

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680043318.1

[51] Int. Cl.

C12N 15/82 (2006.01)

A01H 5/00 (2006.01)

C12N 9/12 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

[43] 公开日 2008年12月3日

[11] 公开号 CN 101316931A

[22] 申请日 2006.11.1

[21] 申请号 200680043318.1

[30] 优先权

[32] 2005.11.1 [33] EP [31] PCT/EP2005/011718

[86] 国际申请 PCT/EP2006/010535 2006.11.1

[87] 国际公布 WO2007/051626 英 2007.5.10

[85] 进入国家阶段日期 2008.5.20

[71] 申请人 乌得勒支大学控股有限责任公司

地址 荷兰乌得勒支

[72] 发明人 A·F·J·M·范登阿克维肯

M·M·A·范达默

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利  
商标事务所  
代理人 陈轶兰

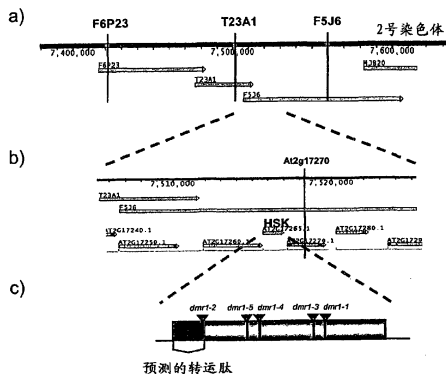
权利要求书 3 页 说明书 22 页 附图 14 页

[54] 发明名称

抗病植物

[57] 摘要

本发明涉及一种植物，其能抵抗病毒、细菌、真菌或卵菌来源的病原体，其中与不能抗所述病原体特别是卵菌门生物体的植物相比，该植物具有增加的高丝氨酸水平。本发明进一步涉及用于获得植物的方法，该植物能抵抗病毒、细菌、真菌或卵菌来源的病原体，包括增加该植物中的内源高丝氨酸水平。



1. 植物，其能抵抗病毒、细菌、真菌或卵菌来源的病原体，特征在于：与不能抗所述病原体的植物相比，该植物具有增加的高丝氨酸水平。
2. 权利要求 1 的植物，其中该病原体为卵菌门的生物体。
3. 权利要求 2 的植物，其中该病原体为白锈属，丝囊霉属，圆梗霉属，盘梗霉属，*Hyaloperonospora*，*Pachymetra*，类霜霉属，*Perofascia*，霜疫霉属，霜霉属，霜指霉属，*Phytium*，疫霉属，单轴霉属，*Protobremia*，假霜霉属，指梗霉属，*Viennotia* 物种。
4. 权利要求 2 或 3 的植物，其中该植物及病原体选自：莴苣的莴苣盘梗霉，菠菜的 *Peronospora farinosa*，葫芦科成员例如黄瓜的古巴假霜霉，洋葱的 *Peronospora destructor*，十字花科成员例如卷心菜的寄生霜霉，葡萄的葡萄生单轴霉，番茄和马铃薯的蔓延疫霉，和大豆的大豆疫霉。
5. 权利要求 1-4 任一项的植物，在其高丝氨酸激酶基因中具有突变，该突变影响所编码酶的高丝氨酸激酶活性。
6. 权利要求 5 的植物，其中在高丝氨酸激酶基因中的突变导致在编码蛋白质中的氨基酸替换。
7. 权利要求 1-4 任一项的植物，在其高丝氨酸激酶基因的调控序列中具有突变，该突变影响所编码高丝氨酸激酶的表达。
8. 权利要求 1-4 任一项的植物，在其基因组内具有基于高丝氨酸激酶基因的基因-沉默构建体，其影响所编码高丝氨酸激酶的表达。
9. 权利要求 1-4 任一项的植物，在天冬氨酸途径中具有上调的基因，导致在该植物中内源高丝氨酸水平增加。
10. 权利要求 5-8 任一项的植物，其中该基因是如图 8 所示的拟南芥属基因 *At2g17265* (NM\_127281, GI:18398362) 的直向同源基因。
11. 权利要求 5-8 任一项的植物，其中该基因是如表 2 列表中鉴定的高丝氨酸激酶基因。

12. 权利要求 5-8 任一项的植物,其中该基因是具有如图 10 所示核苷酸序列及氨基酸序列的莴苣高丝氨酸激酶基因。

13. 权利要求 5-8 任一项的植物,其中该基因是具有如图 11 所示核苷酸序列及氨基酸序列的葡萄高丝氨酸激酶基因。

14. 权利要求 5-8 任一项的植物,其中该基因是具有如图 12 所示核苷酸序列及氨基酸序列的黄瓜高丝氨酸激酶基因。

15. 权利要求 5-8 任一项的植物,其中该基因是具有如图 13 所示核苷酸序列及氨基酸序列的菠菜高丝氨酸激酶基因。

16. 权利要求 5-8 任一项的植物,其中该基因是具有如图 14 所示核苷酸序列及氨基酸序列的番茄高丝氨酸激酶基因。

17. 用于获得植物的方法,该植物能抵抗病毒、细菌、真菌或卵菌来源的病原体,包括增加该植物中的内源高丝氨酸水平。

18. 权利要求 17 的方法,其中通过对该植物外部施用高丝氨酸而获得植物中内源高丝氨酸水平的增加。

19. 权利要求 18 的方法,其中高丝氨酸是通过用高丝氨酸喷或浸润处理幼苗而施用给植物。

20. 权利要求 17 的方法,其中通过该植物的高丝氨酸激酶基因的突变获得植物中内源高丝氨酸水平的增加。

21. 权利要求 20 的方法,其中该突变导致一个或多个导致高丝氨酸激酶活性降低的氨基酸改变。

22. 权利要求 20 或 21 的方法,其中该突变是通过对植物诱变处理而实现的,特别是用诱变剂或辐射处理。

23. 权利要求 17 的方法,其中通过降低该植物高丝氨酸激酶基因的表达获得植物中内源高丝氨酸水平的增加。

24. 权利要求 23 的方法,其中通过基因沉默或 RNAi 实现植物高丝氨酸激酶基因的表达降低。

25. 权利要求 23 的方法,其中通过在启动子区域,终止子区域或内含子中调控元件的诱变实现该植物高丝氨酸激酶基因表达的降低。

26. 权利要求 23 的方法,其中通过高丝氨酸激酶基因阻抑蛋白的

过表达实现植物高丝氨酸激酶基因的表达降低。

27 权利要求 26 的方法，其中该高丝氨酸激酶基因是从 35S 启动子表达的。

28. 权利要求 23 的方法，其中通过编码高丝氨酸激酶活化或调节蛋白的植物基因的沉默或突变实现植物高丝氨酸激酶基因的表达降低。

29. 权利要求 17 的方法，其中通过诱导天冬氨酸途径中的改变而实现植物中内源高丝氨酸水平的增加。

30. 权利要求 21 到 29 任一项的方法，其中待突变的高丝氨酸激酶基因是如图 8 所示的拟南芥属基因 At2g17265 (NM-127281, GI:18398362) 的直向同源基因。

31. 权利要求 30 的方法，其中该直向同源基因是具有如图 10 所示核苷酸序列及氨基酸序列的莴苣高丝氨酸激酶基因。

32. 权利要求 30 的方法，其中该直向同源基因是具有如图 11 所示核苷酸序列及氨基酸序列的葡萄高丝氨酸激酶基因。

33. 权利要求 30 的方法，其中该直向同源基因是具有如图 12 所示核苷酸序列及氨基酸序列的黄瓜高丝氨酸激酶基因。

34. 权利要求 30 的方法，其中该直向同源基因是具有如图 13 所示核苷酸序列及氨基酸序列的菠菜高丝氨酸激酶基因。

35. 权利要求 30 的方法，其中该直向同源基因是具有如图 14 所示核苷酸序列及氨基酸序列的番茄高丝氨酸激酶基因。

36. 编码具有降低了的酶活性的高丝氨酸激酶的突变植物 HSK 基因。

37. 权利要求 36 的突变植物 HSK 基因，选自 dmrl 等位基因 dmrl-1, dmrl-2, dmrl-3, dmrl-4 以及 dmrl-5。

## 抗病植物

本发明涉及抗病植物，特别是能够抗卵菌(Oomycota)门生物体——卵菌的植物。本发明进一步涉及能赋予抗病性的植物基因和获得这种抗病植物的方法，用于提供针对卵菌病原体的保护。

已广泛地研究过植物对病原体的抗性，包括病原体特异性的和广谱的抗性两个方面。在很多情况下是通过抗性显性基因表明了抗性。这些品种-特异性或基因-对-基因的抗性基因已被鉴定了许多，其通过直接或间接地与无毒性基因产物或来自病原体的其它分子相互作用来介导病原体识别。这种识别导致许多植物防御反应的活化，这些反应会阻止病原体生长。

在植物育种中经常想要鉴定主要为单基因显性抗性基因的新来源。在新引入了单抗性基因的栽培品种中，抗病保护通常会迅速地被破坏，因为病原体进化和适应的频率极快，能恢复感染寄主植物的能力。因此，非常需要获得新的抗病性来源。

其它抗性机理例如通过调节植物中的防御反应起作用，如通过隐性 *mlo* 基因在大麦中介导的针对白粉菌病原体禾布氏白粉菌大麦专化型 (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) 的抗性。带有野生型 *MLO* 基因突变等位基因的植物显示出几乎完全抗性，与真菌试图穿透单个受攻击的表皮细胞的细胞壁受挫相符。因此野生型 *MLO* 基因作为病原体反应的一种负向调节物发挥作用。这在 W09804586 中有说明。

其它实例是隐性白粉菌抗性基因，是在筛选对二孢白粉菌 (*Erysiphe cichoracearum*) 的敏感性丧失的过程中被发现的。至今已经克隆了三个基因，称为 *PMR6*，其编码一种果胶酸裂合酶-样蛋白质，*PMR4*，其编码胍酰质合酶，和 *PMR5*，其编码未知功能的蛋白质。*mlo* 和 *pmr* 这两个基因似乎能够特异性地引发对白粉菌的抗性，而非对卵菌如霜霉。

已经通过两个主要方式获得广谱的病原体抗性，或系统形式的抗性如 SAR。第一个是通过植物防御和细胞死亡的负调节物的突变，例如在拟南芥属 (*Arabidopsis*) 的 *cpr*, *lsd* 和 *acd* 突变体中。第二个是通过植物防御的诱导物或调节物的转基因过表达，例如在 NPR1 过表达植物中。

这些已知的抗性机理的缺点是：除病原体抗性之外，这些植物通常显示可检测的附加和不良表型，例如生长受阻或自发形成的细胞死亡。

本发明的一个目的是提供一种广谱的，持久的而且不伴随不良表型的抗性形式。

在促成本发明的研究中，筛选对霜霉病原体——寄生霜霉 (*Hyaloperonospora parasitica*) 的敏感度降低的拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 突变体。在高度敏感的拟南芥品系 Ler eds1-2 中产生了 EMS-突变体。详细分析了八个霜霉抗性 (*dmr*) 突变体，相应于 6 个不同的基因座。显微镜分析显示，在所有的突变体中，寄生霜霉的生长被严重降低。*dmr3*, *dmr4* 和 *dmr5* 的抗性与植物防御的组成型活化有关。此外，*dmr3* 和 *dmr4* (但非 *dmr5*) 还能够抗丁香假单胞菌 (*Pseudomonas syringae*) 和 *Golovinomyces orontii*。

相比之下，在 *dmr1*, *dmr2* 和 *dmr6* 突变体内没有观察到植物防御的活化增加。该研究结果已经在 Van Damme 等人 (2005) *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18 (6) 583-592 中被描述。但是该文章没有公开 DMR 基因的鉴定和表征。

根据本发明，现在发现 DMR1 是编码高丝氨酸激酶 (HSK) 的基因。对于拟南芥属已经测序了五个不同的突变 *dmr1* 等位基因，每个在 HSK 蛋白质中导致不同的氨基酸改变。HSK 是氨基酸甲硫氨酸，苏氨酸和异亮氨酸生物合成中的关键酶，因此被认为是必要的。各 *dmr1* 突变体显示 HSK 的缺陷，导致植物积累高丝氨酸。五个不同的等位基因显示出不同的抗性水平，与突变体中不同的高丝氨酸累积水平相关联。

因此本发明提供一种植物，其能抵抗病毒、细菌、真菌或卵菌来

源的病原体，特征在于：与不能抗所述病原体的植物相比，该植物具有改变的高丝氨酸水平。

这种形式的抗性对下述的病原体特别有效：卵菌门，比如白锈属 (*Albugo*)，丝囊霉属 (*Aphanomyces*)，圆梗霉属 (*Basidiophora*)，盘梗霉属 (*Bremia*)，*Hyaloperonospora*，*Pachymetra*，类霜霉属 (*Paraperonospora*)，*Perofascia*，霜疫霉属 (*Peronophythora*)，霜霉属 (*Peronospora*)，霜指霉属 (*Peronosclerospora*)，*Phytium*，疫霉属 (*Phytophthora*)，单轴霉属 (*Plasmopara*)，*Protobremia*，假霜霉属 (*Pseudoperonospora*)，指梗霉属 (*Sclerospora*)，*Viennotia* 物种。

该抗性基于植物中高丝氨酸水平的改变。更具体而言，该抗性基于植物中高丝氨酸水平的提高。这种提高的水平可通过多种方式获得。

首先，可通过外部来源提供高丝氨酸。第二，可提高内源的高丝氨酸水平。这可通过降低高丝氨酸激酶基因的酶活性而获得，其会导致高丝氨酸转化率的降低，因而累积高丝氨酸。或者，可降低高丝氨酸激酶的表达。这同样会导致高丝氨酸转化率的降低因而累积高丝氨酸。提高内源高丝氨酸水平的另一个方式是通过增强其经由天冬氨酸途径的生物合成。降低高丝氨酸激酶基因的表达本身可通过多种方式获得，直接地，例如通过基因沉默，或间接地，通过修饰其调控序列或通过刺激对该基因的阻抑作用。

可以在不同的水平实现调节 HSK 基因以降低其活性或表达。首先，该内源的基因可以被直接突变。这可以通过诱变处理获得。或者，可以通过转基因技术或通过基因渗入将修饰的 HSK 基因引入植物，或者可以在调控的水平上降低 HSK 的表达，例如通过修饰调控序列或通过基因沉默。

在本发明的一个实施方案中，植物中高丝氨酸水平的增加 (累积) 是通过向植物施用高丝氨酸而获得。这通过用 L-高丝氨酸处理植物而适当完成，例如通过用高丝氨酸溶液喷或者浸润。

W000/70016 公开了用外源的高丝氨酸处理植物。该出版物公开了

如何将高丝氨酸应用于植物使得该植物中苯酚浓度增加。该出版物未表明经如此处理的植物能够抵抗病原体。实际上，W000/70016 未公开也未暗示内源的高丝氨酸的增加会导致病原体抗性。

或者，调节植物的氨基酸生物合成或者代谢途径来增加内源的高丝氨酸。

在一个实施方案中，该增加的内源产生是内源 HSK 基因表达被降低的结果，因而导致高丝氨酸到磷酸-高丝氨酸的转化和随后生物合成甲硫氨酸和苏氨酸的效率降低。这种 HSK 表达的降低举例来说可以是 HSK 基因突变的结果，该突变导致 mRNA 减少或者蛋白质的稳定性降低。

在另一个实施方案中，表达降低可以通过在转录或翻译水平上下调 HSK 基因表达而获得，例如通过基因沉默或者通过调控序列中能影响 HSK 基因表达的突变。获得基因沉默的一个方法实例是借助于 RNAi。

在另一实施方案中，内源高丝氨酸的水平提高可以通过诱导在高丝氨酸生物合成或新陈代谢方面的变化而获得。在具体的一个实施方案中，这是通过 HSK 编码序列中能产生酶活性降低的 HSK 蛋白质的突变从而导致高丝氨酸到磷酸-高丝氨酸的转化率降低而获得。另一个实施方案是上调天冬氨酸途径中的基因，引起植物中更多产生从而累积 L-高丝氨酸。

本发明基于在拟南芥属中对寄生霜霉的抗性的研究，但这是可以更广泛地应用于植物的总构思，具体而言是对病原体例如卵菌门感染敏感的农作物。

本发明适于由卵菌所引起的许多植物疾病，例如但不限于：莴苣的莴苣盘梗霉 (*Bremia lactucae*)，菠菜的 *Peronospora farinosa*，葫芦科成员例如黄瓜的古巴假霜霉 (*Pseudoperonospora cubensis*)，洋葱的 *Peronospora destructor*，十字花科成员例如卷心菜的寄生霜霉，葡萄的葡萄生单轴霉 (*Plasmopara viticola*)，番茄和马铃薯的蔓延疫霉 (*Phytophthora infestans*)，和大豆的大豆疫霉 (*Phytophthora sojae*)。



在这些其它植物中的高丝氨酸水平可以用上述的所有技术增加。但是，当通过遗传修饰 HSK 基因或通过鉴定 HSK 基因的突变来改变植物中的 HSK 基因表达，而该基因仍未知时，必须首先对其进行鉴定。为通过遗传修饰 HSK 基因或通过鉴定 HSK 基因中的突变而产生病原体-抗性植物，特别是农作物，必须从这些植物物种中分离出直向同源的 HSK 基因。直向同源物定义为来自其它生物体的具有相同功能的基因或蛋白质。

各式各样的方法可用于鉴定其它植物中的直向同源序列。

鉴定植物物种中的 HSK 直向同源序列的方法，举例来说可以包含，在数据库中鉴定该植物物种的高丝氨酸激酶 EST；设计扩增完整高丝氨酸激酶转录物或 cDNA 的引物；用该引物进行扩增实验，获得相应的完整转录物或 cDNA；和测定该转录物或 cDNA 的核苷酸序列。

在仅部分编码序列已知的情况下扩增完整的转录物或 cDNA 的适用方法，是高级 PCR 技术 5' RACE, 3' RACE, TAIL-PCR, RLM-RACE 和小载体 PCR (vectorette PCR)。

或者，如果得不到该目的植物物种的核苷酸序列，就以与该目的植物密切相关的植物物种的 HSK 基因来设计引物，基于通过多重核苷酸序列比对确定的保守结构域，用于 PCR 扩增直向同源序列。这类引物是适当简并的引物。

评价指定序列是否为 HSK 直向同源物的另一个可靠的方法是鉴定交互最佳命中 (reciprocal best hit)。当使用 Blast 程序，用拟南芥属或别的植物物种的 HSK 蛋白质或 DNA 序列检索时，一个指定植物物种的候选直向同源 HSK 序列被鉴定为来自 DNA 数据库的最佳命中。使用 BlastX 检索法，检索所获该指定植物物种的候选直向同源核苷酸序列与该 DNA 数据库 (例如在 NCBI 或 TAIR) 之中存在的所有拟南芥属蛋白质的同源性。如果最佳命中和得分是与拟南芥属 HSK 蛋白质，则该指定 DNA 序列可以被描述为是直向同源物或直向同源序列。

HSK 在拟南芥属和稻中由单个基因编码，如从对这些植物物种公众可获得的完整基因组序列推导而来。在至今试验过的大部分其它植

物物种中，HSK 似乎是由单个基因编码，如通过分析来自公共 DNA 数据库的 mRNA 序列和 EST 数据而确定的，除马铃薯，烟草和白杨之外，对这些植物已鉴定出两个 HSK 同源物。用公共数据库之中存在的信息，通过核苷酸和氨基酸比较，鉴定这些植物中的直向同源基因和蛋白质。

或者，如果得不到期望植物物种的 DNA 序列，可通过异源杂交分离直向同源序列，其中使用拟南芥属或别的植物的 HSK 基因的 DNA 探针，或通过 PCR 方法，利用在 HSK 编码序列中的保守结构域来限定引物。对于许多作物物种，可得到可用于设计引物的部分 HSK mRNA 序列，用于随后 PCR 扩增完整 mRNA 或基因组序列，进行 DNA 序列分析。

在一个具体的实施方案中，直向同源物是基因，其编码的蛋白质与拟南芥属 HSK 蛋白质或其它植物 HSK 蛋白质具有至少 50% 同一性。在一个更具体的实施方案中，同源性是至少 55%，更具体地至少 60%，更具体地至少 65%，至少 70%，至少 75%，至少 80%，至少 85%，至少 90%，至少 95% 或至少 99%。

图 1 显示在公众可用的数据库中鉴定的以及通过对 cDNA 进行 PCR 扩增且随后测序而获得的直向同源 HSK 序列。

鉴定直向同源 HSK 序列后，通过标准的分子生物学技术鉴定了该基因的调控以及编码序列的完整核苷酸序列。对此，通过用探针或引物进行 DNA 杂交或 PCR，筛选该植物物种的基因组文库，所述探针或引物来源于已知的高丝氨酸激酶基因，例如上述探针以及引物，用于鉴定含有该 HSK 基因的基因组克隆。或者，高级的 PCR 方法，例如 RNA 连接酶介导的 RACE (RLM-RACE)，可用于直接从基因组 DNA 或反转录的 mRNA 扩增基因以及 cDNA 序列。DNA 测序随后即可表征该完整的基因或编码序列。

一旦已知该基因的 DNA 序列，将该信息用于制备以上述任一方式调节高丝氨酸激酶基因表达的手段。

更具体而言，为获得降低的 HSK 活性，该 HSK 基因的表达可以被下调，或可以通过氨基酸替换降低该 HSK 蛋白质的酶活性，所述替换来自 HSK 编码序列中核苷酸的变化。

在本发明的一个具体实施方案中，HSK 基因表达的下调是使用 RNAi 通过基因-沉默获得。为此，产生表达 HSK 反义构建体，最优化的微-RNA 构建体，反向重复构建体，或联合的有义-反义构建体的转基因植物，以便产生能导致基因沉默的相应于 HSK 的 dsRNA。

在另一个实施方案中，通过 RNAi 下调了 HSK 基因的一种或多种调节物（在转录活化剂的情况下）。

在另一实施方案中，调节物通过转基因过表达被上调（在阻抑蛋白的情况下）。在一个具体的实施方案中，通过从强启动子表达 HSK 基因的阻抑蛋白获得了过表达，例如通常用于植物生物技术的 35S 启动子。

还可以通过在启动子，终止子区域或可能的内含子中调控元件的诱变获得 HSK 基因的下调。在很多情况下，HSK 编码序列中的突变能导致氨基酸替换或过早的终止密码子，其负向影响所编码的 HSK 酶的表达或活性。

通过使用诱变化学物质例如乙基甲磺酸酯（EMS），用  $\gamma$  射线或快中子照射植物材料，或用其它方式，在植物中诱导这些及其他影响 HSK 表达的突变。产生的核苷酸改变是随机的，但是在经诱变处理植物的一个大集合中，HSK 基因中的突变可以使用 TILLING（靶向诱导的基因组中的局部损害）方法（McCallum 等人（2000）Targeted screening for induced mutations. *Nat. Biotechnol.* 18, 455-457, 以及 Henikoff 等人（2004）TILLING. *Traditional mutagenesis meets functional genomics.* *Plant Physiol.* 135, 630-636）容易地鉴定。该方法的原理是基于从 M2 代经诱变植物的大集合的基因组 DNA PCR 扩增目的基因。通过 DNA 测序或通过使用单链特异性核酸酶例如 CEL-I 核酸酶寻找点突变（Till 等人（2004）Mismatch cleavage by single-strand specific nucleases. *Nucleic Acids Res.* 32, 2632-2641），鉴定了在目的基因中具有突变的个体植物。

通过筛选许多植物，获得了突变等位基因的大集合，每个对基因表达或酶活性产生不同影响。基因表达或酶活性可以如下测试：通过

分析 HSK 转录物的水平（例如通过 RT-PCR），用抗体或通过氨基酸分析定量 HSK 蛋白水平，测量高丝氨酸的积累（作为 HSK 活性降低的结果）。这些方法为本领域技术人员公知。

本领域技术人员可以使用通常的病原体试验来判断高丝氨酸积累是否足以诱导病原体抗性。

然后将期望降低了 HSK 活性或表达的植物回交或与其它育种系杂交，以便仅将期望的新等位基因转移到需要的作物背景中。

本发明还涉及编码酶活性降低的 HSK 蛋白质的突变 HSK 基因。在一个具体的实施方案中，本发明涉及 *dmr1* 等位基因 *dmr1-1*, *dmr1-2*, *dmr1-3*, *dmr1-4* 以及 *dmr1-5*。

在另一实施方案中，本发明涉及莴苣 (*Lactuca sativa*)，葡萄 (*Vitis vinifera*)，黄瓜 (*Cucumis sativus*)，菠菜 (*Spinacia oleracea*) 以及番茄 (*Solanum lycopersicum*) HSK 基因的突变型，如图 10-14 所示。

本发明证实具有提高的高丝氨酸水平的植物显示针对病原体特别是卵菌来源病原体的抗性。利用这些知识本领域技术人员可以通过诱变或转基因方法主动地修饰 HSK 基因，而且能鉴定给定植物物种中积累高丝氨酸或具有导致高丝氨酸增加的 HSK 基因变体的至今未知的天然变体，以及根据本发明使用这些天然变体。

本申请中术语“高丝氨酸激酶”以及“HSK”可互换使用。

在下面实施例中举例说明了本发明，但并非旨在以任何方式限制本发明。在实施例中参考下列附图。

图 1 显示拟南芥的 HSK 蛋白质和来自甜橙 (*Citrus sinensis*)，毛果杨 (*Populus trichocarpa*) (1)，毛果杨 (*Populus trichocarpa*) (2)，马铃薯 (*Solanum tuberosum*) (2)，葡萄，莴苣，马铃薯 (1)，番茄，烟草 (*Nicotiana benthamiana*)，大花牵牛 (*Ipomoea nil*)，大豆 (*Glycine max*)，菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)，黄瓜，菠菜，火炬松 (*Pinus taeda*)，玉蜀黍 (*Zea mays*) 以及稻 (*Oryza sativa*) 的直向同源物的氨基酸序列比对，使用 CLUSTAL W (1.82) 多重序列

比对程序 (EBI)。序列下方保守氨基酸以点标明, 相同的氨基酸用星号标明。黑色三角形以及相应的正文表明在五个拟南芥属 *dmr* 突变体中被替换的氨基酸。

表 2 显示拟南芥属 HSK mRNA 以及来自其它植物物种的直向同源序列的 Genbank 登录号以及 GenInfo 标识符。

图 2 显示接种后 7 天, 突变体 *dmr1-1*, *dmr1-2*, *dmr1-3* 和 *dmr1-4* 以及亲本品系 Ler *eds1-2* 上两个寄生霜霉分离株 Cala2 以及 Waco9 形成的分生孢子梗的百分比。在亲本品系上形成的分生孢子梗设为 100%。

图 3 是 DMR1 克隆中的三个主要步骤的图解概要。a) 对 *dmr1* 的初始作图, 导致将基因座定位在 2 号染色体短臂上位置 7, 42 和 7, 56 Mb 之间。设计了三个插入/缺失 (INDEL) 标记 (标记 F6P23, T23A1 和 F5J6 的位置通过黑线标明)。这些标记被用于从若干 100 隔离的 F2 和 F3 植物中鉴定重组体。这些用于在收集的重组体中鉴定断裂点的 INDEL 标记和附加标记的引物序列列于表 3。b) 一个标记, At2g17270 (用灰线标明), 显示了最强的抗性连锁性。*dmr1* 基因座可以进一步定界到含有 8 个基因的区域, at2g17250-at2g17290。扩增并测序这八个基因, 寻找编码序列中的突变, 使用表 4 所述引物。对所有 8 个候选基因的 DNA 序列分析导致了发现在全部 5 个 *dmr1* 突变体中在 At2g17265 基因中的点突变, c) 每个 *dmr1* 突变体在 At2g17265 基因中的不同位置具有点突变, 该基因编码高丝氨酸激酶。

图 4 显示 HSK 编码序列的示意图, 以及在 HSK 编码序列中 5 个不同 *dmr1* 突变的位置和核苷酸替换 (用黑色三角形标明的核苷酸替换以 1 位开始的 ATG 起始密码子为基准)。5' UTR 和 3' UTR 以淡灰盒显示。核苷酸序列下面显示了蛋白质序列。HSK 蛋白质含有推定的转运序列用于叶绿体靶向 (深灰部分)。在 HSK 蛋白质中在其氨基酸 (aa) 位置编号处标明了 5 个 *dmr1* 突变产生的氨基酸变化 (黑色三角形)。

图 5 显示在天冬氨酸途径中高丝氨酸激酶的位置, 该途径用于氨基酸苏氨酸, 甲硫氨酸和异亮氨酸的生物合成。

图 6 显示利用两个不同的寄生霜霉分离株 Waco9 和 Cala2 接种后 5 天的分生孢子梗的数目/Ler eds1-2 苗。在用病原体接种后 3 天，用 dH<sub>2</sub>O，D-高丝氨酸（5mM）或 L-高丝氨酸（5 mM）浸润接种的幼苗。经 L-高丝氨酸处理的幼苗显示完全没有分生孢子梗形成，因而具有抗性。

图 7 显示经水，D-高丝氨酸（5 mM），或 L-高丝氨酸（5 mM）处理的幼苗中寄生霜霉的生长和发育，通过显微镜检用锥虫蓝染色的幼苗进行分析。

a: 对 Ler eds1-2 幼苗 HS 处理后分生孢子梗的形成（10x 放大）。L-高丝氨酸浸润后没有检测到分生孢子梗形成，而对照植物显示大量的孢子形成。

b: 吸器发育受 L-高丝氨酸（5 mM）浸润的影响（40 x 放大），但在水或 D-高丝氨酸处理的植物中则没有影响。

图 8 和 9 分别显示拟南芥高丝氨酸激酶基因（At2g17265, NM\_127281, GI:18398362）和蛋白质（At2g17265, NP\_179318, GI:15227800）的核苷酸和氨基酸序列。

图 10 分别显示莴苣的高丝氨酸激酶编码序列（CDS）和蛋白质的核苷酸和预测氨基酸序列。

图 11 分别显示葡萄的高丝氨酸激酶编码序列（CDS）和蛋白质的核苷酸和预测氨基酸序列。

图 12 分别显示黄瓜的高丝氨酸激酶编码序列（CDS）和蛋白质的核苷酸和预测氨基酸序列。

图 13 分别显示菠菜的高丝氨酸激酶编码序列（CDS）和蛋白质的核苷酸和预测氨基酸序列。

图 14 分别显示番茄的高丝氨酸激酶编码序列（CDS）和蛋白质的核苷酸和预测氨基酸序列。

## 实施例

### 实施例 1

在 dmr 突变体中负责病原体抗性的基因的表征

Van Damme 等, 2005, 上文公开了对寄生霜霉呈抗性的四个突变体, *dmr1-1*, *dmr1-2*, *dmr1-3* 和 *dmr1-4*。用寄生霜霉 Cala2 分离株 (可获自 Dr. E. Holub (Warwick HRI, Wellesbourne, UK 或 Dr. G. Van den Ackerveken, 生物学系, Utrecht 大学, Utrecht, NL) 接种后七天, 通过计数每苗叶的分生孢子梗, 可以检验抗性水平。对于高度敏感的亲本品系 Ler *eds1-2* (Parker 等, 1996, *Plant Cell* 8: 2033-2046), 将分生孢子梗数目设置为 100%。图 2 显示了与亲本品系苗相比, 在感染的 *dmr1* 突变体上形成的分生孢子梗的减少。

根据本发明, van Damme 等人 2005, 上文的 *dmr1* 突变体中负责寄生霜霉抗性的基因已通过对候选基因的作图和测序的组合而被克隆。

通过图谱基础上的克隆分离 DMR1。将 *dmr1* 突变体与 FN2 Col-0 突变体杂交, 产生作图群。由于在 RPP2A 基因中的快中子突变, FN2 突变体对寄生霜霉分离株 Cala2 易感 (Sinapidou 等人, 2004, *Plant J.* 38: 898-909)。由于 F1 植物易感, 全部 5 个 *dmr1* 突变体带有单隐性突变, 且大约 1/4 的 F2 植物显示寄生霜霉抗性。

在图 3 举例说明了 DMR1 的克隆操作, 在下面更详细地进行了描述。首先通过对 48 株抗性 F2 植物进行基因分型而确定 *dmr1* 基因座的图谱位置位于 2 号染色体的短臂。从对 650 株 F2 植物附加筛选新重组体中, 鉴定了约 90 株 F2 重组植物, 在两个 INDEL (插入/缺失) 标记之间, 分别为在 7, 2 Mb 的 BAC T24I12 和在 7, 56 Mb 的 BAC F5J6 (根据 2004 年 1 月的 TIGR 拟南芥属基因组版本 5.0), 这使得可以将该基因作图到含有 5 个 BAC 的重叠群的区域。

测定 F2 植物的基因型和 F3 代的表型, 以便精细作图 *dmr1* 基因座。*dmr1* 突变可以作图到一个约 130 kb 区域 (包括 3 个重叠 BAC 克隆: F6P23, T23A1 和 F5J6), 在两个 INDEL 标记之间, 分别是位于 7, 42 Mb 的 BAC F6P23 和 7, 56 Mb 的 F5J6 (根据 2004 年 1 月的 TIGR 拟南芥属基因组版本 5.0)。这得到对于 *dmr1* 基因座一个 30 个推定基因候选物的区域, 在 TAIR 编码 AT2g17060 和 AT2g17380 的拟南芥属基因之间。另外根据与基因 AT2g17190, AT2g17200, AT2g17270, At2g17300,

At2g17310 和 At2g17360 基因关联的 SNP 设计分裂多态序列标记 (CAPS)。

用这些 CAPS 标记数据在该区域内分析 5 个剩余的重组体, 留下 8 个候选基因, At2g17230 (NM\_127277, GI: 30679913), At2g17240 (NM\_127278, GI: 30679916), At2g17250 (NM\_127279, GI: 22325730), At2g17260 (NM\_127280, GI: 30679922), At2g17265 (NM\_127281, GI: 18398362), At2g17270 (NM\_127282, GI: 30679927), At2g17280 (NM\_127283, GI: 42569096), At2g17290 (NM\_127284, GI: 30679934)。对全部 8 个基因的测序发现在五个 *dmr1* 等位基因 *dmr1-1*, *dmr1-2*, *dmr1-3*, *dmr1-4* 和 *dmr1-5* 中在 AT2g17265 编码基因中的点突变, 清楚地说明 AT2g17265 是 DMR1。图 3 显示带有不同等位基因点突变的 *dmr1* 的图解。

At2g17265 编码高丝氨酸激酶 (HSK), 这是迄今为止显示出该功能的唯一拟南芥属基因。

在拟南芥属中, HSK 是由单基因 At2g17265 编码的 (Lee & Leustek, 1999, Arch. Biochem. Biophys. 372 : 135-142)。HSK 是在天冬氨酸途径中的第四个酶, 该途径是氨基酸苏氨酸, 甲硫氨酸和异亮氨酸的生物合成所需的。HSK 催化高丝氨酸到磷酸高丝氨酸的磷酸化作用 (图 5)。

## 实施例 2

### 氨基酸分析

磷酸高丝氨酸是拟南芥属中甲硫氨酸, 异亮氨酸和苏氨酸生产过程中的中间产物。由于高丝氨酸激酶在氨基酸生产中具有关键作用, 因此在亲本品系 Ler *eds1-2* 和四个不同的 *dmr1* 突变体中测定游离氨基酸水平。为此, 利用 80% 甲醇提取来自总叶片的氨基酸, 然后利用 20% 甲醇二次提取。干燥合并的提取物并溶于水。添加内标 S-氨基-乙基-半胱氨酸 (SAEC) 后, 在 JOEL AminoTac JLC-500/V (Tokyo, Japan) 上, 通过带有柱后水合茚三酮衍生作用的自动化离子交换层析来检测氨基酸。

对四个不同的 *dmr1* 突变体和亲本品系 Ler *eds1-2* 的氨基酸分析显示在 *dmr1* 突变体中高丝氨酸的积累, 而在亲本品系 Ler *eds1-2* 中



检测不到该中间产物氨基酸。在 *dmr1* 突变体中的甲硫氨酸，异亮氨酸和苏氨酸的水平没有减少（表 1）。

表 1

亲本品系 *Ler eds1-2* 和突变体 *dmr1-1*, *dmr1-2*, *dmr1-3* 和 *dmr1-4* 的 2 周龄幼苗地上部分中高丝氨酸，甲硫氨酸，苏氨酸和异亮氨酸的浓度（ $\mu\text{mol}/\text{mg}$  鲜重）。

	高丝氨酸	甲硫氨酸	异亮氨酸	苏氨酸
<i>dmr1-1</i>	964	29	12	264
<i>dmr1-2</i>	7128	14	29	368
<i>dznrl-3</i>	466	11	16	212
<i>dmr1-4</i>	6597	11	32	597
<i>Ler eds 1-2</i>	0	7	10	185

由于 *dmr1* 突变体中的 HSK 活性降低，因此高丝氨酸积累。该效应可以通过天冬氨酸更强注入该途径导致甚至更高的高丝氨酸水平而进一步增强。底物高丝氨酸的高浓度仍将允许突变 HSK 的充分磷酸化作用，使得在 *dmr1* 突变体和亲本品系 *ler eds1-2* 中甲硫氨酸，异亮氨酸和苏氨酸的水平不降低（表 1）。

### 实施例 3

应用 L-高丝氨酸获得了病原体抗性

为试验该效应是否是高丝氨酸特异性的，测试了立体异构体 D-高丝氨酸。利用水，5 mM D-高丝氨酸和 5 mM L-高丝氨酸浸润整个幼苗。仅仅用天然氨基酸 L-高丝氨酸处理产生了寄生霜霉抗性。水或 D-高丝氨酸处理的幼苗未显示病原体生长大幅减少，对寄生霜霉易感。将浸润施加给两个拟南芥属登录号，*Ler eds1-2* 和 *Ws eds1-1*，分别对 *Cala2* 和 *Waco9* 敏感。测定分生孢子梗形成，作为寄生霜霉易感性的指标。用寄生霜霉接种后 5 天和用水，D-高丝氨酸或 L-高丝氨酸浸润后 2 天计数分生孢子梗（图 6）。L-高丝氨酸浸润明显地导致分生孢子梗形成降低和寄生霜霉抗性。通过拟南芥属幼苗锥虫蓝染色研究植物中病原体生长，进一步证实了该结果。用分离株 *Cala2* 接种植物。两天后

用水，5 mM D-高丝氨酸和 5 mM L-高丝氨酸浸润处理植物。接种后 5 天对症状打分，清楚地表明只有 L-高丝氨酸浸润的幼苗显示出病原体生长明显降低且没有形成分生孢子梗（图 7）。

显微镜分析显示只有在经 L-高丝氨酸处理的叶片中，感染过程期间寄生霜霉产生的吸器（进食构造）被干扰。再次表明在植物中高丝氨酸水平的提高导致病原体抗性。

#### 实施例 4

##### 在作物中鉴定 HSK 直向同源物

##### 1. 根据序列同源性筛选文库

图 8 和 9 显示了拟南芥的高丝氨酸激酶基因和蛋白质的核苷酸及氨基酸序列。

将公共文库核苷酸及氨基酸序列与图 8 及 9 的序列相比较。该比较结果鉴定了甜橙，毛果杨（1），毛果杨（2），马铃薯（2），马铃薯（1），烟草，大花牵牛，大豆，菜豆，火炬松，玉蜀黍及稻中的完整 HSK 编码序列及预测氨基酸序列。如此鉴定的直向同源蛋白质的序列信息列于图 1。至于许多其它植物物种，直向同源 DNA 片段可以作为与拟南芥属或其它植物 HSK 蛋白质序列的交互最佳命中通过 BlastX 鉴定。

##### 2. 通过异源杂交鉴定直向同源物

使用标准的分子生物学方法，通过与任何植物物种上的 DNA 杂交，用如图 8 所示的拟南芥 HSK DNA 序列作为探针查找同源序列。使用该方法，通过对限制酶消化的 DNA 进行 southern 杂交或通过基因组或 cDNA 文库杂交，检测直向同源基因。这些技术为本领域技术人员公知。作为替代探针，任何其它更密切相关的植物物种的 HSK DNA 序列可用作为探针。

##### 3. 通过 PCR 鉴定直向同源物

对于许多作物物种，可获得用于设计引物的部分 HSK mRNA 或基因序列用于随后 PCR 扩增完整的 cDNA 或基因组序列。当可得到 5' 及 3' 序列时，通过 HSK 特异性 5' 正向引物及 3' 反向引物 PCR 扩增缺失的

内部序列。如果只有 5'，内部或 3' 序列可用时，设计正反向两个引物。与可得到的质粒多接头引物联合，从目的植物物种的基因组及 cDNA 文库中扩增插入物。以类似的方式，通过高级 PCR 技术：5' RACE，3' RACE，TAIL-PCR，RLM-RACE 或小载体 PCR，扩增缺失的 5' 或 3' 序列。

例如，提供了莴苣 HSK cDNA 的测序。使用 tblastn 工具，从拟南芥属 HSK 氨基酸序列着手，从 NCBI 的 Genbank EST 数据库中鉴定了几个莴苣属 HSK EST。EST 的簇集及比对得到了一个 5' HSK 片段的共有序列及一个 3' HSK 片段的共有序列。为获得完整的莴苣 HSK cDNA，对莴苣苗的 mRNA 使用 RLM-RACE 试剂盒 (Ambion)。使用在来源于 EST 的 3' HSK 共有序列中设计的引物 (R1S1a: GCCTTCTTCACAGCATCCATTCC) 及来自该试剂盒的 5' RACE 引物获得 5' mRNA 序列。使用根据 5' RACE 片段设计的两个引物 (Let3RACEOut: CCGTTGCGGTTAATGAGATT, 及 Let3RACEInn: TCGTGTTGGTGAATCCTGAA) 和来自该试剂盒的 3' RACE 引物，获得了 3' cDNA 序列。根据该装配顺序，设计新引物以扩增从 cDNA 编码的完整 HSK，提供核苷酸序列及衍生蛋白序列，所述序列列于图 10。类似方法被用于番茄 (图 14) 及葡萄 (图 11)。

已从基因组及 EST 数据库中鉴定了来自多于 10 个不同的植物物种的完整 HSK 编码序列。从 DNA 序列的比对中，选择了编码序列中的保守区域用于设计简并寡核苷酸引物 (对于简并核苷酸，缩写是根据所有合成寡核苷酸的公司所用的标准代码 IUB 核苷酸符号: G = 鸟嘌呤, A = 腺嘌呤, T = 胸腺嘧啶, C = 胞嘧啶, R = A 或 G, Y = C 或 T, M = A 或 C, K = G 或 T, S = C 或 G, W = A 或 T, B = C 或 G 或 T, D = G 或 A 或 T, H = A 或 C 或 T, V = A 或 C 或 G, N = A 或 C 或 G 或 T)。

用于获得指定植物物种的内部 HSK cDNA 序列的方法如下:

1. 使用标准方法分离 mRNA,
2. 使用寡 dT 引物及标准方法合成 cDNA,
3. 使用简并正反向寡核苷酸进行 PCR 反应,
4. 通过标准的琼脂糖凝胶电泳分离 PCR 片段, 从该凝胶分离预期大小的片段,

5. 使用标准方法将分离的 PCR 片段克隆到质粒载体中，
6. 通过 PCR 确定带有正确插入片段大小的质粒，通过 DNA 测序分析，
7. 使用 blastX 进行的序列分析显示哪些片段含有正确的内部 HSK 序列，
8. 然后该内部 DNA 序列可被用于设计基因-及物种-特异性的引物进行 5' 及 3' RACE，通过 RLM-RACE 获得完整的 HSK 编码序列（如上所述）。

例如，提供了黄瓜 HSK cDNA 的测序。对于黄瓜而言，两个引物组合成功地从 cDNA 扩增了一段内部编码序列：组合 1：引物 F1Kom (GAYTTCYTHGGMTGYGCCGT) 及 M1RC (GCRGCGATKCCRGCRGAGTT)，及组合 2：引物 M1Kom (AACTGYGCGGMATCGCYGC) 及 R1Kom (CCATDCCVGAATCAANGGVGC)。克隆及测序扩增片段后，设计黄瓜 HSK-特异性引物用于 5' RACE (Cuc5RACEOut : AGAGGATTTTTACTAAGTTTATTCGTG 及 Cuc5RACEInn : AGACATAATCTCCCAAGCCATCA ) 及 3' RACE (Cuc3RACEOut : TGATGGCTTGGGAGATTATGTCT 及 Cuc3RACEInn : CACGAATAAACTTAGTAAAAATCCTCT)。最终扩增并测序了完整的黄瓜 HSK cDNA 序列 (图 12)。类似方法被用于菠菜 (图 13)。

如该实施例所述鉴定的直向同源物可以使用众所周知的技术修饰，用于诱导能降低 HSK 表达或活性的突变。或者，该直向同源物的遗传信息可用于设计载体进行基因沉默。然后所有这些序列被用于转化相应的农作物以获得抗卵菌的植物。

#### 实施例 5

通过 RNAi 在拟南芥属中降低高丝氨酸激酶的表达

通过 RNAi 在拟南芥属中已经实现了 HSK 沉默品系的产生。以相反的方向含有 HSK 外显子的两个约 750bp 片段的构建体被成功转化到拟南芥属 Col-0 登录号。分析转化体对寄生霜霉 Waco9 分离株的抗性。获得了几十个赋予寄生霜霉抗性的转基因品系。对 HSK 表达和高丝氨酸积累的分析证实转化品系中 HSK 基因被沉默，导致对寄生霜霉的抗性。

## 实施例 6

### 种子的突变

用诱变剂处理目的植物物种的种子以便在基因组中引入随机点突变。突变的植物生长结籽，筛选下一代中高丝氨酸积累的增加。这可通过测量氨基酸高丝氨酸的水平，通过监测 HSK 基因表达的水平，或用 TILLING 方法通过搜寻 HSK 基因中的错义突变，通过 DNA 测序，或通过任何其它用于鉴定核苷酸变化的方法而实现。

选择的植物为纯合的，或通过自交或杂交而成为纯合的。测试所选具有增加的高丝氨酸水平的纯合植物对目的病原体的抗性是否增强，证实增强的疾病抗性。

### 实施例 7

将突变等位基因转移到期望作物的背景中

通过杂交和突变等位基因的基因型筛选获得了期望突变等位基因向作物中的基因渗入。这是目前作物标记辅助育种的标准程序。

## 表

### 表 2

拟南芥属 HSK mRNA 表达序列标签 (EST) 和 mRNA 序列及来自其它植物物种的直向同源序列的 GI 编号 (GenInfo 标识符) 和 Genbank 登录号。

GI 编号 (GenInfo 标识符, 有时小写为 “gi”) 是识别一个特定序列的独特整数。GI 编号是一系列数字, 连续地分配给每个由 NCBI 处理的序列记录。因而每当序列变化时 GI 编号也随之变化。NCBI 会给在 Entrez 内处理的所有序列分配 GI 编号, 包括来自 DDBJ/EMBL/GenBank 的核苷酸序列, 来自 SWISS-PROT, PIR 和许多其它的蛋白质序列。因而 GI 编号提供独特的序列标识符, 其与详细明确序列的数据库来源无关。如果 GenBank 中的一个序列被修饰, 甚至仅单个碱基对, 也会给该更新的序列分配一个新的 GI 编号。登录号保持相同。GI 编号始终稳定并且可检索。因此, 参考该表中的 GI 编号可以清楚并明确地鉴定相应序列。

表 3

物种	通用名	细目	GI 编号	Genbank
拟南芥 ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	Thale cress	mRNA	39104571	AK117871
		甜橙 ( <i>Citrus sinensis</i> )	甜橙	ESTs
			28618675	CB293218
			55935770	CV886643
			28619455	CB293998
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	大豆	ESTs	10846810	BF069552
			17401269	BM178051
			8283472	BE021031
			16348965	BI974560
			7285286	AW597773
			58024665	CX711406
			58017647	CX704389
			20449357	BQ253481
			16105339	BI893079
			37996979	CF808568
			37996460	CF808049
			6072786	AW102173
			26057235	CA800149
			6455775	AW186458
			6072724	AW102111
大花牵牛 ( <i>Ipomoea nil</i> )	日本牵牛	ESTs	9203587	BE329811
			74407098	CJ761918
			74402449	CJ757269
			74402115	CJ756935
			74388670	CJ743490
烟草 ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	烟草	ESTs	39880685	CK295868
			39859026	CK284950
			39864851	CK287885
			39864855	CK287887
			39859024	CK284949
			39864853	CK287886
			39880683	CK295867
			39864849	CK287884
稻 ( <i>Oryza sativa</i> )	稻	mRNA	50916171	XM_468550
			32970537	AK060519
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	菜豆	ESTs	62708660	CV535256
			62710636	CV537232
			62708052	CV534648
			62709395	CV535991
			62710761	CV537357
			62708535	CV535131
			62708534	CV535130
			62711318	CV537914
			62707924	CV534520
			62710733	CV537329
			62709601	CV536197
火炬松 ( <i>Pinus taeda</i> )	火炬松	ESTs	62709064	CV535660
			62708834	CV535430
			70780626	DR690274

		67490638	DR092267
		48933532	CO162991
		34354980	CF396563
		67706241	DR117931
		17243465	BM158115
		34349136	CF390719
		66981484	DR057917
		48932595	CO162054
		66689208	DR011702
		48933450	CO162909
		34350236	CF391819
		67706323	DR118013
		48932678	CO162137
		66981399	DR057832
		34354850	CF396433
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa</i> ) 1	白杨	基因组	v1.0, LG_IX, 149339-148242
			表达通过 EST 证实
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa</i> ) 2	白杨	基因组	v1.0, 支架 _66, 1415935-1417032
			表达通过 EST 证实
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum</i> ) 1	马铃薯	ESTs	66838966 DR037071
			61238361 DN588007
			39804315 CK251362
			39801776 CK250065
			9250052 BE340521
			39832341 CK275363
			21917848 BQ116921
			9249876 BE340345
			39815050 CK258070
			39804985 CK251702
			39804987 CK251703
			39825384 CK268406
			39832342 CK275364
			66838967 DR037072
			9250394 BE340863
			39804317 CK251363
			39825385 CK268407
			21375072 BQ516203
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum</i> ) 2	马铃薯	ESTs	39813353 CK256373
			39793361 CK246131
			39793359 CK246130
			39813352 CK256372
玉蜀黍 ( <i>Zea Mays</i> )	玉米	ESTs	76021237 DT948407
			76913306 DV165065
			71446162 DR827212
			71449720 DR830770
			78117576 DV535963
			91048486 EB158904
			71439095 DR820145
			76936546 DV174774
			76012246 DT939416

		78085419	DV513812
		71766843	DR964780
		76924795	DV170131
		71449067	DR830117
		91875652	EB405609
		71450175	DR831225
		78103551	DV521979
		78090555	DV518929
		78104654	DV523072
		76926251	DV170768
		78111568	DV529965
		71773353	DR971257
		71425952	DR807002
		93282458	EB674722
		78074199	DV502633
		76293328	DV032896
		78075462	DV503896
		91054750	EB165168
		86469295	DY235665
		74243218	DT651132
		74242899	DT650813
		101384764	EB814428
		91054750	EB165168
		71440426	DR821476
		78121780	DV540164
		78103550	DV521978
		86469294	DY235664
		91877777	EB407734
		67014441	CO443190
		76924794	DV170130
		76021236	DT948406
		71446161	DR827211
		78110960	DV529358
		78074736	DV503170
		71428043	DR809093
		86469052	DY235422
		71440425	DR821475
		78121779	DV540163
		78104653	DV523071
		37400920	CF637820
		78074198	DV502632
		71449719	DR830769
		58213736	BF877213
		7333245	AW621598
		4386685	AI482761
		Unigene SGN-U223239 来自 Sol Genomics Network	
		序列描述于本专利申请中	
		序列描述于本专利申请中	
		序列描述于本专利申请中	
		序列描述于本专利申请中	
		序列描述于本专利申请中	
		序列描述于本专利申请中	
番茄 (Solanum lycopersicum)	西红柿		
莴苣 (Lactuca sativa)	莴苣		
葡萄 (Vitis vinifera)	葡萄藤		
菠菜 (Spinacia oleracea)	菠菜		
黄瓜 (Cucumis sativus)	黄瓜		



用于 DMR1 基因座作图的插入/缺失 (INDEL, 大小差异标明在括号中) 标记及分裂多态序列标记 (CAP, 多态限制位点标明在括号中) 的引物序列

引物名称: BAC 和/或 TAIR At 代码	正向引物 序列	反向引物 序列	类型 (大小/酶)	TAIR At 代码 的 GI 编号
T24I12 (At2g16670)	AATCCAAATTTCTT GCGAGAACACA	AAACGAAGAGTGAC AATGGTTGGAG	INDEL (33)	18398180
F5J6 (AT2g17370-80)	CCGTCAGATCAGTC CTCATCTTGTT	CAGAAGCTGATGAT CGTGGAAAGTA	INDEL (30)	23506018, 30679966
F6P23 (AT2g17060)	CGGTTTCATGTCGA GGAAGATCATA	AAGAAGAGAACTGC GTCAACCTTCC	INDEL (37)	22325728
T23A1 (AT2g17220-30)	TCCTTCCATGTCCG AAACCA	AACAAATTTGCTTC CAGCCTTT	INDEL (26)	42570808, 30679913
AT2g17190	GAATAGAGGTTGAT GGAAATCAAGA	CTCTTGATGTTTT ACTGGGCTGAT	CAP (MseI)	30679898
AT2g17200	CCTCTCCACCCATT TCTAATTTTCG	CGATCCATTTTCGTC AAGCAATCTAC	CAP (MboII)	30679902
AT2g17270	GATGCAGCTAAATT ATCAGTGTGAA	ACGAAAATATCAAA AAGCTCCTTC	CAP (NlaIII)	30679927
AT2g17300-05	AGGTAGGATGGTAT TATGTTTGAAC	GCATGTTTCTCTA AGCGATAGAAG	CAP (EcoRI)	30679937, 22325732
AT2g17310	ATGGGTAACGAAAG AGAGGATTAGT	CACATGTATAAGGT CTTCCCATAGA	CAP (MseI)	42569097
AT2g17360	CCAACAAGTATCCT CTTTTGTGTT	CCACATCAAACCTTA ATGAACTCCAC	CAP (MaeIII)	30679959

表 4

用于八个候选 DMR1 基因扩增及测序的引物序列, 标明了候选基因的 TAIR 及 GI 代码

引物名称	引物序列	TAIR 代码	GI 代码
MvD17230_F	TTCCCGAAGTGACATTTAAAAGCTC	At2g17230	30679913
MvD17230_R	TATGTCATCCCCAAGAGAAGAAGAC	At2g17230	30679913
MvD17240-F	CAATAAAAGCCTTTAAAAGCCCACT	At2g17240	30679916
MvD17240_R	TAGCTTCTGAAACTGTGGCATTACA	At2g17240	30679916
MvD17250_1F	CATGATTTGAGGGGTATATCCAAA	At2g17250	22325730
MvD17250_1R	GGAGGTGGGATTTGAGATAAACTT	At2g17250	22325730
MvD17250_2F	TAGCCTAGAACTCTCTGTTCGCAAG	At2g17250	22325730
MvD17250_2R	CATTATTTTGCGTAGTTGTGAGTGG	At2g17250	22325730
MvD17250_3F	CGAAGAAATCCTACAATCAACCATC	At2g17250	22325730
MvD17250_3R	TCTCACAATTCCTATCTCTTACTCC	At2g17250	22325730
MvD17260_1F	TTACTCATTTGGGTGAACAGAACAA	At2g17260	30679922
MvD17260_1R	ATCATCCCTAATCTCTCTGCTTCCT	At2g17260	30679922
MvD17260_2F	GATTAAGATACGGGGAATGGAGTCT	At2g17260	30679922
MvD17260_2R	ATGCAGACAAATAAGATGGCTCTTG	At2g17260	30679922
MvD17260_3F	GTTGTTGCTCCTGTCAAGACTTA	At2g17260	30679922
MvD17260_3R	GAACAAAGACGAAGCCTTTAAACAA	At2g17260	30679922
MvD17265_F	GAGGACTGCATCTAGAAGACCCATA	At2g17265	18398362
MvD17265_R	TGGGCTCTCAACTATAAAGTTTGCT	At2g17265	18398362
MvD17270_F1	TAACGGTAAAGCAACGAATCTATCC	At2g17270	30679927
MvD17270_R1	TCAAAGTATAACGAGAGACGTTGA	At2g17270	30679927
MvD17270_F2	TTGCGTTCGTTTTTTGAGTCTTTTAT	At2g17270	30679927
MvD17270_R2	AAACCAGACTCATTCCTTTGACATC	At2g17270	30679927
MvD17280_F1	TTTAGGATCTCTGCCTTTTCTCAAC	At2g17280	42569096
MvD17280_R1	GAGAAATCAATAGCGGGAAAGAGAG	At2g17280	42569096
MvD17280_F2	GCTTAAATAGTCCTCCTTTCCCTTGC	At2g17280	42569096
MvD17280_R2	TCTGCTGGTTCTCATGTTGATAGAG	At2g17280	42569096
MvD17290_F1	CTCTCCTTCATCATTTTCACAAATCC	At2g17290	30679934
MvD17290_R1	TTCCTCTCGCTGTAATGACCTCTAT	At2g17290	30679934
MvD17290_F2	TGCCACAGGTGTTGACTATGC	At2g17290	30679934
MvD17290_R2	TGCTCTTAAACCCGCAATCTC	At2g17290	30679934
MvD17290_F3	GAAGATGGCTTTAAAGGTCAGTTTGT	At2g17290	30679934
MvD17290_R3	AGCAACAACAATAAAAGGTGGAAG	At2g17290	30679934

拟南芥 ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	---MASLCFQSPS---KPISYFQPKS-----NFSPPLEFAKVSVFCRASVOTLVA-----	44
甜橙 ( <i>Citrus sinensis</i> )	---MAICFFSAV---KPNHFTVFF-----NPAP---KKPIFKCSCSLPTVTT-----	39
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_1</i> )	---MAICCFPSPL---KPMTPATFLT-----NLKPK---RPDILRCNFSLPTITT-----	41
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_2</i> )	---MAIC-FLSPL---KPIPTTSLTT-----NLNPK---KPNILRCNFSLPIITT-----	41
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_2</i> )	---MAVLCQSP---LNLKLTSSSSS---SRNRTANF---SFRNLNSAHSR-----	39
葡萄 ( <i>Vitis vinifera</i> )	---MAICFHSP---SKPTCISPSNH-----YRPNLHAR---SFCNFSKTLT-----	39
莴苣 ( <i>Lactuca sativa</i> )	---MAIRHYQPPFASTSSSISSTDLF---KPPKLYLSS---SVRCNISVASK-----	43
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_1</i> )	---MAITYQSP---MKLNFTISNGFS---NPPSLYPINTHESFGNLSVSSKQT-47	47
番茄 ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	---MAITFQSP---MKLSFITISNGFS---NPPSLYPINTHESFGNLSVSSKQT-47	47
烟草 ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	---MAAICYQSP---VKLNFTTSNAFNPFPNPPPLYPIKTRFSSGGNLSAVPSKTQT	54
大花牵牛 ( <i>Ipomoea nil</i> )	-----ASISSRHP-----NPPCLPALNISRCGLFSAVTSSTLA-	36
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	---MATSTCFLC---PSTASLKGRRF-----RIR---IRCSSS---VSVNIR-----	36
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	---MATAMFLC---PSPATFKGTEMP-----IAR---FRCCSNTNSVSLNTR-----	40
黄瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	---MAMLSYQPP---LKSITIPPVSL-----NPKFVLFRCSLSLPRTAVTS-----	42
菠菜 ( <i>Spinacia oleracea</i> )	---MAICAQSP---FKPNLSPHSPS---PTHKSPFICKLSLSSHSTHSPUTT-----	44
火炬松 ( <i>Pinus taeda</i> )	MESVFAQTKHHCFFYLEPDLGLINSCFLGSRFRTFESRGLHPHVENVRCAQQVSLKP---	57
玉蜀黍 ( <i>Zea mays</i> )	---MAPAATSTAS---APSSFHSTGRHR---ARVGARPSLVSLRVRAANPNVT-----	46
稻 ( <i>Oryza sativa</i> )	---MAAAAAAAPP---SPAPCFPSTRH-----TLPGLVSVRVRKVA---VAI-----	44

K (dmr1-2)

拟南芥 ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	---VEPEPVFVSVKTFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDHVTLRVDPVSRAGEV	96
甜橙 ( <i>Citrus sinensis</i> )	---TEPEPVFVSVKTFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDYVSLKVDPSVHPGEV	91
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_1</i> )	---TEPEPVFVSVRFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDYVSLKVDPSVHPGEL	93
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_2</i> )	---TEPEPVFVSVRFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDYVSLKVDPSVHPGEL	93
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_2</i> )	---SEPSFVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDFVTLRDLVNVHPGEV	91
葡萄 ( <i>Vitis vinifera</i> )	---ADQPQVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDFVSLRVDVDPVPGEI	91
莴苣 ( <i>Lactuca sativa</i> )	---LEPEPHPVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDYVTLTVDVQVQGR	97
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_1</i> )	HITPEPEPVFVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDFVTLRVDPNVKA	103
番茄 ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	HITPEPEPVFVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---VGDVTLRVDPNVKA	103
烟草 ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	HITPEPEPVFVTSVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDFITLRVDSKVKPGEV	110
大花牵牛 ( <i>Ipomoea nil</i> )	---VSDPEPVYASVKSFAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDFVTLRVDVDPVPGQV	89
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	---REPEPVTLVKAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDIVSVKVDQVHPGEI	88
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	---TEPQPVTVFKAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---IGDIVSVRVDPVHPGEI	92
黄瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	---VEPQPVFVSVKAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDYVSLSDVSNVHPGEV	94
菠菜 ( <i>Spinacia oleracea</i> )	---EPTPLTSTVTFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDYVSLSDVSNVHPGQL	95
火炬松 ( <i>Pinus taeda</i> )	-VIQFEATPIIQSVKAFAPATVANLPGFDFLGCAVDG---LGDHVTVEVNDVPEPKI	112
玉蜀黍 ( <i>Zea mays</i> )	---ADPAPAFQSVTTFAPATVANLPGFDFLGCAVDASLSLGDVTATLDPSLPPTV	100
稻 ( <i>Oryza sativa</i> )	---ADPAPAFNSVTFAPATVANLPGFDFLGCAVDASLSLGDVTATLDPSLPPTV	98

拟南芥 ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	SISEITGTTT-----KLNSTNPLRNCAGIAAIATMKNLGIKRSVGLSLDLHKGLPLGSGLGS	151
甜橙 ( <i>Citrus sinensis</i> )	SISEVIGFS-----KLSKNPLWNCAGIAAISAMKMLGVRVSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	145
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_1</i> )	SISDISGPK-----KLSKNPLWNCAGIAAIATMKNLNIKRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	147
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_2</i> )	SISDISGPK-----KLSKNPLWNCAGIAAIATMKNLNIKRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	147
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_2</i> )	SISDISGAG-----KLRNRPWNCAGIAAISVMKMLNIKRSVGLTSLSHKGLPLGSGLGS	146
葡萄 ( <i>Vitis vinifera</i> )	SIVDIDGVNS---AKLKSKNPLWNCAGIAAISVMKMLGVRVSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	149
莴苣 ( <i>Lactuca sativa</i> )	SIAEINGVDKS---SKRLSRNPLWNCAGIAAISVMKMLKIRSVGLSLSINTCLPLGSGLGS	155
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_1</i> )	SISDISGAG-----NRLSKDPLSNCAGIAAISVMKMLNIQSVGLSISLEKGLPLGSGLGS	158
番茄 ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	SISDISGAG-----NRLSKDPLSNCAGIAAISVMKMLNIQSVGLSISLEKGLPLGSGLGS	158
烟草 ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	SISDISGAG-----NRLSKDPLSNCAGIAAISVMKMLNIQSVGLSISLEKGLPLGSGLGS	165
大花牵牛 ( <i>Ipomoea nil</i> )	SISEISGAG-----NLSKNPLWNCAGIAAIVMKMLRIQSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	144
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	CISDISGHAP---NLSKNPLWNCAGIAAIEVMKMLIRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	144
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	RISDITGHAP---NLSKNPLWNCAGIAAIEVMKMLGIRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	148
黄瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	AISDITGNNT---NLSKNPLWNCAGIAAIEVMKMLGIRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGS	150
菠菜 ( <i>Spinacia oleracea</i> )	SISDISGDAS---SKLSKDPFLNCAGIASALAMKMLNIKRSVGLSLSLQKGLPLGSGLGS	151
火炬松 ( <i>Pinus taeda</i> )	VISFIDGDN---NRLSLNPMKNCAGIAAKATMELLGVRVSVGLSLGLHKGLPLGSGLGS	167
玉蜀黍 ( <i>Zea mays</i> )	SIASVTPSPRPNLAERLSRDLRNCAGIAAIALRALGVRSHAVSIHLTKGLPLGSGLGS	160
稻 ( <i>Oryza sativa</i> )	AIASVTPSPRPTLADRLSRDLRNCAGIAAIALRALDVKSHAVSIHLTKGLPLGSGLGS	158

D (dmr1-5)

R (dmr1-4)

拟南芥 ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLGSDQLVLAGLESEAKVSGYHADNIAFAIMGGFVLIIRNYEP	211
甜橙 ( <i>Citrus sinensis</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLEVDLVLVLAGLESEAKVSGYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	205
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_1</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLEVDLVLVLAGLESEAKVSGYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	207
毛果杨 ( <i>Populus trichocarpa_2</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLEVDLVLVLAGLESEAKVSGYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	207
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_2</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRPLTLTDLVLAGLDESSEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRSYEP	206
葡萄 ( <i>Vitis vinifera</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLVDDLVLAGLDESSEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRSYEP	209
莴苣 ( <i>Lactuca sativa</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGGKLDHSDLLVLAGLEAEAKLQYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	215
马铃薯 ( <i>Solanum tuberosum_1</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLVDDLVLAGLESEKVSQYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	218
番茄 ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGRKLVDDLVLAGLESEKVSQYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	218
烟草 ( <i>Nicotiana benthamiana</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGGKLSVSDLVLAGLESEKVSQYHADNIAFAIMGGFVLIIRSYEP	225
大花牵牛 ( <i>Ipomoea nil</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGSRSLVSDLVLAGLESEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRSYEP	204
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGKLVSDLVLAGLSEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRSYEP	204
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	SAASAAAAAVAVNEIFGKLVSDLVLAGLSEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRSYEP	208
黄瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	SAASAAAAIAVNLFGKLVSDLVLAGLSEKVSQYHADNVAFAIMGGFVLIIRNYEP	210

图 1

菠菜 (Spinacia oleracea)	SAASAAAAVAVNSLFGSPLSPLDLVHAGLESEKSVSGYHADNIAPAIMGGFILIRSYEP	211
火炬松 (Pinus taeda)	SAASAAAAVAVNGLFGNKLTKSDLVLAGLESEAAVSGYHADNVAPSLMGGFVLRVRSYSP	227
玉米 (Zea mays)	SAASAAAAKAVDVALFGSRLGRDDLVLAGESEKAVSGFHADNIAPAIILGGFVLRVRSYDP	220
水稻 (Oryza sativa)	SAASAAAAKAVDVALFGSLHQQDDLVLAGESEKAVSGFHADNIAPAIILGGFVLRVRSYDP	218
	***** ** : ** * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
	I' (dmr1-3)	V (dmr1-1)
拟南芥 (Arabidopsis thaliana)	LDLKPFRFSPDKDLFFVLVSPDFAEPTKKMRAALPTEIPMVHHVWNSQAALVAAVLEG	271
甜橙 (Citrus sinensis)	LDLMRLNFPEKKQLFVLTPEFEAPTMMRAALPAEIVGMPPHHIWNCSQAGALVAAVLNG	265
毛果杨 (Populus trichocarpa_1)	LELMSLQFPVEKDILFVLSVDFEAPTMMRAALPAEIGMPHHVWNSQAGAFVAVLQ	267
毛果杨 (Populus trichocarpa_2)	LELMSLQFPVEKDILFVLSVDFEAPTMMRAALPAEIGMPHHVWNSQAGALVAVLQ	267
马铃薯 (Solanum tuberosum_2)	LELIQLNFPHEKDLFFVLANPEFEAPTMMREALPQETMSHHIWNCSQAGALVAVLLG	266
葡萄 (Vitis vinifera)	LELIPLTFPSPDKELFFVLVNPFEAPTMMRAALPSEIGMSDHVWNSQAALVASILQG	269
莴苣 (Lactuca sativa)	LELISLKFPPEKNLFFVLVNPFEAQTMMRAVLPTEITMSDHVWNSQAALVAVLQ	275
马铃薯 (Solanum tuberosum_1)	LELISLKFPPEKDLFFVLVNPFEAPTMMRAVLPSEVTMSHIWNCSQAGALVAVLQ	278
番茄 (Solanum lycopersicum)	LELIPLKFPFEKDLFFVLVNPFEAPTMMRAVLPSEVTMSHIWNCSQAGALVAVLQ	278
烟草 (Nicotiana benthamiana)	LELIELKFPLEKDLFFVLVNPFEAPTMMRAALPNEVTMSHIWNCSQAGALVAVLQ	285
大花牵牛 (Ipomoea nil)	LELIQLKFPQEKSLFFVLVNPFEAPTMMRAALPAEITMSSHVWNSQAALVAVLQ	264
大豆 (Glycine max)	LELMPFKFPAEKELFVLTPEIEAPTMMRAALPTEIGMPHHVWNSQAGALVAVLQ	264
菜豆 (Phaseolus vulgaris)	LRLELKFPFAEKELFVLSVPEFEAPTMMRAALPGEIAMHHVWNSQAGALVAVLQ	268
黄瓜 (Cucumis sativus)	LELIRLKFPVEKELFFVLVNPFEAPTMMRAALPAEIVGMPPHHVWNSQAALVAVLQ	270
菠菜 (Spinacia oleracea)	LDLMLKLEFPTNDLYFVLVSPFEAPTMMRAALPKEIGMPHHIWNCSQAALVAALVLMG	271
火炬松 (Pinus taeda)	LDLILHLPFPEKELFFVLTPEFEAPTMMRAVLPKNI TMKDIQNCQAALVAVLQ	287
玉米 (Zea mays)	FHLVPLSFPALRLHFLVLTPEFEAPTMMRAALPRQVDVQVHVRNCSQAALVAVLQ	280
水稻 (Oryza sativa)	FHLIPLSSPPALRLHFLVLTPEFEAPTMMRAALPRQVAVHQVHVRNCSQAALVAVLQ	278
	: * * * * * * * * * * : * : * : * * * * : : * : * * * * : * * * * * : * * * * :	
拟南芥 (Arabidopsis thaliana)	DAVMLGKALSSDKIVEPTRAPLI PGMEAVKKAAL EAGAFGCTI SGAGPTAVAVI DSEK	331
甜橙 (Citrus sinensis)	DPVGLGKALSSDKIVEPNRPLI PGMEAVKKAAL EAGAYGCTI SGAGPTAVAVV DNEEK	325
毛果杨 (Populus trichocarpa_1)	DLVGLGKALSSDKIVEPKRPLI PGMEVKKAAAL EAGAFGCTI SGAGPTAVAVV DSEER	327
毛果杨 (Populus trichocarpa_2)	DLVGLGKALSSDKIVEPKRPLI PGMEVKKAAAL EAGAFGCTI SGAGPTAVAVV GSEDR	327
马铃薯 (Solanum tuberosum_2)	DVSGFGKALSSDKIVEPRRTPLI PGMEVKKAAAL EAGAFGCTI IRGAGPTAVAV DNEET	326
葡萄 (Vitis vinifera)	DLRGLGKALSSDKIVEPNRPLI PGMEVKKAAAL EAGAFGCTI SGAGPTAVAVI DDEEK	329
莴苣 (Lactuca sativa)	DLVGFGLKALSSDRIVEPRRPLI PGMEVKKAAAL EAGAYGCTI SGSGPTAVAV DDEDR	335
马铃薯 (Solanum tuberosum_1)	DSRGLGKALSSDKIVEPRRPLI PGMEVKKAAAL KAGAFGCTI SGAGPTLVAV DDEER	338
番茄 (Solanum lycopersicum)	DSRGLGKALSSDKIVEPRRPLI PGMEVKKAAAL KAGAFGCTI SGAGPTLVAV DDEER	338
烟草 (Nicotiana benthamiana)	DSRGLGKALSSDKIVEPKRPLI PGMEVKKAAAL EAGAFGCTI SGAGPTLVAV DGEER	345
大花牵牛 (Ipomoea nil)	DLVGLGKALSSDKIVEPRRPLI PGMEAVKKAAL IQAGAFGCTI SGAGPTAVAV DDEEK	324
大豆 (Glycine max)	DVVGKALSSDKIVEPRRPLI PGMEAVKKAAL IQAGAFGCTI SGAGPTAVAVI DDEQT	324
菜豆 (Phaseolus vulgaris)	DVVGKALSSDKIVEPRRPLI PGMEAVKKAAL IQAGAFGCTI SGAGPTAVAVI DDEL	328
黄瓜 (Cucumis sativus)	DTMGLGKALSSDKIVEPRRPLI PGMDGKAAAL AAGAFGCTI SGAGPTAVAVI DNEEK	330
菠菜 (Spinacia oleracea)	DVEGIGKAMSSDKIVEPRRPLI PGMAVKKAAAL EAGAFGCTI SGAGPTAVAV DREEK	331
火炬松 (Pinus taeda)	DPCLLGAALSSDSIVEPKRPF I PGMAVKKAAAL ETGAFGCTI SGAGPTAVAVI DTAEK	347
玉米 (Zea mays)	DAGLIGSAMSSDGI VEPTRAPLI PGMAVKKAAAL QAGALGCTI SGAGPTAVAVI OGEER	340
水稻 (Oryza sativa)	DATLIGSAMSSDGI VEPTRAPLI PGMAVKKAAAL EAGALGCTI SGAGPTAVAVI DGEER	338
	* : * * : * * : * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * :	
拟南芥 (Arabidopsis thaliana)	QVIGEMVEAFWKVGHKLSVASVKKLDNVGARLVNSVSR----	370
甜橙 (Citrus sinensis)	KVIGEMVEAFWKEGNLKA VSMVKRLDRV GARLVGSV RPR--	366
毛果杨 (Populus trichocarpa_1)	VEIGERMVETFWKEGLKAVASVVKRLDRV GARLVGSVPR----	366
毛果杨 (Populus trichocarpa_2)	MEVGERMVEAFWKEGNLKA VAVVKRLDRV GARLVGSVPR----	366
马铃薯 (Solanum tuberosum_2)	REIGORMVEVFLHGLKALAMVKKLDRI GARLVSSQPI----	365
葡萄 (Vitis vinifera)	REIGERMVEAFLEEGK LKAVAVKQLDRV GARLMS\$ILR----	368
莴苣 (Lactuca sativa)	REIGEMVEAFVEKGLKALAMVKKLDRI GARVIRISSQ----	375
马铃薯 (Solanum tuberosum_1)	REIGERMVDAFMKEGNLKA LAMVKKLDRI GARLVSSNS----	376
番茄 (Solanum lycopersicum)	REIGERMVEAFMKEGNLKA LAMVKKLDRI GARLVSSNS----	376
烟草 (Nicotiana benthamiana)	REIGERMVEAFMKEGNLKA LAMVKKLDRI GARLVSSNPR----	384
大花牵牛 (Ipomoea nil)	MEIGKRMVEAFIQENLKA LAMVKKLDRI GARLVSKNGSICN-	366
大豆 (Glycine max)	HLIAKHMIDAFPHVGNLKA SANVKQLDRL GARRI PN-----	360
菜豆 (Phaseolus vulgaris)	NAJAEHMIHAFPHHGNLKA SAVLQLDRL GARRI LD-----	364
黄瓜 (Cucumis sativus)	KEIGERMVMAFLKEGNLKA TASVVKRLDRV GARLIGSTPLDRVL	373
菠菜 (Spinacia oleracea)	REIGERMVEAFWKEGLKAAAVIQKLDRI GARVSSVPR----	370
火炬松 (Pinus taeda)	KAIVAMVDMFQKQGLEATASVQKLDRI GARVV-----	381
玉米 (Zea mays)	EAVRKMVDAFWSAGLKA TATVAQLDRL GARVIATSSLN---	380
水稻 (Oryza sativa)	EEVGRMVEAFANAGLKA TATVAQLDRV GARVISTSTLE---	378
	:: * : * * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	

(续)

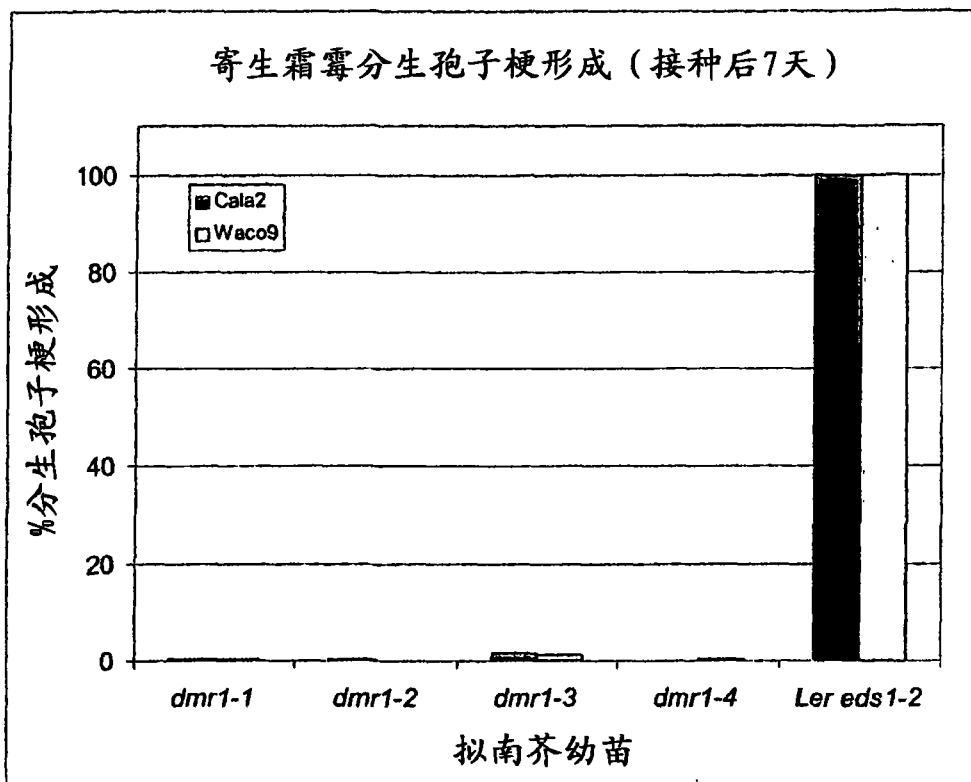


图 2

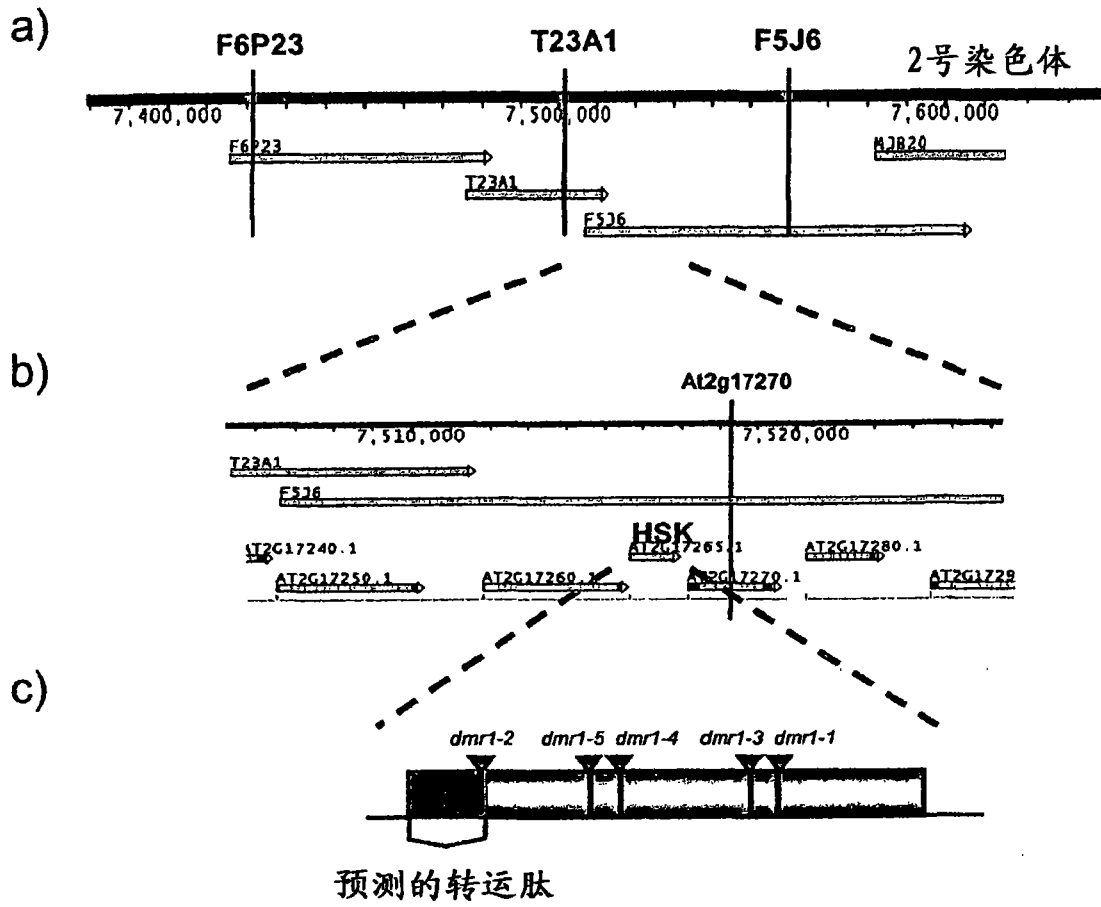


图 3

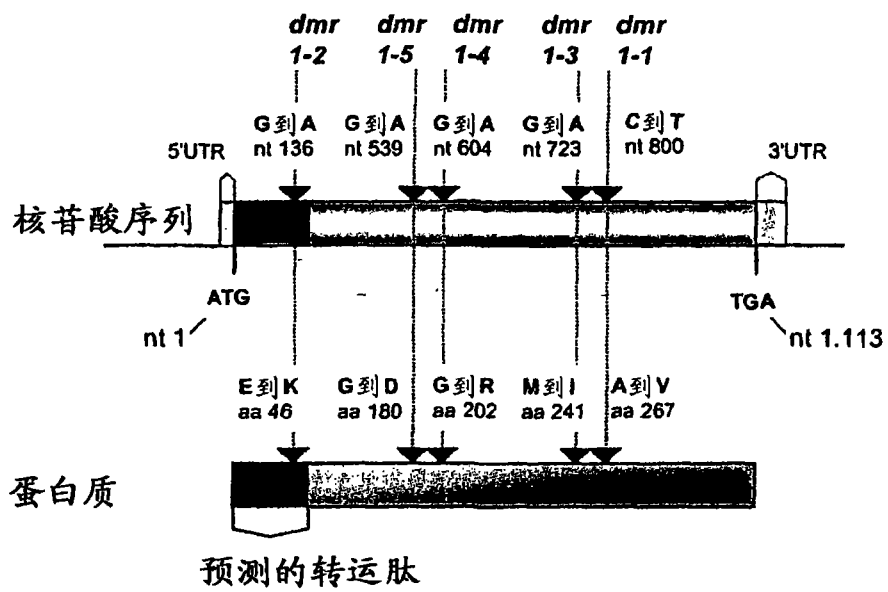


图 4

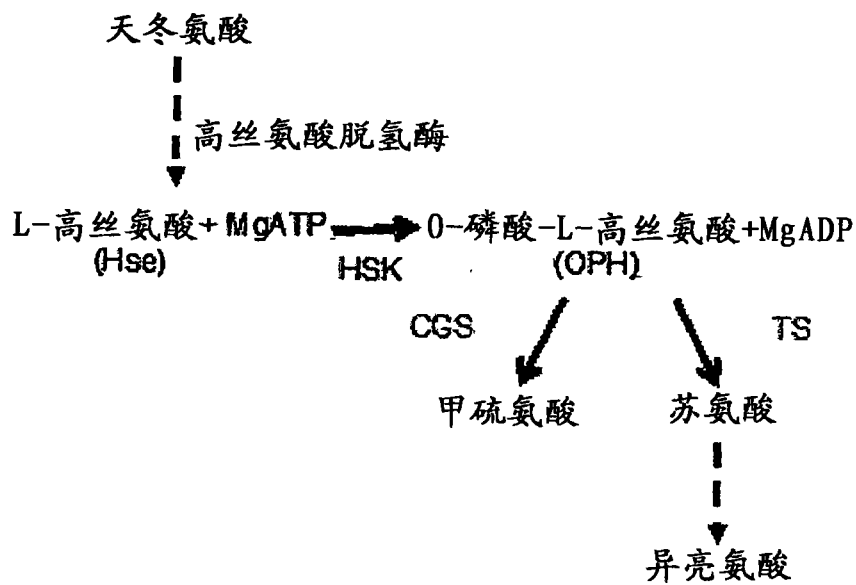


图 5



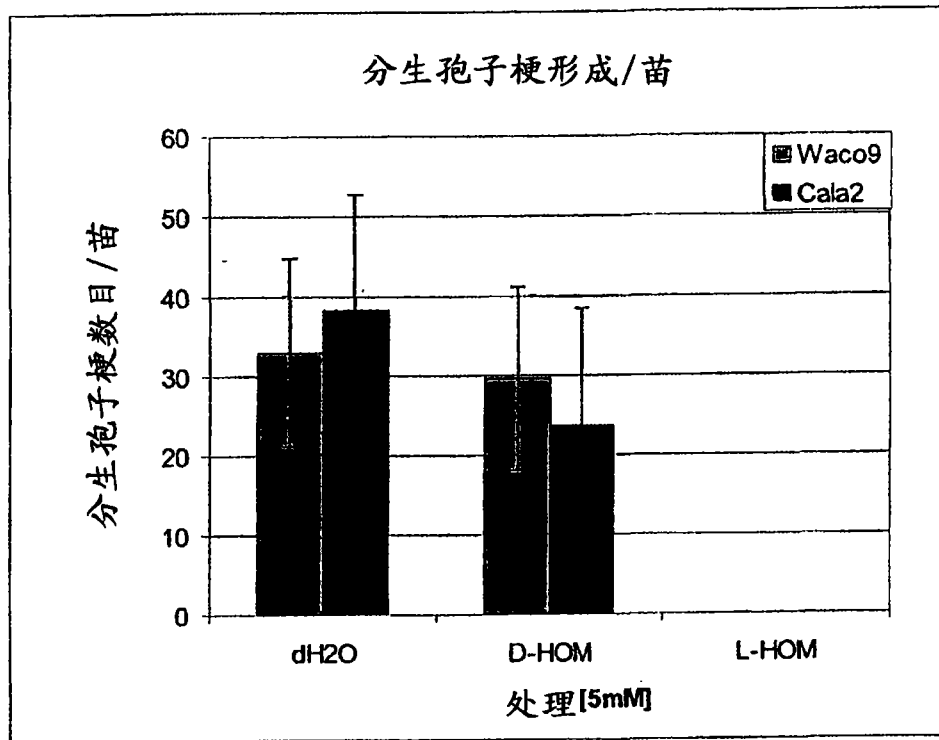


图6

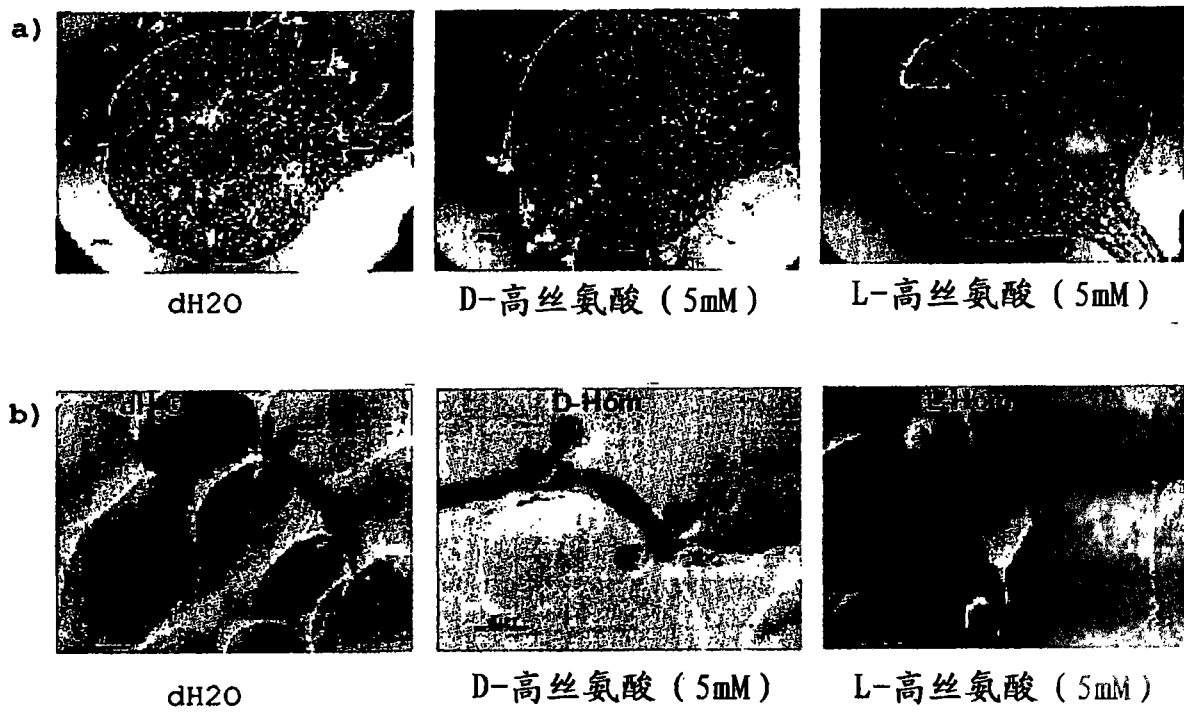


图7

```

1 CTCATTACTT GTTCATCAAT GGCAAGTCTT TGTTTCCAAT CTCCTTCCAA
51 ACCCATTTC TATTTCCAAC CCAAATCCAA TCCATCGCCG CCGTTATTCG
101 CCAAAGTCTC CGTCTTTCGA TGCAGAGCTT CCGTACAAAC CCTCGTCGCC
151 GTTGAGCCGG AGCCAGTTT CGTCTCCGTC AAGACTTTTG CGCCAGCCAC
201 CGTCGCTAAT TTAGGACCAG GGTTTGATT CTTAGGATGC GCCGTCGATG
251 GTCTCGGAGA CCATGTGACT CTCCGTGTAG ATCCCTCTGT ACGAGCCGGT
301 GAGGTCTCAA TCTCGGAGAT CACCGGAACG ACAACAAAAC TCAGCACAAA
351 TCCTCTCCGG AACTGCGCCG GAATCGCTGC TATTGCTACA ATGAAGATGT
401 TAGGGATCAG ATCGGTTGGT TTATCATTAG ATTTGCATAA AGGTCTTCCT
451 TTAGGTAGCG GTTTAGGTT TAGTGCAGCT AGCGCCGCCG CAGCTGCTGT
501 GGCGGTTAAT GAGATCTTG GTCGGAAAT AGGGAGTGAT CAATTGGTAT
551 TAGCCGTTT AGAATCGGAA GCGAAAGTCT CCGGTTATCA CGCTGATAAT
601 ATCGCACCAG CGATCATGGG TGGATTCGTT TTGATTCGAA ACTACGAACC
651 ACTTGATTTG AAACCATTGA AGTTCCCATC TGATAAAGAT CTCTTCTTTG
701 TTCTAGTAAG CCCTGAGTTT GAAGCTCCAA CTAAGAAAAT GAGAGCTGCA
751 TTGCCTACAG AGATTCCAAT GGTTTCATCAT GTTTGGAACA GTAGCCAAGC
801 AGCTGCTTTA GTCGCTGCTG TGTTAGAAGG TGACGCAGTG ATGCTTGGGA
851 AGGCATTGTC GTCGGATAAG ATTGTGGAGC CAACTAGAGC GCCTTTGATT
901 CCGGGGATGG AAGCTGTGAA GAAGGCAGCT TTGGAAGCTG GAGCGTTTGG
951 ATGTACAATT AGCGGAGCTG GACCAACAGC AGTTGCGGTG ATTGATTCGG
1001 AGGAGAAGGG TCAAGTGATT GGAGAGAAGA TGGTGGAAAGC GTTTTGGAAA
1051 GTTGGTCATT TGAATCTGT TGCTTCTGTG AAGAAGCTTG ATAAGGTTGG
1101 TGCTAGGCTT GTCAACAGCG TCTCCAGATG ATCTTTTAAT GATGTTTGAT
1151 TATGCTAAGA TTGGAACAAA TCTTCCTTTG TACTGTAATT TCTAGATGAT
1201 AATAAAGTTG TTTGTTTTCT AACT

```

图 8

```

1 MASLCFQSPS KPISYFQPKS NPSPLFAKV SVFRCRASVQ TLVAVEPEPV
51 FVSVKTFAPA TVANLGPFGD FLGCAVDGLG DHVTLRVDPS VRAGEVSISE
101 ITGTTTKLST NPLRNCAGIA AIATMKMLGI RSVGLSLDLH KGLPLGSGLG
151 SSAASAAAAA VAVNEIFGRK LGSDQLVLAG LESEAKVSGY HADNIAPAIM
201 GGFVLIRNYE PLDLKPLRFP SDKDLFFVLV SPDFEAPTKK MRAALPTEIP
251 MVHHVWNSSQ AAALVAAVLE GDAVMLGKAL SSDKIVEPTR APLIPGMEAV
301 KKAAL EAGAF GCTISGAGPT AVAVIDSEEK QQVIGK MVE AFWKVGHLKS
351 VASVKKLDNV GARLVNSVSR

```

图 9

>莴苣 (*Lactuca sativa*) HSK CDS  
 ATGGCAATTCGCCATTATCAACCTCCATTGCGCTCCACTTCTTCTCTATCTCTAGTACA  
 GATTTATTCAAACCCCTAAACTTTATCTTTCATCGTCTGTCCGGTGCAACATCTCCGTC  
 GCTTCAAACCTGGAACCCGAACCTCATCCAGTTTTTCACCTCCGTTAAGTCATTGCCCCC  
 GCCACCGTAGCCAACCTCGGGCCTGGTTTTCGACTTCTCGGCTGCGCAATCGACGGCATC  
 GGAGATTACGTTACCCTCACAGTCGACCCCCAAGTCCAACCCGGCAGATTATCAATTGCA  
 GAAATCAACGGCGTTGACAAGTCTTCCAAGAGGGCTCAGCAGAAACCCCTATGGAATTGC  
 GCCGGAATTGCTGCAATCTCCGTCATGAAGATGCTCAAGATCCGATCCGTTGGTCTCTCT  
 TTATCCATCAATACATGTCTCCCCCTTCGAGGCGGCTAGGCTCCAGCGCCGCTAGCGCT  
 GCCGCCGCCGCGTTGCGGTTAATGAGATTTTCGGAGGGAAGTTACATGATTCCGATTTG  
 ATACTCGCGGGGCTCGAAGCTGAAGCGAAGTTATCCGGTTATCACGCCGATAACATTGCT  
 CCGGCGATCATGGGCGGGTTTGTGTTGATCAGAAGCTACGATCCATTAGAGTTGATCTCC  
 TTGAAGTTCCACCGAAAAGAATCTGTTTTTCGTGTTGGTGAATCCTGAATCCAAGCA  
 CAAACGAAGAAGATGAGGGCGGTTCTACCGACGGAGATAACAATGTCGGATCATGTATGG  
 AATTGTAGTCAGGCGGCGGCTTGGTGGCAGGCGTATTGCAGGGGGATTGGTGGGGTTT  
 GGGAAGGCATTGTCATCGGATAGAATAGTGGAGCCACGGCGGGCGCCATTGCTTCCGGGA  
 ATGGAAGATGTGAAGAAGGCAGCAATGGAAGCAGGGGCATATGGGTGTACGATAAGTGGG  
 TCAGGGCCGACGGTGGTGGCGGTGACGGATGATGAAGATAGAGGGAGGGAGATCGGGGAG  
 AAGATGGTGAAGCTTTTGTAGAGAAGGAAAAGTTGAAAGCTTTGGCTATGGTGAAGAAA  
 CTGGACAGAGTTGGTGCTAGAGTTATCAGTCGTATCTCCAGCCAATGA

>莴苣 (*Lactuca sativa*) HSK蛋白质  
 MAIRHYQPPFASTSSSISSTDLFKPPKLYLSSSVRCNISVASKLEPEPHV  
 FTSVKSFPATVANLPGPFDFLGCAIDGIGDYVTLTVDPQVQPGRLSIAEINGVDKSKR  
 LSRNPLWNCAGIAAISVMKMLKIRSVGLSLSINTCLPLRGGLGSSAASAAAAAVAVNEIF  
 GGLHDSDLILAGLEAEAKLSGYHADNIAPAIMGGFVLI RSYDPLELISLKFPPEKNLFF  
 VLVNPEFQAQTKMRAVLPT EITMSDHVWNC SQAALVAGVLQGD LVGFGKALSSDRIVE  
 PRRAPLLPGMEDVKKAAMEAGAYGCTISGSGPTVVAVT DDEDRGREIGEKMVEAFVEK GK  
 LKALAMVKKLDRVGARVISRISSQ\*

图 10

>葡萄(*Vitis vinifera*) HSK CDS

ATGGCGATTTGCTTCCACTCCCCCTCAAACCCACTTGCATTTCTCCCTCATCAAACCATTACAGACCCAATCTT  
 CATGCTCGGTCCTTCAGATGCAACTTCTCTAAAACATTAAGTCTGATCCTCAACCAGTTTTACCTCTGTGAAG  
 TCCTTCGCACCCGCAACCGTTGCTAACCTCGGTCCCGGTTTCGATTTCTCGGTGCTGCTGTTGATGGTATAGGC  
 GATTTGCTCTCCCTTCGCGTGGATCCTGATGTTCCGCCCAGGAGATTTGATTGTCGATATCGATGGTGTGGG  
 AATAGCGCCAAGAAGCTCAGTAAAAATCCCCTCTGGAAGTGCAGCCGCGATTGCCGCTATCTCCGTCATGAAAATG  
 CTCGGAGTCCGATCGGTGGGGCTGTCCCTTTCCCTCGAGAAGGGGTTGCCATTGGGAAGTGGACTTGGGTCGAGC  
 GCTGCCAGTGCCGCGCGGCTGCTGTGGCGGTGAATGAGATTTTTGGGCGGAAATTGGGAGTTGATGACCTTGTC  
 CTTGCTGGGCTTGACTCGGAAGCTAAAAGTTTCGGGTATCACGCGAACAATGTGGCGCCGGCTCTTATGGGAGGA  
 TTCGTGTTGATTCGGAGTTATGATCCTTTGGAGTTGATTCTTTGACGTTTCCGAGCGACAAGGAGTTGTTTTT  
 GTGTTGGTGAATCCGGAATTTGAAGCTCCACCAAGAAAATGCGGGCGGCATTGCCGTCGGAGATCGGGATGTCT  
 GATCACGTGTGGAATTTAGCCAGGCGCTGCATTGGTAGCCTCGATTTTGCAAGGAGATTTGAGGGGGTTGGGC  
 AAGGCATTGTCTCCGACAGAATTGTGGAGCCAAGGAGGGCACCTTGATCCCTGGGATGGAAGGAGTGAAAAG  
 GCTGCTCTTGAGGCTGGTGCATTTGGCTGTACAATTAGTGGAGCAGGGCCGACTGCAGTTGCAATTACAGATGAC  
 GAAGAGAAGGGAAGGAGATTGGAGAACGGATGGTAGAAGCTTTCTTGGAGGAAGGGAAGTTGAAGGCTGTAGCA  
 ATGGTGAAGCAACTCGATAGGGTTGGTGTAGGCTTATGAGTAGCATCCTCAGATGA

>葡萄(*Vitis vinifera*) HSK蛋白质

MAICFHSPSKPTCISPSSNHYRPNLHARSFRCNFS  
 KTLTADPQPVFTSVKSFAPATVANLGPFGDFLGAAVDGIQDFVSLRVPDVRPGEISIVD  
 IDVGNSAKKLSKNPLWNCAGIAAISVMKMLGVRSVGLSLSLEKGLPLGSGLGSSAASAA  
 AAHAVNEIFGRKLVDDLVLAGLDSEAKVSGYHANNVAPALMGGFVLI RSYDPLELIP L  
 TFPDKELFFVLNPEFEAPT KKMRAALPSEIGMSDHVWNC SQAALVASI LQGDLRGLG  
 KALSSDRIVEPRRAPLIPMEGVKKAAL EAGAFGCTISGAGPTAVAITDDEEKGREIGER  
 MVEAFLEEGKLKAVAMVKQLDRVGARLMSSILR\*

图 11

>黄瓜 (*Cucumis sativus*) HSK CDS

```
ATGGCTATGCTCTCCTATCAACCGCCATTGAAGTCGTTGACCATTECTCCAGTTTCTTTATCTAACCCTAAACCT
GTTCTCTTCAGGTGCAGTTTGTCTCTTCCATCTAGAACCGCCGTCACCTCCGTCGAACCTCAACCCGTTTTCTCT
TCCGTCAAGGCGTTTGCTCCTGCAACCGTCGCTAATTTAGGTCCTGGGTTGATTCCTTGGCTGCGCTGTTGAT
GGCTTGGGAGATTATGTCTCTCTTAGTGTGATTCCAATGTTTCATCCAGGTGAAGTTGCGATTTCTGATATTACA
GGGAATAACACGAATAAACTTAGTAAAAATCCTCTCTATAATTGTGCTGGTATTGCTGCTATTGAAGTTATGAAA
ATGCTAGGGATCCGATCTGTTGGTCTTTCTCTTTTCGCTTGAGAAAGGTTTGCCGTTAGGGAGTGGATTGGGATCT
AGTGCTGCGAGTGCAGCTGCTGCGGCGATTGCTGTTAATGGATTGTTTCGGTGGGAAATTAGGAGTAGAGGAATTG
GTTCTCGCGGGGTTGAAATCGGAAGAGAAGGTTTCTGGGTACCATGCGGATAATGTCGCACCGGCTATCATGGGG
GGTTTCATTCTGATTGCAAATTACGAACCCTTGAATTGATTGTTTCAAATTCCTCCGTCGAGAAGGAGCTGTTT
TTCGTGTTGGTCAGCCCGGAATTCGAAGCACCACGAAAGAAAATGCGGGCTGCGTTACCTGCTGAAGTTGGGATG
CCACACCATGTGTGGAATTCAGCCAGCCGGGGCGTTGGTGGCTGCGGTGCTGCAGGGTGACACGATGGGATTG
GGGAAAGCATTGTCATCAGACAAAATTTGTGGAACCAAGGCGTTCCGCCGTTGATTCCAGGTATGGATGGTGTAAAG
AAGGCAGCCATTGCTGCTGGGGCATTGTTGGGTGCACGATAAGCGGAGCAGGGCCAACAGCGGTGGCGGTGATCGAT
AACGAAGAGAAGGGGAAGGAGATTGGTGAGAGGATGGTTATGGCATTCTGAAGGAAGGAAATTTGAAAGCTACG
GCATCTGTAAAGAGACTAGATCGAGTTGGTGCAAGGCTTATTGGATCAACTCCTTTAGATAGAGTTTTATGA
```

>黄瓜 (*Cucumis sativus*) HSK蛋白质

```
MAMLSYQPPLKSLTI PPVSLSNPKPVLFRCSLSLPSRTAVTSVEPQPVFSSVKAFAPA
TVANLPGPFDFLGCVDGLGDYVLSVDSNVHPGEVAISDITGNNTNKLSKNPLYNCAGI
AAIEVMKMLGIRSVGLSLSLEKGLPLGSLGSSAASAAAAIAVNGLFGGKLGVEELVLA
GLKSEEKVSGYHADNVAPAIMGGFILIRNYEPELIRLKFVPEKELFFVLVSPEFEAPTK
KMRAALPAEVGMPHHVWNSSQAGALVA AVLQGDTMGLGKALSSDKIVEPRRSPLIPGMDG
VKKAAIAAGAFGCTISGAGPTAVAVI DNEEKGKEIGERMVMAFLKEGNLKATASVKRLDR
VGARLIGSTPLDRVL*
```

图 12

>菠菜(*Spinacia oleracea*) HSK CDS

ATGGCAATCTGCGCACAATCTCCATTCAAACCCGTCAATCTATCACCTCACTCCCCTTCTCCCACCCACAAATCC  
 CCATTCATCTGTAAACTTTCTCTCTCCTCCCACTCAACCCACTCAGCTCTCACCCTGAACCAACACCCTCCTC  
 ACCTCCGTCACCACCTTCGCCCCCGCTACCGTCGCCAACCTCGGCCAGGGTTCGACTTCCTCGGTTGCGCTGTC  
 GATGGCCTCGGTGACTTCGTTTCTCTTCCGTTGACCCCTCGGTTTCATCCCGGTCAACTCTCCATCTCCTCCATT  
 TCCGGCGACGCTTCTTCCAAACTCTCCAAAGATCCCCTTCTTAACTGCGCCGGTATCTCTGCCCTAGCCGCCATG  
 AAGCTCCTTAACATTGCTCCGTCGGCCTTTCTCTATCTCTCAAAAAGGGCTCCCCTTGGCTCCGGTCTCGGA  
 TCTTACAGCAGCTTCCGCTGCTGCTGCCGCTGTTGCTGTGAACTCCCTATTTGGCTCCCCTCTCTCTCCACTCGAC  
 CTCGTACACGCTGGACTTGAGTCAGAATCTAAAGTTTCCGGTTACCACGCTGACAACATTGCACCGGCGATAATG  
 GGTGGTTTTATCTTAATCAGGAGTTATGAGCCATTGGATTTGATGAAATTGGAGTCCCTGAGACTAATGATTTG  
 TATTTCTGATTGGTTAGTCCGGAATTTGAAGCCCCAACGAAGAAGATGAGGGCGGCATTGCCGAAGGAGATCGGG  
 ATGCCGCACCACATATGGAATCTAGCCAAGCGGCAGCATTGGTGGCGGCAGTTTTGATGGGTGACGTAGAAGGG  
 ATAGGAAAAGGCAATGTCTTCCGATAAAGTGGTGGAGCCAAGGCGGGCACCATTGATTCCTGGGATGATGGCGGTG  
 AAGAAGGCGGCTATTGAAGGGGGAGCGTTCCGGTGTACAATTAGCGGGCAGGGCTACGGCTGTGGCAGTAAACG  
 GATAGGGAGGAGAAGGGAAGAGAGATCGGAGAGAGAATGGTGAAGCGTTTTGGAAGGAAGGAGGGTTAAAGGCT  
 GCCGCTGTGATTCAAAGCTAGATAGAGTTGGTGCTAGAGTTGTTAGCAGTGTCCAGATGA

>菠菜(*Spinacia oleracea*) HSK蛋白质

MAICAQSPFKPVNLSPHSPSPTHKSPFICKLSLSSHSTH  
 SPLTTEPTPLLTSTVTFAPATVANLPGFDLGCARDGLGDFVLSVDPVHVGQLSISS  
 ISGDASSKLSKDPLLNCAGISALAAAMKLLNIRSVGLSLSLQKGLPLGSGLGSSAASAAA  
 AVAVNSLFGSPLSPLDLVHAGLESESKVSGYHADNIAPAIMGFFILIRSYEPLDLMKLEF  
 PETNDLYFVLVSPFEFAPTCKMRAALPKEIGMPHHIWNSSQAAALVAAVLMGDVEGIGKA  
 MSSDKVVEPRRAPLIPGMMAVKKAIEGGAFGCTISGAGPTAVAVTDREKGREIGERMV  
 EAFWKEGGLKAAAVIQKLDVRGARVVSSVPR\*

图13

>番茄 (*Solanum lycopersicum*) HSK CDS

```

ATGGCTATAACCTTTCAATCTCCCATGAAACTCAGCTTCATCACTTCTAATGGCTTCTCAAATCCTCC
TTCTCTTTATCCCATCAATACCCATTTCTCATTGGATTCAATCTCTCATCTGTCTCCTCCAAAACCC
AAACCCATATCACCATAACCCGAACCCGAACCCGTATTCACCTCCGTCAAGTCGTTTGCTCCGGCCACT
GTTGCTAATCTAGGTCCGGGTTTTGATTTCCCTCGGATGCGCCGTTGATGGAGTCGGAGATTTGTCCAC
TCTTCGGGTTGACCCAAATGTTAAAGCTGGGGAGGTTTTCGATTTCTGATATCTCCGGTGTGGAAATA
GGCTTAGTAAAGACCCTTTATCGAACTGTGCTGGAATAGCTGCTATTTCTGTTATGAAGATGTTGAAT
ATACAGTCTGTTGGTTTATCGATTTTCGCTTGAAAAGGGTTGCCGTTGGGTAGTGGACTTGGGTCTAG
TGCTGCTAGTGCTGCGGCGGCGGGTGGCTGTGAATGAGATTTTTGGACGGAAGTTGAGTGTTGATG
ATCTTGCTGCTTGCTGGGTTGGAATCGGAAACGAAGGTTTCGGGTTATCATGCTGATAATATAGCACCT
TCGATTATGGGTGGTTTTGTGTTGATAAGAAGTTATGATCCGTTGGAATTGATCCCATTGAAGTTTCC
ATTTGAAAAGATTTGTTTTTTGTGCTTGTAATCCCGAATTCGAAGCTCCAACGAAGAAGATGAGGG
CGGTATTGCCATCGGAGGTGACAATGTGCGATCATATATGGAATTGTAGTCAGGCTGGGGCGTTGGTG
GCTGCGATATTGCAGGGGGATTGAGGGGTTAGGGAAGGCGTTGTCGTCTGATAAGATTGTGGAGCC
GAGGAGAGGGCCGTTGATTCCTGGGATGGAGGGAGTGAAGAAGGCGGCGTTGAAGGCTGGGGCATTG
GTTGCACGATAAGCGGAGCTGGACCTACTTTGGTTCGCGGTGACGGATGATGAAGAGAGAGGGGAGGGAG
ATTGGGGAGAGAATGGTGGAGGCGTTTATGAAGGAAGGGAACCTGAAGGCTTTGGCTATGGTGAAGAA
GCTTGATCGAGTTGGTGCCCGCCTTGTTAGTAGCAATTCATGA

```

>番茄 (*Solanum lycopersicum*) HSK蛋白质

```

MAITFQSPMKLSFITSNGFSNPPSLYPINTHFSFGFNLSSVSSKTQTHITIPPEPVFTS
VKSFAPATVANLGPFGDFLGCVDGVDGDFVTLRVDPNVKAGEVSI SDISGAGNRLSKDPL
SNCAGIAAISVMKMLNIQSVGLSISLEKGLPLGSLGSSAASAAAAAVAVNEIFGRKLSV
DDLVLAGLESETKVSGYHADNIAPSIMGGFVLI RSYDPLELI PLKFPFEKDLFFVLNPE
FEAPTKKMRAVLPSEVTMSHHIWNCSQAGALVAAILQGDSRGLGKALSSDKIVEPRRGL
IPMEGVKKAALKAGAFGCTISGAGPTLVAVTDDEERGREIGERMVEAFMKEGNLKALAM
VKKLD R V G A R L V S S N S *

```

图14