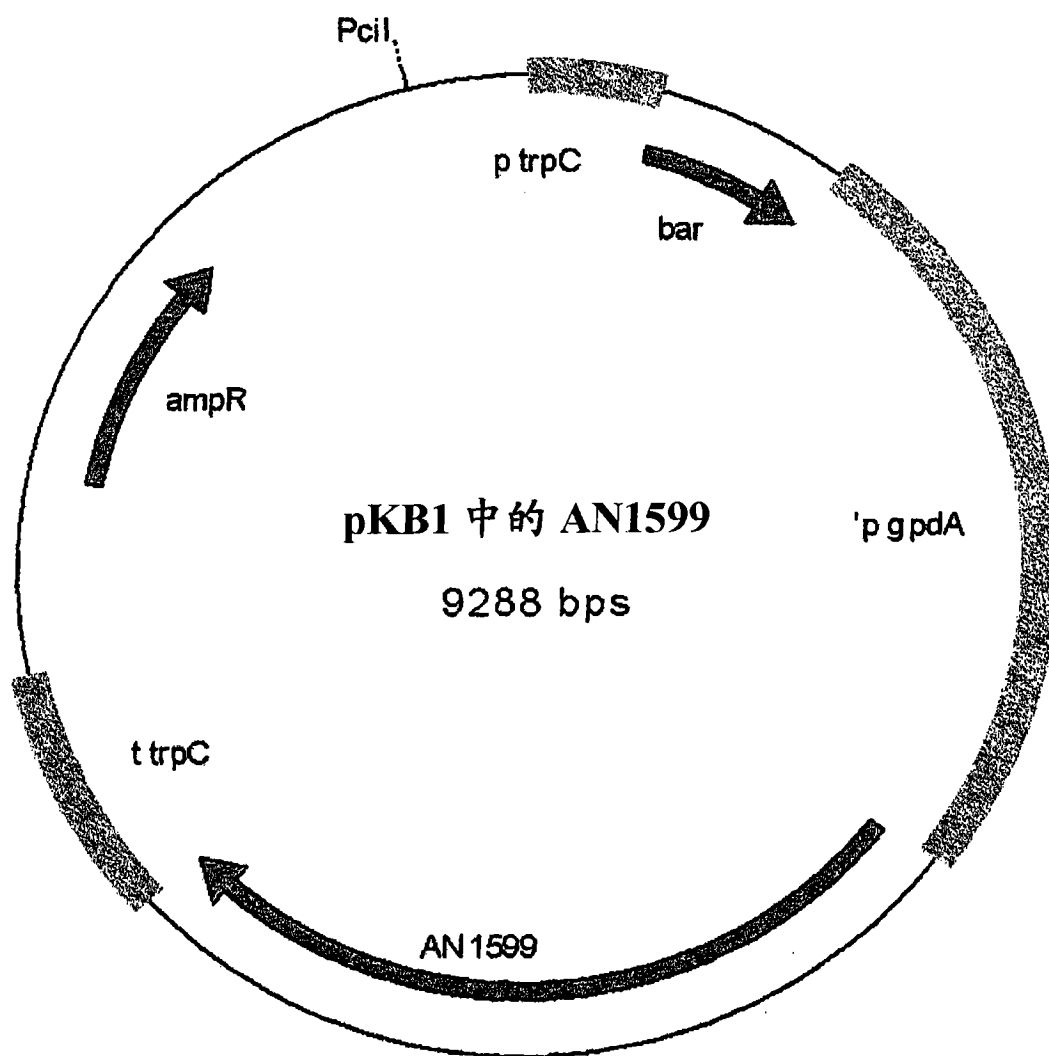


图 2

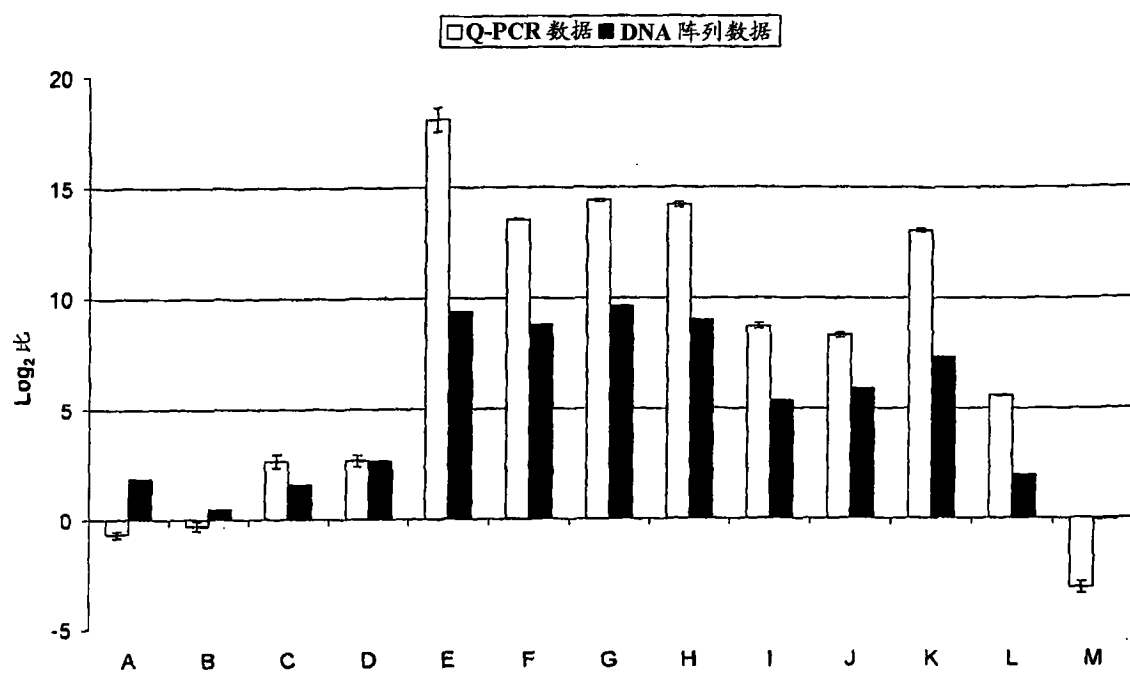


图 3

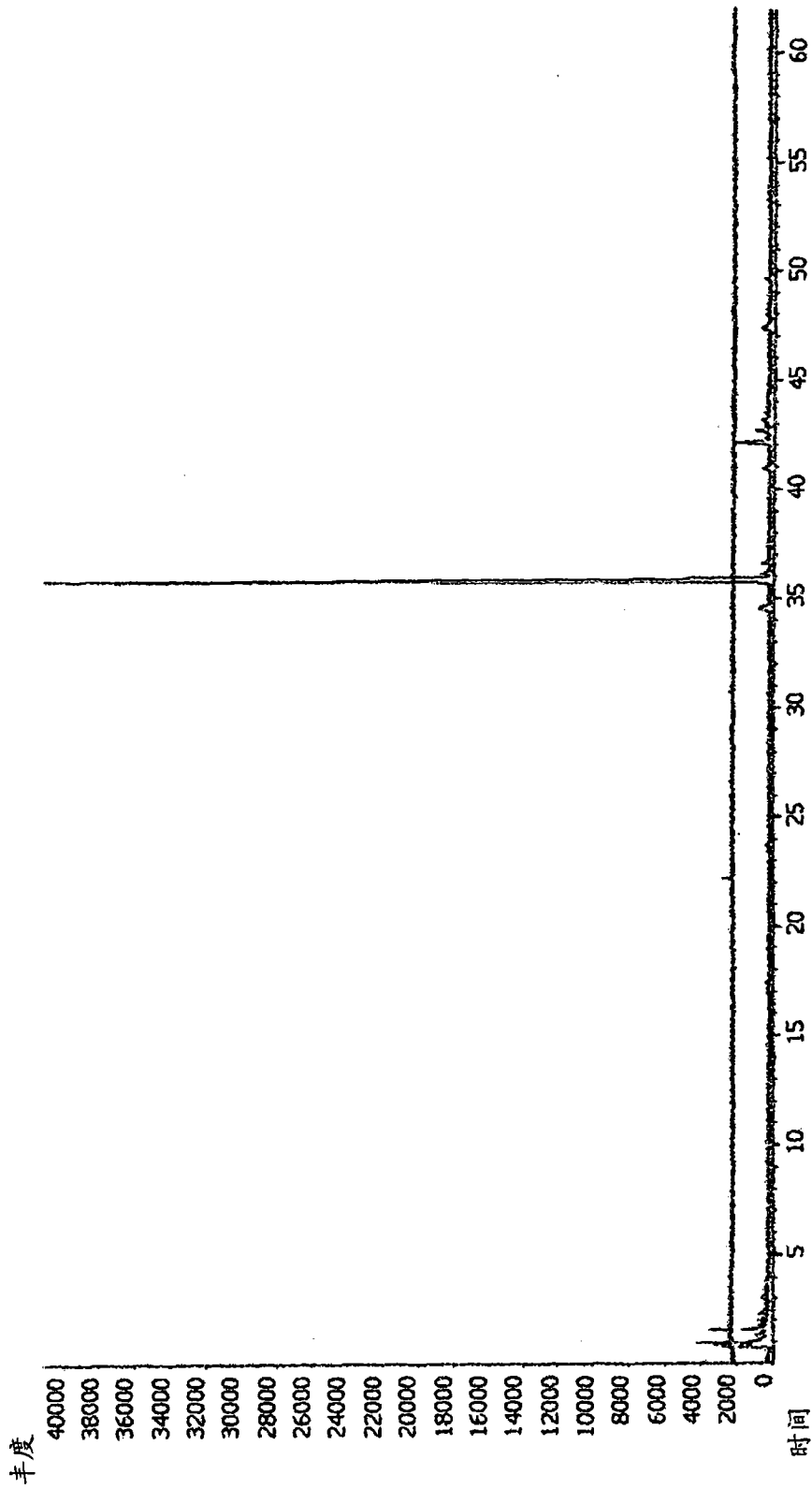


图 4

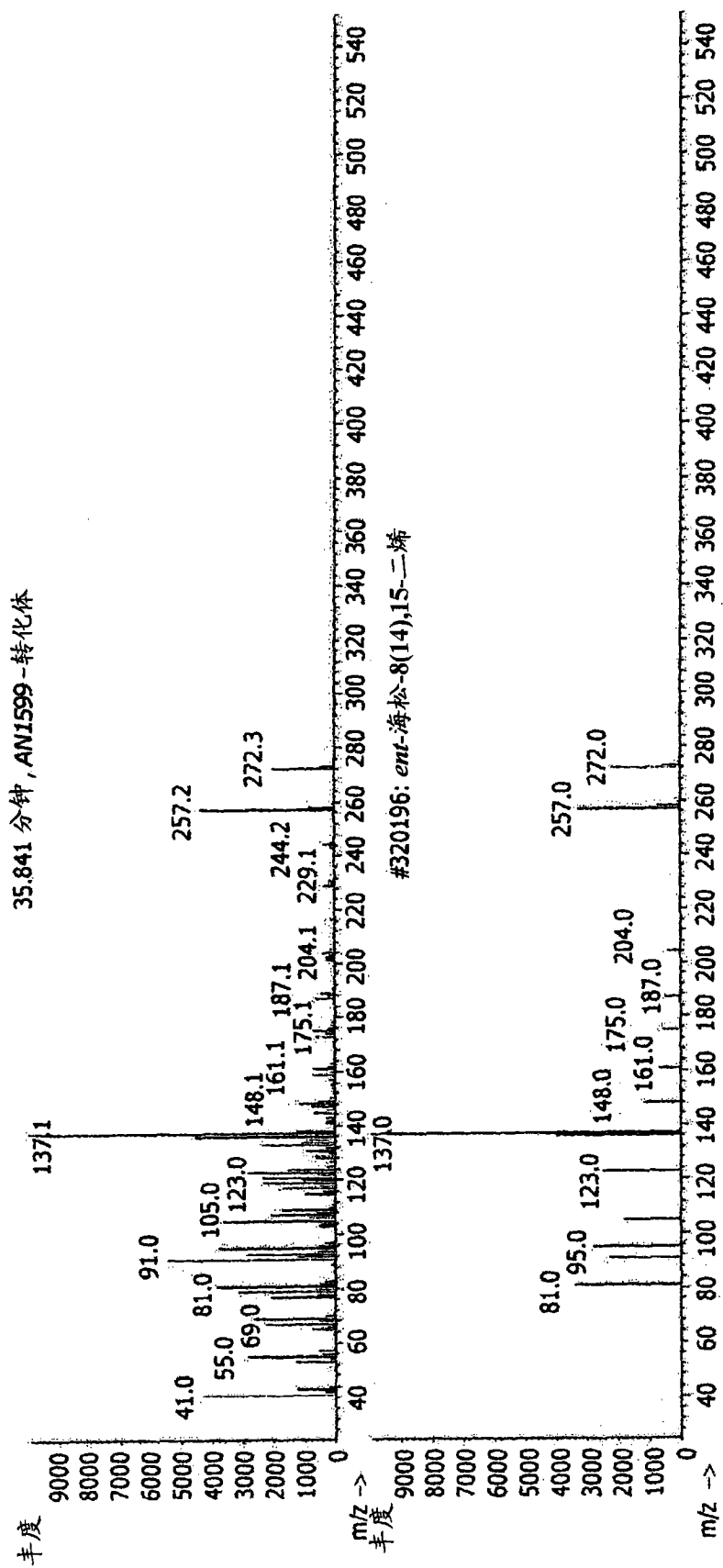


图 5

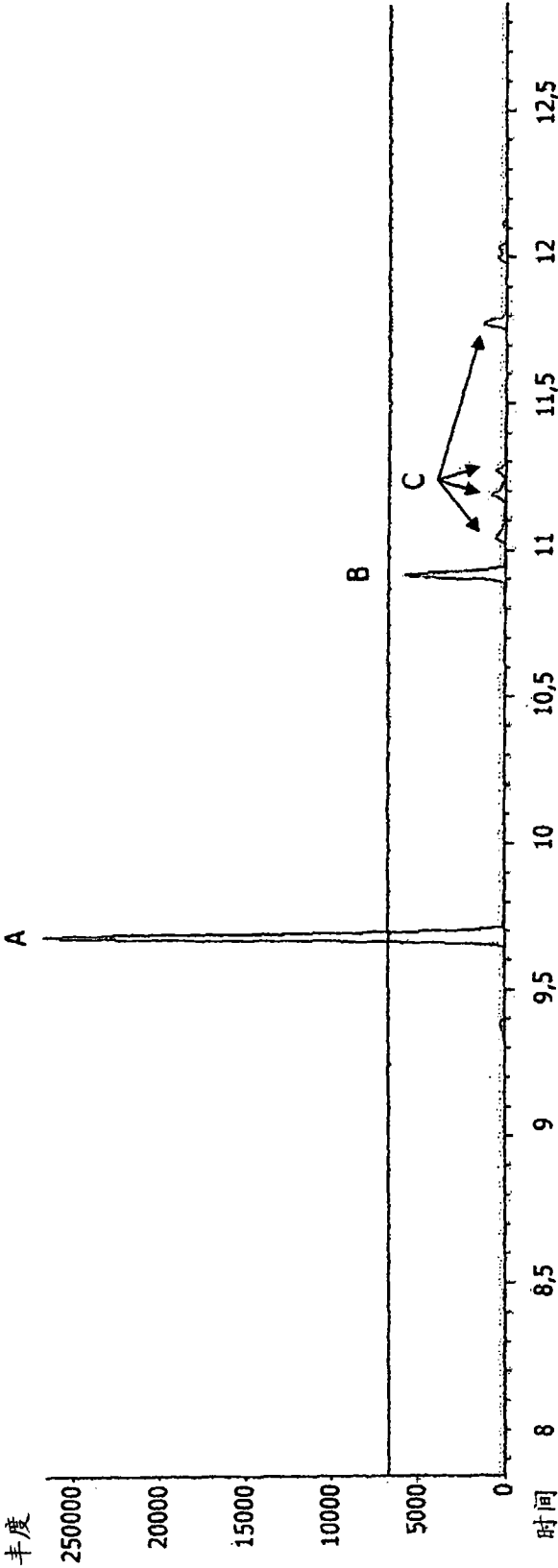


图 6

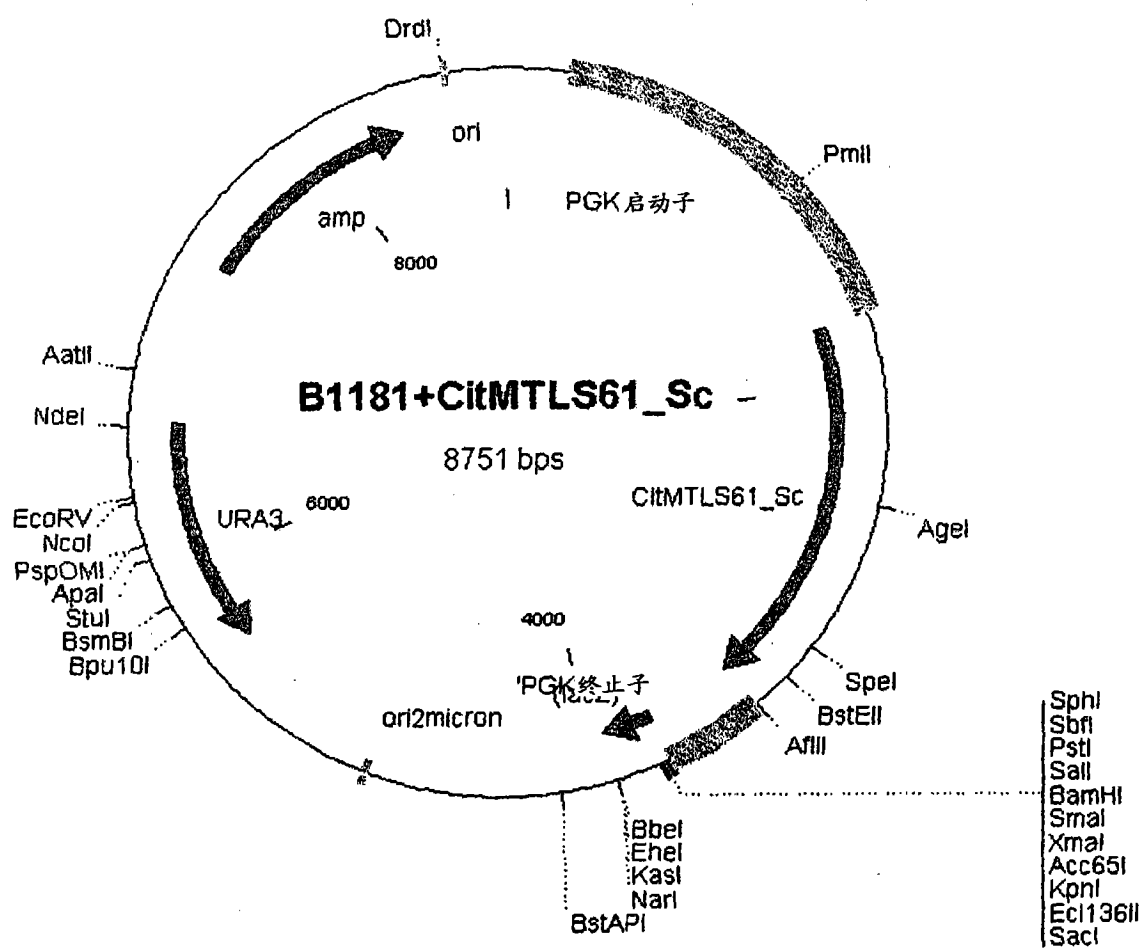


图 7

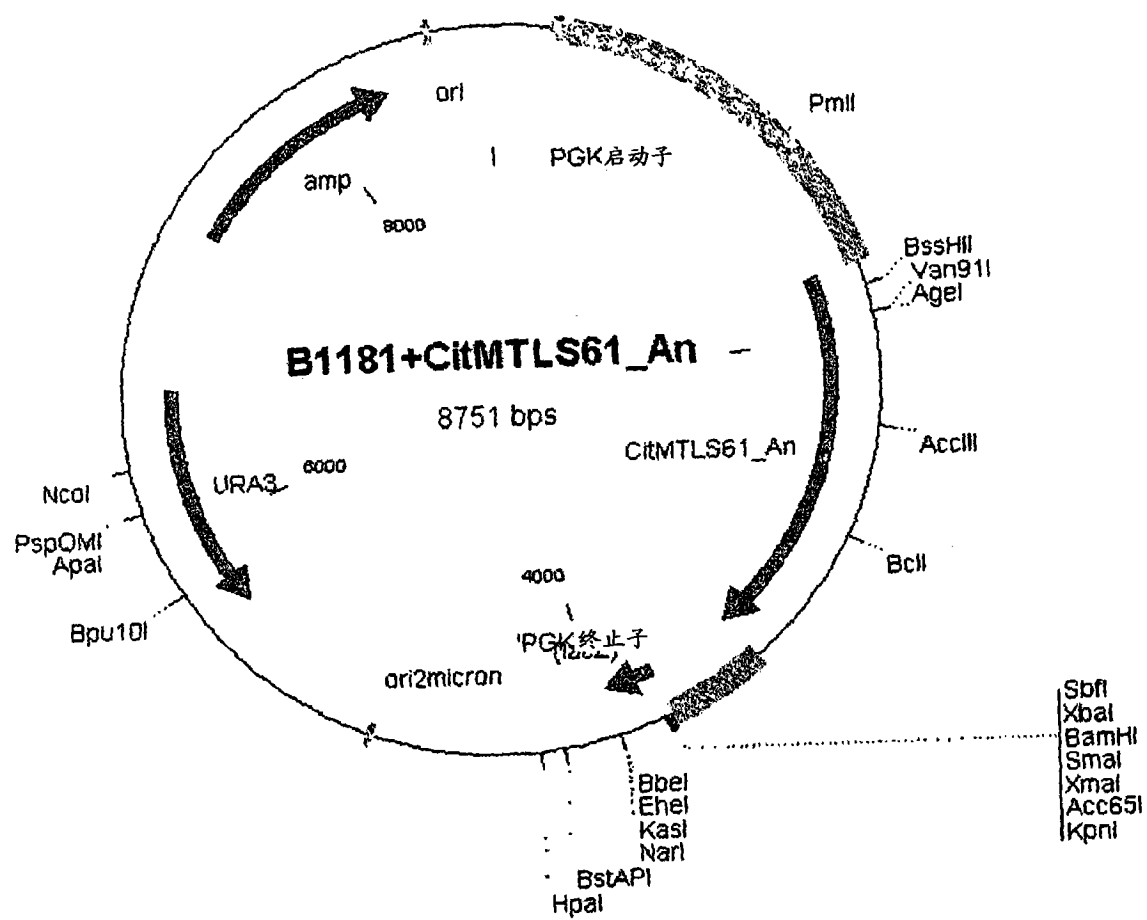


图 8

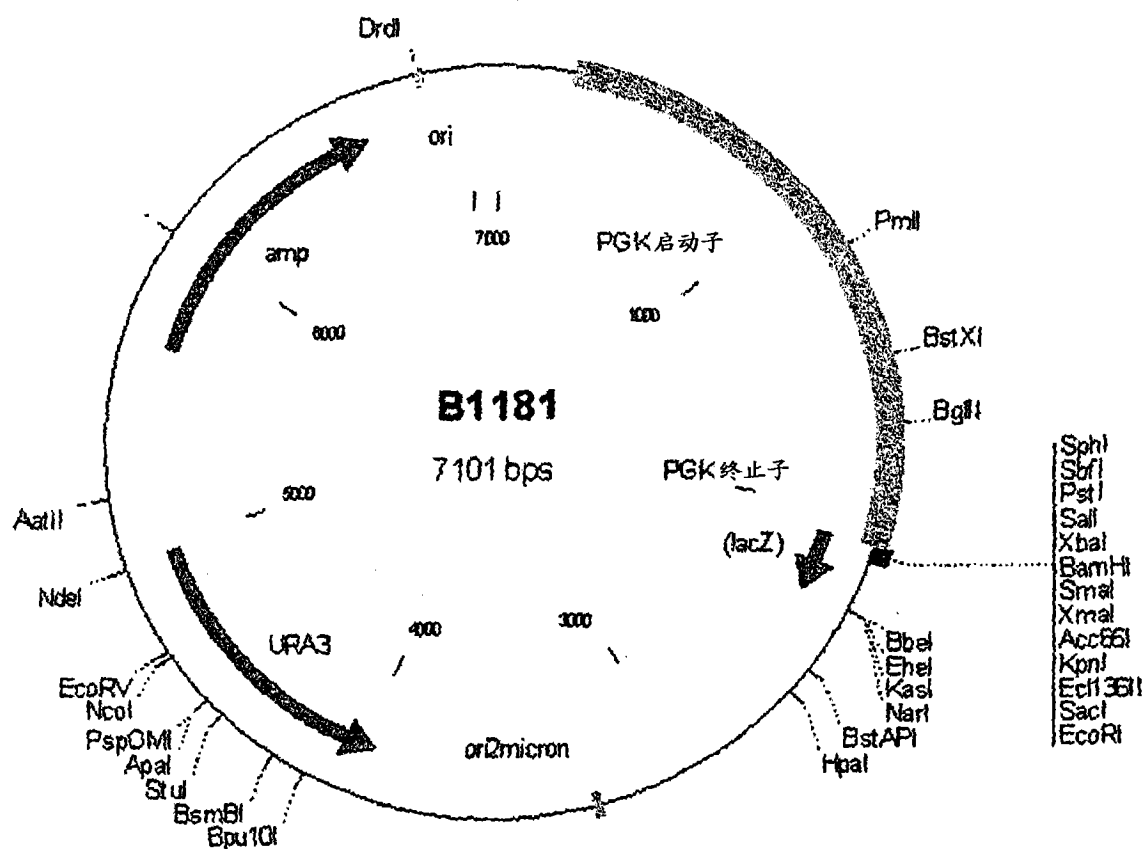


图 9

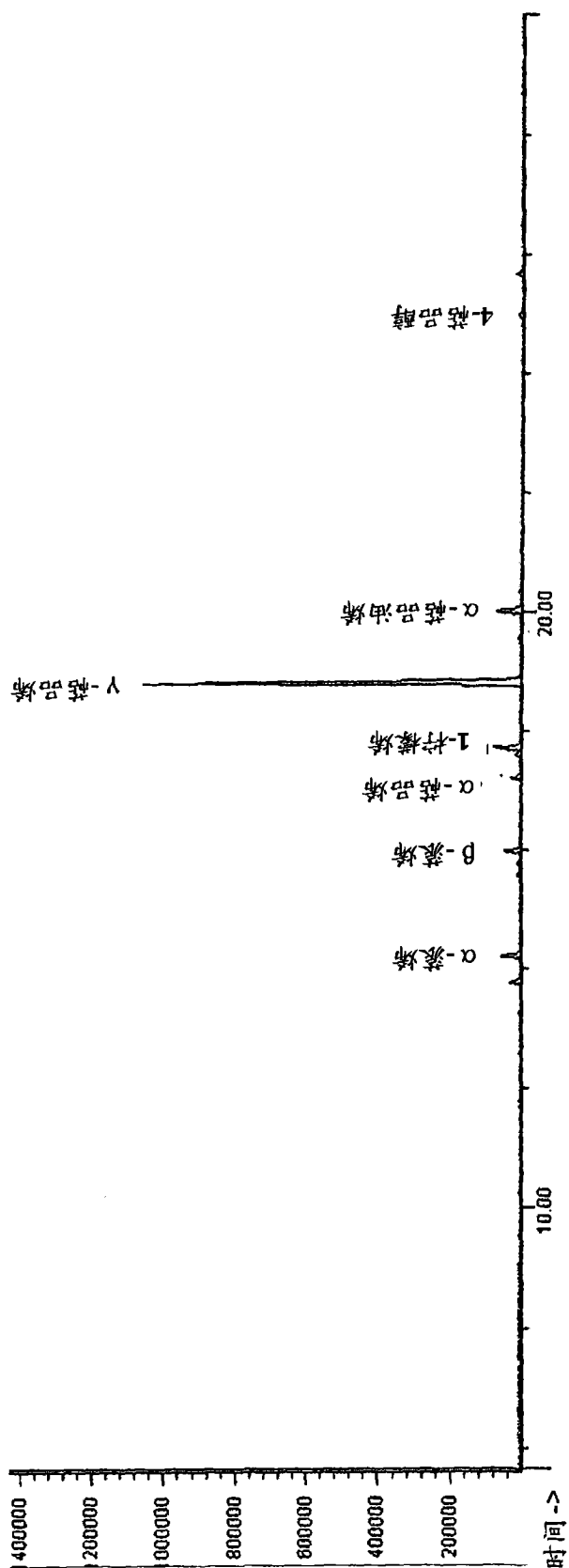


图 10

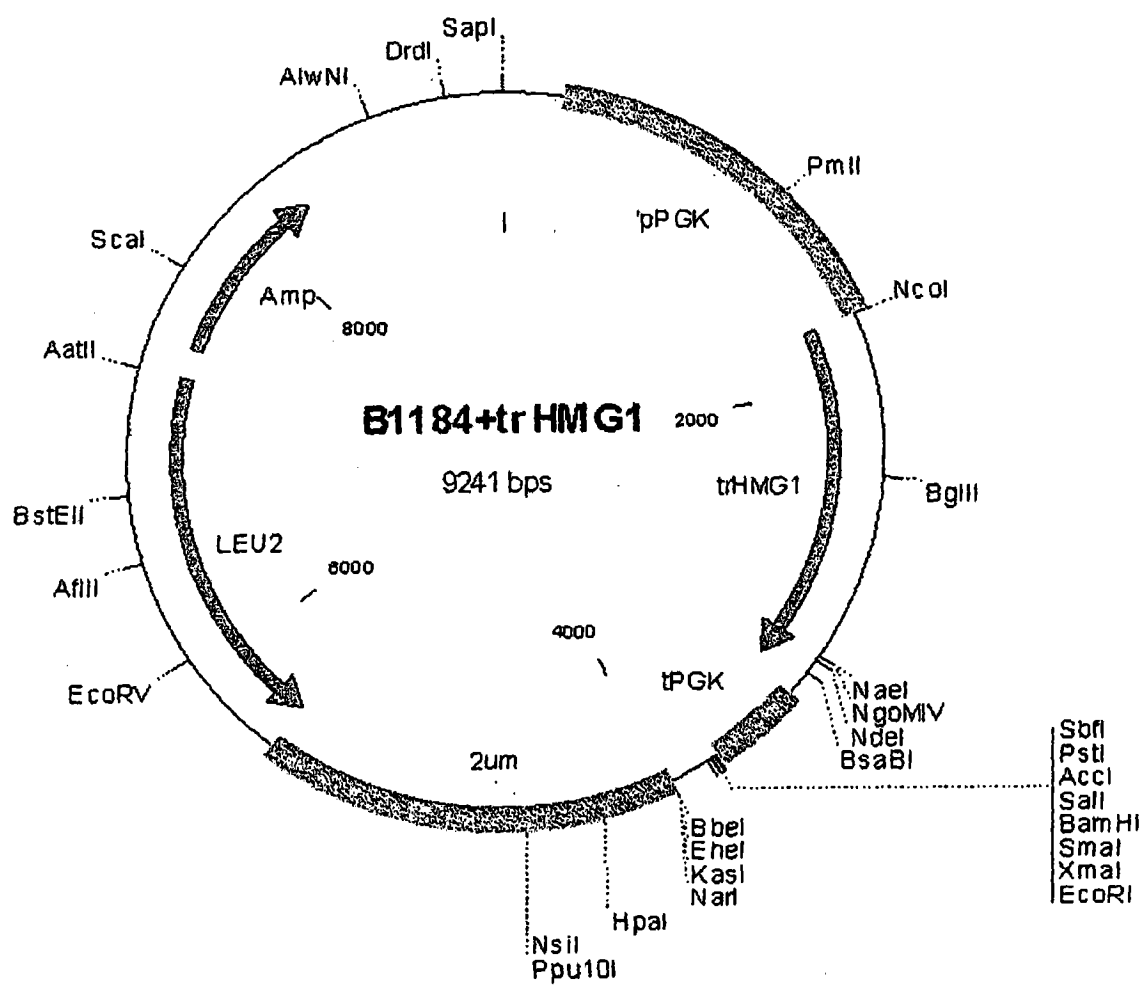


图 11

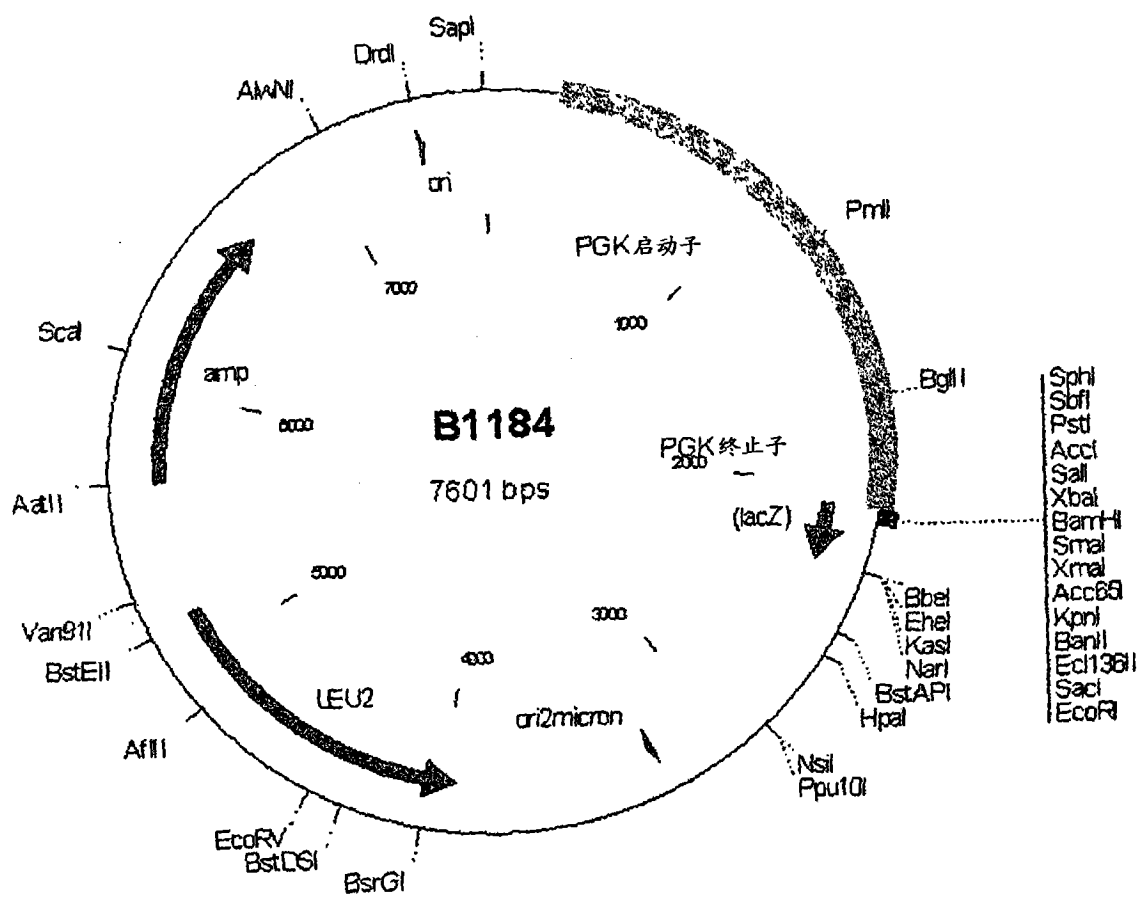


图 12

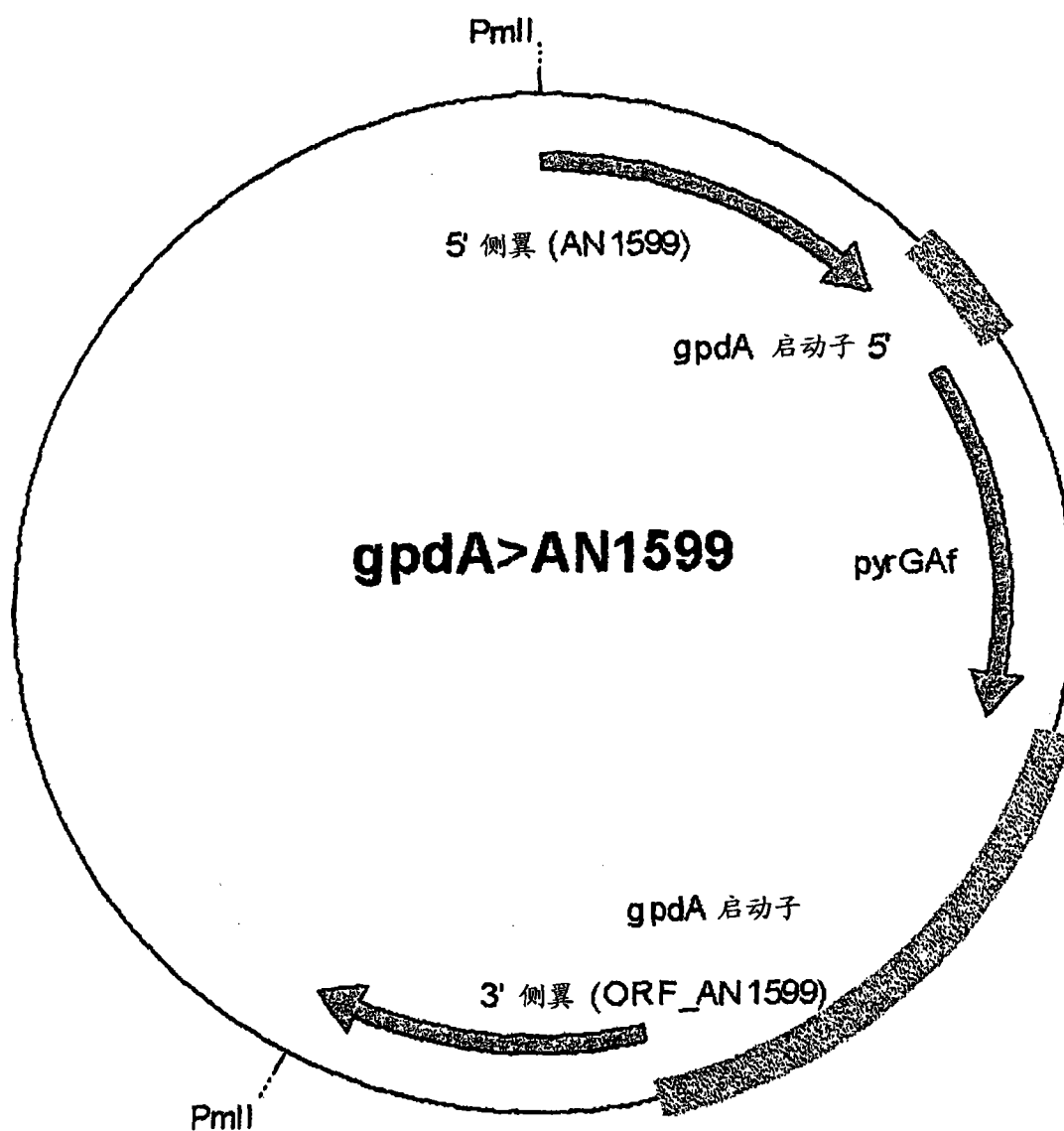


图 13

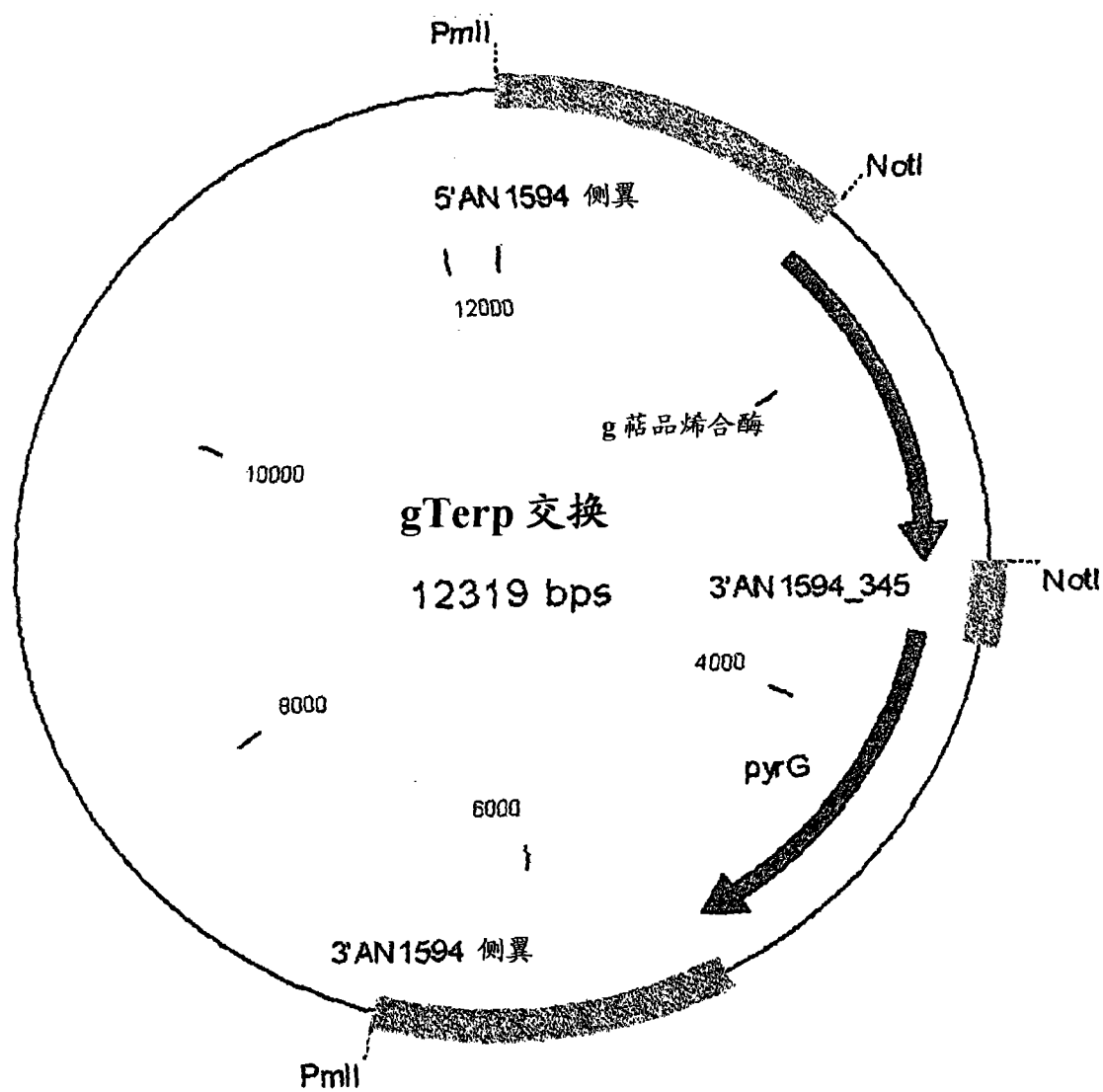


图 14

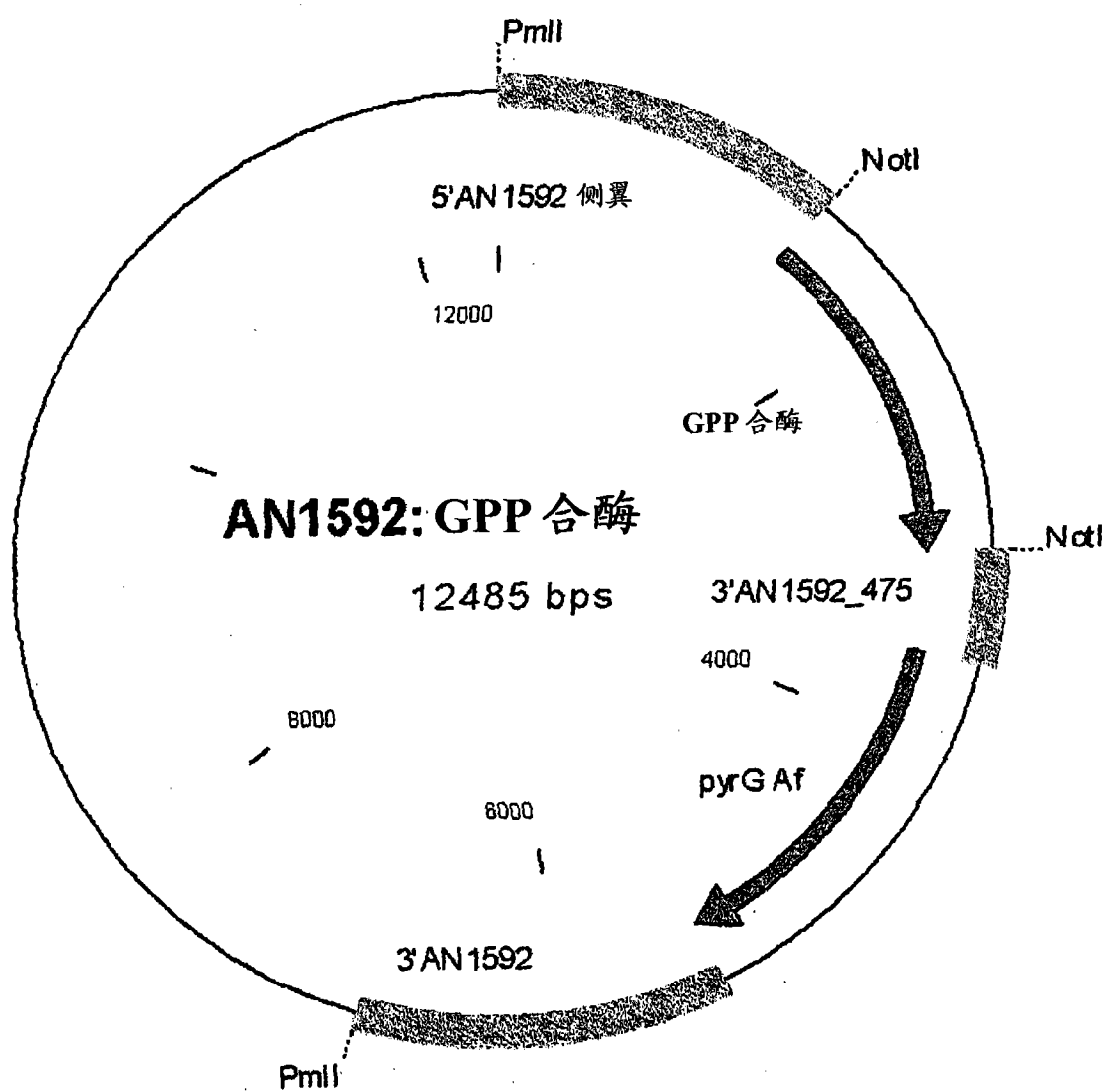


图 15

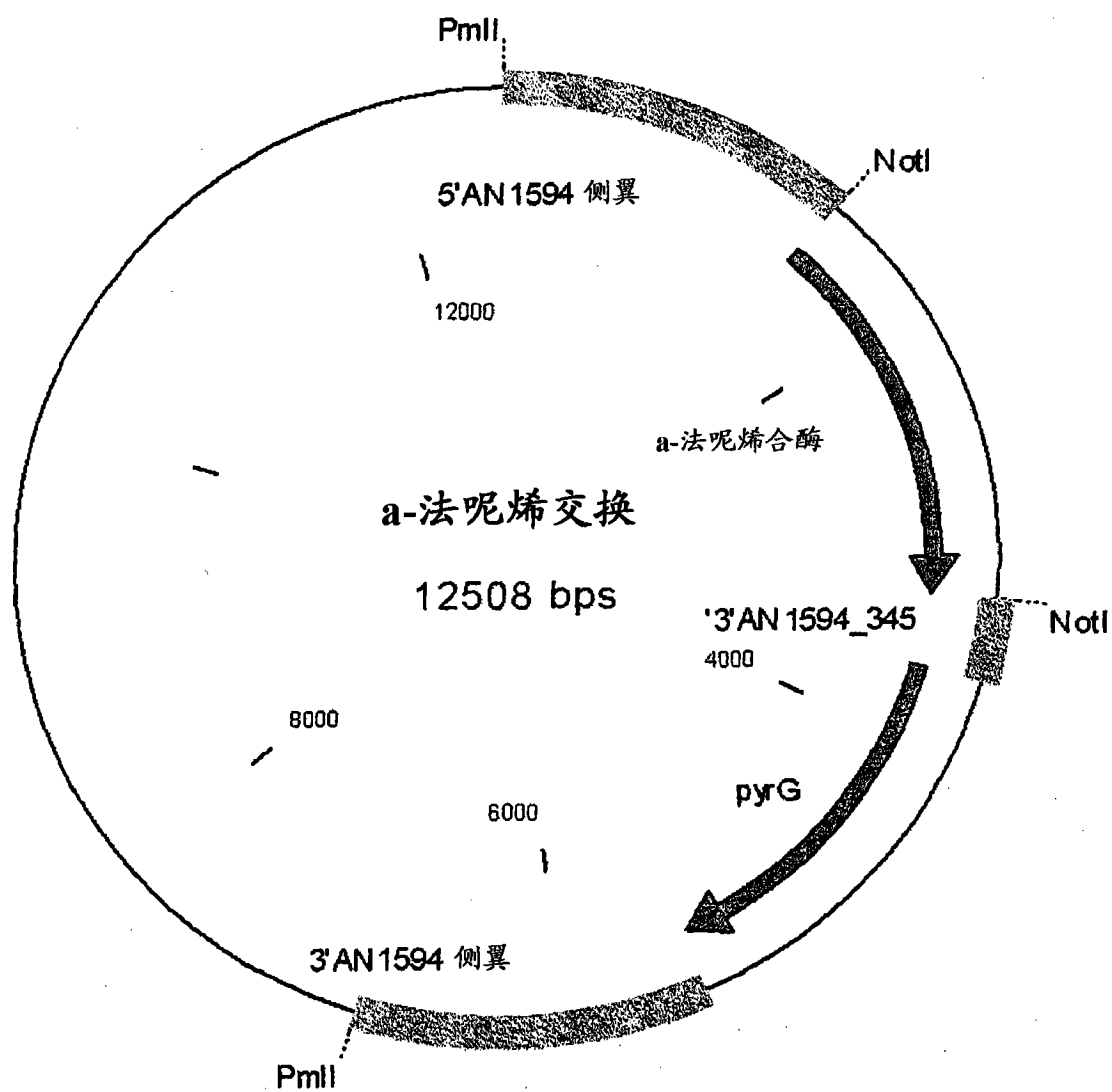


图 16

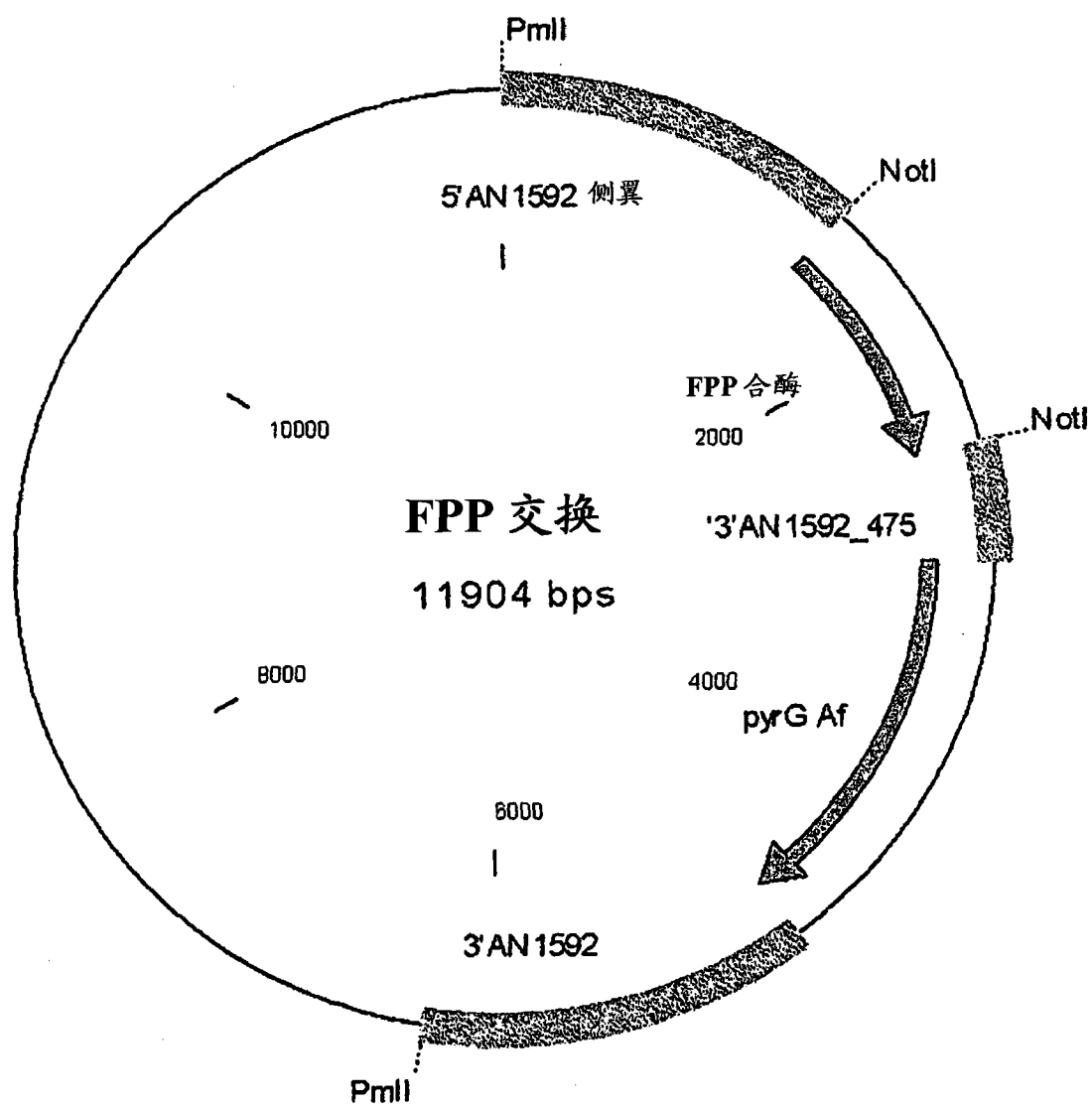


图 17

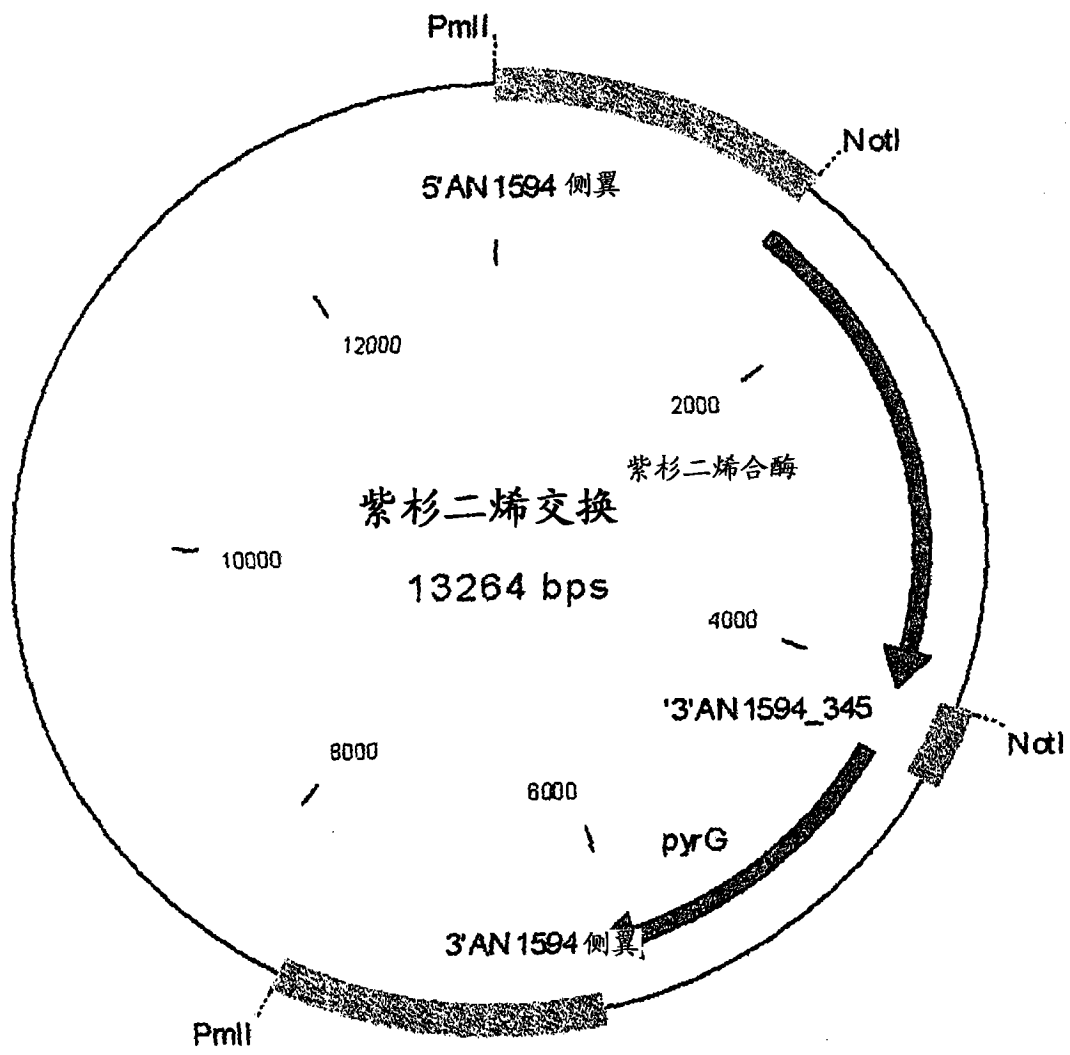


图 18

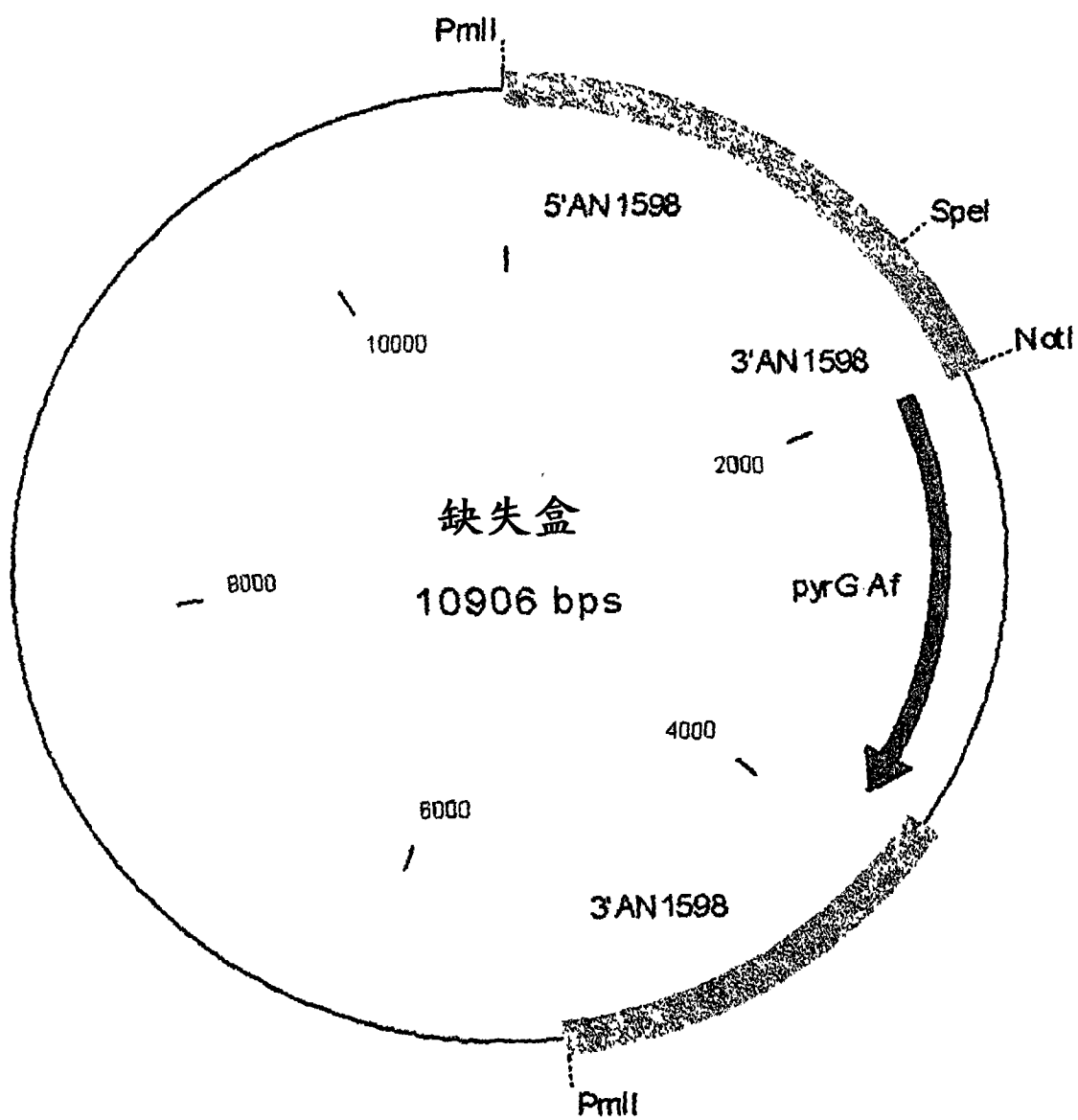


图 19

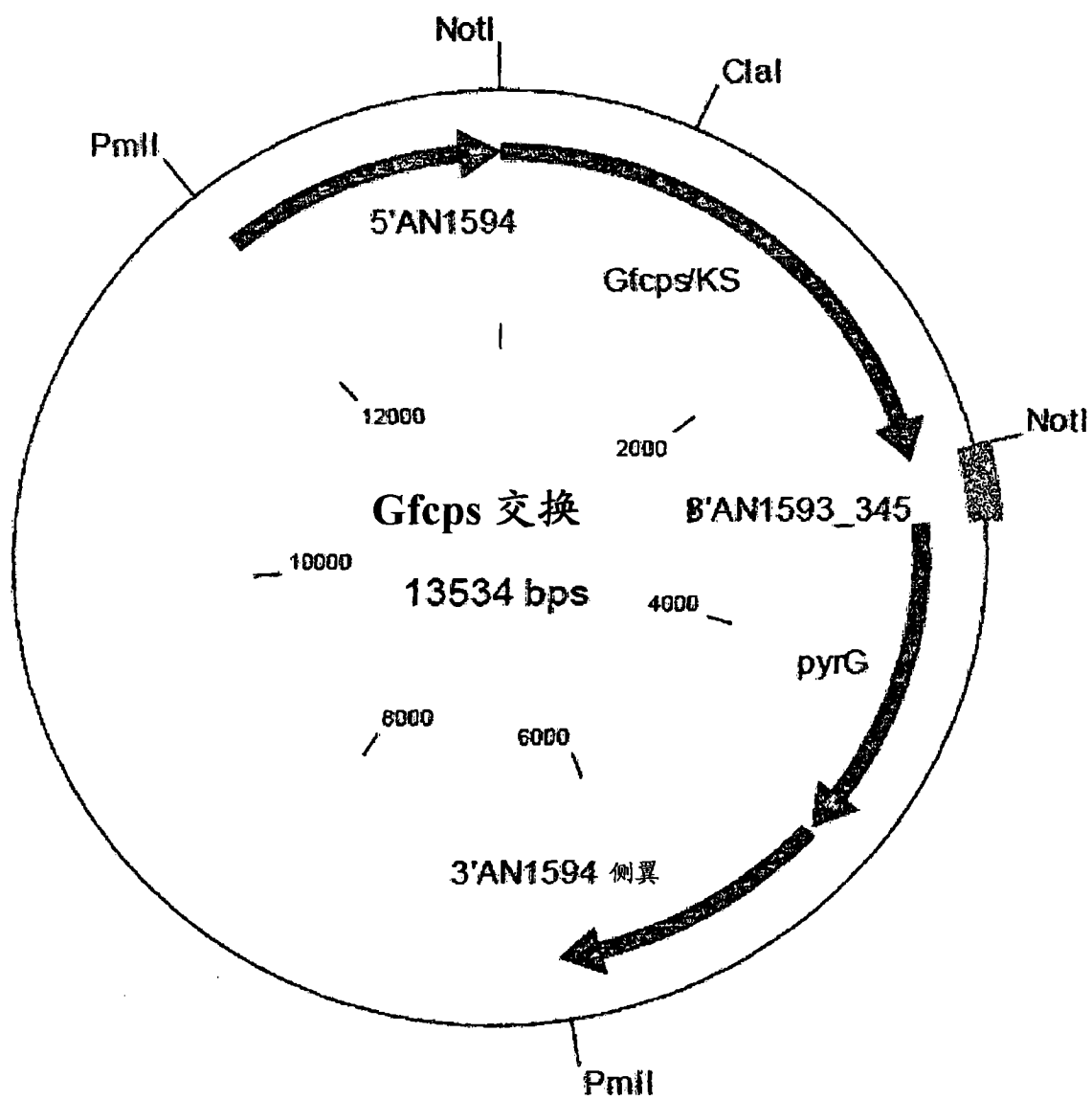


图 20

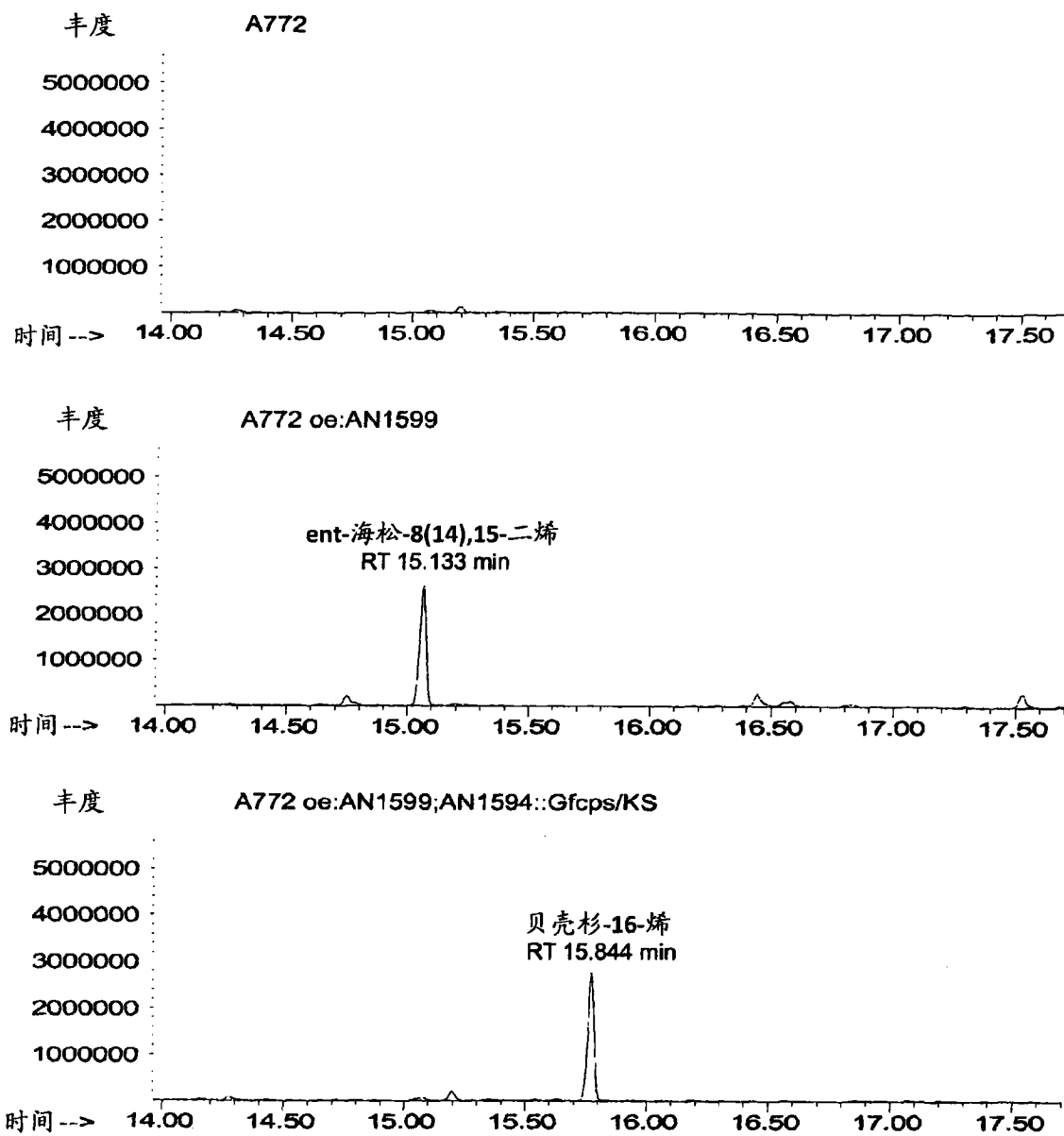


图 21

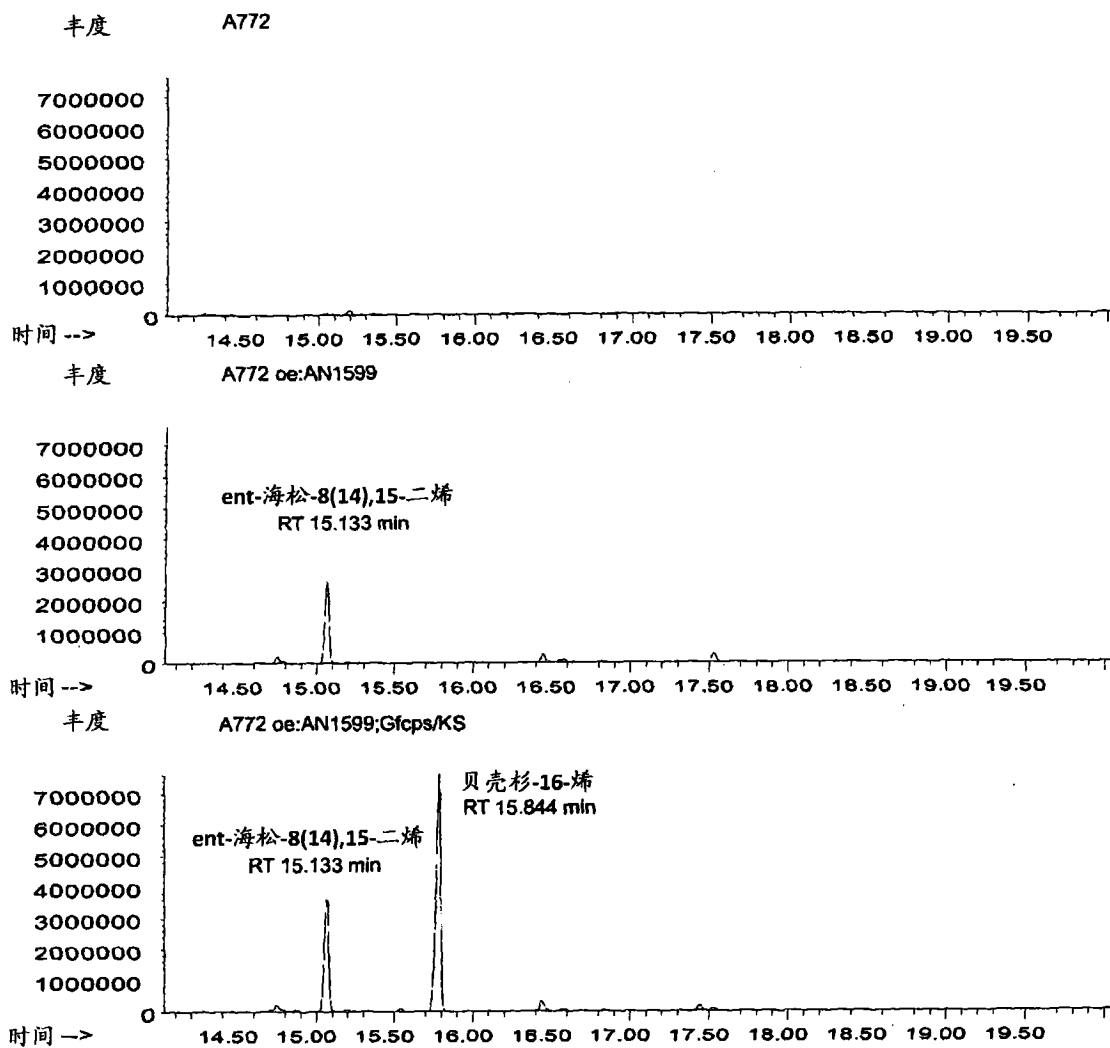


图 22

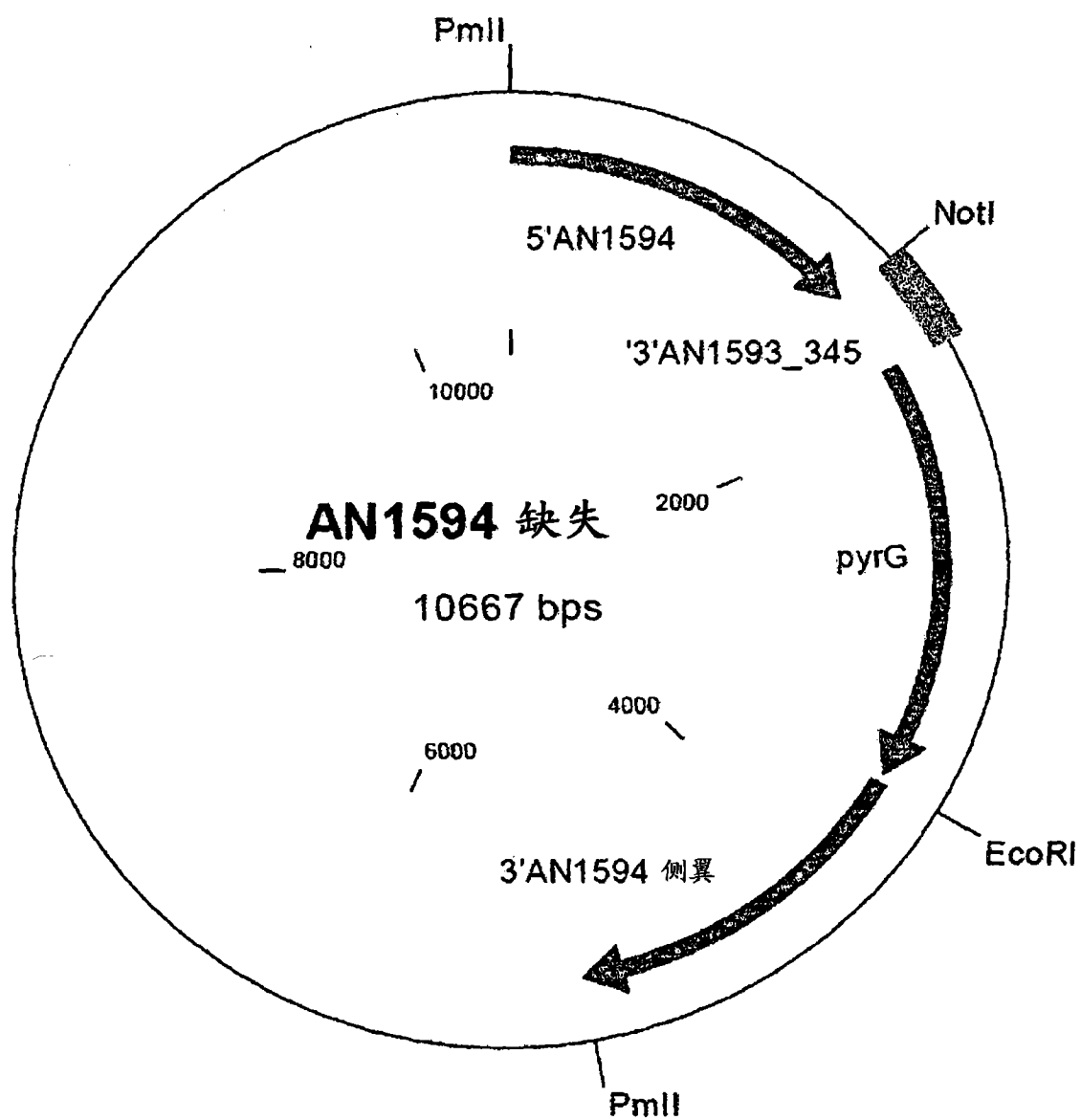


图 23