



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0038946

(51)^{2020.01} C12N 15/82; A01H 5/10; C12Q 1/6895; (13) B
C12Q 1/68; A01H 1/02; A01H 6/20

(21) 1-2020-02048 (22) 11/09/2018
(86) PCT/JP2018/033573 11/09/2018 (87) WO 2019/050042 14/03/2019
(30) 2017-173823 11/09/2017 JP
(45) 26/02/2024 431 (43) 25/09/2020 390
(73) SAKATA SEED CORPORATION (JP)
2-7-1 Nakamachidai, Tsuzuki-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 2240041 (JP)
(72) SUZUKI, Takao (JP); IZUMIDA, Atsushi (JP); HIRAMOTO, Tetsuya (JP);
TAKEBAYASHI, Kenji (JP).
(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) BẮP CẢI KHÁNG BỆNH MỐC SƯƠNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NHÂN GIỐNG
CHÚNG

(57) Sáng chế đề xuất bắp cải có tính kháng lại bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó và hạt tạo ra cây bắp cải này. Sáng chế còn đề xuất phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm bước lai cây bắp cải này hoặc thể hệ con của nó với cây bắp cải mong muốn mà dễ bị bệnh mốc sương và phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm đưa tính kháng bệnh mốc sương từ cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn. Phương án của sáng chế đề xuất dòng bắp cải mới thể hiện tính kháng lại bệnh mốc sương cao và có giá trị thương mại cao như là bắp cải, và cho phép nhân giống bắp cải này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến bắp cải có tính kháng bệnh mốc sương và phương pháp nhân giống bắp cải có tính kháng bệnh mốc sương này. Cụ thể hơn là, sáng chế đề cập đến bắp cải có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của các locut được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, và phương pháp nhân giống bắp cải này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh mốc sương ở cây thuộc họ Brassicaceae là bệnh gây ra bởi *Hyaloperonospora brassicae*, thuộc lớp nấm trứng, và gây hại cho nhiều loại cây trồng như là loài *Brassica oleracea* bao gồm bắp cải, cải Brussel, súp lơ, bông cải xanh, su hào, chi *Brassica rapa* bao gồm cải thảo, củ cải, và cải bó xôi Nhật, và chi *Brassica napus* bao gồm cải dầu.

Các triệu chứng của bệnh này chủ yếu được tìm thấy ở lá; các đốm màu vàng đến nâu nhạt với đường viền không rõ ràng được hình thành và dần dần mở rộng, và lá khô héo, theo đó sự tăng trưởng bị ảnh hưởng bất lợi (Fig. 1). Nếu phần bông của bông cải xanh và súp lơ, hoặc rễ củ cải hoặc củ cải cay Nhật Bản bị nhiễm bệnh, sự đổi màu nâu hoặc đen xảy ra bên trong và bên ngoài các mô, điều này làm giảm đáng kể giá trị thương mại của chúng. Đặc biệt trong môi trường ẩm ướt, bệnh nhanh chóng lây lan và gây ra thiệt hại nghiêm trọng, do đó việc kiểm soát hóa học bằng thuốc diệt nấm thường được thực hiện.

Bắp cải (*B. oleracea* var. *capitata*), là một trong những cây trồng quan trọng nhất trong loài *Brassica oleracea*, gồm nhiều giống phong phú, và giống phù hợp với đất và khí hậu trong nước được trồng ở nhiều quốc gia trên thế giới.

Tuy nhiên, mặc dù bắp cải gồm một số dòng biểu hiện tính kháng lại bệnh mốc sương theo kiểu gen chưa được biết đến và có thể là do các yếu tố định lượng, nhưng sự có mặt của các giống kháng bệnh mốc sương có yếu tố kháng bệnh đơn trội chưa được biết đến.

Do đó, tại các khu vực bệnh mốc sương thường xảy ra, kiểm soát bệnh bằng thuốc diệt nấm phải được tiến hành để giảm bệnh, và điều này đòi hỏi nhiều công sức và tiền bạc. Do đó, mong muốn phát triển nguyên liệu nhân giống và giống kháng bệnh.

Tuy nhiên, dù nhu cầu lớn, giống bắp cải kháng bệnh mốc sương chưa được tạo ra như các tác giả sáng chế được biết. Lý do cho điều này có thể là nguồn gen bắp cải không bao gồm yếu tố kháng bệnh mốc sương hữu ích.

Trong khi đó, đối với bông cải xanh (*B. oleracea* var. *italica*) là loài có liên quan đến bắp cải, có một số báo cáo về phân tích di truyền về yếu tố kháng bệnh mốc sương (Ví dụ, J. Amer Soc Hort Sci (2001), vol. 126, p. 727 (Tài liệu non-Patent 1), Euphytica (2002), vol. 128, p. 405 (Tài liệu non-Patent 2), và Euphytica (2003), vol. 131, p. 65 (Tài liệu non-Patent 3)).

Tuy nhiên, yếu tố kháng bệnh ở bông cải xanh chưa được dùng trong nhân giống bắp cải. Lý do cho điều này có thể là đặc điểm hình thái của bắp cải và bông cải xanh là hoàn toàn khác biệt. Bông cải xanh có thể được lai với bắp cải vì cả hai đều thuộc loài *Brassica oleracea*, nhưng bông cải xanh có nhiều đặc điểm không cần thiết cho bắp cải, cho nên bông cải xanh rất khó thao tác như vật liệu nhân giống.

Danh sách tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tài liệu non-Patent

Tài liệu non-Patent 1: M. Wang et al., J. Amer Soc Hort Sci (2001), vol. 126, pp. 727-, "*Inheritance of True Leaf Stage Downy Mildew Resistance in Broccoli*"

Tài liệu non-Patent 2: M. W. Farnham et al., *Euphytica* (2002) vol. 128, pp. 405-, "*A single dominant gene for downy mildew resistance in broccoli*".

Tài liệu non-Patent 3: P. S. Coelho et al., *Euphytica* (2003) vol. 131, pp. 65-, "*Inheritance of downy mildew resistance in mature broccoli plants*"

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề cần giải quyết của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất bắp cải mới có tính kháng đáng kể lại bệnh mốc sương, và phương pháp nhân giống bắp cải này.

Phương pháp giải quyết vấn đề

Các tác giả đã phát triển các dấu chuẩn (marker) liên quan đến yếu tố kháng bệnh mốc sương, và sử dụng chúng trong sự kết hợp của bông cải xanh và bắp cải, và thành công trong việc nhân giống dòng bắp cải có yếu tố kháng bệnh mốc sương và cũng có giá trị thương mại cao.

Cây thuộc loài *Brassica oleracea* thu được bằng cách lai giữa bông cải xanh và bắp cải của các tác giả có hình dáng giống loài hoang dại trong thế hệ lai ban đầu và thế hệ lai ngược đầu tiên. Sau đó, các tác giả đã lặp lại việc lai ngược nhằm thay thế vùng gen không liên quan đến bệnh mốc sương bằng kiểu gen của bắp cải thông qua việc lựa chọn các dấu chuẩn liên quan đến tính kháng bệnh mốc sương và việc sử dụng các dấu chuẩn trên toàn bộ gen, do đó nhân giống thành công bắp cải thể hiện tính kháng lại bệnh mốc sương cao.

Cụ thể hơn, các tác giả đã tìm ra dòng bông cải xanh có khả năng kháng bệnh mốc sương có khả năng áp dụng cho nhiều giống và phát triển các dấu chuẩn liên quan đến các yếu tố kháng nấm mốc do dòng này giữ và chứng minh rằng việc sử dụng chúng cho phép nhân giống một dòng bắp cải có giá trị công nghiệp cao. Việc sử dụng

bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương được đề xuất theo sáng chế cho phép truyền tính kháng bệnh mốc sương cho bắp cải dễ bị bệnh mốc sương.

Sáng chế dựa trên các phát hiện này.

Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất các phát minh sau đây.

<1> Bắp cải hoặc thể hệ con của nó có tính kháng lại bệnh mốc sương.

<2> Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo <1>, có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

<3> Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo <1> hoặc <2>, có gen kháng bệnh mốc sương mà có thể phát hiện bởi một hoặc nhiều môi có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

<4> Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo bất kỳ trong số từ <1> đến <3>, trong đó bệnh mốc sương là bệnh gây ra bởi *Hyaloperonospora brassicae*.

<5> Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo bất kỳ trong số từ <1> đến <4>, trong đó gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy ở giống bông cải xanh đặc trưng bởi số truy cập (Accession Number) FERM BP-22343.

<6> Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo bất kỳ trong số từ <1> đến <4>, trong đó gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy ở giống bắp cải đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344.

<7> Phần thân bắp cải hoặc thể hệ con của nó theo bất kỳ trong số từ <1> đến <6>.

<8> Hạt của bắp cải hoặc thể hệ con của nó theo bất kỳ trong số từ <1> đến <6>.

<9> Bắp cải đời con đầu tiên hoặc phần của nó có tính kháng lại bệnh mốc sương đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344, hoặc hạt của bắp cải này.

<10> Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm đưa tính kháng bệnh mốc sương từ cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn.

<11> Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm đưa tính kháng bệnh mốc sương từ cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn, tính kháng bệnh mốc sương được xác nhận bởi gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

<12> Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương theo <10> hoặc <11>, trong đó cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương là cây thuộc loài *Brassica oleracea* khác mà không là bắp cải.

<13> Phương pháp nhân giống theo bất kỳ trong số từ <10> đến <12>, trong đó cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương là giống số truy cập FERM BP-22343.

<14> Phương pháp nhân giống theo <10> hoặc <11>, trong đó cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương là giống bắp cải đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344.

<15> Phương pháp nhân giống theo bất kỳ trong số từ <10> đến <14>, trong đó việc đưa tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn đạt được bằng lai ngược bắp cải liên tục.

<16> Phương pháp nhân giống theo bất kỳ trong số từ <10> đến <15>, bao gồm phân tích sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương sử dụng một hoặc nhiều trình tự ADN được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, hoặc một hoặc nhiều môi

hoặc cặp môi mà có thể khuếch đại trình tự ADN.

<17> Phương pháp nhân giống theo <16>, trong đó môi được thể hiện bằng một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

<18> Phương pháp nhân giống theo bất kỳ trong số <10> đến <15>, bao gồm phân tích sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương sử dụng một hoặc nhiều môi bất kỳ mang trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO.21.

<19> Dấu chuẩn có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, dấu chuẩn có khả năng phát hiện locut kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*.

<20> Bộ môi bao gồm một hoặc nhiều môi có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21, bộ môi có thể phát hiện locut kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*.

<21> Phương pháp phát hiện tính kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*, bao gồm sử dụng một hoặc nhiều dấu chuẩn có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, hoặc một hoặc nhiều môi có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

Hiệu quả có lợi theo sáng chế

Bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế có tính kháng lại bệnh mốc sương đáng chú ý gây ra bởi *Hyaloperonospora brassicae*. Thêm vào đó, sử dụng bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế như là vật liệu cho phép nhân giống hơn nữa dòng bắp cải kháng bệnh mốc sương. Hơn nữa là, sử dụng dấu chuẩn liên quan đến tính kháng bệnh mốc sương theo sáng chế cho phép phát hiện hoặc lựa chọn tính kháng bệnh mốc sương ngay cả khi không tiến hành thí nghiệm nhiễm chủng nào. Việc

trồng dòng bắp cải đã được nhân giống theo sáng chế cho phép trồng bắp cải ngay cả tại các khu vực trồng khó khăn vì sự xuất hiện của bệnh mốc sương, và giảm công sức và tiền bạc của thuốc phun diệt nấm vốn cần thiết trong việc trồng. Thêm vào đó, bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế cho phép vận chuyển rau tươi được trồng với lượng giảm thuốc phun hóa học, và hơn nữa ngăn chặn sự xuất hiện của bệnh, điều này cho phép thu hoạch rau tươi với năng suất sản phẩm cao.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 minh họa triệu chứng bởi thí nghiệm nhiễm chủng bệnh mốc sương (bên trái minh họa dòng dễ bị bệnh, và bên phải minh họa dòng kháng bệnh). Trong hình, đối với dòng dễ bị bệnh bên trái, sự hình thành thương tổn từ vàng đến nâu đã được quan sát trên bề mặt lá.

Fig. 2 minh họa hình ảnh điện di của ADN dấu chuẩn liên quan đến vùng phụ cận của yếu tố kháng bệnh mốc sương (Ví dụ 2).

Fig. 3 minh họa bản đồ liên kết trong vùng phụ cận của yếu tố kháng bệnh mốc sương (Ví dụ 3).

Fig. 4 minh họa chỉ số về mức độ nghiêm trọng của bệnh trong sản xuất thử nghiệm thực địa của ví dụ 5

Fig. 5 minh họa kết quả sản xuất thử nghiệm thực địa của dòng bắp cải đã được nhân giống theo sáng chế (Ví dụ 5), bao gồm tình trạng của "CB-20" (dòng bố mẹ ban đầu) và dòng cùng nguồn gốc được chuyển vào yếu tố kháng bệnh mốc sương.

Fig. 6 minh họa kết quả sản xuất thử nghiệm thực địa của ba dòng bắp cải đã được nhân giống theo sáng chế (Ví dụ 5).

Fig. 7 minh họa kết quả sản xuất thử nghiệm của giống bắp cải đời con đầu tiên (F1) sử dụng dòng bắp cải bố mẹ "DMR-CB-20" đã được nhân giống theo sáng chế (Ví dụ

6).

Fig. 8-1 minh họa trình tự nucleotit của dấu chuẩn (DMTLR-1 đến DMTLR-7).

Fig. 8-2 minh họa trình tự nucleotit của dấu chuẩn (DMTLR-1 đến DMTLR-7).

Fig. 8-3 minh họa trình tự nucleotit của dấu chuẩn (DMTLR-1 đến DMTLR-7).

Fig. 8-4 minh họa trình tự nucleotit của dấu chuẩn (DMTLR-1 đến DMTLR-7).

Fig. 8-5 minh họa trình tự nucleotit của dấu chuẩn (DMTLR-1 đến DMTLR-7).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế được mô tả chi tiết sau đây.

Bắp cải kháng bệnh mốc sương

Như được mô tả ở trên, sáng chế đề cập đến bắp cải có tính kháng lại bệnh mốc sương (bắp cải kháng bệnh mốc sương), hoặc thế hệ con của nó.

Trong bản mô tả này, “thế hệ con” bao gồm cây lai thu được từ phép lai bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế và cây thuộc loài *Brassica oleracea* mà có thể lai với cây này. Theo đó, “thế hệ con” cũng bao gồm, ví dụ, cây thu được bằng lai bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế như là cây cho phấn (cây bố) và cây thuộc loài *Brassica oleracea* như là cây cho hạt (cây mẹ) mà có thể lai với cây này. Thêm vào đó, "thế hệ con" cũng bao gồm, ví dụ, cây thu được bằng dung hợp tế bào của bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế và cây có thể dung hợp với bắp cải, và cây lai khác loài.

Thuật ngữ "cây thuộc loài *Brassica oleracea*" có nghĩa là cây họ cải, là cây thuộc loài *Brassica oleracea* thuộc chi *Brassica*, và bao gồm, ví dụ, *B. oleracea* var. *capitata* (bắp cải), *B. oleracea* var. *italica* (bông cải xanh), *B. oleracea* var. *botrytis* (súp lơ), *B. oleracea* var. *gemmifera* (cải brussel), *B. oleracea* var. *gongyloides* (su hào), *B. oleracea* var. *acephara* (bắp cải hoa, cải xoăn), và *B. oleracea* var. *albograbra*

(cải xoăn Trung Quốc).

"Bắp cải" ở đây nghĩa là loài cây thuộc về loài *Brassica oleracea*, và là cây được phân loại là *B. oleracea* var. *capitata*.

Trong bản mô tả này, "bệnh mốc sương" có nghĩa là bệnh gây ra bởi nấm trũng thuộc họ *Peronosporaceae*, tốt hơn là bệnh gây ra bởi *Hyaloperonospora brassicae*. Theo đó, tính kháng lại bệnh mốc sương ở đây có nghĩa là kháng lại bệnh gây ra bởi loài gây bệnh này.

Theo đó, bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế thể hiện tính kháng lại nấm mốc sương (tốt hơn là *Hyaloperonospora brassicae*), và cho biểu hiện đơn vượt trội. Việc sử dụng cây này như là vật liệu cho phép nhân giống dòng bố mẹ bắp cải mới có tính kháng bệnh mốc sương.

"Dòng bố mẹ" ở đây có nghĩa là dòng đã được nhân giống để tạo ra giống lai và thường giống lai được tạo ra bằng lai hai hoặc nhiều dòng bố mẹ có kiểu hình khác nhau.

Theo đó, "tính kháng bệnh mốc sương" theo sáng chế có nghĩa là tính kháng lại loài gây bệnh mốc sương *Hyaloperonospora brassicae*, và cụ thể hơn dựa vào yếu tố nằm trong vùng lân cận của SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Nghĩa là, theo phương án được ưu tiên theo sáng chế, bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo sáng chế có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Ở đây, định nghĩa "nêu trong một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7" bao gồm trường hợp mà trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 nằm trong phạm vi trình tự định danh nhất định, hoặc nằm trong phạm vi có đột biến từng phần. Trình tự nằm trong phạm vi có thể

thao tác giống như SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 có thể hiểu dễ dàng bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Theo đó, ví dụ, định nghĩa "theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7" được sử dụng theo cách bao gồm theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự nucleotit từ (a) đến (c):

(a) một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

(b) một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ có độ tương đồng trình tự là 95% hoặc cao hơn so với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, và

(c) một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ được tạo bằng cách xóa, thế, chèn, và/hoặc thêm một hoặc nhiều trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Do đó, theo phương án được ưu tiên của sáng chế, bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo sáng chế được coi như là có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ theo các phần từ (a) đến (c) đã được mô tả ở trên.

Trong phần (b), "có độ tương đồng trình tự là 95% hoặc cao hơn so với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7" bao gồm số SEQ ID có độ tương đồng trình tự ít nhất 95%, tốt hơn là ít nhất 96%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 97%, thậm chí tốt hơn nữa là 98%, and đặc biệt tốt hơn là ít nhất 99% so với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 được tính toán bằng cách sử dụng thuật toán để tìm tương đồng như BLAST và FASTA (ví dụ, sử dụng tham số mặc định hoặc cài đặt ban đầu).

Thuật ngữ "trình tự tương đồng" ở đây có nghĩa là, ví dụ, phần trăm (%) của

số nucleotit tương đồng so với tổng số nucleotit bao gồm khoảng cách, khi hai trình tự bazơ (nucleotit) được sắp xếp thẳng hàng (khoảng cách có thể được chuyển vào hoặc không được chuyển vào).

Trong phần (c), "nhiều" trong "xóa, thế, chèn, và/hoặc thêm một hoặc nhiều trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7" là, ví dụ, khoảng 10, tốt hơn là tám, tốt hơn nữa là sáu, thậm chí tốt hơn nữa là năm, thậm chí tốt hơn nữa là bốn, thậm chí còn tốt hơn nữa là ba, và thậm chí còn tốt hơn nữa là hai, và đặc biệt tốt hơn là một.

Theo phương án được ưu tiên của sáng chế, SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 có thể tương ứng là SEQ ID NO. 22 đến 28. SEQ ID NO. 22 đến 28 bao gồm trình tự bên ngoài trình tự của SEQ ID NO. 1 đến 7 nằm giữa các môi (bao gồm trình tự môi), và được tìm ra bởi các tác giả trong ví dụ 2 được mô tả dưới đây.

Theo đó, cụm từ "theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 22 đến 28" có nghĩa là chỉ phần của SEQ ID NO. 1 đến 7 được bao gồm trong các trình tự này bao gồm theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự nucleotit (a) đến (c) được mô tả ở trên, và trường hợp mà SEQ ID NO. 22 đến 28 theo một hoặc nhiều trình tự nucleotit (a') đến (c') bất kỳ.

(a') một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28,

(b') một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ có độ tương đồng trình tự là 95% hoặc nhiều hơn so với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28, và

(c') một hoặc nhiều trình tự nucleotit bất kỳ được tạo bằng xóa, thế, chèn và/hoặc thêm một hoặc nhiều trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28.

Trong phần (b'), "có độ tương đồng trình tự là 95% hoặc nhiều hơn so với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28" bao gồm số SEQ ID có trình tự tương đồng ít nhất 95%, tốt hơn là ít nhất 96%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 97%, thậm chí tốt hơn nữa là 98%, và đặc biệt tốt hơn là ít nhất 99% với trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28 được tính toán bằng cách sử dụng thuật toán để tìm tương đồng như BLAST và FASTA (ví dụ, sử dụng tham số mặc định hoặc cài đặt ban đầu).

Trong phần (c'), "nhiều" trong "xóa, thế, chèn, và/hoặc thêm một hoặc nhiều trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 22 đến SEQ ID NO. 28" là, ví dụ, khoảng 10, tốt hơn là tám, tốt hơn nữa là sáu, thậm chí tốt hơn nữa là năm, thậm chí tốt hơn nữa là bốn, thậm chí còn tốt hơn nữa là ba, và thậm chí còn tốt hơn nữa là hai, và đặc biệt tốt hơn là một.

Đối với "vùng lân cận" được đề cập theo sáng chế, mức độ của khoảng cách có thể dễ dàng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật từ mối liên hệ giữa vị trí của dấu chuẩn và gen kháng bệnh mốc sương, và thông thường quen thuộc với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, phụ thuộc vào điều kiện phân tích, khoảng cách có thể khoảng 10cM hoặc ít hơn (ví dụ 7cM).

Thêm vào đó, bằng cách sử dụng trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 như là dấu chuẩn, sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của chúng có thể tính toán và xác nhận từ các locut theo trình tự này.

Theo đó, phương án khác theo sáng chế đề xuất dấu chuẩn mà có thể phát hiện locut kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*, dấu chuẩn có trình tự nucleotit bất kỳ được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp phát hiện tính kháng bệnh mốc sương

trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*, bao gồm phát hiện sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương bằng cách sử dụng dấu chuẩn theo một hoặc nhiều trình tự ADN bất kỳ được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

"Trình tự nucleotit bất kỳ được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7" có thể bao gồm trình tự nucleotit bất kỳ theo mục (a) đến (c) được mô tả ở trên, cũng như gen kháng bệnh mốc sương có thể được dự kiến.

Sự phát hiện của dấu chuẩn này có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, như là phương pháp PCR, phương pháp real time PCR, phương pháp RFLP, phương pháp LAMP, hoặc phương pháp định typ SNPs sử dụng chip.

Như được mô tả ở trên, sử dụng dấu chuẩn này và phương pháp phát hiện cho phép xác nhận đối tượng có phải là "bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7".

Phương án được ưu tiên theo sáng chế bao gồm gen kháng bệnh mốc sương mà có thể được phát hiện bởi một hoặc nhiều môi hoặc cặp môi có thể khuếch đại trình tự ADN được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Theo phương án được ưu tiên hơn nữa theo sáng chế, bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thể hệ con của nó theo sáng chế có gen kháng bệnh mốc sương mà có thể được phát hiện bởi một hoặc nhiều môi bất kỳ có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21. Môi sau đây có thể được gọi là "dấu chuẩn DMTLR".

Ở đây, khi ADN dấu chuẩn "có" trình tự nucleotit, có nghĩa là dấu chuẩn có trình tự nucleotit. Đối với ADN dấu chuẩn theo sáng chế, một hoặc nhiều (ví dụ là, một, hai hoặc ba, tốt hơn là một hoặc hai, tốt hơn nữa là một) nucleotit bất kỳ nằm

trong trình tự nucleotit tương ứng có thể được thế, xóa, thêm, hoặc xóa, hoặc, trình tự có thể bao gồm phần trình tự nucleotit tương ứng và có đặc điểm nhất định. Trong các trường hợp này, từ “có” có thể được thay thế bằng “bao gồm”. Thêm vào đó, khi việc thế, xóa, thêm, hoặc xóa một nucleotit được chấp nhận, “có” có thể được thay thế bằng “thực chất bao gồm”.

Tính kháng bệnh mốc sương ở đây có thể phát hiện và xác nhận bằng cách tiến hành PCR sử dụng môi theo trình tự nucleotit 8 đến 21.

Phương án khác theo sáng chế đề xuất bộ môi mà có thể phát hiện locut kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*, bộ môi bao gồm một hoặc nhiều môi bất kỳ có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

Phương án khác theo sáng chế đề xuất phương pháp phát hiện tính kháng bệnh mốc sương trong cây thuộc loài *Brassica oleracea*, bao gồm sử dụng một hoặc nhiều dấu chuẩn bất kỳ có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, hoặc một hoặc nhiều môi bất kỳ có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

Việc sử dụng ADN dấu chuẩn này cho pháp nhân giống hiệu quả dòng bắp cải mới có tính kháng bệnh mốc sương, mà không cần lựa chọn bởi thí nghiệm nhiễm chủng nào.

Bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế có các đặc điểm sau đây.

(1) Cụ thể là, bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế là cây trồng có trình tự ADN bất kỳ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 trong vùng lân cận của locut kháng bệnh mốc sương, và thể hiện tính kháng bệnh mốc sương do sự bao gồm các alen.

(2) Việc sử dụng dòng có trình tự được mô tả ở trên như là vật liệu lai cho

phép nhân giống dòng bắp cải bố mẹ có tính kháng bệnh mốc sương. Việc chuyển vào tính kháng bệnh mốc sương có thể được xác nhận bằng thí nghiệm nhiễm chủng. Thay vào đó, dấu chuẩn có thể được thiết kế từ ADN dấu chuẩn đã tạo ra dựa vào SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, và trình tự ADN nằm trong vùng lân cận của SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 dựa vào thông tin được công bố và được dùng để chọn các cây kháng. Hơn nữa, việc dùng dấu chuẩn trong vùng lân cận của locut kháng bệnh mốc sương cũng cho phép chọn các đặc điểm độc lập từ các đặc điểm không đích có liên quan đến locut kháng bệnh mốc sương đã được tách riêng.

(3) Do đó, bắp cải theo sáng chế được tạo ra có tính kháng lại tác nhân gây bệnh mốc sương, *Hyaloperonospora brassicae*, và do đó cho phép giảm công sức và tiền bạc cho thuốc phun diệt nấm để kiểm soát bệnh trong thời kỳ trồng

Theo phương án được ưu tiên theo sáng chế, bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo sáng chế có thể là bất kỳ dưới đây:

1) bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó, mà gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy ở giống bông cải xanh đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22343;

2) bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó, mà gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy ở giống bắp cải đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344; và

3) bắp cải thế hệ con đầu tiên có tính kháng lại bệnh mốc sương, mà đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344.

Ở đây, gen kháng bệnh mốc sương được "tìm thấy" có nghĩa là gen tồn tại trong giống cụ thể mà được bao gồm trong bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó. Cụ thể hơn là, bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó có gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy trong giống bông cải xanh đặc

trung bởi số truy cập FERM BP-22343 bao gồm giống bông cải xanh đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22343 hoặc giống bất kỳ nếu chúng có gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy trong giống bông cải xanh đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22343.

Theo phương án khác, sáng chế cũng đề cập đến một phần của cơ thể thực vật của bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo sáng chế, hoặc hạt của chúng.

"Một phần của cơ thể thực vật" bao gồm các cơ quan như hoa, lá, thân, và rễ, hoặc một phần hoặc mô của chúng, hoặc tế bào hoặc tập hợp tế bào từ những cơ quan hoặc mô này.

Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương

Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương theo sáng chế bao gồm, như được mô tả ở trên, đưa tính kháng bệnh mốc sương từ cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn.

Cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" có nghĩa là cây thuộc loài *Brassica oleracea* mà có khả năng hạn chế sự sinh trưởng và phát triển của bệnh mốc sương (tốt hơn là *Hyaloperonospora brassicae*) hoặc tổn thương do chúng gây ra, và có thể thu được bằng cách, ví dụ là, tiến hành thí nghiệm nhiễm chủng sử dụng tác nhân bệnh mốc sương đã đề xuất (tốt hơn là *Hyaloperonospora brassicae*), và đánh giá liệu cây có tính kháng lại chúng hay không. Tốt hơn nữa là, trong thí nghiệm nhiễm chủng này, yếu tố kháng được mang bởi cây là cây thuộc loài *Brassica oleracea* thể hiện biểu hiện trội đơn. Cụ thể hơn, ví dụ là, thí nghiệm nhiễm chủng được tiến hành theo ví dụ 1 được mô tả dưới đây, và thí nghiệm cho phép xác nhận liệu đối tượng có phải là "cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" mà có thể được dùng trong phương pháp nhân giống theo sáng chế.

Tốt hơn là, cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" là cây thuộc loài *Brassica oleracea* mà không phải là bắp cải.

Tốt hơn nữa là, cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" là giống bông cải xanh đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22343, hoặc giống bắp cải đặc trưng bởi số truy cập FERM BP-22344.

Trong phương pháp nhân giống theo sáng chế, "đưa tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn" có nghĩa là chuyển yếu tố kháng bệnh mốc sương" của cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" vào bắp cải mong muốn sao cho truyền tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải.

"Bắp cải mong muốn" có nghĩa là bắp cải mà không có tính kháng bệnh mốc sương, và bắp cải có thể lai với "cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" và mong muốn có tính kháng bệnh mốc sương. Bắp cải này có đặc điểm hữu dụng như là bắp cải.

"Tính kháng bệnh mốc sương" được đề cập ở đây có thể được xác nhận bởi các phương pháp đã được biết đến như là thí nghiệm nhiễm chủng của bệnh mốc sương, cụ thể hơn, gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7.

Việc đưa tính kháng bệnh mốc sương có nghĩa là chuyển gen mà có thể biểu hiện tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn. Theo sáng chế, điển hình là, việc chuyển này có thể thu được cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương" và bắp cải mong muốn, chọn thể hệ có tính kháng bệnh mốc sương mong muốn từ các thể hệ lai theo đó thu được, và tiến hành lai ngược dùng bắp cải như là bố mẹ lai ngược.

Phương pháp xác nhận tính kháng bệnh mốc sương trong thể hệ lai sau khi lai có thể là thí nghiệm nhiễm chủng của bệnh mốc sương (ví dụ có thể đề cập đến ví dụ

1), hoặc việc chọn cây kháng có thể dùng ADN dấu chuẩn được tạo ra dựa vào SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, và dấu chuẩn được thiết kế mới từ trình tự ADN nằm trong vùng lân cận của SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, mà được chọn dựa vào thông tin đã được công bố. Dấu chuẩn này bao gồm dấu chuẩn có trình tự bất kỳ trong các trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7 và mỗi có trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21. Phương pháp xác nhận này có thể dùng trong quá trình lai ngược theo cách tương tự, theo đó chọn ra thể hệ con có tính kháng bệnh mốc sương.

Theo phương án được ưu tiên theo sáng chế, phương pháp nhân giống theo sáng chế bao gồm phân tích sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương dùng một hoặc nhiều dấu chuẩn bất kỳ theo trình tự ADN được nêu trong SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7, hoặc một hoặc nhiều mỗi hoặc cặp mỗi mà có thể khuếch đại trình tự ADN. Tốt hơn nữa là, mỗi theo một hoặc nhiều trình tự bất kỳ trong các trình tự từ SEQ ID NO. 8 đến SEQ ID NO. 21.

Theo phương án được ưu tiên theo sáng chế, phương pháp nhân giống theo sáng chế được tiến hành bằng đưa tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn bằng lai ngược liên tục bắp cải. Cụ thể hơn, phương pháp nhân giống theo sáng chế bao gồm lai cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương bắp cải mong muốn, lựa chọn thể hệ lai có tính kháng bệnh mốc sương, và lai ngược chúng liên tục bằng cách dùng bắp cải mong muốn như là bố mẹ lai ngược.

Thông thường, khi tiến hành lai ngược, số lượng của lai ngược tốt hơn là khoảng từ năm đến bảy.

Khi tiến hành lai ngược hiệu quả, ADN dấu chuẩn trên toàn hệ gen có thể được dùng để mang đối tượng đến gần bố mẹ lai ngược trong giai đoạn đầu.

Ví dụ là, thể hệ lai ngược đầu tiên (BC1F1) là thể hệ được tách ra, tỷ lệ thay

thể hệ gen của mỗi cá thể là khác nhau và sự mở rộng quy mô quần thể cho phép đạt được các cá thể mà 90% phần hệ gen hoặc hơn thể hiện kiểu hình tương tự như bố mẹ lai ngược. Việc chọn các cá thể này cho phép sự tương thích của các phần khác ngoài locut kháng bệnh mốc sương đối với kiểu hình tương tự như bố mẹ lai ngược với số lượng ít thể hệ.

Với công cụ đặc biệt hữu dụng như là ADN dấu chuẩn trên toàn hệ gen, khi có sẵn thông tin trình tự hệ gen của bố mẹ lai ngược, ADN dấu chuẩn dựa vào thông tin có thể được tạo ra để xác định kiểu gen của locut.

Ngay cả khi không có thông tin trình tự hệ gen của bố mẹ lai ngược, cá thể độc lập có kiểu gen gần với bố mẹ lai ngược có thể được chọn từ các thể hệ đã được tách ra sử dụng phương pháp PCR ngẫu nhiên như là RAPD (ADN đa hình ngẫu nhiên khuếch đại), SRAP (đa hình liên quan đến trình tự khuếch đại), hoặc AFLP (đa hình chiều dài đoạn cắt khuếch đại). Thay vào đó, nếu có sẵn chip xác định kiểu gen SNP (ví dụ là, sản phẩm của Affymetrix hoặc Illumina), đã được thiết kế phân tích toàn bộ phân tán SNP trong hệ gen, công cụ này có thể dùng cho phân tích.

Dòng kháng bệnh mốc sương được nhân giống theo đó có thể dùng không chỉ như là giống trực tiếp, mà còn như là bố mẹ hoặc bố hoặc mẹ trong hệ thống sản xuất hạt F1.

Theo đó, phương án khác theo sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất dòng F1 sử dụng dòng kháng bệnh mốc sương, mà thu được từ phương pháp nhân giống theo sáng chế, như là bố mẹ hoặc bố hoặc mẹ, và phương pháp sản xuất hạt của dòng F1.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả cụ thể dưới đây với sự tham khảo đến các ví dụ sau đây,

nhưng sáng chế không bị giới hạn tới các ví dụ này.

Ví dụ 1:

Bằng cách sử dụng tài nguyên di truyền của bông cải xanh của Sakata Seed Corporation như là vật liệu, hai dòng bông cải xanh ("BR-23" và "BR-35") mà thể hiện tính kháng lại chủng mốc sương phân lập (chủng phân lập Dm-A và Dm-B (chủng phân lập Dm-B có phổ gây độc rộng hơn đến nhiều giống hơn Dm-A) đã được phát hiện.

Đầu tiên, để nhận biết locut kháng bệnh mốc sương mang bởi các dòng kháng bệnh này, bằng cách dùng dòng "BR-23" như là vật liệu, hai dòng ("BR-4" và "BR-24") thể hiện tính dễ bị bệnh đối với hai chủng phân lập mô tả ở trên được lai, theo đó tạo ra quần thể F2 và quần thể BC1F1 được thể hiện trong bảng 1.

Như là chỉ dẫn thế hệ, F1 có nghĩa là thế hệ con đầu tiên, và BC1 có nghĩa là thế hệ tham gia lai ngược một lần. Cụ thể hơn, "BC1F1" có nghĩa là thế hệ tham gia lai ngược một lần sau khi vượt qua giai đoạn thế hệ con đầu tiên.

Do đó, các quần thể thu được được tham gia vào thí nghiệm nhiễm chủng dùng chủng phân lập với phổ gây độc rộng hơn là Dm-B.

Trong thí nghiệm nhiễm chủng, mức độ nhiễm bệnh (mức độ nghiêm trọng của bệnh) được đánh giá đối với lá thật thứ nhất đến thứ ba của mỗi cá thể theo thang điểm mức độ nghiêm trọng bệnh sau đây:

- 0: không có triệu chứng,
- 1: đốm nâu được hình thành, không hình thành bào tử,
- 2: hình thành bào tử sáng màu trên đốm nâu,
- 3: hình thành bào tử vừa, và
- 4: số lượng lớn bào tử hình thành.

Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Như kết quả đã chỉ ra, trong quần thể F2, tỷ lệ kháng bệnh: dễ bị bệnh là 3:1, trong khi ở quần thể lai BC1F1 với dòng dễ bị bệnh, tỷ lệ là 1 : 1. Các phát hiện này bộc lộ yếu tố kháng bệnh theo sáng chế hoạt động theo kiểu trội đơn.

Bảng 1

Phân tích di truyền dùng bông cải xanh "BR-23" (quần thể nhỏ)

Dòng	Thế hệ	Giá trị mong muốn	Số cá thể	Mức độ nghiêm trọng bệnh					Quần thể lập bản đồ
				0	1	2	3	4	
BR-23	Bố mẹ kháng bệnh	R:S = 1:0	39		29	10			
BR-4	Bố mẹ dễ bị bệnh	R:S = 0:1	20					20	
BR-24	Bố mẹ dễ bị bệnh	R:S = 0:1	20					20	
(BR-23 X BR-4)	F2	R:S = 3:1	60		3	35	1	21	quần thể lập bản đồ-1
(BR-23 X BR-24)	F2	R:S = 3:1	65		2	49	3	11	quần thể lập bản đồ-2
BR-23 X (BR-23 X BR-4)	BC1F1	R:S = 1:0	40		16	24			
BR-23 X (BR-23 X BR-24)	BC1F1	R:S = 1:0	39		7	32			
(BR-23 X BR-4) X BR-4	BC1F1	R:S = 1:1	39		3	19		17	quần thể lập bản đồ-3
BR-24 X (BR-23 X BR-24)	BC1F1	R:S = 1:1	40		1	19		20	quần thể lập bản đồ-4

Ví dụ 2:

Trong bảng 1, bằng cách sử dụng quần thể F2 mà thể hiện sự tách biệt giữa tính kháng và tính dễ bị bệnh (quần thể lập bản đồ-1 và -2) và quần thể BC1F1 (quần thể lập bản đồ-3 và -4) như là vật liệu, dấu chuẩn RAPD được tìm kiếm bởi phương pháp phân tích tách biệt gộp (bulk segregant analysis method - BSA method).

Như là mỗi RAPD, 1180 loại mỗi 10mer được thiết kế bởi Operon Technologies, Inc. và 460 loại mỗi 12mer mỗi được thiết kế bởi BEX Co., Ltd. đã được sử dụng.

Như là ADN gộp, bốn cá thể kháng và bốn cá thể dễ bị bệnh được chọn từ quần thể lập bản đồ-04, và ADN của chúng được sử dụng để tạo một ADN gộp của

tính kháng và một ADN gộp của tính dễ bị bệnh được tạo ra.

Như là dấu chuẩn RAPD sàng lọc sơ cấp, hai loại ADN gộp được chuyển vào RAPD (ADN đa hình khuếch đại ngẫu nhiên - randomly amplified polymorphic ADN) bằng cách sử dụng 1640 loại môi, sau đó chọn 245 loại dấu chuẩn thể hiện dạng đa hình.

Trong sàng lọc thứ cấp, hai cá thể thể hiện tính kháng và hai cá thể thể hiện tính dễ bị bệnh được chọn từ quần thể lập bản đồ-4, và được sử dụng như là khuôn mẫu để chọn 36 loại dấu chuẩn mà thể hiện kiểu tương đồng với dạng đa hình được thể hiện trong sàng lọc sơ cấp.

Trong sàng lọc cấp ba, bốn cá thể thể hiện tính kháng và bốn cá thể thể hiện tính dễ bị bệnh được chọn từ quần thể lập bản đồ-4, và được sử dụng như là khuôn mẫu để chọn 11 loại dấu chuẩn mà thể hiện kiểu tương đồng với dạng đa hình được thể hiện trong sàng lọc thứ cấp.

Trong giai đoạn này, các dấu chuẩn thể hiện kiểu tách biệt gần giống nhau như là kiểu hình được áp dụng cho tất cả các cá thể của quần thể lập bản đồ-1 đến Quần thể lập bản đồ-4, và xác nhận mức độ đối lập giữa dấu chuẩn này và điểm số của kiểu hình, và dấu chuẩn có mối liên quan chặt chẽ với kiểu hình được chọn.

Trong thí nghiệm được mô tả ở trên, bảy loại dấu chuẩn trong số 11 loại dấu chuẩn đã được xác nhận gắn với yếu tố kháng bệnh mốc sương được phân tích trình tự nucleotit của mảnh ADN được khuếch đại, và môi đặc hiệu trình tự được thiết kế, theo đó thử nghiệm biến đổi sang SCAR (vùng khuếch đại đặc trưng trình tự - sequence characterized amplified region).

Đầu tiên, mảnh ADN khuếch đại bằng RAPD được cắt ra từ gel agarosa, tách dòng, và sau đó trình tự nucleotit của chúng được phân tích. Kết quả của việc này là, trình tự nucleotit của bảy loại dấu chuẩn được mô tả ở trên (DMTLR-1 đến

DMTLR-7) được mô tả (tương ứng từ SEQ ID NO. 1 đến SEQ ID NO. 7) (Fig. 8). Trong mô tả trình tự, trình tự từ SEQ ID NO. 22 đến 28 được mô tả đầu tiên và các trình tự này có trình tự từ SEQ ID NO. 1 đến 7 kẹp giữa mỗi SCAR (bao gồm trình tự mỗi SCAR). Trong Fig. 8, trình tự được chỉ ra với dấu gạch chân là mỗi SCAR, và trình tự kẹp giữa mỗi SCAR (bao gồm mỗi SCAR) phù hợp với tương ứng từ SEQ ID NO. 1 đến 7.

Để tách dòng, pBluescriptII SK(-) (thu được từ Stratagene) được sử dụng như là vectơ, và JM109 (*E. coli* JM109, thu được từ Toyobo Co., Ltd.) được sử dụng như là tế bào khả biến. Phân tích trình tự nucleotit sử dụng trình tự rADN ABI3130 (Applied Biosystems).

Đối với dấu chuẩn mà trình tự nucleotit đã được giải mã, để khuếch đại trình tự đích một cách đặc hiệu, mỗi (SEQ ID NO. 8 đến 21) được thiết kế bằng cách sử dụng phần mềm "Primer 3" (phần mềm hỗ trợ thiết kế để phản ứng chuỗi polime (PCR), phần mềm nguồn mở) (Bảng 2).

Thêm vào đó, kết quả thí nghiệm điện di của mỗi (dấu chuẩn) (kiểu băng điện di) được thể hiện ở Fig. 2.

Dấu chuẩn theo đó được phát triển theo sáng chế được đề cập như là "dấu chuẩn DMTLR".

Bảng 2

Tên đầu chuẩn	Trình tự	Điều kiện PCR (nhiệt độ gắn/số chu kỳ)	Enzym giới hạn	Loại chỉ thị	Số hiệu trình tự
DMTLR-1-Fw	CGGTCTTAGTTGATTTCTCAAG	55°C, 30 chu kỳ	TaqI	Đồng trội	SEQ ID NO. 8
DMTLR-1-Rv	GATCACCCCTGTACTAGCAATC				SEQ ID NO. 9
DMTLR-2-Fw	AGTAGGGAGTAAACCAACGAG	55°C, 30 chu kỳ	-	Trội	SEQ ID NO. 10
DMTLR-2-Rv	CCACGAGTGCATATTAGGTTG				SEQ ID NO. 11
DMTLR-3-Fw	GTGCTCCGTCAAGATTGAC	55°C, 30 chu kỳ	XbaI	Đồng trội	SEQ ID NO. 12
DMTLR-3-Rv	GGACCTAATGAATCGAGAGCTAC				SEQ ID NO. 13
DMTLR-4-Fw	GCATCACTAAGTCAAGCAACT	55°C, 30 chu kỳ	-	Trội	SEQ ID NO. 14
DMTLR-4-Rv	CAATGAGGTTGTGCTTTCCTC				SEQ ID NO. 15
DMTLR-5-Fw	CTCTGCAATATTGTCCTTGATG	55°C, 30 chu kỳ	FokI	Trội	SEQ ID NO. 16
DMTLR-5-Rv	GCAATTCAGTACACCAACCT				SEQ ID NO. 17
DMTLR-6-Fw	CGATCTCACACTAAGTACGCT	55°C, 30 chu kỳ	MboI	Đồng trội	SEQ ID NO. 18
DMTLR-6-Rv	AATCTGAGATCTCGTTTCGTCA				SEQ ID NO. 19
DMTLR-7-Fw	TTATAGAAGGCCTGTGTACGAC	55°C, 30 chu kỳ	HpaI	Đồng trội	SEQ ID NO. 20
DMTLR-7-Rv	GTGGCTTGGCTGGATATAGAA				SEQ ID NO. 21

Ví dụ 3

Bằng cách sử dụng cùng quần thể F2 như là quần thể lập bản đồ-2 được sử dụng trong ví dụ 2, tính kháng lại chủng phân lập bệnh mốc sương Dm-A cũng được nghiên cứu.

Kích thước quần thể F2 là 240 cá thể (quần thể lập bản đồ-5), và phản ứng của mỗi cá thể đối với Dm-A được nghiên cứu; và trình bày sự tách biệt trong bảng 3. Thí nghiệm nhiễm chủng của chủng phân lập Dm-A được tiến hành và đánh giá theo cách tương tự thí nghiệm nhiễm chủng của ví dụ 1.

Bảng 3

Phân tích di truyền sử dụng bông cải xanh "BR-23" (quần thể lớn)

Dòng	Thế hệ	Giá trị mong muốn	Số cá thể	Mức độ nhiễm trọng bệnh					Quần thể lập bản đồ
				0	1	2	3	4	
BR-23	Bố mẹ kháng bệnh	R:S = 1:0	15	11	29	0	0	0	
BR-24	Bố mẹ dễ bị bệnh	R:S = 0:1	15	0	0	1	10	4	
(BR-23 X BR-24)	F2	R:S = 3:1	240	123	54	3	52	8	quần thể lập bản đồ-5
BR-23 X (BR-23 X BR-24)	BC1F1	R:S = 1:0	165	70	15	8	66	6	

Kết quả khi so sánh với kiểu gen của đầu chuẩn SCAR được tạo trong ví dụ 2,

mối liên quan chặt chẽ với kiểu hình đã được xác nhận. Kết quả là, yếu tố kháng bệnh mốc sương của dòng “BR-23” đã được tính toán để thể hiện phản ứng kháng lại hai chủng phân lập với một gen đơn.

Dựa trên cơ sở của kết quả phân tích ở trên, mối quan hệ liên kết giữa kiểu hình của quần thể và dấu chuẩn được phân tích bằng cách sử dụng “Mapmaker 2.0” (Whitehead Institute), là phần mềm để phân tích mối quan hệ liên kết của dấu chuẩn.

Kết quả được thể hiện trong bản đồ liên kết trong Fig.3.

Kết quả đã chỉ ra yếu tố kháng nằm trong vùng lân cận của SEQ ID NO. 1 đến 7 đã được tính toán, đặc biệt trong vùng lân cận gần sát SEQ ID NO. 4 và SEQ ID NO. 5.

Ví dụ 4

Đối với dòng "BR-35" khác với dòng "BR-23" được phân tích trong ví dụ 2, để xác nhận liệu nó có cùng yếu tố kháng với dòng “BR-23”, quần thể tách biệt F2 với dòng dễ bị bệnh “BR-13” được tạo, và thí nghiệm nhiễm chủng sử dụng chủng phân lập Dm-A được tiến hành (Bảng 4). Thí nghiệm nhiễm chủng sử dụng chủng phân lập Dm-A được tiến hành và tính toán theo cách tương tự với thí nghiệm nhiễm chủng trong ví dụ 1.

Bảng 4

Giống, dòng	Thế hệ	Số cá thể	Số cá thể được phân loại theo thang điểm mức độ nghiêm trọng bệnh					quần thể lập bản đồ
			0	1	2	3	4	
BR-35	Bố mẹ kháng bệnh	12	5	7				
BR-13	Bố mẹ dễ bị bệnh	12				8	4	
BR-35 X BR-13	F1	12	1	9	2			
(BR-35X BR-13) F2	F2	180	23	83	30	33	11	quần thể lập bản đồ-6

Hơn nữa, PCR được tiến hành bằng cách sử dụng SEQ ID NO. 8 và 9, kiểu gen của mỗi cá thể được kiểm tra, tất cả 42 cá thể mà locut thể hiện loại đồng hợp

kháng và 83 cá thể hiện kiểu dị hợp thể hiện tính kháng (Bảng 5).

Bảng 5

Giống, dòng	Thế hệ	Số cá thể	Số cá thể được phân loại theo thang điểm mức độ nghiêm trọng bệnh				
			0	1	2	3	4
Cá thể DMTLR-1 thể hiện đồng hợp tử kháng trong quần thể lập bản đồ-6	F2	42	10	28	4	0	0
Cá thể DMTLR-1 thể hiện dị hợp tử trong quần thể lập bản đồ-6	F2	83	13	52	18	0	0
Cá thể DMTLR-1 thể hiện đồng hợp dễ bị bệnh trong quần thể lập bản đồ-6	F2	55	0	3	8	33	11

Bảng 5 thể hiện kết quả phân loại 180 cá thể của quần thể lập bản đồ-6 trong bảng 4 theo kiểu gen của ADN dấu chuẩn DMTLR-1.

Đa hình và kiểu hình thể hiện bởi dấu chuẩn có mối liên quan cực kỳ chặt chẽ, vì vậy hai loại dòng bông cải xanh kháng bệnh mốc sương "BR-23" và "BR-35" được tính toán để có yếu tố kháng giống nhau.

Gen kháng bệnh mốc sương mang bởi "BR-35" có thể tìm thấy ở giống bông cải xanh F1 "Sawayutaka", xuất phát từ "BR-35" như là một cây bố hoặc mẹ.

Hạt của giống bông cải xanh F1 "Sawayutaka" được nộp lưu quốc tế (nộp lưu ban đầu) ở NITE-IPOD (Room 120, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu, Chiba) vào 18 tháng tám năm 2017 (mã số nhận biết được đính kèm bởi người đăng ký: SSC-BRO-17-001, số truy cập: FERM BP-22343).

Ví dụ 5

"BR-23" và "BR-35", là giống bông cải xanh của Sakata Seed Corporation, được sử dụng như là vật liệu có tính kháng bệnh mốc sương, dòng "CB-20", dòng "CB-35", dòng "CB-23", hoặc dòng "CB-97" được chọn từ bốn giống (tương ứng các loại Yoshin, Kandama, mùa xuân, và bóng) như là bắp cải được chuyển vào tính kháng,

và được sử dụng như là dòng bố mẹ lai ngược trong thí nghiệm lai.

Để thực hiện lai ngược (BC) hiệu quả, về cơ bản, phân tích ADN sử dụng dấu chuẩn DMTLR được tiến hành, các cá thể bao gồm locut kháng bệnh mốc sương như là dị hợp tử đã được chọn, và các dòng bắp cải "CB-20", "CB-35", "CB-23", và "CB-97" được lai ngược liên tục trong khi kiểu hình của chúng được xác nhận.

Đầu tiên, các dòng bông cải xanh "BR-23" và "BR-35" được lai với các dòng bắp cải "CB-20", "CB-35", "CB-23", và "CB-97" đến khi thu được hạt F1, và lựa chọn ADN với dấu chuẩn DMTLR và lai ngược được tiến hành.

Để tiến hành lai ngược hiệu quả, lựa chọn sử dụng 20 loại môi RAPD được tiến hành, tiếp theo lựa chọn các cá thể thể hiện kiểu gen gần gũi với "CB-20", "CB-35", "CB-23", và "CB-97", mà là dòng bố mẹ lai ngược của các dòng lai ngược.

Kết quả là, các cá thể mà dấu chuẩn RAPD hoàn toàn trùng khớp với dòng lai ngược bố mẹ của chúng được lựa chọn trong thế hệ BC2F1 trong "CB-20", và thế hệ BC3F1 trong dòng khác "CB-35", "CB-23", và "CB-97".

Trong thế hệ BC2F1 hoặc thế hệ BC3F1, tính kháng và tính dễ bị bệnh được phân biệt với dấu chuẩn DMTLR, và mỗi kiểu gen này được nhân bản cùng với dòng bố mẹ lai ngược của chúng ở một trong hai hoặc cả hai Kakegawa Research Center và Kimitsu Breeding Station của Sakata Seed Corporation.

Kết quả được thể hiện trong bảng 6 và Fig. 4 đến 7.

Bảng 6 thể hiện kết quả sản xuất thử nghiệm của dòng được tạo ra bằng cách chuyển yếu tố kháng vào dòng bắp cải "CB-20" trên cánh đồng, và kết quả tính toán mức độ nghiêm trọng của bệnh mốc sương. Trong thế hệ tách biệt trong suốt quá trình lai ngược, cá thể được đánh giá là có yếu tố kháng bệnh mốc sương bởi dấu chuẩn DMTLR thể hiện tính kháng ngay cả khi nó là dị hợp tử, và cá thể được đánh giá là không có yếu tố kháng bệnh mốc sương thể hiện tính dễ bị bệnh. Thêm vào đó, về kiểu

hình, hình dáng thân cỏ gần giống loại Yoshin "CB-20" là dòng bố mẹ lai ngược.

Bảng 6

Dòng	Kiểu gen đầu chuẩn DMTLR	Số cá thể	Mức độ nghiêm trọng bệnh				Mức độ nghiêm trọng bệnh trung bình
			0	1	2	3	
CB-20	S	18		3	3	12	2,5
Dòng đẳng gen (R) của CB-20	R	18		17	1		1,1
Dòng đẳng gen (R) của CB-20	S	17			5	12	2,7

Các triệu chứng của thang điểm đã liệt kê trong bảng 6 được chuyển ra trong Fig. 4. Như là điểm số của mức độ nghiêm trọng của bệnh, mức độ nghiêm trọng của bệnh có nghĩa là tình trạng sau đây.

Mức độ nghiêm trọng của bệnh

0: không triệu chứng,

1: số lượng tổn thương ít,

2: số lượng tổn thương vừa,

3: nhiều tổn thương.

Ảnh của "CB-20" (dòng bố mẹ ban đầu) được thể hiện trong bảng 6 và dòng cùng loài được chuyển yếu tố kháng bệnh mốc sương đã được chuyển ra trong Fig. 5. Như hình ảnh chỉ ra, dòng cùng loài được chuyển yếu tố kháng bệnh mốc sương đã ngăn chặn sự diễn ra của bệnh mốc sương khi so sánh với dòng bố mẹ "CB-20".

Hơn nữa, dòng đã được lai ngược với ba dòng bắp cải khác "CB-35", "CB-23", và "CB-97" cũng được chuyển vào điều tra sản xuất thử nghiệm trên cánh đồng.

Kết quả được thể hiện trong Fig. 6.

Như kết quả đã chỉ ra, dòng mang tính kháng được biểu hiện bởi locut kháng trong lá và ngọn chính ngay cả khi dị dạng, đã được xác nhận là tương đương với dòng bố mẹ "CB-35", "CB-23", và "CB-97", mà tương ứng là loại Kandama, mùa xuân, và loại bắp. Cụ thể hơn, như được chỉ ra bởi Fig. 6, dòng cùng loài được chuyển yếu tố

kháng bệnh mốc sương ngăn chặn sự diễn ra của bệnh mốc sương khi so sánh với dòng bố mẹ ban đầu.

Sau đó, bắp cải "CB-20" loại Yoshin, loại đặc biệt dễ bị bệnh mốc sương, được chuyển vào lai ngược nhiều lần, 20 cá thể được chọn từ dòng đã được trồng trên cánh đồng của Kakegawa Research Center, đồng hợp tử với tính kháng bệnh mốc sương thu được từ nuôi cấy bao phấn và hạt phấn, theo đó đã thu được thành công dòng bắp cải bố mẹ đầu tiên kháng bệnh mốc sương có đặc tính thực tế giống như bố mẹ của giống F1.

Ví dụ 6

Hơn nữa, bằng cách dùng "DMR-CB-20" (dòng bắp cải DM bắp cải được nhân giống như mô tả ở trên) với tính kháng bệnh mốc sương giống như cây cho hạt phấn, và dòng bắp cải "CB-5" vô trùng tế bào chất cây bố hứa hẹn khác như là hạt cây bố mẹ, F1 (tên giống nguyên bản: SK3-005) đã được tạo ra.

Dòng F1 được nhân bản liên tục tại Kimitsu Breeding Station of Sakata Seed Corporation, và xác nhận biểu hiện ổn định của tính kháng bệnh mốc sương.

Bắp cải nhân giống đầu tiên của giống F1 kháng bệnh mốc sương theo đó thu được.

Hạt được tạo ra từ giống bắp cải F1 kháng bệnh mốc sương được nhân giống đã được nộp lưu quốc tế (nộp lưu ban đầu) trên NITE-IPOD (Room 120, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu, Chiba) vào ngày 18 tháng tám năm 2017 (mã số nhận biết được đính kèm bởi người đăng ký: SSC-CAB-17-001, số truy cập: FERM BP-22344).

Giống F1 nguyên bản ban đầu (giống F1 thu được bằng cách dùng dòng bố mẹ ban đầu "CB-20") và giống F1 mới đã được đề xuất với tính kháng bệnh mốc sương (giống F1 có tính kháng bệnh mốc sương) đã được so sánh.

Kết quả được thể hiện trong Fig. 7.

Như được chỉ ra trong Fig.7, giống F1 (ảnh bên trái) có tính kháng bệnh mốc sương đã được truyền ngăn chặn sự diễn ra của bệnh mốc sương so với giống F1 ban đầu.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó có gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut chứa một hoặc nhiều trình tự nucleotit của đầu chuẩn SEQ ID NO. 1, SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO. 6 hoặc SEQ ID NO. 7; trong đó gen kháng bệnh mốc sương được tìm thấy ở giống bông cải xanh được nộp lưu có số truy cập FERM BP-22343.
2. Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo điểm 1, có gen kháng bệnh mốc sương mà có thể phát hiện được bằng một hoặc nhiều cặp mồi có trình tự nucleotit trong số SEQ ID NO: 8-9, SEQ ID NO: 10-11, SEQ ID NO:12-13, SEQ ID NO: 14-15, SEQ ID NO: 16-17, SEQ ID NO: 18-19, hoặc SEQ ID NO:20-21.
3. Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo điểm 1, trong đó bệnh mốc sương là bệnh gây ra bởi *Hyaloperonospora brassicae*.
4. Bắp cải kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo điểm 1, trong đó cây bắp cải kháng bệnh mốc sương là giống bắp cải được nộp lưu có số truy cập PERM BP-22344.
5. Hạt tạo ra cây bắp cải kháng bệnh mốc sương theo điểm 4, trong đó cây bắp cải kháng bệnh mốc sương là giống bắp cải được nộp lưu có số truy cập PERM BP-22344.
6. Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm bước lai cây bắp cải có tính kháng bệnh mốc sương hoặc thế hệ con của nó theo điểm 1 với cây bắp cải mong muốn mà dễ bị bệnh mốc sương.

7. Phương pháp nhân giống bắp cải kháng bệnh mốc sương, bao gồm bước đưa locut kháng bệnh mốc sương từ cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương vào cây bắp cải mong muốn, trong đó tính kháng bệnh mốc sương được xác nhận bởi gen kháng bệnh mốc sương nằm trong vùng lân cận của locut chứa một hoặc nhiều dấu chuẩn có trình tự nucleotit trong số SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, hoặc SEQ ID NO: 7; trong đó cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng lại bệnh mốc sương là giống bông cải xanh được nộp lưu có số truy cập FERM BP-22343.

8. Phương pháp nhân giống theo điểm 6, trong đó cây thuộc loài *Brassica oleracea* có tính kháng đối với bệnh mốc sương là giống bắp cải được nộp lưu có số truy cập PERM BP-22344.

9. Phương pháp nhân giống theo điểm 7, trong đó bước đưa tính kháng bệnh mốc sương vào bắp cải mong muốn đạt được bằng lai ngược liên tục cây bắp cải mong muốn.

10. Phương pháp nhân giống theo điểm 6, còn bao gồm bước phân tích sự có mặt của gen kháng bệnh mốc sương sử dụng một hoặc nhiều cặp mồi có trình tự nucleotit trong số SEQ ID NO: 8-9, SEQ ID NO: 10-11, SEQ ID NO:12-13, SEQ ID NO: 14-15, SEQ ID NO: 16-17, SEQ ID NO: 18-19, hoặc SEQ ID NO: 20-21.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Sakata Seed Corporation

<120> Bắp cải có tính kháng bệnh mốc sương và phương pháp nhân giống chúng

<130> 800523JP01

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1022

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 1

<400> 1

```

cggtccttag ttgatttctc aagtttgggt gtttgtccaa tcctctcttg gtacagttga    60
agcaaaagct tcctctctgc atataatact cagaacaatc aataatttta aaaagaaaac    120
aacagagtgc tataatgaga gagagagaga gagagagaga gactcactct cttgaatttc    180
gactgctgcc ttgcagtttc tgaagtcggg agctcgtagt acctatacaa ttaccagaac    240
atatactctc cgttgatata taattaaftc cacaaacaga gagaagagta gtggagattt    300
catacctoga gaacgtgagg gcgaagatcc ttgacaagga gacgcattct gtagtagttg    360
gagttctcca ccttcagatt cccttcacgc cccctctttc tcccccttga cgacggatct    420
gacggagcca cctgagctcc tcctatatgt ggccgactcg gaaccggcgg gttatctaag    480
tccatcgccg gcgaagatct ctgatctgct gcagctgctg taggaagcgg gagagatgaa    540
gtagcggaag gaggaggagg agttgcgcgg gaggtcgatt tctccatttt caaaaagggg    600
gttttctcaa ccgtaacacc ccagcacggg acgcagcagc cggaactta aaacgaccgc    660
gttgtaagaa atctactgat tcggttaggg cctacttggg ggccattat cttttttott    720
tgtctaaacg gccgtctgt atccgatgac catcatatag aagggtaaat catcaagtaa    780
caacaacact gcaacagaca agggacatat gtagctgaac agagaactct ctattcatta    840
gactgagata tatgttcata ataaattaag tcaaatcctg cataatagct caaagctgga    900
tttaatcatt cataattcca tgaatttttt ttacatagat atagtcttca gtttgacccc    960
aaaaaaaaaa aatagtcttc atatactcat ctctccaaag tgattgctag tacagggtga    1020
tc

```

1022

<210> 2

<211> 220

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 2

<400> 2

```

agtagggagt aaaccaacga gtgtaaatat cttccccaag ccgttccggg atgatgtgca    60
aggtaaacca agtgatggct atggggacaa ggaaagaaac aaaatgttcc tgcataaaaa    120
tattgaagtt tgatgcaaac ccacaaatth ggtatatatt tcaaagttat tggttcgtgt    180
tcaaacgggt atatgctaac aacctaatat gcactcgtgg                        220

```

<210> 3

<211> 1314

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 3

<400> 3

```

gtgctccgtc aagattcgac gatcgtgttt tgtttccctt tttactttaa ctctcttcac    60
tcttcttcct tcattctcct cttctgatgg gaagccatag caacgcggag aaagatgaat    120
ccgccaccga gacggatgct acaacacggc agggatctct ctctgttaca gagtccaaca    180
ccgattgcca cgcagacgtc ttgcctctc ctctcctctgc ggacgtgagt caattcgaag    240
aaggagagaa agttttatgcc aaccacaaag gtcgtttcta cgaagccaag gtaatgttat    300
ttttgtctaa aattggaatg ttgtttgtgc ttttgtgttt aaaatttgat ctttgtttta    360
tgttttcagg ttcttgaaat tgcatttaaa gacaatgaat ggaactatta tgtgcattac    420
attgtaagtt tagatthttat tttgttttgc gtaaccacga atctctgtaa aagcataaac    480
aaataaaaca catttattgt taatgctgcc gttattatat ttttgccgtt ttcaatatgt    540
aatcttttgt attttctttg gtttttacag gggttgaaca aaagggttagt agaccatccg    600
acagtactgt cacttactgc cggcttttta ttgtctgaat aatctttctg tacattgcat    660
catcggctctg aataatcatt ctgctgctaa atcaaaacgt ttgccaagat tacaagtttt    720
ttttgtttct aatgcattga taatttcatg gtttgattat tgttgtatat ctttgtaatg    780
attagttatt tgtatggaca gttgggacga atggataggt catgattgtg tgttgaaaca    840
caccgaggag aatattaagg aacagggtat taagcaagga gtcaagagtg ctatggcttg    900
gagagtgtcc aagggtgaaac ctagatgccc taatggctag tgttctgggt cttttattag    960
aggctttgtt gcatgcttta tagatcatat gctagatatt atcatcatto tcttgthaat    1020
atatttttga gttgctagag gaagaaagcg gaagcaagat tctgttgata cactagtctc    1080
tccaatggtg tggattttoc tttcattttt ctctagattc caagtttctt tctattgttt    1140
tctgatcagt ttttgctga ttgtttttgt tgtttgctgg atacaggagg agaatttggt    1200
tgctacagac aaccttttaa ctttcaatat cccgtcagcg ttgaggaagc aactcatcga    1260
cgattatgaa ttcgttactc agatgcaaaa ggtagctctc gattcattag gtcc        1314

```

<210> 4

<211> 1300

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 4

<400> 4

```

gcatcactaa gtcaagcaac tttgatctct tggttttaag tttcaaagaa gctatctttg      60
gacgtggatt gtttgacaga agtatacatc tttggactaa gtctgataga actagtagag      120
aacctcgact aactatgcaa gtattactag gaagattcca tttgcagaat ttaagatttg      180
ttggttccta aaattctcga aagctccttg aatttttgat gccaatcact ttgaatgtgt      240
tctttttgcc tccttaaagt taaccttatt tggagtaaatt attgatcaaa ttagtataag      300
taactgtgta aggcttcacg tctccatcaa tcatcctgaa caatcactgc tttgccttaa      360
acaaacttgt taattattta taagtttttt tttatgaaac acaactttca ttaataactca      420
aacattccaa ctacaaataa ggaaggagtt taaccaaact ctaacaacaa ataataaagc      480
atacaagcta aaagtagaga aacctctaag atagaatgac agcgaactcg aagcatggct      540
cgaatgcgtc ggagcaagac tcacagcagt gctagaggct tgaaatttag tcactttgta      600
tcgtgacgtt aagatccaat ccgcacctcg gaatatcgtc gaaacgacat ccgttgcatc      660
ttcaggcccc gaacggaccg ctagacaata tgaacaaacg gctatagata aagatacaca      720
cctccattta gtgtttgggg ggaaaacatt tctcataact gaggcattgg gtaatacgac      780
tcgcatctcc tgagagaagt atgatatgta tgaaagtggg gtagattgtc ccgataaacc      840
caccggtaaa tagaaacttc gaaaactcct cttataagag agataagggtg ttgtatgcat      900
atcaacagtt tcggtaatat tttcagtga cccgccgaaa aatattagca agttggacca      960
aatgacaaaa ctccccaca caaatgtggg ctttgaaacc gacagacttc taagaaatgg      1020
gctgaccttt ttataaccct taatgggcca ggcccagata gttatggtgc tagggtttgg      1080
gtcacaaaat tgtacgccgc cgaggctagt gtggaggaga tgaagagcgc gccggggctg      1140
aagctggctc catcggagtg aacggtttgc gcagcaaagc agatcggaga agagatgtag      1200
cctttgatag tacagaagct ctcgccggag taacagtcaa gatagacgtc tgacggagta      1260
atgatgatga gggcgtgaag aggaaagcac aacctcattg      1300

```

<210> 5

<211> 390

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 5

<400> 5

ctctgcaata ttgtccttga tgagtttatt gtctcccttc tttttcagta aattcagttt 60
 cgttttattt atctattgaa tttattgtcg ctattgaatt ttctgacgta tttctctgcg 120
 atcaactcaat ttactgtctc tgttgagttt ctcatcttc ccattcagaa tatatgtaga 180
 aacaacaatt caatataagt catctgttcg ctctatcata gtagcgtaaa ggtatctttc 240
 caaattgact tggcatccat attagagaga cgtcaatgaa tataagtagt atttacaact 300
 aaattcgtct gattttacaa atgcttccaa gcgtacgtgt ataccaatgt tcgcctaaag 360
 ataaatgcca aggttggtgt actgaattgc 390

<210> 6

<211> 300

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 6

<400> 6

cgatctcaca ctaactacgc ttcaccaaac aaaaagatca caatcaaatc tcatcatcct 60
 acttaccaat ttaggccacg catcaatcgc acaagcttca actgtatcca aaaggcattc 120
 aaacgcaccg tgctgcaaca aattagcaac aatgtttaac gtaatctcgc tacaagcatg 180
 catgataacg aaacgagatc ttagatacaa acaacatctt aaataaattt aatcaaatta 240
 tcgacaatgt ttaatgtaat cgctacaatc atgcatgatg acgaaacgag atctcagatt 300

<210> 7

<211> 2713

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 7

<400> 7

ttatagaagg cctgtgtacg acaacaaaga gggttttgaca cgttccaaca aatcccacat 60
 cctgttgaca cgttccggc aaaccagagg gaagcgattc acttttagcac ttcgaaatgaa 120
 gtggctggat gagtatttgg cacacgcgtc aggccttttta gcacctttgt aagctttgca 180
 gatgtagctt atgaagttct cataatcctg caatgaacac acagaaaaaa actgtggtga 240
 gttcagagcc aagaaatatc aagcacacac acacacaaaa actttatggt cccattgatc 300
 acatccattt tctattgatc atgcctctca tgaagacact tcaacttctcg tctgctaact 360
 acagttcaca agaacaataa gataccacat ttggtaatcg caacatacat ttgacccaaa 420
 aaaatggtaa gtcaattaat tttctccacg ctaatctatg ataaccctat aaaacatgtc 480
 ttctcatta gtttagttaa ctagaaagat gacccaactc tctaaatata ctaaatccaa 540
 agtgttgcac aaccgaattc caaatcagtc ataagtatga atgaactaaca agttaatata 600
 gagacatcat tcataaacag ggagtaagag agcgtaaatt agtctaagta agaactcagt 660

```

agaatctaaa aaggatccta ttccaaacga acctcataaa gcggtgacc atcaaccact 720
accagggaa cgtactgatg aggaggctga agtgcgctcg tttctgcagc atacttcaac 780
tcaagctgca gcaaattgaa acgattagtg aggaatgcaa cggaagcttc cgcttccgaa 840
caagaacata gtacataaag agaaggacac taagtacctt gtctccatgt ccaactgctga 900
ggcaatcgga aacaggttta gagttgagat tgagcttctg ataacaagtc tccacttgtt 960
cgtacttgtg ctcagtcacc aaactctcaa cacagtggat aaacgggaaa tgatcgctct 1020
acaaaataaa aatgtaacga tctcacacta actacgcttc accaaacaaa aagatcacia 1080
tcaaattctca tcatcctact taccaattta ggccacgcat caatcgaca agcttcaact 1140
gtatccaaaa ggcatcaca cgcaccgtgc tgcaacaaat tagcaacaat gtttaacgta 1200
atctcgctac aagcatgcat gataacgaaa cgagatctta gatacaaaaca acatcttaaa 1260
taaatttaaat caaattatcg acaatgttta atgtaatcgc tacaatcatg catgatgacg 1320
aaacgagatc tcagattcaa acaacaccac aatacaaatt gaagctctaa ttaatacaaa 1380
tcaggataca tcggaaaggt gtgagaagac ctggcaaacg gcagtgcacat tatcgagcg 1440
gagcttggtg ttacccacg gagatagatg gagatcgacg attgatatga gatcgcttc 1500
gaagagcttc gtgaggtggt taacgatgaa ggaagaacag tacggacata gagactcgta 1560
gtacagtccc agcgacactt tcggagaaga tggcaggtca gatgatgatg acgatgatga 1620
tacgaagaag atcagagaaa cgtagcagaa taggagaaga agaagcttgc tcgtcgaaat 1680
cgacgccatg attgcaaaga gaagcaacct ctgttgatc gtcttcgtcc tcttctctta 1740
ataacacgca tctcgatatg ctcggtgcca aacagatgac aataaccgat aaggcccgtc 1800
tcattctttg tgtgggcctt gttcaaagcc taaataactaa ttataaaatt tcataaaagc 1860
ccaaacgttt ataacaagg ctccgaatac ttagtaaaat ttcttttgga ccaagtgcga 1920
atatacatca aattagctac attaatTTTT gggTTaagca gttgaccgag aattaaagag 1980
tgacaatata catcaaagct tggaatcaat ctcatatg tgatgaacta gaggaccaat 2040
aaaatacttg tcatgtccat tgcttaggca aaggaggagc atggattata taacctcatg 2100
tatacagatt atatatcaaa tgaaaatttt aggctattgg agtacgtgaa ggatttgatc 2160
aacaagactg agactgacga cgaggtaagc aagttgggta ggatgaatgt cgtcccagaa 2220
aaggtagtcg ttagcgtcgg gacaagtccg agttaaagga ttgcacaagt atgatagctc 2280
cagctctcct gttccgcagc atcctctcgt tgtctccttt attcctgtcc ctttcgaaaa 2340
aatcgattca gaccacgaaa aaatgcacgg tatatggcta tataacaaac tgtagactca 2400
taacctgtaa tgcgagcaca ctggattata aactcacctt agttattgta aaattaatct 2460
ttogacttaa ttatatgaaa tgacgtcaac ataaaaatag atataatgaa aaataatatg 2520
tatcatagtg atttgtgcta ttatcatcga tatcatcatg tttaaaccaa caatacata 2580
gttttttttt agcaaataca tatattatta acgaaaaaaaa attatatata gtaatgtttt 2640
aattgttgga tagccaacaa gtataatacg taaattagca aatgcaaatg agttctatat 2700
ccagccaagc cac

```

2713

<210> 8

<211> 22

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 8
 cggtcttagt tgatttctca ag 22
 <210> 9
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 9
 gatcaccctg tactagcaat c 21
 <210> 10
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 10
 agtagggagt aaaccaacga g 21
 <210> 11
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 11
 ccacgagtg atattaggtt g 21
 <210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 12
 gtgctccgtc aagattcgac 20

<210> 13
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 13
 ggacctaatg aatcgagagc tac 23
 <210> 14
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi

 <400> 14
 gcatcactaa gtcaagcaac t 21
 <210> 15
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 15
 caatgagggt gtgctttcct c 21
 <210> 16
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 16
 ctctgcaata ttgtccttga tg 22
 <210> 17
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> mỗi
 <400> 17
 gcaattcagt acaccaacct 20
 <210> 18
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 18
 cgatctcaca ctaactacgc t 21
 <210> 19
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 19
 aatctgagat ctcgtttcgt ca 22
 <210> 20
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 20
 ttatagaagg cctgtgtacg ac 22
 <210> 21
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi
 <400> 21
 gtggcttggc tggatataga a 21

<210> 22

<211> 1176

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 1a

<400> 22

```

cggtccttag ttgatttctc aagtttgggt gtttgtccaa tcatctcttg gtacagttga 60
agcaaaagct tcatctctgc atataatact cagaacaatc aataatttta aaaagaaaac 120
aacagagtgc tataatgaga gagagagaga gagagagaga gactcactct cttgaatttc 180
gactgctgcc ttgcagtttc tgaagtcggg agctcgtagt acctatacaa ttaccagaac 240
atatactctc cgttgatatc taattaattc cacaacaga gagaagagta gtggagattt 300
catacctcga gaacgtgagg gcgaagatcc ttgacaagga gacgcatctt gtagtagttg 360
gagtttctca ccttcagatt cccttcagc cccctctttc tcccccttga cgacggatct 420
gacggagcca cctgagctcc tcctatatgt ggccgactcg gaaccggcgg gttatctaa 480
tccatcgccg gcgaagatct ctgatctgct gcagctgctg taggaagcgg gagagatgaa 540
gtagcggaa 600
gaggaggagg agttgccgg gaggtcgatt tctccatttt caaaaagggg 600
gttttctcaa ccgtaacacc ccagcacggg acgcagcagc cgggaactta aaacgaccgc 660
gttgtaagaa atctactgat tcggttaggg cctacttggg ggcccattat cttttttctt 720
tgtctaaacg gccggtctgt atccgatgac catcatatag aagggtaaat catcaagtaa 780
caacaacact gcaacagaca agggacatat gtagctgaac agagaactct ctattcatta 840
gactgagata tatgttcata ataaattaag tcaaatcctg cataatagct caaagctgga 900
tttaatcatt cataattcca tgaatttttt ttacatagat atagtcttca gtttgacccc 960
aaaaaaaaa aatagtcttc atatactcat ctctccaaag tgattgctag tacagggtga 1020
tcatcttcta atcttcacaa caagtcaagc atgagctggt ccagtaattc atttgaatc 1080
agttcactag totcaaagcc aatgcactca acctcacttc taacgcatc taaccagttt 1140
ccgcgtttat ccatgtcttc tctaattgatt tgggtcc 1176

```

<210> 23

<211> 265

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 2a

<400> 23

```

gaacccctct cggaccggga ataagattct tggtttttcg gttaaagtag ggagtaaacc 60
aacgagtgta aatatcttcc ccaagccgtt ccgggatgat gtgcaaggta aaccaagtga 120
tggctatggg gacaaggaaa gaaacaaaat gttcctgcat gaaaatattg aagtttgatg 180

```

caaaccacaca aatttggtat atatttcaaa gttattgggtt cgtgttcaaa cgggtatatg 240
 ctaacaacct aatatgcact cgtgg 265
 <210> 24
 <211> 1659
 <212> ADN
 <213> Không biết
 <220>
 <223> Dấu chuẩn 3a
 <400> 24
 gtgctccgtc aagattcgac gatcgtgttt tgtttccctt tttactttaa ctctcttcac 60
 tcttcttcct tcattctcct cttctgatgg gaagccatag caacgcggag aaagatgaat 120
 ccgccaccga gacggatgct acaacacggc agggatctct ctctgttaca gagtccaaca 180
 ccgattgcga cgcagacgtc ttgcctcctc ctctcctcgc ggacgtgagt caattcgaag 240
 aaggagagaa agtttttagcc aaccacaaag gtcgtttcta cgaagccaag gtaatgttat 300
 ttttgtctaa aattggaatg ttgtttgtgc ttttgtgttt aaaatttgat ctttgtttta 360
 tgttttcagg ttcttgaaat tgcatttaaa gacaatgaat ggaactatta tgtgcattac 420
 attgtaagtt tagattttat tttgttttgc gtaaccacga atctctgtaa aagcataaac 480
 aaataaaaca cattttattgt taatgctgcc gttattatat ttttgccgtt ttcaatatgt 540
 aatcttttgt attttctttg gtttttacag gggtggaaca aaaggttagt agaccatccg 600
 acagtactgt cacttactgc cggcttttta ttgtctgaat aatctttctg tacattgcat 660
 catcggctctg aataatcatt ctgctgctaa atcaaaacgt ttgccaagat tacaagtttt 720
 ttttgtttct aatgcattga taatttcatg gtttgattat tgttgatatat ctttgtaatg 780
 attagttatt tgtatggaca gttgggacga atggataggt catgattgtg tgttgaaaca 840
 caccgaggag aatattaagg aacagggtat taagcaagga gtcaagagtg ctatggcttg 900
 gagagtgtcc aaggtgaaac ctagatgccc taatggctcag tgttctgggt cttttattag 960
 aggctttgtt gcatgcttta tagatcatat gctagatatt atcatcatto tcttgtaaat 1020
 atatttttgca gttgctagag gaagaaagcg gaagcaagat tctgttgata cactagtctc 1080
 tccaatggtg tggattttcc tttcattttt ctctagattc caagtttctt tctattgttt 1140
 tctgatcagt ttttgcoctga ttgtttttgt tgtttgctgg atacaggagg agaatttggt 1200
 tgctacagac aaccttttta ctttcaatat cccgtcagcg ttgaggaagc aactcatcga 1260
 cgattatgaa ttcgttactc agatgcaaaa ggtagctctc gattcattag gtccatatat 1320
 caaggaatth atcagtgaca ttttttgtaa catttatgtg agcagcttgt ggaacttcot 1380
 cgctcgcccta atgtggatga tatcttgaag aagtacactg acagcaaaat gaagaaagat 1440
 ggcaggtaag cgctttgtta atgtcatttt caacagttta agagtatttt cagtactttc 1500
 ttttggtag gttatgtagg gtaagcaatt cagtagagga gattotgaaa ggtttgcgtt 1560
 gctactttga caatgctttg ccggtgatgt tactttacaa caatgagcgg aagcagtatg 1620
 aggaaaacgt atctgagggt gtatctccct caactgtgt 1659

<210> 25

<211> 1399

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 4a

<400> 25

```

tcaacatata agtacaaatc tagcaaccga ctactattca aaaccagagt cttttgcatc      60
actaagtcaa gcaactttga tctcttggtt ttaagtttca aagaagctat ctttggaagct    120
ggattgtttg acagaagtat acatcttttg actaagtctg atagaactag tagagaacct      180
cgactaacta tgcaagtatt actaggaaga ttccatttgc agaatttaag atttggttgg      240
tcctaaaatt ctcgaaagct ccttgaattt ttgatgccaa tcactttgaa tgtgttcttt      300
ttgcctcctt aaagttaacc ttatttggag taaatattga tcaaattagt ataagtaact      360
gtgtaaggct tcacgtctcc atcaatcatc ctgaacaatc actgctttgc cttaaacaaa      420
cttggttaatt atttataagt ttttttttat gaaacacaac tttcattaat actcaaacat      480
tccaactaca aataaggaag gagtttaacc aaactctaac aacaaataat aaagcatata      540
agctaaaagt agagaaacct ctaagataga atgacagcga actcgaagca tggctcgaat      600
gcgctcgagc aagactcaca gcagtgctag aggcttgaaa tttagtcact ttgtatogtg      660
acgttaagat ccaatccgca cctcgaata tcgtcgaaac gacatccgtt gcatcttcag      720
gccccgaacg gaccgctaga caatatgaac aaacggctat agataaagat acacacctcc      780
atthagtggt tggggggaaa acatttctca taactgaggc atggggtaat acgactcgca      840
tctcctgaga gaagtatgat agtgatgaaa gtggtgtaga ttgtccgat aaacccaccg      900
gtaaatagaa acttcgaaaa ctcttcttat aagagagata aggtggttga tgcatatcaa      960
cagtttcggt aatatatttca gtgaaccgcg cgaaaaatat tagcaagttg gaccaaata      1020
ccaaactccc ccacacaaat gtgggctttg aaaccgacag acttctaaga aatgggctga      1080
cctttttata acccttaatg ggccaggccc agatagttat gttgctaggg tttgggtcac      1140
aaaattgtac gccgcgagg ctagtgtgga ggagatgaag agcgcggcgg ggctgaagct      1200
ggtctcatcg gagtgaacgg tttgcgcagc aaagcagatc ggagaagaga tgtagccttt      1260
gatagtacag aagctctcgc cggagtaaca gtcaagatag acgtctgacg gagtaatgat      1320
gatgagggcg tgaagaggaa agcacaacct cattgtacct cgtgcttttt gaactgctcg      1380
tcggatcaaa tgtggaacc

```

1399

<210> 26

<211> 627

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 5a

<400> 26

```

ttttcaggta gttccactct catattatgt atgttgagtt tactgtccct attgagtttg 60
tgcaatttcc tatatatattc tctgcaatat tgccttgat gagtttattg tctcccttct 120
ttttcagtaa attcagtttc gttttattta tctattgaat ttattgtcgc tattgaattt 180
tctgacgtat ttctctgcga tcaactcaatt tactgtctct gttgagtttc tcattcttcc 240
cattcagaat atatgtagaa acaacaattc aatataagtc atctgttcgc tctatcatag 300
tagcgtaaag gtatctttcc aaattgactt ggcatccata ttagagagac gtcaatgaat 360
ataagtagta tttaacaacta aattcgtctg attttacaaa tgcttccaag cgtacgtgta 420
taccaatgtt cgcctaaaga taaatgccaa ggttggtgta ctgaattgct tgттаactat 480
ggagcgttca ccagcaatgc cattagtaac acaagttcct agcattattg ctgggatgga 540
tgtaccatca gttgatgcga ttgtgagctc catacaatgg ccactcgtat caaaataaag 600
ggcatgtgtg tatgcgtaca caattgt
627

```

<210> 27

<211> 800

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 6a

<400> 27

```

atgaggaggc tgaagtgcgc tcgtttctgc agcatacttc aactcaagct gcagcaaattg 60
gaaacgatta gtgaggaatg caacggaagc ttccgcttcc gaacaagaac atagtacata 120
aagagaagga cactaagtac cttgtctcca tgtccactgc tgaggcaatc ggaaacaggt 180
ttagagttga gattgagctt ctgataacaa gtctcccact tgtcgtactt gtgctcagtc 240
accaaactct caacacagtg gataaacggg aatgatcgc tctacaaaat aaaaatgtaa 300
cgatctcaca ctaactacgc ttcaccaaac aaaaagatca caatcaaato tcatcatcct 360
acttaccaat ttaggccacg catcaatcgc acaagcttca actgtatcca aaaggcattc 420
aaacgcaccg tgctgcaaca aattagcaac aatgtttaac gtaatctcgc tacaagcatg 480
catgataacg aaacgagatc ttagatacaa acaacatctt aaataaattt aatcaaatta 540
tcgacaatgt ttaatgtaat cgctacaatc atgcatgatg acgaaacgag atctcagatt 600
caaacaacac cacaatacaa attgaagctc taattttaac aatcaggat acatcgaaaa 660
ggtgtgagaa gacctggcaa acggcagtg cattatcgga gcggagcttg gtgttacccc 720
acggagatag atggagatcg acgattgata tgagatcgtc ttogaagago ttcgtgaggt 780
ggttaacgat gaaggaagaa
800

```

<210> 28

<211> 2846

<212> ADN

<213> Không biết

<220>

<223> Dấu chuẩn 7a

<400> 28

```

cttacacaac ccaacaacca tacactttgt gatatataga taataattaa tacagattca 60
tcatatctcg gaatctatat agattttaga gagttatcat gttacatatc acaaaagaaa 120
gagaaggtgt tttatagaag gcctgtgtac gacaacaaag aggttttgac acgttccaac 180
aaatcccaca tcctgttgac accgttccg caaaccagag ggaagcgatt cacttttagca 240
cttcgaatga agtggctgga tgagtatttg gcacacgcgt caggcttttt agcacctttg 300
taagctttgc agatgtagct tatgaagttc tcataatcct gcaatgaaca cacagaaaaa 360
aactgtggtg agttcagagc caagaaatat caagcacaca cacacacaaa aactttatgt 420
tcccattgat cacatccatt ttctattgat catgcctctc atgaagacac ttcacttctc 480
gtctgctaac tacagttcac aagaacaata agataccaca tttggtaatc gcaacataca 540
tttgacccaa aaaaatggta agtcaattaa ttttctccac gctaattctat gataacccta 600
taaaacatgt cttcctcatt agtttagtta actagaaaga tgacccaact ctctaaatac 660
actaaatcca aagtgttgca caaccgaatt ccaaatacgt cataagtatg aatgactaac 720
aagttaatat agacacatca ttcataaaca gggagtaaga gagcgtaaata tagtctaagt 780
aagaactcag tagaatctaa aaaggatcct attccaaacg aacctcataa agcggctgac 840
catcaaccac taccagggga acgtactgat gaggaggctg aagtgcgctc gtttctgcag 900
catacttcaa ctcaagctgc agcaaatgga aacgattagt gaggaatgca acggaagctt 960
ccgcttccga acaagaacat agtacataaa gagaaggaca ctaagtacct tgtctccatg 1020
tccactgctg aggcaatcgg aaacagggtt agagttgaga ttgagcttct gataacaagt 1080
ctcccacttg tcgtacttgt gtcagtcac caaactctca acacagtgga taaacgggaa 1140
atgatcgctc tacaaaataa aaatgtaacg atctcacact aactacgctt caccaaacia 1200
aaagatcaca atcaaatact atcatcctac ttaccaatth aggccacgca tcaatcgcac 1260
aagcttcaac tgtatccaaa aggcatthca acgcaccgtg ctgcaacaaa ttagcaacaa 1320
tgtttaacgt aatctcgcta caagcatgca tgataacgaa acgagatctt agatacaaac 1380
aacatcttaa ataaatttaa tcaaattatc gacaatgttt aatgtaatcg ctacaatcat 1440
gcatgatgac gaaacgagat ctcagattca aacaacacca caatacaaat tgaagctcta 1500
atttaataca atcaggatac atcggaaggg tgtgagaaga cctggcaaac ggcagtgaca 1560
ttatcgagc ggagcttggt gttacccac ggagatagat ggagatcgac gattgatatg 1620
agatcgctct cgaagagctt cgtgaggtg ttaacgatga aggaagaaca gtacggacat 1680
agagactcgt agtacagtc cagcgacact ttoggagaag atggcaggctc agatgatgat 1740
gacgatgatg atacgaagaa gatcagagaa acgtagcaga ataggagaag aagaagcttg 1800
ctcgtcgaaa tcgacgcat gattgcaaac agaagcaacc tctgttgat cgtcttcgctc 1860
ctcttctctt aataaacgc atctcgatat gctcggtgcg aaacagatga caataaccga 1920
taaggcccgt ctcatcttt gtgtgggct tgttcaaagc ctaaatacta attataaaat 1980

```

```

ttcataaaag cccaaacggt tataacaaag gctccgaata cttagtaaaa tttcttttgg 2040
accaagtgca aatatacatc aaattagcta cattaatfff tgggttaagc agttgaccga 2100
gaattaaaga gtgacaatat acatcaaagc ttggaatcaa tctcatacat gtgatgaact 2160
agaggaccaa taaaatactt gtcatgtcca ttgcttaggc aaaggaggga catggattat 2220
ataacctcat gtatacagat tatatatcaa atgaaaatff taggctattg gagtacgtga 2280
aggatttgat caacaagact gagactgacg acgaggtaag caagttgggt aggatgaatg 2340
tcgtcccaga aaaggtagtc gttagcgtcg ggacaagtcc gagttaaagg attgcacaag 2400
tatgatagct ccagctctcc tgttcgcgag catcctctcg ttgtctcctt tattcctgtc 2460
cctttcgaaa aaatcgattc agaccacgaa aaaatgcacg gtatatggct atataacaaa 2520
ctgtagactc ataacctgta atgcgagcac actggattat aaactcacct tagttattgt 2580
aaaattaatc tttcgactta attatatgaa atgacgtcaa cataaaaaata gatataatga 2640
aaaataatat gtatcatagt gatitgtgct attatcatcg atatcatcat gtttaaacca 2700
acaaatacat agtttttttt tagcaaatac atatattatt aacgaaaaaa aattatatat 2760
agtaatgttt taattgttgg atagccaaca agtataatac gtaaattagc aaatgcaaat 2820
gagttctata tccagccaag ccacct
2846

```

1/12

[FIG. 1]

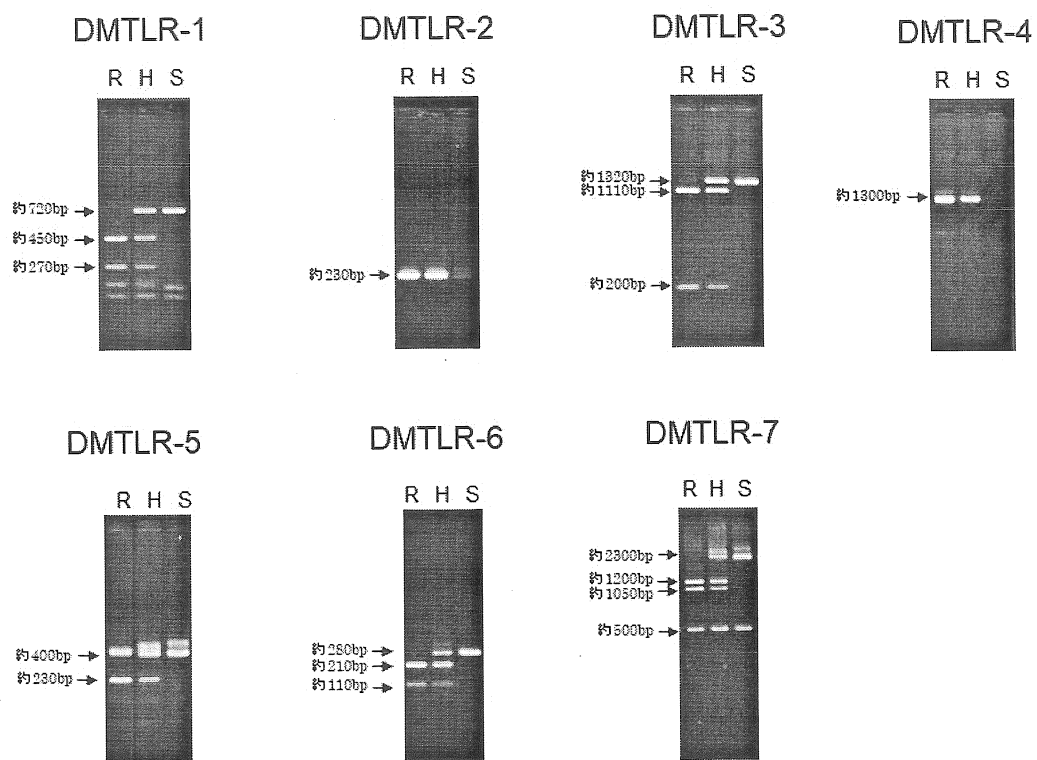


BỆNH MỐC SƯƠNG Ở BÔNG CẢI XANH GIEO
TỪ HẠT (THÍ NGHIỆM NHIỄM CHỦNG)
TRÁI: DỄ BỊ BỆNH, PHẢI: KHÁNG BỆNH

2/12

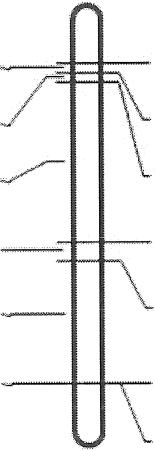
[FIG. 2]

DẤU CHUẨN ADN NẰM TRONG VÙNG LÂN CẬN CỦA YẾU TỐ KHÁNG BỆNH MỐC SƯỞNG



[FIG. 3]

**BẢN ĐỒ LIÊN KẾT VÙNG LÂN CẬN CỦA
LOCUT KHÁNG CỦA QUẦN THỂ F₂ CỦA
BR-23 X BR-24**

Rec Frac.	Khoảng cách cM		Dấu chuẩn	
			Số hiệu	Tên
(0,2 %)	0,2		(1)	DMTLR-1
(0,2 %)	0,2		(2)	DMTLR-2
(3,7 %)	3,7		(3)	DMTLR-3
(0,4 %)	0,4		(4)	DMTLR-5
(3,2 %)	3,2		(5)	DMTLR-4, <i>Kháng DM</i>
(0,0 %)	0,0		(6)	DMTLR-6
			(7)	DMTLR-7

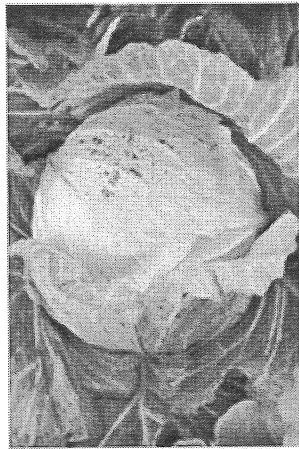
4/12

[FIG. 4]

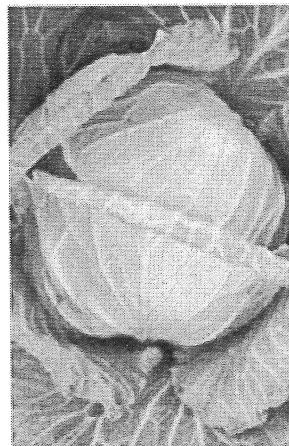
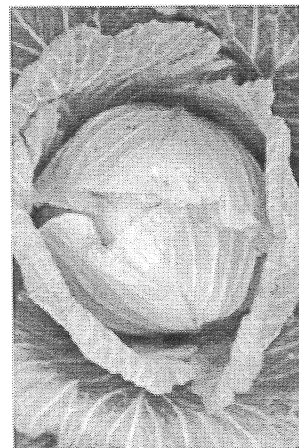
**ĐỘ NGHIÊM TRỌNG
BỆNH MỨC 3**



**ĐỘ NGHIÊM TRỌNG
BỆNH MỨC 2**



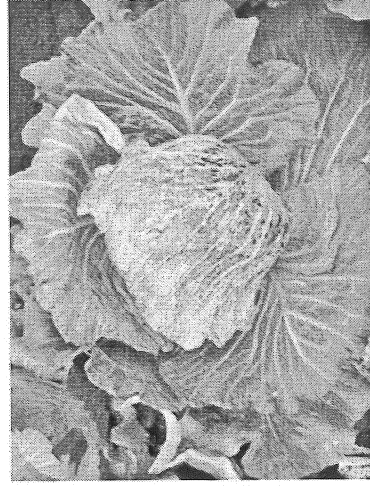
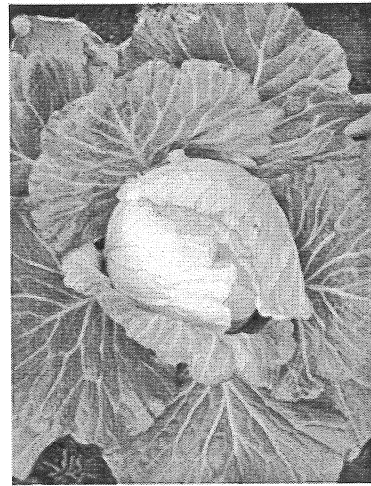
**ĐỘ NGHIÊM TRỌNG
BỆNH MỨC 1**



5/12

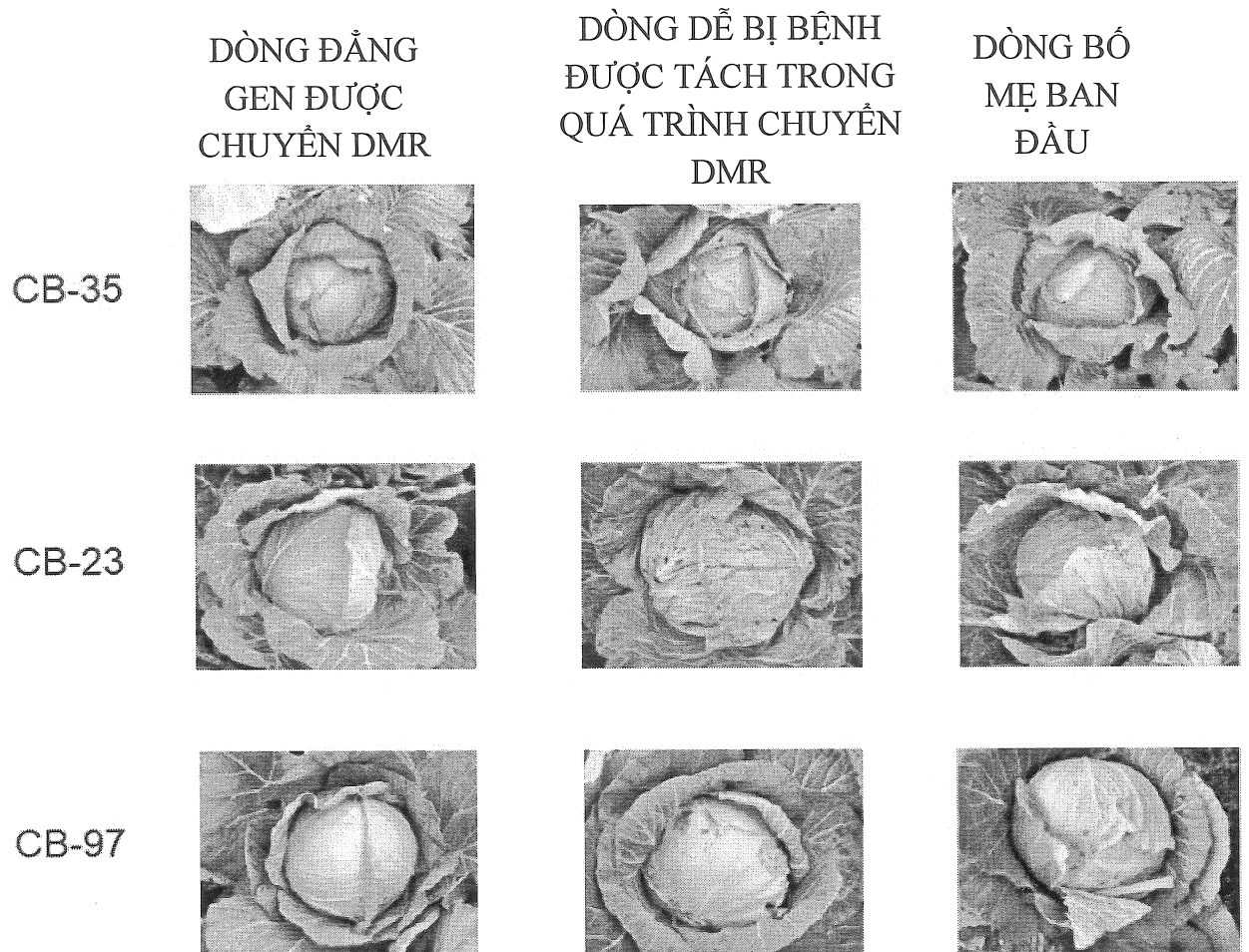
[FIG. 5]

DÒNG BẠN ĐÀU "CB-20"

DÒNG ĐĂNG GEN ĐƯỢC ĐƯA
YẾU TỐ KHÁNG BỆNH MỐC
SUONG

6/12

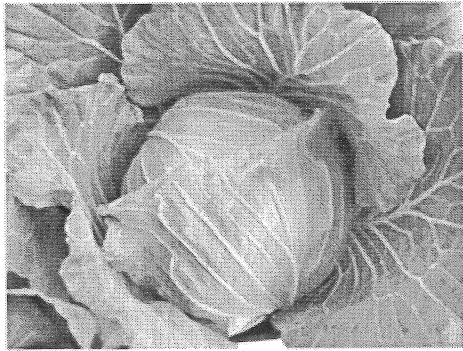
[FIG. 6]



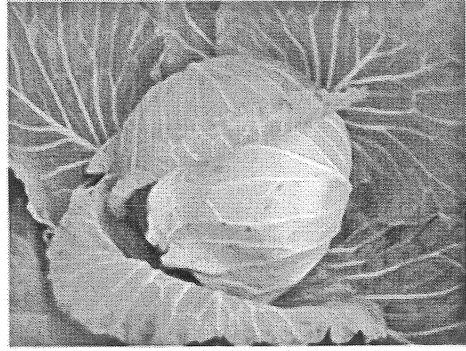
7/12

[FIG. 7

GIÔNG F1 ĐƯỢC CHUYỂN
TÍNH KHÁNG BỆNH MỐC
SƯƠNG



GIÔNG F1 BAN ĐẦU



8/12

[FIG. 8-1]

DMTLR-1:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ.)
(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 22, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 1)

CGGTCCCTTAGTTGATTTCTCAAGTTTGGGTGTTTGTCCAATCATCTCTTGGTACAGTTGAAGCAAAAGCTTCA
TCTCTGCATATAATACTCAGAACAAATCAATAATTTTAAAAAGAAAACAACAGAGTGCTATAATGAGAGAGAGA
GAGAGAGAGAGAGAGAGACTCACTCTCTTGAATTTCCGACTGCTGCCTTGCAGTTTCTGAAGTCGGGAGCTCGTAG
TACCTATACAATTACCAGACATATACTCTCCGTTGATATCTAATTAAATCCACAAACAGAGAGAAGAGTAGT
GGAGATTTTATACCTCGAGAACTGAGGGCGAAGATCCTTGACAAGGAGACGCATCTTGTAGTAGTTGGAGTT
CTCCACCTTCAGATTCCCTTCCAGCCCCCTCTTTCTCCCCCTTGACGACGGATCTGACGGAGCCACCTGAGCT
CCTCCATATATGTGGCCGACTCGGAACCGGCGGGTTATCTAAGTCCATCGCCGGCGAAGATCTCTGATCTGCTG
CAGCTGCTGTAGGAAGCGGGAGAGATGAAGTAGCGGAAGGAGGAGGAGGAGTTGCCGCGGAGGTTCGATTTCTC
CATTTTCAAAAAGGGGGTTTTCTCAACCGTAACACCCAGCACGGGACGCAGCAGCCGGGAACCTTAAAACGAC
CGCGTTGTAAGAAATCTACTGATTCCGTTAGGGCCCTACTTGGGGGCCCATTTATCTTTTTCTTTGTCTAAACG
GCCCCGTCTGTATCCGATGACCATCATATAGAAGGGTAAATCATCAAGTAACAACAACACTGCAACAGACAAGG
GACATATGTAGCTGAACAGAGAAGCTCTCTATTCTAGACTGAGATATATGTTTATAATTAAGTCAAAT
CCTGCATAATAGCTCAAAGCTGGATTTAATCATTCATAATTCATGAATTTTTTTTACATAGATATAGTCTTC
AGTTTGACCCCCAAAAAATAAGTCTTCATATACTCATCTCTCCAAAGTGATTGCTAGTACAGGGTGATC
ATCTTCTAATCTTCAACAAGTCAAGCATGAGCTGTTCCAGTAATTCATTTAGAATCAGTTCACTAGTCTCA
AAGCCAAATGCACTCAACCTCACTTCTAAGTCTCATCAACCAAGTTTCCGCGTTTATCCATGTCTTCTCTAATGA
TTTGGTCC

DMTLR-2:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ.)
(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 23, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 2)

GAACCCCTCTCGGACCGGGAATAAGATTCTTGGTTTTTCGGTTAAAGTAGGGAGTAAACCAACGAGTGTAAT
ATCTTCCCCAAGCCGTTCGGGATGATGTGCAAGGTAAACCAAGTGATGGCTATGGGACAAAGGAAAGAAACA
AAATGTTCTGTCATGAAAATATTGAAGTTTGATGCAACCCACAAATTTGGTATATATTTCAAAGTTATTGGT
TCGTGTTCAAACCGGTATATGCTAACAACCTAATATGCACTCGTGG

9/12

[FIG. 8-2]

DMTLR-3:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ)

(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 24, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 3)

GTGCTCCGTCAGAAITCGACGATCGTGTITTTGTTTCCCTTTTTACTTTAACTCTCTTCACTCTTCTTCCCTTCA
 TTCTCCTCTTCTGATGGGAAGCCATAGCAACGCGGAGAAAGATGAATCCGCCACCGAGACGGATGCTACAACA
 CGGCAGGGATCTCTCTGTGTACAGAGTCCAACACCGATTGCGACGCGAGACGTCTTGCCCTCCTCCTCCTCTG
 CGGACGTGAGTCAATTCGAAGAAGGAGAGAAAGTTTTAGCCAAACCACAAAGGTCGTTTCTACGAAGCCAAAGGT
 AATGTTATTTTTGTCTAAAATTGGAATGTTGTTTGTGCTTTTGTGTTTAAAATTGATCTTTGTTTTATGTTT
 TCAGGTTCTTGAAATTGCATTTAAAGACAATGAATGGAACATATTATGTGCATTACATTGTAAGTTTAGATTTT
 ATTTTGTTTTGGCTAACACGAATCTCTGTAAAGCATAAACAATAAAACACATTTATTGTTAATGCTGCCG
 TTATTATATTTTTGCCGTTTTCAATATGTAATCTTTGTATTTTCTTTGGTTTTTACAGGGTTGGAACAAAAG
 GTTAGTAGACCATCCGACAGTACTGTCACCTTACTGCCGGCTTTTTATTGTCTGAATAATCTTTCTGTACATTG
 CATCATCGGTCTGAATAATCATTTCTGCTGCTAAATCAAAACGTTTGCCAAGATTACAAGTTTTTTTTGTTTCT
 AATGCATTGATAATTTTCATGGTTTGATTATTGTTGTATATCTTTGTAATGATTAGTTATTTGIATGGACAGTT
 GGGACGAATGGATAGGTCATGATTGTGTGTTGAAACACACCGAGGAGAATATTAAAGAACAGGGTATTAAGCA
 AGGAGTCAAGAGTCTATCCCTTGGAGAGTGTCCAAGGTGAAACCTAGATGCCCTAATGGTCAGTGTCTGGG
 TCTTTTATTAGAGGCTTTGTTGCATGCTTTATAGATCATAATGCTAGATAATTATCATCATTCTCTTGTTAATAT
 ATTTTGCAGTTGCTAGAGGAAGAAAGCGGAAGCAAGATTCTGTTGATACACTAGTCTCTCCAATGGTGTTGAT
 TTTCTTTTCATTTTTCTCTAGATTCCAAGTTTCTTTCTATTGTTTTCTGATCAGTTTTTGCCCTGATTGTTTTT
 GTTGTGTTGCTGGATACAGGAGGAGAATTTGGTTGCTACAGACAACCTTTTAACTTTCAATATCCCGTCAGCGT
 TGAGGAAGCAACTCATCGACGATTATGAATTCGTACTCAGATGCAAAAGGTAGCTCTCGATTTCATTAGGTCC
 ATATATCAAGGAATTTATCAGTGACATTTTTTGTAACTTTATGTGAGCAGCTTGTGGAACCTTCTCGCTCGC
 CTAATGTGGATGATATCTTGAAGAAGTACACTGACAGCAAAATGAAGAAAGATGGCAGGTAAGCGCTTTGTTA
 ATGTCATTTTCAACAGTTAAAGAGTTATTTTCAGTACTTTCTTTTGGTGAGGTATGTAGGGTAAGCAATTGAG
 TAGAGGAGATTCTGAAAGGTTTTGCGTTGCTACTTTGACAATGCTTTGCCGGTGATGTTACTTTACAACAATGA
 GCGGAAGCAGTATGAGGAAAACGTATCTGAGGGTGTATCTCCCTCAACTGTGT

10/12

[FIG. 8-3]

DMTLR-4:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ)
 (TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 25, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO
 SEQ NO. 4)

TCAACATATAAGTACAAATCTAGCAACCGACTACTATTCAAAACCAGAGTCTTTTGCATCACTAAGTCAAGCA
ACTTTGATCTCTTTGGTTTTAAGTTTTCAAAGAAGCTATCTTTGGACGTGGATTGTTTGACAGAAGTATACATCT
 TTGGACTAAGTCTGTATGAAGTACTAGTAGAGAACCCTCGACTAAGTATGCAAGTATTACTAGGAAGATTCCATTTG
 CAGAATTTAAGATTTTGGTTTCTTAAATTTCTCGAAAGCTCCITGAATTTTGTATGCCAATCACTTTGAATG
 TGTTCCTTTTGGCTCCITAAAGTTAACCTTATTTGGAGTAAATATTGATCAAATTAGTATAAGTAACTGTGTA
 AGGCTTCACGTCTCCATCAATCATCCTGAACAATCACTGCTTTGGCTTAAACAAACTTGTAAATTATTTATAA
 GTTTTTTTTTATGAAACACAACTTTTCATTAACTACTCAAAACATTCCAACCTACAAATAAGGAAGGAGTTTAACCA
 AACTCTAACAACAAATAATAAAGCATACAAGCTAAAAGTAGAGAAACCTCTAAGATAGAATGACAGCGAACTC
 GAAGCATGGCTCGAATGGCTCGGAGCAAGACTCACAGCAGTGTAGAGGCTTGAATTTTAGTCACCTTTGTATC
 GTGACGTTAAGATCCATCCGCACCTCGGAATATCGTCGAAACGACATCCGTTGCATCTTCAGGCCCCGAACG
 GACCGCTAGACAATATGAACAAACGGCTATAGATAAAGATACACACCTCCATTTAGTGTTTGGGGGAAAAACA
 TTTCTCATAACTGAGGCATGGGGTAATACGACTCGCMTCTCCTGAGAGAAGTATGATAGTGTGAAAGTGGTG
 TAGATTGTCCCGATAAACCCACCGGTAAATAGAAACTTCGAAACTCTTCTTATAAGAGAGATAGGTGTGT
 ATGCATATCAACAGTTTCGGTAATATTTTCAGTGAACCCCGCGAAAAATATTAGCAAGTTGGACCAAATGACC
 AAATCCCCACACAAATGTGGGCTTTGAAACCGACAGACTTCTAAGAAATGGGCTGACCTTTTTATAACCTT
 TAATGGGCCAGGCCAGATAGTTATGTTGCTAAGGTTTGGGTACAAAAATTGTACGCCGCCGAGGCTAGTGTG
 GAGGAGATGAAGAGCGCGCGGGCTGAAGCTGGTCTCATCGAGTGAACGGTTTGCAGCAAAAGCAGATCG
 GAGAAGAGATGTAGCCTTTGATAGTACAGAAGCTCTCGCGGAGTAACAGTCAAGATAGACGTCTGACGGAGT
 AATGATGATGAGGCGTGAAGAGGAAAGCACAACCTCATTGTACCTCGTGCTTTTTGAAGTGTCTCGTGGATC
 AAATGTGGAACC

11/12

[FIG. 8-4]

DMTLR-5:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ.)
(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 26, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 5)

TTTTCAGGTAGTTCCTCTCATATTATGTATGTTGAGTTTACTGTCCCTATTGAGTTTGTGCAATTTCTTAT
ATATTTCTCTGCAATATTGTCCTTGATGAGTTTATTGTCTCCCTTCTTTTTCAGTAAATTCAGTTTCGTTTAA
TTTATCTATTGAATTTATTGTGCTATTGAATTTTCTGACGTATTCTCTGCGATCACTCAATTTACTGTCTC
TGTTGAGTTTCTCATTCTTCCATTGAGATATATGTAGAAACAACAATTCATATAAGTCATCTGTTGCTC
TATCATAGTAGCGTAAAGGTATCTTCCAAATTGACTTGGCATCCATATTAGAGAGACGTCAATGAATATAAG
TAGTATTTACAATAAATTCGTCTGATTTACAAATGCTTCCAAGCGTACGTGTATACCAATGTTGGCTAAA
GATAAATGCCAAGGTTGGTGTACTGAATTGCTTGTAACTATGGAGCGTTCCACCAGCAATGCCATTAGTAACA
CAAGTTCTTAGCATTATTGCTGGGATGGATGTACCATCAGTTGATGCGATTGTGAGCTCCATACCAATGGCCAC
TCGTATCAAAATAAAGGGCATGTGTGTATGCGTACACAATTTGT

DMTLR-6:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ.)
(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 27, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 6)

ATGAGGAGGCTGAAGTGGCTCGTTTCTGCAGCAIACITCAACTCAAGCTGCAGCAAATGGAAACGATTAGTG
AGGAATGCCAACGGAAGCTTCCGCTTCCGAACAAGAACATAGTACATAAAGAGAAGGACACTAAGTACCTTGT
TCCATGTCCACTGCTGAGGCAATCGGAACAGGTTTAGAGTTGAGATTGAGCTTCTGATAACAAGTCTCCAC
TTGTCGTACTTGTGCTCAGTCAACAACTCTCAACACAGTGGATAAACGGGAAATGATCGCTCTACAAAATAA
AAATGTAACGATCTCACACTAACTACGCTTCACCAAAACAAAAGATCACCAATCAAATCTCATCATCCTACTTA
CCAAATTTAGGCCACGCATCAATCGCACAGGCTTCAACTGTATCCAAAAGGCATTCAAACGCACCGTGTGCAA
CAAATTAGCAACAATGTTTAAACGTAATCTCGCTACAAGCATGCATGATAACGAAACGAGATCTTAGATACAAA
CAACATCTTAAATAAATTTAATCAAATTATCGACAATGTTAATGTAATCGCTACAATCATGCATGATGACGA
AACGAGATCTCAGATTCAAACAACACCACAATAACAAATTGAAGCTCTAATTTAATCAAATCAGGATACATGG
AAAGGTGTGAGAGACCTGGCAACGGCAGTGACATTATCGGAGCGGAGCTTGGTGTACCCACGGAGATAG
ATGGAGATCGACGATTGATATGAGATCGTCTTCGAAGAGCTTCGTGAGGTGGTTAACGATGAAGGAAGAA

12/12

[FIG. 8-5]

DMTLR-7:

(PHẦN GẠCH CHÂN CHỈ RA VỊ TRÍ MỖI ĐƯỢC THIẾT KẾ THEO SÁNG CHẾ)
(TOÀN BỘ TRÌNH TỰ THEO SEQ. 28, VÀ VỊ TRÍ MỖI VÀ TRÌNH TỰ KẸP GIỮA MỖI THEO SEQ NO. 7)

CTTACACAACCCAAACAACCATACACTTTGTGATATATAGATAATAATTAATACAGATTTCATCATATCTCGGAA
TCTATATAGATTTTAGAGAGTTATCATGTTACATATCACAAAAGAAAGAGAAGGTGTTTATAGAAAGCCTGT
GTACGACAAACAAGAGGTTTTGACACGTTCCAAACAAATCCCACATCCTGTTGACACCGTTCCGGCAAACCCAGA
GGGAAGCGATTTCATTTAGCACTTCGAATGAAGTGGCTGGATGAGTATTTGGCACACGCGTCAGGCTTTTAG
CAGCTTTTGAAGCTTTGCAGATGTAGCTTATGAAGTTCTCATAATCCTGCAATGAACACACAGAAAAAACTG
TGGTGAAGTTCAGAGCCAAAGAAATATCAAGCACACACACACAAAAAAGTTTATGTTCCCATTTGATCACATCCA
TTTTCTATTGATCATGCTCTCATGAAGACACTTCAGTTCTCGTCTGCTAACTACAGTTTACAAAGAACATTA
GATACACATTTGGTAATCGCAACATACATTTGACCCAAAAAATGGTAAGTCAATTAAATTTCTCCACGCTA
ATCTATGATAACCCCTATAAAACATGCTTCTCTCATTAGTTTAGTTAACTAGAAAGATGACCCAACTCTCTAAA
TACACTAAATCCAAAGTGTTCACAAACCGAATTCCAAATCAGTCTAAGTATGAATGACTAACAAAGTTAATAT
AGACACATCATTTATAAACAGGGAGTAAGAGAGCGTAAATTAGTCTAAGTAAGAACTCAGTAGAATCTAAAAA
GGATCCTATTCCAAACGAACCTCATAAAGCGGCTGACCATCAACCACTACCCAGGGAAACGTAAGTATGAGGAG
GCTGAAGTGGCTCGTTCTGACAGCATACTTCAACTCAAGCTGCAGCAAATGGAAACGATTAGTGAGGAATGC
AACGGAAGCTTCCGCTTCCGAAACAAGACATAGTACATAAAGAGAAGSACACTAAGTACCTTGTCTCCATGTC
CACTGCTGAGGCAATCGGAAACAGGTTTAGAGTTGAGATTGAGCTTCTGATAACAAGTCTCCCACTTGTCTGTA
CTTGTGCTCAGTCACCAAACTCTCAACACAGTGGATAAACGGGAAATGATCGCTCTACAAAATAAAAAATGTAA
CGATCTCAGACTAAGTACGCTTCAACCAACAAAAAGATCACAAATCAAATCTCATCATCTTACTTACCAATTTA
GGCCACGCATCAATCGCACAAAGCTTCAACTGTATCCAAAAGGCATTCAAACGCACCGTGTGCAACAAATTTAG
CAACAATGTTTAAAGTAACTCTCGCTACAAGCATGCATGATAACGAAACGAGATCTTAGATACAAACAACATCT
TAAATAAATTTAATCAAATTTATCGACAATGTTTAAATGTAATCGCTACAATCATGCATGATGACGAAACGAGAT
CTCAGATTCAAACAACACCACATACAAATTTGAAGCTTAATTTAATCAAATCAGGATACATCGGAAAGGTGT
GAGAAGACCTGGCAACGGCAGTGACATTTATCGGAGCGGAGCTTGGTGTACCCACCGGAGATAGATGGAGAT
CGAGGATTGATATGAGATCGTCTTCGAAGAGCTTCTGAGGTGGTTAAGGATGAAGGAAGAAGTACGGACA
TAGAGACTCGTAGTACAGTCCCAAGCGACACTTTCGGAGAAGATGGCAGGTGAGATGATGATGACGATGATGAT
ACGAAGAAGATCAGAGAAACCTAGCAGAATAGGAGAAAGAAGCTTGTCTCGTGGAAATCGACGCCATGATTG
CAAAGAGAAGCAACCTCTGTTGTATCGTCTTCTGCTCTCTCTTAAATAACACGCATCTCGATATGCTCGGTG
CGAAACAGATGACAATAACCGATAAGGCCCGTCTCATTCTTTGTGTGGCCCTTGTTCAAAGCCTAAATACTAA
TTATAAATTTTATAAAAGCCCCAAACGTTTATAACAAAGGCTCCGAATACTTAGTAAAAATTTCTTTTGGACCA
AGTGCAATATACATCAAATTTAGCTACATTAATTTTTGGGTAAAGCAGTTGACCGAGAAATTAAGAGTGAACA
TATACATCAAGCTTGGAAATCAATCTCATACATGTGATGAAGTAGAGGACCAATAAATACTTGTATGTCCA
TTGCTTAGGCAAGGAGGGACATGGATTATATAACCTCATGTATACAGATTATATATCAAATGAAATTTTAG
GCTATTGGAGTACGTGAAGGATTTGATCAACAAGACTGAGACTGACGACGAGGTAAGCAAGTTGGGTAGGATG
AATGTCTGCTCCAGAAAAGGTAGTCTTAGCGTCCGGACAAAGTCCGAGTTAAAGGATTGCACAAGTATGATAGC
TCCAGCTCTCTGTTCCGAGCATCCTCTCGTTGCTCTCTTTATCTCTGCTCTTTCGAAAAATCGATTTCAG
ACCAAGAAAAATGCACGGTATATGGCTATATAACAACTGTAGACTCATAACCTGTAATGGGAGCACATGG
ATTATAAACTCACCTTAGTTATTTGTAATAATTAATCTTTCCACTTAATTTATATGAAATGACGTCAACATAAAAA
TAGATATAATGAAAAATAATATGTATCATAGTGATTTGTCTATTATCATGATATCATCATGTTTAAACCAA
CAATACATAGTTTTTTTTTAGCAATACATATATTATTAACGAAAAAATTTATATAGTAATGTTTTAAT
TGTGGATAGCCACAAAGTATAATACGTAATTAACAAATGCAAAATGAGTTCTATATCCAGGCCAAGCCACCT