



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121371** (13) **C2**
(51) МПК (2020.01)
C12N 15/82 (2006.01)
A01H 5/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2013 08956	(73) Власник(и):	БАСФ АГРО Б. В. , Groningensingel 1, NL-6835 EA Arnhem, Germany (DE)
(22) Дата подання заявки:	15.12.2011	(74) Представник:	Пахаренко Олександр Володимирович , реєстр. №136
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.05.2020	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 01/68826 A2, 20.09.2001 WO 98/29554 A1, 09.07.1998 WO 97/04088 A1, 06.02.1997 WO 98/33927 A1, 06.08.1998 WO 97/32011 A1, 04.09.1997 WO 01/12815 A1, 22.02.2001 CN 1036571 A, 25.10.1989 Patzoldt, W.L. et al., "A codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase.", PNAS., 15.08.2006, vol. 103, no. 5, P. 12329-12334 Jung, H.I. et al., "Resistance mechanisms in protoporphyrinogen oxidase (PROTOX) inhibitor-resistant transgenic rice.", Journal of Plant Biology., 10.2007, vol. 50, no. 5, P. 586- 594 Li, X.G. et al., "Development of protoporphyrinogen oxidase as an efficient selection marker for Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of maize.", Plant Physiology, 10.2003, vol. 133, P. 736-747 Huang M.Z. et al., "Synthesis and herbicidal activity of isoindoline-1,3-dione substituted benzoxazinone derivatives containing a carboxylic ester group.", J. Agric. Food Chem., 2009, vol. 57, no. 20, P. 9585-9592
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/423604		
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	16.12.2010		
(33) Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.09.2013, Бюл.№ 17		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.05.2020, Бюл.№ 10		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IB2011/055701, 15.12.2011		
(72) Винахідник(и): Хутцлер Йоханнес (DE), Апonte Рафаель (CA/DE), Мітцнер Томас (DE), Вічель Маттіас (DE), Сімон Аня (DE), Лерхль Єнс (DE), Треш Штефан (DE), Манкін С. Люк (US)			

(54) СТІЙКА ДО ГЕРБІЦИДІВ ТРАНСГЕННА РОСЛИНА, ЯКА МІСТИТЬ МУТАНТНУ ПРОТОПОРФІРИНОГЕНОКСИДАЗУ**(57) Реферат:**

Винахід стосується клітини трансгенної рослини, трансформованої нуклеїновою кислотою, що кодує mut-PPO, де експресія нуклеїнової кислоти в клітині рослини приводить до підвищеної стійкості або толерантності до гербіциду, що походить з бензоксазину, в порівнянні з рослинною клітиною дикого типу. Винахід також стосується трансгенної рослини, яка експресує мутантну або рекомбінантну mut-PPO, та способу продукування трансгенної рослини.

UA 121371 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВІНАХІД

Даний винахід стосується в цілому способів надання рослинам сільськогосподарського рівня толерантності до гербіциду. Зокрема, винахід відноситься до рослин, що мають підвищену толерантність до гербіцидів, що є "похідним бензоксазину". Більш конкретно даний винахід відноситься до способів і рослин, отриманих в результаті мутагенезу, схрещування та трансформації, що мають підвищену толерантність до гербіцидів, що є "похідними бензоксазину".

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВІНАХОДУ

Гербіциди, які інгібують оксидазу протопорфіриногену (надалі іменований як Protox або PPO; EC:1.3.3.4), що є ключовим ферментом в біосинтезі протопорфірина IX, використовуються для селективної боротьби з бур'янами з 1960 року. PPO каталізує останній загальний етап в біосинтезі хлорофілу і гему, який окислює протопорфіриноген IX в протопорфірин IX. [Matringe et al. 1989. Biochem. 1. 260: 231]. PPO-інгібуючі гербіциди включають багато різних структурних класів молекул [Duke et al. 1991. Weed Sci. 39: 465; Nandihalli et al. 1992. Pesticide Biochem. Physiol. 43: 193; Matringe et al. 1989. FEBS Lett. 245: 35; Yanase and Andoh. 1989. Pesticide Biochem. Physiol. 35: 70]. Ці гербіцидні сполуки включають дифенілові естери {наприклад, лактофен, (+)-2-етокси-1-метил-2-оксоетил 5-{2-хлор-4-(трифторметил)фенокси}-2-нітробензоат; ацифлуорфен, 5-{2-хлор-4-(трифторметил)фенокси}-2-нітробензойну кислоту; її метиловий естер; або оксифлуорфен, 2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторбензол)}, оксидіазоли (наприклад, оксидіазон, 3-{2,4-дихлор-5-(1-метилетоксі)феніл}-5-(1,1-диметилетил)-1,3,4-оксидіазол-2-(3H)-он), циклічні іміди (наприклад, S-23142, N-(4-хлор-2-фтор-5-пропаргілоксифеніл)-3,4,5,6-тетрагідрофталімід; хлорфталім, N-(4-хлорфеніл)-3,4,5,6-тетрагідрофталімід), фенілпіразоли (наприклад, THPP-етил, етил 2-{1-(2,3,4-трихлорфеніл)-4-нітропіразоліл-5-окси}пропіонат; M&B 39279), похідні піридину (наприклад, LS 82-556) і фенопілат та його О-фенілпіролідіно- та піперидинкарбаматні аналоги. Багато з цих сполук конкурентно інгібують звичайні реакції, що каталізуються ферментом, які, можливо, виступають в якості аналогів субстрату.

Застосування PPO-інгібуючих гербіцидів призводить до накопичення протопорфіриногену IX в хлоропластах і мітохондріях, які, як вважають, потрапляють в цитозоль, де він окислюється пероксидазою. Під впливом світла протопорфірин IX викликає утворення синглетного кисню в цитозолі та утворює інші реактивні види кисню, які можуть викликати перекисне окислення ліпідів та руйнування мембран, що призводить до швидкої загибелі клітини [Lee та ін. 1993. Plant Physiol. 102: 881].

Не всі PPO ферменти чутливі до гербіцидів, які інгібують рослинні ферменти PPO. Обидва PPO ферменти *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis* [Sasarmen та ін. 1993. Can J. Microbiol. 39: 1155; Dailey та ін. 1994. J. Biol. Chem. 269:813] стійкі до цих гербіцидних інгібіторів. Були зареєстровані мутанти одноклітинної водорості *Chlamydomonas reinhardtii*, стійкі до фенілімід гербіцидів S-23142 [Kataoka et al. 1990. J. Pesticide Sci. 15: 449; Shibata et al. 1992. In Research in Photosynthesis, Vol. III, N. Murata, ed. Kluwer; Netherlands. pp. 567-70]. Принаймні один з цих мутантів, як виявилось, має змінену активність PPO, і який стійкий не тільки до гербіцидного інгібітору, на якому мутант був обраний, але також і до інших класів інгібіторів протокса [Oshio et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c:339; Sato et al. 1994. В ACS Symposium on Porphyrin Pesticides, S. Duke, ed. ACS Press: Washington, D.C.]. Лінії клітин мутантного табаку також стали відомі як резистентні до інгібітора S-21432 [Che et al. 1993. Z. Naturforsch. 48C: 350]. Ауксотрофічні мутанти *E.coli* були використані для підтвердження стійкості до гербіцидів клонованих рослинних PPO.

Три основні стратегії доступні для створення рослин, толерантних до гербіцидів, тобто (1) детоксикація гербіцидів з ферментом, який перетворює гербіцид або його активний метаболіт у нетоксичні продукти, такі як, наприклад, ферменти для толерантності до бромоксінілу або до басті [EP242236, EP337899]; (2) мутації ферменту-мішені в функціональному ферменті, який менш чутливий до гербіциду, або його активного метаболіту, такого як, наприклад, ферментів для толерантності до гліфосату [EP293356, Padgett S.R. та ін., J.Biol. Chem., 266, 33, 199]; або (3) гіперекспресія чутливого ферменту таким чином, щоб кількість цільового ферменту в рослині була достатньою по відношенню до гербіциду, зважаючи на кінетичну константу цього ферменту, так, щоб мати достатньо доступного функціонального ферменту, незважаючи на чутливість його інгібітору. Третя стратегія була описана для успішного отримання рослин, які були стійкі до PPO інгібітора [див., наприклад, US5,767,373 або US5,939,602, і патенти аналоги]. Крім того у US 2010/0100988 і WO 2007/024739 розкривають нуклеотидні послідовності, що кодують амінокислотні послідовності, які мають ферментативну активність таким чином, що

амінокислотні послідовності стають стійкими до гербіцидних хімічних речовин PPO інгібіторів, зокрема до 3-фенілурацилу, інгібітора конкретних мутантів PPO.

На сьогоднішній день в попередньому рівні техніки не описані рослини, які толерантні до гербіцидних похідних бензоксазину рослин, що містять принаймні одну дикого типу нуклеїнову кислоту або PPO-мутацію. Також не описано у попередньому рівні техніки культурні рослини, що толерантні до гербіцидних похідних бензоксазину, що містять мутації в геномах, крім геному, з якого PPO ген походить. Таким чином, існує потреба в даній області в ідентифікації генів, толерантних до гербіцидних похідних бензоксазину з додаткових геномів та видів. Також необхідним в даній галузі є культурні рослини та культурні рослини, що володіють підвищеною стійкістю до гербіцидів, таких як похідних бензоксазину гербіцидів і містять принаймні одну нуклеїнову кислоту дикого типу та/або мутантного PPO. Також необхідні методи контролю бур'янів в безпосередній близькості від таких культурних рослин або сільськогосподарських культур. Ці композиції і методи дозволені для використання розпиленням методами при застосуванні гербіцидів для областей, що містять культурні та сільськогосподарські рослини.

СУТЬ ВІНАХОДУ

Завдання вирішується представленням винаходом, який відноситься до способу контролю небажаної рослинності на ділянці для вирощування рослин, що включає наступні стадії:

а) забезпечення у вказаній ділянці рослини, яка містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, яка кодує протопорфіриногеноксидазу (PPO) дикого типу або мутацію протопорфіриногеноксидазу (mut-PPO), яка є стійкою або толерантною до гербіцидних похідних бензоксазину,

б) нанесення на вказані ділянки ефективного кількості зазначеного гербіциду.

Крім того, даний винахід стосується способу ідентифікації гербіцидних похідних бензоксазину при використанні дикого типу або mut-PPO, що кодується нуклеїною кислотою, яка включає нуклеотидні послідовності SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, або 45, або їх варіанти.

Зазначений спосіб включає такі стадії:

а) генерації трансгенних клітин або рослин, що містять нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO, що відрізняється тим, mut-PPO є експресованим;

б) використання гербіцидних похідних бензоксазину до трансгенних клітин або рослин, а також контроль клітин або рослин того ж виду;

с) визначення росту або життєздатності трансгенних клітин або рослин і контрольних клітин або рослин після застосування зазначеної тест-сполуки; і

д) відбір тестованих сполук, які призводять до зниження росту в контрольних клітинах або рослинах в порівнянні з ростом трансгенних клітин або рослин.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, яка кодує mut-PPO, що є стійким або толерантним до гербіцидних похідних бензоксазину, що містить етапи:

а) генерування бібліотеки нуклеїнових кислот, що кодують mut-PPO,

б) скринінг популяції отриманих нуклеїнових кислот, що кодують mut-PPO, шляхом експресії кожної із зазначених нуклеїнових кислот у клітині або рослині та обробку вказаних клітин або рослин гербіцидним похідним бензоксазину,

с) порівняння рівнів толерантності гербіцидного похідного бензоксазину, поширених у частині популяції нуклеїнових кислот, що кодують mut-PPO з рівнем толерантності до гербіцидного похідного бензоксазину, поширеним у контролі нуклеїнових кислот, що кодують PPO,

д) вибір щонайменше однієї нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO, яка забезпечує значно підвищений рівень стійкості до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з впровадженням контролем нуклеїнової кислоти, що кодує PPO.

У переважному варіанті здійснення, нуклеїнова кислота, що кодує mut-PPO, вибрана на стадії d), забезпечує щонайменше в 2 рази більше толерантності до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з впровадженням контролем нуклеїнової кислоти, що кодує PPO.

Стійкість або толерантність може бути визначена шляхом генерації трансгенних рослин, що містять бібліотеки послідовності нуклеїнової кислоти на стадії а) і порівняння зазначеної трансгенної рослини з контрольною рослиною.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації рослини або водорості, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO, що є стійкою або толерантною до гербіцидного похідного бензоксазину та включає етапи:

а) визначення ефективного кількості гербіцидного похідного бензоксазину в культурі клітин рослин або зелених водоростей.

b) обробку зазначеної клітини рослини або зеленої водорості з мутагенізуючим агентом,
c) контактування зазначеної популяції мутантних клітин з ефективною кількістю гербіцидного похідного бензоксазину, зазначених у а)

d) вибір щонайменше однієї клітини, що залишилася живою в цих умовах випробувань,
5 е) ПЛР-ампліфікацію і секвенування генів PPO з клітин обраних в D) і порівняння цих послідовностей з послідовністю дикого типу генів PPO відповідно.

У переважному варіанті мутагенізуючим агентом є етилметансульфонат.

Інший об'єкт стосується виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO, нуклеїнова кислота ідентифікована за способом, як визначено вище.

10 В іншому варіанті винахід стосується рослинної клітини, що трансформована дикого типу або mut-PPO нуклеїновою кислотою або рослини, яка була мутована для отримання експресії рослини, переважно з надекспресією дикого типу або mut-PPO нуклеїнової кислоти, в якій експресія нуклеїнової кислоти в клітині рослини призводить до збільшення стійкості або толерантності до гербіциду, що є похідним бензоксазину, порівняно з варіантом дикого типу
15 рослинної клітини.

В іншому варіанті здійснення даний винахід відноситься до рослин, що включають рослинні клітини відповідно до даного винаходу, в яких експресія нуклеїнових кислот в рослині призводить до підвищеної стійкості рослин до гербіциду, що є похідним бензоксазину, в порівнянні з варіантами рослин дикого типу.

20 Рослини представленого винаходу можуть бути як трансгенними, так і нетрансгенними.

Переважно експресія нуклеїнової кислоти у рослин призводить до підвищення стійкості рослин до гербіциду, що є похідним бензоксазину, в порівнянні з варіантами рослин дикого типу.

В іншому варіанті винахід стосується отримання насіння трансгенної рослини, що містить рослинну клітину за даним винаходом, у якому насіння розмножується гомозиготно для підвищеної резистентності до гербіциду, що є похідним бензоксазину, в порівнянні з
25 варіантами рослин дикого типу.

В іншому варіанті здійснення винахід стосується способу одержання клітини трансгенної рослинної з підвищеною стійкістю до гербіциду, що є похідним бензоксазину, в порівнянні з
30 варіантами клітин рослин дикого типу, що включає трансформацію рослинної клітини експресійною касетою, що містить нуклеїнові кислоти дикого типу або mut-PPO.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання трансгенної рослини, що включає в себе: (а) трансформацію рослинної клітини касетою експресії, яка містить нуклеїнові кислоти дикого типу або mut-PPO, і (b) отримання рослин з підвищеною
35 стійкістю до гербіциду, що є похідним бензоксазину, з рослинної клітини. Переважно експресійна касета додатково містить регуляторні області ініціації транскрипції та регуляторні області ініціації трансляції, які є функціональними в рослині.

В іншому варіанті винахід стосується використання mut-PPO винаходу в якості селективного маркера. Винахід відноситься до методу виявлення або вибору трансформованої рослинної
40 клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, що складається з а) отримання трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або частини її, в якій вказана трансформована рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або частина її містить ізольовану нуклеїнову кислоту, яка кодує поліпептид mut-PPO за винаходом, як описано нижче, де поліпептид використовується у якості селективного маркера і де зазначена трансформована
45 рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або частина її може додатково вміщувати ізольовану нуклеїнову кислоту за інтересом; b) контактування трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або частини її з принаймні однією сполукою, що інгібує похідні бензоксазину; c) визначення, чи є рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або частина рослини залежною від інгібітора або сполуки, здатної інгібувати; та d) визначення або
50 вибір трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або частини її.

Винахід також реалізується в очищених mut-PPO білках, які містять мутації, що описані тут, які можна використовувати в дослідженнях молекулярних моделей для проектування подальшого поліпшення стійкості до гербіцидів. Методи очищення білків є дуже відомими і можуть бути легко виконані з використанням комерційно-доступних продуктів або спеціально
55 розроблених методів, як викладено, наприклад, у Protein Biotechnology, Walsh and Headon (Wiley, 1994).

КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

60 Фігура 1 показує вирівнювання послідовності амінокислот *Amaranthus tuberculatus* (*A.tuberculatus*), *Amaranthus tuberculatus* стійке (*A.tuberculatus_R*), *Arabidopsis thaliana* довге (*A.thaliana_2*), *Spinacia oleracea* коротке (*S.oleracea_2*), *Nicotiana tabacum* коротке

(N.tabacum_2), гліцин максимальне (Glycine_max), Arabidopsis thaliana коротке (A.thaliana_1), Nicotiana tabacum довге (N.tabacum_1), Chlamydomonas reinhardtii довге (C.reinhardtii_1), Zea mays (Z.mays), Oryza sativa (O.sativa_1), Solanum tuberosum (S.tuberosum), Cucumis sativus (C.sativus), Cichorium intybus (C.intybus_1), Spinacia oleracea довге (S.oleracea_1), Polytomella sp. Pringsheim 198.80 (Polytomella) PPO послідовності. Збережені ділянки виділено світло-сірим, сірим та чорним кольорами.

На Фігурі 2 показано штам Chlamydomonas reinhardtii, стійкий до гербіциду, що є похідним бензоксазину, 1.а.35 гербіциду. (А) Мутагенізовані клітини висівають на тверде середовище без селективного агента. (В) Мутагенізовані клітини висівають на тверде середовище, що містить 1×10^{-7} М похідної бензоксазину I. а.35. Клітини, які стійкі до гербіциду, що є похідним бензоксазину, формують колонії (в колі і пронумеровані 33, 34, 35 і 36), тоді як чутливі клітини не ростуть. Найбільше число колоній на планшеті А, в порівнянні з планшетом В, показує наскільки колонія В стійка до гербіциду, що є похідним бензоксазину, I. а.35.

Фігура 3 показує повторний ріст вибраних штамів Chlamydomonas reinhardtii, як показано на Фігурі 2, стійких до гербіциду, що є похідним бензоксазину, I. а.35. (А) Клітини дикого типу у рідкому середовищі без селективного агента. (В) Клітини дикого типу у рідкому середовищі, що вміщує більше похідної бензоксазину I. а.35 (від 1×10^{-9} до 5×10^{-6} М). (С) Мутагенізовані клітини у рідкому середовищі без селективного агента. (D1, D2, E1, E2) Мутагенізовані та вибрані штами у рідкому середовищі, що містять збільшену кількість похідної бензоксазину I. а.35 (від 1×10^{-9} - 5×10^{-6} М). Штами, що стійкі до похідної бензоксазину I. а.35. Культури темного кольору показують ріст. Чутливих штамів не має в культурі та вони відмічені світлим кольором. Більш високу щільність клітин у рідкому середовищі з клітинами, які ростуть, відмічено темним кольором. Низька щільність культури відмічена світлим або забарвлення відсутнє.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

Таблица 1

SEQ ID N	Опис	Організм	Ген	Номер доступу
1	Нуклеїнова кислота PPO	Amaranthus	PPX2L_WC	DQ386114
2	Амінокислота PPO	Amaranthus		ABD52326
3	Нуклеїнова кислота PPO	Amaranthus	PPX2L_AC	DQ386117
4	Амінокислота PPO	Amaranthus		ABD52329
5	Нуклеїнова кислота PPO	Amaranthus	PPX2L_CC_R	DQ386118
6	Амінокислота PPO	Amaranthus		ABD52330
7	Нуклеїнова кислота PPO	Amaranthus	PPX2L_AC_R	DQ386116
8	Амінокислота PPO	Amaranthus		ABD52328
9	Нуклеїнова кислота PPO	Arabidopsis	PPX	AB007650
10	Амінокислота PPO	Arabidopsis		BAB08301
11	Нуклеїнова кислота PPO	Nicotiana	ppxl	AF044128
12	Амінокислота PPO	Nicotiana		AAD02290
13	Нуклеїнова кислота PPO	Cichorium	PPX1	AF160961
14	Амінокислота PPO	Cichorium		AF160961_1
15	Нуклеїнова кислота PPO	Spinacia	SO-POX1	AB029492
16	Амінокислота PPO	Spinacia		BAA96808
17	Нуклеїнова кислота PPO	Spinacia	SO-POX2	AB046993
18	Амінокислота PPO	Spinacia		BAB60710
19	Нуклеїнова кислота PPO	Solanum	PPOX	AJ225107
20	Амінокислота PPO	Solanum		CAA12400
21	Нуклеїнова кислота PPO	Zea	ZM_BFc0091B03	BT063659
22	Амінокислота PPO	Zea		ACN28356
23	Нуклеїнова кислота PPO	Zea	prpo2	NM_001111534
24	Амінокислота PPO	Zea		NP_001105004
25	Нуклеїнова кислота PPO	Chlamydomonas	Ppx1	AF068635
26	Амінокислота PPO	Chlamydomonas		AAC79685
27	Нуклеїнова кислота PPO	Polytomella	PPO	AF332964
28	Амінокислота PPO	Polytomella		AF332964_1
29	Нуклеїнова кислота PPO	Sorghum	Hyp. Protein	XM_002446665
30	Амінокислота PPO	Sorghum		XP_002446710
31	Нуклеїнова кислота PPO	Chlorella		

32	Амінокислота PPO	Chlorella		51538
33	Нуклеїнова кислота PPO	Oryza	PPOX1	AB057771
34	Амінокислота PPO	Oryza		BAB39760
35	Нуклеїнова кислота PPO	Amaranthus	PPX2	DQ386113
36	Амінокислота PPO	Amaranthus		ABD52325
37	Нуклеїнова кислота PPO	Arabidopsis	PPOX	NM_178952
38	Амінокислота PPO	Arabidopsis		NP_849283
39	Нуклеїнова кислота PPO	Nicotiana	ppxII	AF044129
40	Амінокислота PPO	Nicotiana		AAD02291
41	Нуклеїнова кислота PPO	Glycine	hemG	AB025102
42	Амінокислота PPO	Glycine		BAA76348
43	Нуклеїнова кислота PPO	Cucumis	CsPPO	AB512426
44	Амінокислота PPO	Cucumis		BAH84864.1
45	Нуклеїнова кислота PPO	Oryza	Hyp. Protein	AL606613
46	Амінокислота PPO	Oryza		CAE01661

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС

Використання граматичних форм однини може бути використано і для позначення множини (наприклад, щонайменше один). Між іншим, наприклад, слово "елемент" може означати один або більше елементів.

Як використано тут, слова "містить" або його варіанти, такі як "вміщує" або "складається" слід розуміти включення зазначеного елемента, цілого або стадії, групи елементів цілих або стадій, але не виключає будь-якого іншого елемента цілого або стадії, групи елементів цілих або стадій. Представлений винахід відноситься до методу контролю небажаної рослинності на ділянці для вирощування рослин, що включає етапи:

а) отримання у вказаній ділянці рослини, що містить принаймні одну нуклеїнову кислоту, яка включає нуклеотидну послідовність, що кодує протопорфіриногенну оксидазу або мутовану протопорфіриногенну оксидазу (mut-PPO), що є стійкою або толерантною до гербіциду, що є похідним бензоксазину;

б) нанесення на вказану ділянку ефективну кількість зазначеного гербіциду.

Термін "контроль небажаної рослинності" слід розуміти як знищення бур'янів та/або інше, що гальмує або інгібує нормальний ріст бур'янів. Під "бур'янами" слід розуміти всі рослини, які ростуть там, де їх поява є небажаною.

Бур'яни в представленому винаході включають, наприклад, дводольні та однодольні бур'яни. Дводольні бур'яни включають, але не обмежують, бур'яни родин: Sinapis, Lepidium, Galium, Stellaria, Matricaria, Anthemis, Galinsoga, Chenopodium, Urtica, Senecio, Amaranthus, Portulaca, Xanthium, Convolvulus, Ipomoea, Polygonum, Sesbania, Ambrosia, Cirsium, Carduus, Sonchus, Solanum, Rorippa, Rotala, Lindernia, Lamium, Veronica, Abutilon, Emex, Datura, Viola, Galeopsis, Papaver, Centaurea, Trifolium, Ranunculus, та Taraxacum. Однодольні бур'яни включають, але не обмежують, бур'яни родин: Echinochloa, Setaria, Panicum, Digitaria, Phleum, Poa, Festuca, Eleusine, Brachiaria, Lolium, Bromus, Avena, Cyperus, Sorghum, Agropyron, Cynodon, Monochoria, Fimbristylis, Sagittaria, Eleocharis, Scirpus, Paspalum, Ischaemum, Sphenoclea, Dactyloctenium, Agrostis, Alopecurus, та Apera. Додатково бур'яни представленого винаходу можуть включати, наприклад, культурні рослини, які ростуть в небажаному місці. Наприклад, вільні рослини кукурудзи, які ростуть на полі, де вирощують сою, та рослини кукурудзи там будуть небажаними.

Термін "рослина" застосовується у найширшому розумінні стосовно органічного матеріалу і призначений для охоплення еукаріотичних організмів, які входять до Царства рослин, приклади яких включають, але не обмежують судинні рослини, овочі, круп'яні, квіти, дерева, трави, чагарники, злакові, виноград, папороті, мохи, гриби і водорості, і т. д., а також клони, пагони і частини рослин, які використовують для безстатевого розмноження (наприклад, живці, стебла, пагони, кореневища, підземні стебла, бульби, верхівки, цибулини, кореневища, бульбоцибулини, рослини/тканини, що вирощені з культури тканин і т. д.). Термін "Рослини" додатково охоплює цілі рослини, предків і нащадків рослин і частин рослин, включаючи насіння, пагони, стебла, листя, коріння (у тому числі бульби), квіти, квіточки, фрукти, ніжки, плодоніжки, тичинки, пиляк, стигма, маленькі стебла, зав'язь, пелюстки, чашолистки, маточки, кінчик кореня, корінний цоколь, волосяне коріння, волосяне листя, волосяне насіння, пилки, мікроспори, сім'ядолі, гіпокотиль, епікотиль, ксилеми, флоєми, паренхіми, ендосперм, клітину-супутник, клітину охоронець і будь-які інші відомі органи, тканини і клітини рослин і тканин, і органів, де кожен з вищезазначених включають ген/нуклеїнову кислоту заявленого. Термін "рослина"

охоплює також клітини рослин, суспензійних культур, калюс, ембріони, меристематичні області, гаметофіти, спорофіти, пилок і мікроспори, знову ж таки, де кожна з вищезазначених включає ген/нуклеїнову кислоту за винаходом.

Рослини, які особливо корисні в способах за винаходом, включають всі рослини, які належать до царства Viridiplantae, зокрема однодольні і дводольні рослини, включаючи кормові або кормові бобові культури, декоративні рослини, продовольчі культури, дерева і чагарники, вибрані зі списку, що містить: *Acer* spp., *Actinidia* spp., *Abelmoschus* spp., *Agave sisalana*, *Agropyron* spp., *Agrostis stolonifera*, *Allium* spp., *Amaranthus* spp., *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Annona* spp., *Apium graveolens*, *Arachis* spp., *Artocarpus* spp., *Asparagus officinalis*, *Avena* spp. (e.g. *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*), *Averrhoa carambola*, *Bambusa* sp., *Benincasa hispida*, *Bertholletia excelsa*, *Beta vulgaris*, *Brassica* spp. (e.g. *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [канола, олійна ріпа, масельна ріпа]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum* spp., *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macrocarpa*, *Carya* spp., *Carthamus tinctorius*, *Castanea* spp., *Ceiba pentandra*, *Cichorium endivia*, *Cinnamomum* spp., *Citrullus lanatus*, *Citrus* spp., *Cocos* spp., *Coffea* spp., *Colocasia esculenta*, *Cola* spp., *Corchorus* sp., *Coriandrum sativum*, *Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Crocus sativus*, *Cucurbita* spp., *Cucumis* spp., *Cynara* spp., *Daucus carota*, *Desmodium* spp., *Dioscorea longan*, *Dioscorea* spp., *Diospyros* spp., *Echinochloa* spp., *Elaeis* (наприклад, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus* sp., *Eriobotrya japonica*, *Eucalyptus* sp., *Eugenia uniflora*, *Fagopyrum* spp., *Fagus* spp., *Festuca arundinacea*, *Ficus carica*, *Fortunella* spp., *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (наприклад, *Glycine max*, *Soja hispida* або *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (наприклад, *Helianthus annuus*), *Hemerocallis fulva*, *Hibiscus* spp., *Hordeum* spp. (наприклад, *Hordeum vulgare*), *Ipomoea batatas*, *Juglans* spp., *Lactuca sativa*, *Lathyrus* spp., *Lens culinaris*, *Linum usitatissimum*, *Litchi chinensis*, *Lotus* spp., *Luffa acutangula*, *Lupinus* spp., *Luzula sylvatica*, *Lycopersicon* spp. (наприклад, *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon* грушоподібний), *Macrotyloma* spp., *Malus* spp., *Malpighia emarginata*, *Mammea americana*, *Mangifera indica*, *Manihot* spp., *Manilkara zapota*, *Medicago sativa*, *Melilotus* spp., *Mentha* spp., *Miscanthus sinensis*, *Momordica* spp., *Morus nigra*, *Musa* spp., *Nicotiana* spp., *Olea* spp., *Opuntia* spp., *Ornithopus* spp., *Oryza* spp. (наприклад, *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Passiflora edulis*, *Pastinaca sativa*, *Pennisetum* sp., *Persea* spp., *Petroselinum crispum*, *Phalaris arundinacea*, *Phaseolus* spp., *Phleum pratense*, *Phoenix* spp., *Phragmites australis*, *Physalis* spp., *Pinus* spp., *Pistacia vera*, *Pisum* spp., *Poa* spp., *Populus* spp., *Prosopis* spp., *Prunus* spp., *Psidium* spp., *Punica granatum*, *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Raphanus sativus*, *Rheum rhabarbarum*, *Ribes* spp., *Ricinus communis*, *Rubus* spp., *Saccharum* spp., *Salix* sp., *Sambucus* spp., *Secale cereale*, *Sesamum* spp., *Sinapis* sp., *Solanum* spp. (наприклад, *Solanum tuberosum*, *Solanum integrifolium* або *Solanum lycopersicum*), *Sorghum bicolor*, *Spinacia* spp., *Syzygium* spp., *Tagetes* spp., *Tamarindus indica*, *Theobroma cacao*, *Trifolium* spp., *Tripsacum dactyloides*, *Triticosecale rimpai*, *Triticum* spp. (наприклад, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum*, *Triticum monococcum* або *Triticum vulgare*), *Tropaeolum minus*, *Tropaeolum majus*, *Vaccinium* spp., *Vicia* spp., *Vigna* spp., *Viola odorata*, *Vitis* spp., *Zea mays*, *Zizania palustris*, *Ziziphus* spp., амарант, артишок, спаржу, броколі, брюссельську капусту, капуста, ріпак, моркву, цвітну капусту, селеру, листову капусту, льон, капуста, сочевиця, ріпак, бамія, цибуля, картопля, рис, соя, полуницю, цукрові буряки, цукровий очерет, соняшник, помідори, кабачки, чай і водорості, серед інших. Відповідно до кращого варіанту здійснення даного винаходу, рослиною є культурна рослина. Приклади культурних рослин включають, серед іншого сою, соняшник, ріпак, люцерну, ріпак, бавовну, томати, картоплю і тютюн. Більш переважно, рослиною є однодольні рослини, такі, як цукровий очерет. Крім того, переважно, рослиною є зернові, такі як рис, кукурудза, пшениця, ячмінь, просо, жито, сорго або овес. У переважному варіанті здійснення винаходу рослину спочатку було вироблено за способом, що включає рекомбінантне підготування рослин шляхом введення і надекспресію PPO трансгену дикого типу або mut-PPO трансген, як описано більш докладно нижче.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу рослину раніше було отримано за способом, що включає *in situ* мутагенізацію рослинних клітин та отримання рослинних клітин, які експресують mut-PPO.

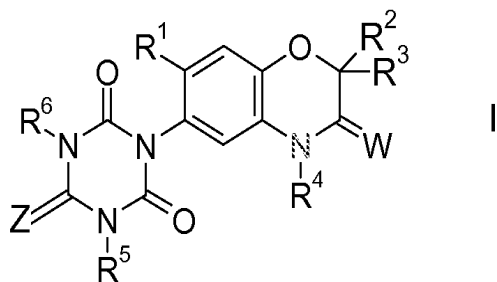
Як описано тут, нуклеїнові кислоти за винаходом знайдуть застосування у підвищенні стійкості рослин до гербіцидів, які містять у своєму геномі ген, що кодує білок, толерантний до гербіцидів дикого типу або mut-PPO. Такий ген може бути ендеогенним або трансгенним, як описано нижче. Крім того, в деяких варіантах здійснення нуклеїнові кислоти за даним винаходом можуть бути складені з будь-якої комбінації полінуклеотидних послідовностей за

винаходом для створення рослин бажаного фенотипу. Наприклад, нуклеїнові кислоти за даним винаходом можуть бути складені з будь-яким іншим полінуклеотидним, що кодує поліпептиди, що мають пестицидну та/або інсектицидну активність, такі як, наприклад, білок токсину *Bacillus Thuringiensis* [описано в патентах U.S. Patent Nos. 5,366,892; 5,747,450; 5,737,514; 5,723,756; 5,593,881; and Geiser et al (1986) Gene 48: 109]. Створені комбінації можуть також включати кілька копій будь-яких з полінуклеотидів, що заявлені.

В особливо кращому варіанті здійснення винаходу, рослина містить щонайменше одну додаткову гетерологічну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує фермент стійкості до гербіцидів, обраний, наприклад, з групи, що складається з 5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтази (EPSPS), гліфосатацетилтрансферази (GAT), цитохром P450, фосфинотрицинацетилтрансферази (PAT), ацетогідроксикислотсинтази (AHAS, EC 4.1.3.18, також відомий як ацетолактатсинтази або ALS), гідроксифенілдіоксигенази пірувату (HPPD), фітоїнов десатурази (PD) і фермент руйнування дикамби, як розкрито в WO 02/068607 або фермент руйнування похідних феноксиоцтової- та феноксипропіонової кислот, як розкрито в WO 2008141154 і WO 2005107437. Як правило, термін "гербіцид" використовується тут для позначення активного інгредієнта, який знищує, контролює або іншим чином негативно модифікує ріст рослин. Переважна кількість або концентрація гербіциду є "ефективною кількістю" або "ефективною концентрацією". Під терміном "ефективна кількість" і "ефективна концентрація" слід розуміти кількості і концентрації відповідно, які є достатніми для знищення або інгібування росту подібного, дикого типу, рослин, рослинної тканини, рослинних клітин або клітини-хазяїна, але ця вказана кількість не вбиває або інгібує суворо ріст стійких до гербіцидів рослин, рослинної тканини, рослинні клітини і клітини-хазяїна за даним винаходом. Як правило, ефективна кількість гербіциду є кількістю, яка зазвичай використовується в сільськогосподарських виробничих системах, щоб убити бур'яни, як заявлено. Така кількість є відомою фахівцям в даній області. Гербіцидну активність проявляє гербіцид, що є похідним бензоксазину за даним винаходом, коли його наносять безпосередньо на рослину або на локус рослини на будь-якій стадії росту або перед посадкою, або поростанням. Отриманий ефект залежить від виду рослин, що підлягають знищенню, стадії росту рослини, застосування параметрів розбавлення і розміру краплі розпилення, розміру часток твердих компонентів, умов навколишнього середовища під час застосування, конкретно застосовуваної сполуки, певних ад'ювантів і носіїв, типу ґрунту, тощо, а також кількості хімічного застосування. Ці та інші фактори можуть бути скориговані, як відомо в даній області, для сприяння неселективної або селективної гербіцидної дії. Як правило, переважно, для досягнення максимальної боротьби з бур'янами застосовують гербіцидні похідні бензоксазину для після сходової обробки у відношенні незрілої небажаної рослинності.

Під "стійкими до гербіцидів" або "стійкою до гербіцидів" рослиною, розуміють те, що рослина толерантна або стійка до, принаймні одного гербіциду, рівень якого, як правило, знищує або пригнічує ріст нормального або дикого типу рослини. Під "толерантний до гербіцидів mut-PPO білок" або "стійкий до гербіцидів mut-PPO білок" слід розуміти, що такий mut-PPO білок демонструє більшу PPO активність, порівняно з активністю білку PPO дикого типу, тоді як у присутності принаймні одного гербіциду, як відомо, перешкоджається активність PPO і при концентрації або рівні гербіциду, який, як відомо, інгібує PPO активність дикого типу mut-PPO білка. Крім того, активність PPO таких стійких до гербіцидів або стійких до гербіцидів mut-PPO білків може згадуватися тут як активність PPO "толерантних до гербіциду" або "стійких до гербіциду".

"Гербіцид, що є похідним бензоксазину" відповідно до даного винаходу включає бензоксазінон формули I, як показано в наступному прикладі:



де
R¹ означає водень або галоген;
R² означає галоген;

R^3 означає водень або галоген;
 R^4 означає водень, C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -галогеналкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл, C_3 - C_6 -алкеніл, C_3 - C_6 -галогеналкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_3 - C_6 -галогеналкініл, C_1 - C_6 -алкокси або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_6 -алкіл;

5 R^5 означає водень, NH_2 , C_1 - C_6 -алкіл або C_3 - C_6 -алкініл;

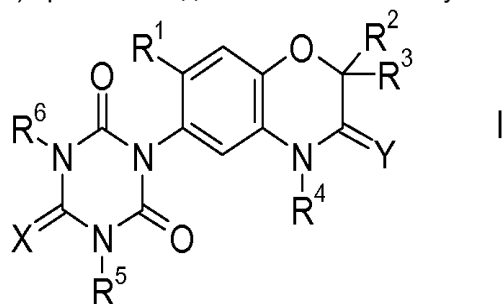
R^6 означає водень або C_1 - C_6 -алкіл; i

W означає O або S;

Z означає O або S.

10 В іншому переважному варіанті здійснення "гербіцидна похідна бензоксазину", відповідно до даного винаходу, включає в себе бензоксазину формули I, як показано в наступному прикладі:

А) принаймні одного бензоксазину загальної формули I



15 де R^1 означає водень або галоген;
 R^2 означає галоген;

R^3 означає водень або галоген;

R^4 означає водень, C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -галогеналкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл, C_3 - C_6 -алкеніл, C_3 - C_6 -галогеналкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_3 - C_6 -галогеналкініл, C_1 - C_6 -алкокси або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_6 -алкіл;

20 R^5 означає водень, NH_2 , C_1 - C_6 -алкіл або C_3 - C_6 -алкініл;

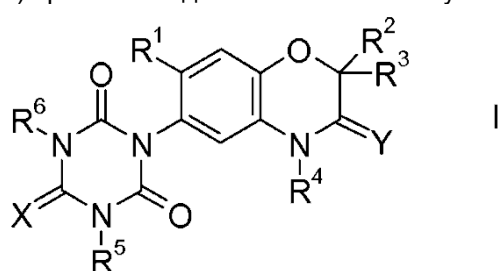
R^6 означає водень або C_1 - C_6 -алкіл; i

W означає O або S;

Z означає O або S.

25 В іншому переважному варіанті здійснення "гербіцидна похідна бензоксазину" відповідно до даного винаходу включає бензоксазину формули I, як показано в наступному прикладі:

А) принаймні одного бензоксазину загальної формули I



30 де R^1 означає водень або галоген;

R^2 означає галоген;

R^3 означає водень або галоген;

R^4 означає водень, C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -галогеналкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл, C_3 - C_6 -алкеніл, C_3 - C_6 -галогеналкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_3 - C_6 -галогеналкініл, C_1 - C_6 -алкокси або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_6 -алкіл;

35 R^5 означає водень, NH_2 , C_1 - C_6 -алкіл або C_3 - C_6 -алкініл;

R^6 означає водень або C_1 - C_6 -алкіл; i

X означає O або S;

Y означає O або S; i щонайменше з одною додатковою активною сполукою, вибраною з

40 b) гербіциду класу B1)-B15):

b1) інгібіторів біосинтезу ліпідів;

b2) інгібіторів ацетолактатсинтази (ALS інгібітори);

b3) інгібіторів фотосинтезу;

b4) інгібіторів протопорфіриноген-IX оксидази,

- b5) гербіцидів відбілювачів;
- b6) інгібіторів енолпірувілшикимат-3-фосфат-синтази (інгібіторів EPSP);
- b7) інгібіторів глутамінсинтази;
- b8) інгібіторів 7,8-дігідроптероатсинтази (DHP інгібітори);
- B9) інгібіторів мітозу;
- b10) інгібіторів синтезу дуже довголанцюгових жирних кислот (VLCFA інгібітори);
- b11) інгібіторів біосинтезу целюлози;
- b12) гербіцидів розщеплювачів;
- B13) ауксинових гербіцидів;
- b14) інгібіторів переносу ауксину, і

b15) інших інгібіторів, вибраних з групи, що складається з бромобутиду, хлорфлуренолу, хлорфлуренол-метилу, цинметиліну, кумілуруну, далапону, дазомету, діфензоквату, діфензокват-метилсульфату, диметипіну, DSMA, дімрону, ендоталу та їх солей, етобензаніду, флампропу, флампроп-ізопропілу, флампроп-метилу, флампроп-М-ізопропілу, флампроп-М-метилу, флуренолу, флуренол-бутилу, флурпрімідолу, фосаміну, фосамін-амонію, інданофану, індацифламу, малеїнового гідразиду, мефлуїдиду, метаму, метил азиду, метилу бромистого, метил-дімрону, метилйодиду, MSMA, олеїнової кислоти, оксацикломефону, пеларгонової кислоти, пірібутикарбу, квінокламіну, тріазіфламу, трідіфану і 6-хлор-3-(2-циклопропіл-6-метилфенокси)-4-піридазінолу (CAS 499223-49-3) та їх солей і естерів;

та
C) антидотів.

Гербіцидом, що є похідним бензоксазину, який використовують для даного винаходу, можуть бути також композиції у вигляді гербіцидно активних композицій засобів захисту рослин, що включають гербіцидно ефективну кількість комбінації активної сполуки, що містить

принаймні один бензоксазінон загальної формули I і принаймні одну додаткову сполуку, вибрану з гербіцидів B і антидотів C, як визначено вище, а також, принаймні один рідкий і/або твердий носій, і/або одну чи більше поверхнево-активних речовин і, за необхідності, одну або більше додаткових допоміжних речовин для звичайних композицій захисту рослин.

Крім того, гербіцидом, що є похідним бензоксазину, які є корисними для даного винаходу, можуть бути також композиції у вигляді композиції для захисту рослин, приготовлені у вигляді 1-компонентної композиції, що містить комбінацію активних сполук, яка містить, щонайменше один бензоксазінон формули I і, принаймні одну додаткову активну сполуку, вибрану з гербіцидів B і антидотів C, і, принаймні один твердий або рідкий носій, і/або одну або більше поверхнево-активних речовин і, за необхідності, одну або більше додаткових допоміжних речовин для звичайних композицій захисту рослин.

Крім того, гербіцидом, що є похідним бензоксазину, який є корисними для даного винаходу, можуть бути також композиції у вигляді композиції для захисту рослин, приготовлені у вигляді 2-компонентної композиції, що містить перший компонент, який містить принаймні один з бензоксазінонів формули I, твердий або рідкий носій і/або одну або більше поверхнево-

активних речовин, і другий компонент, що містить, щонайменше одну додаткову активну

сполуку, вибрану з гербіцидів B і антидотів C, твердий або рідкий носій, і/або одну або більше

поверхнево-активну речовину, де додатково обидва компоненти можуть також містити інші

допоміжні речовини, звичайні для композицій захисту рослин.

Якщо бензоксазінони формули I, як описано тут, здатні утворювати геометричні ізомери, наприклад, E/Z-ізомери, можна використовувати обидва, чисті ізомери та їх суміші в композиціях згідно з цим винаходом. Якщо бензоксазінони формули I, як описано тут, мають один або кілька хіральних центрів і, як наслідок, присутні у вигляді енантіомерів або діастереомерів, можна використовувати обидва, чисті енантіомери і діастереомери та їх суміші, в композиціях згідно винаходу. Органічні залишки, зазначені у визначених змінних від R^1 до R^6 , є - як термін галоген - загальні терміни для окремих перерахованих членів групи. Термін галоген означає в кожному випадку, фтор, хлор, бром або йод. Всі вуглеводневі ланцюги, тобто всі алкіли, можуть бути лінійними або розгалуженими, префікс C_n-C_m позначають в кожному випадку можливе число атомів вуглецю в групі.

Прикладами таких значень є:

C_1-C_4 -алкіл, а також C_1-C_4 -алкільні частини C_3-C_6 -циклоалкіл- C_1-C_4 -алкілу, наприклад CH_3 , C_2H_5 , н-пропіл і $CH(CH_3)_2$ -н-бутил, $CH(CH_3)-C_2H_5$, $CH_2-CH(CH_3)_2$ і $C(CH_3)_3$; C_1-C_6 -алкіл, а також C_1-C_6 -алкільні радикали C_1-C_6 -алкокси- C_1-C_6 -алкіл: C_1-C_4 -алкіл, як зазначено вище, а також, наприклад, н-пентил, 1-метилбутил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, 2,2-діметилпропіл, 1-етілпропіл, н-гексил, 1,1-діметилпропіл, 1,2-діметилпропіл, 1-метилпентен, 2-метилпентен, 3-метилпентен, 4-метилпентен, 1,1-диметилбутил, 1,2-диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 2,2-

диметилбутил, 2,3-диметилбутил, 3,3-диметилбутил, 1-етилбутил, 2-етилбутил, 1,1,2-триметилпропіл, 1,2,2-триметилпропіл, 1-етил-1-метилпропіл або 1-етил-2-метилпропіл, переважно метил, етил, н-пропіл, 1-метилетил, н-бутил, 1,1-диметилетил, н-пентил або н-гексил; C₁-C₄-галогеналкіл: C₁-C₄-алкільний радикал, як зазначено вище, який частково або повністю заміщений фтором, хлором, бромом/або йодом, наприклад, хлорметил, дихлорметил, трихлорметил, фторметил, дифторметил, трифторметил, хлор-фторметил, дихлорфторметил, хлордифторметил, бромметил, іодметил, 2-фторетил, 2-хлоретил, 2-брометил, 2-йодетил, 2,2-дифторетил, 2,2,2-трифторетил, 2-хлор-2-фторетил, 2-хлор-2,2-дифторетил, 2,2-дихлор-2-фторетил, 2,2,2-трихлоретил, пентафторетил, 2-фторпропіл, 3-фторпропіл, 2,2-дифторпропіл, 2,3-дифторпропіл, 2-хлорпропіл, 3-хлорпропіл, 2,3-дихлорпропіл, 2-бромпропіл, 3-бромпропіл, 3,3,3-трифторпропіл, 3,3,3-трихлорпропіл, 2,2,3,3,3-пентафторпропіл, гептафторпропіл, C₁-C₃-галогеналкіл, як зазначено вище, а також, наприклад, 1-(фторметил)-2-фторетил, 1-(хлорметил)-2-хлоретил, 1-(бромметил)-2-брометил, 4-фторбутил, 4-хлорбутил, 4-бромбутил, 4-йодбутил, 1,1,2,2-тетрафторетил і 1-трифторметил-1,2,2,2-тетрафторетил; C₁-C₆-галогеналкіл: C₁-C₆-галогеналкіл, як згадувалося вище, а також, наприклад, 5-фторпентил, 5-хлорпентил, 5-бромпентил, 5-йодпентил, андекафторпентил, 6-фторгексил, 6-хлоргексил, 6-бромгексил, 6-йодгексил і додекафторгексил; C₃-C₆-циклоалкіл, а також циклоалкільні групи C₃-C₆-циклоалкіл-C₁-C₄-алкіл: моноциклічні насичені вуглеводні, що мають від 3 до 6 членів в кільці, такі як циклопропіл, циклобутил, циклопентил і циклогексил; C₃-C₆-алкеніл, наприклад 1-пропеніл, 2-пропеніл, 1-метилетеніл, 1-бутеніл, 2-бутеніл, 3-бутеніл, 1-метил-1-пропеніл, 2-метил-1-пропеніл, 1-метил-2-пропеніл, 2-метил-2-пропеніл, 1-пентеніл, 2-пентеніл, 3-пентеніл, 4-пентеніл, 1-метил-1-бутеніл, 2-метил-1-бутеніл, 3-метил-1-бутеніл, 1-метил-2-бутеніл, 2-метил-2-бутеніл, 3-метил-2-бутеніл, 1-метил-3-бутеніл, 2-метил-3-бутеніл, 3-метил-3-бутеніл, 1,1-диметил-2-пропеніл, 1,2-диметил-1-пропеніл, 1,2-диметил-2-пропеніл, 1-етил-1-пропеніл, 1-етил-2-пропеніл, 1-гексеніл, 2-гексеніл, 3-гексеніл, 4-гексеніл, 5-гексеніл, 1-метил-1-пентеніл, 2-метил-1-пентеніл, 3-метил-1-пентеніл, 4-метил-1-пентеніл, 1-метил-2-пентеніл, 2-метил-2-пентеніл, 3-метил-2-пентеніл, 4-метил-2-пентеніл, 1-метил-3-пентеніл, 2-метил-3-пентеніл, 3-метил-3-пентеніл, 4-метил-3-пентеніл, 1-метил-4-пентеніл, 2-метил-4-пентеніл, 3-метил-4-пентеніл, 4-метил-4-пентеніл, 1,1-диметил-2-бутеніл, 1,1-диметил-3-бутеніл, 1,2-диметил-1-бутеніл, 1,2-диметил-2-бутеніл, 1,2-диметил-3-бутеніл, 1,3-диметил-1-бутеніл, 1,3-диметил-2-бутеніл, 1,3-диметил-3-бутеніл, 2,2-диметил-3-бутеніл, 2,3-диметил-1-бутеніл, 2,3-диметил-2-бутеніл, 2,3-диметил-3-бутеніл, 3,3-диметил-1-бутеніл, 3,3-диметил-2-бутеніл, 1-етил-1-бутеніл, 1-етил-2-бутеніл, 1-етил-3-бутеніл, 2-етил-1-бутеніл, 2-етил-2-бутеніл, 2-етил-3-бутеніл, 1,1,2-триметил-2-пропеніл, 1-етил-1-метил-2-пропеніл, 1-етил-2-метил-1-пропеніл і 1-етил-2-метил-2-пропеніл;

C₃-C₆-галогеналкеніл: C₃-C₆-алкенільний радикал, як зазначено вище, який частково або повністю заміщений фтором, хлором, бромом і/або йодом, наприклад, 2-хлор-проп-2-ен-1-іл, 3-хлорпропіл-2-ен-1-іл, 2,3-дихлорпроп-2-ен-1-іл, 3,3-дихлорпроп-2-ен-1-іл, 2,3,3-трихлор-2-ен-1-іл, 2,3-дихлорбут-2-ен-1-іл, 2-бромпроп-2-ен-1-іл, 3-бромпроп-2-ен-1-іл, 2,3-дибромпроп-2-ен-1-іл, 3,3-дибромпроп-2-ен-1-іл, 2,3,3-трибром-2-ен-1-іл або 2,3-дипромобут-2-ен-1-іл;

C₃-C₆-алкініл: наприклад, 1-пропініл, 2-пропініл, 1-бутиніл, 2-бутиніл, 3-бутиніл, 1-метил-2-пропініл, 1-пентиніл, 2-пентиніл, 3-пентиніл, 4-пентиніл, 1-метил-2-бутиніл, 1-метил-3-бутиніл, 2-метил-3-бутиніл, 3-метил-1-бутиніл, 1,1-диметил-2-пропініл, 1-етил-2-пропініл, 1-гексиніл, 2-гексиніл, 3-гексиніл, 4-гексиніл, 5-гексиніл, 1-метил-2-пентиніл, 1-метил-3-пентиніл, 1-метил-4-пентиніл, 2-метил-3-пентиніл, 2-метил-4-пентиніл, 3-метил-1-пентиніл, 3-метил-4-пентиніл, 4-метил-1-пентиніл, 4-метил-2-пентиніл, 1,1-диметил-2-бутиніл, 1,1-диметил-3-бутиніл, 1,2-диметил-3-бутиніл, 2,2-диметил-3-бутиніл, 3,3-диметил-1-бутиніл, 1-етил-2-бутиніл, 1-етил-3-бутиніл, 2-етил-3-бутиніл і 1-етил-1-метил-2-пропініл, C₃-C₆-галогеналкініл: C₃-C₆-алкінільний радикал, як зазначено вище, який частково або повністю заміщений фтором, хлором, бромом і/або йодом, наприклад, 1,1-дифторпроп-2-ін-1-іл, 3-хлорпроп-2-ін-1-іл, 3-бромпроп-2-ін-1-іл, 3-йодпроп-2-ін-1-іл, 4-фторбут-2-ін-1-іл, 4-хлорбут-2-ін-1-іл, 1,1-дифторбут-2-ін-1-іл, 4-йодобут-3-ін-1-іл, 5-фторпент-3-ін-1-іл, 5-йодопент-4-ін-1-іл, 6-фторгекс-4-ін-1-іл або 6-йодогекс-5-ін-1-іл;

C₁-C₄-алкокси, а також C₁-C₄-алкокси-замісники гідроксикарбоніл-C₁-C₄-алкокси, C₁-C₆-алкоксикарбоніл-C₁-C₄-алкокси, наприклад метокси, етокси, пропокси, 1-метилетоксі бутокси, 1-метилпропокси, 2-метилпропокси і 1,1-диметилетоксі; -C₁-C₆-алкокси, а також C₁-C₆-алкокси фрагментів C₁-C₆-алкоксикарбоніл-C₁-C₄-алкокси: C₁-C₄-алкокси, як згадувалося вище, а також, наприклад, пентоксил, 1-метилбутокси, 2-метилбутокси, 3-метоксилбутокси, 1,1-диметилпропокси, 1,2-диметилпропокси, 2,2-диметилпропокси, 1-етилпропокси, гексокси 1-метилпентокси, 2-метилпентокси, 3-метилпентокси, 4-метилпентокси, 1,1-диметилбутокси, 1,2-

диметилбутоксид, 1,3-диметилбутоксид, 2,2-диметилбутоксид, 2,3-диметилбутоксид, 3,3-диметилбутоксид, 1-етилбутоксид, 2-етилбутоксид, 1,1,2-триметилпропоксид, 1,2,2-три-метилпропоксид, 1-етил-1-метилпропоксид і 1-етил-2-метилпропоксид.

Відповідно кращим варіантом здійснення даного винаходу є переважно також гербіцид, що є похідним бензоксазину формули I, де змінні, або незалежно одна від одної або в комбінації одна з одної, мають такі значення:

R^1 є воднем;

є також переважно галогеном, особливо переважно F або Cl, особливо переважно F;

R^2 є F;

R^3 є воднем або F, переважно воднем;

Також переважно F;

R^4 являє собою C_3 - C_6 -алкініл або C_3 - C_6 -галогеналкіл, переважно C_3 -алкініл або C_3 -галогеналкіл,

Особливо переважно $CH_2CH\equiv CH$, $CH_2C\equiv CCl$ або $CH_2C\equiv CBr$;

Також переважно C_3 - C_6 -алкініл або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_6 -алкіл, особливо переважно пропаргіл або циклопропілметил;

Також переважно C_3 - C_6 -алкініл, переважно C_3 -алкініл; особливо переважними

$CH_2C\equiv CH$;

Також переважно C_3 - C_6 -галоалкініл, переважно C_3 -галоалкініл, особливо переважно $CH_2C\equiv CCl$ або $CH_2C\equiv CBr$;

R^5 являє NH_2 , C_1 - C_6 -алкіл або C_3 - C_6 -алкініл; переважно C_1 - C_6 -алкіл, більш переважно C_1 - C_4 -алкіл, найбільш переважно CH_3 ;

R^6 є C_1 - C_6 -алкіл, переважно C_1 - C_4 -алкіл, найбільш переважно CH_3 ;

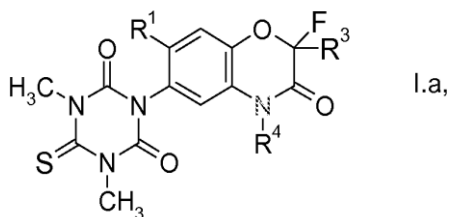
W являє собою O,

Також переважно S;

Z являє собою O,

Також переважно S.

Особливу перевагу надають бензоксазину формули I.a (відповідає формулі I, де R^2 є F, R^5 і R^6 являють собою CH_3 , W являє собою O і Z представляє S),



де змінні R^1 , R^3 і R^4 мають значення, зокрема, переважні значення, як визначено вище.

Найбільш переважні похідні бензоксазину формули I.a.1 до I.a.48 Таблиці А, перераховані нижче, в якій змінні R^1 , R^3 і R^4 разом мають значення, вказані в одному рядку Таблиці (бензоксазінонів I.a.1-1.a.54), і де визначення змінних R^1 , R^2 , R^3 і R^4 мають особливу важливість для сполук за винаходом не тільки в поєднанні одна з одною, але в кожному випадку також самі по собі.

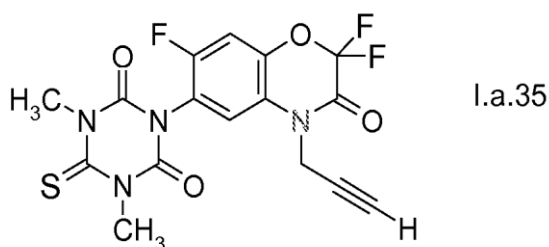
Таблиця А

№	R^1	R^3	R^4
I.a.1.	H	H	H
I.a.2.	H	H	CH_3
I.a.3.	H	H	C_2H_5
I.a.4.	H	H	$CH_2-C_2H_5$
I.a.5.	H	H	$CH(CH_3)_2$
I.a.6.	H	H	$CH_2-CH_2-(CH_3)_2$
I.a.7.	H	H	$CH_2-CH=CH_2$
I.a.8.	H	H	$CH_2C\equiv CH$
I.a.9.	H	H	$CH_2C\equiv C-Br$
I.a.10.	H	F	H
I.a.11.	H	F	CH_3
I.a.12.	H	F	C_2H_5
I.a.13.	H	F	$CH_2-C_2H_5$

I.a.14.	H	F	CH(CH ₃) ₂
I.a.15.	H	F	CH ₂ -CH ₂ -(CH ₃) ₂
I.a.16.	H	F	CH ₂ -CH=CH ₂
I.a.17.	H	F	CH ₂ C≡CH
I.a.18.	H	F	CH ₂ C≡C-Br
I.a.19.	F	H	H
I.a.20.	F	H	CH ₃
I.a.21.	F	H	C ₂ H ₅
I.a.22.	F	H	CH ₂ -C ₂ H ₅
I.a.23.	F	H	CH(CH ₃) ₂
I.a.24.	F	H	CH ₂ -CH ₂ -(CH ₃) ₂
I.a.25.	F	H	CH ₂ -CH=CH ₂
I.a.26.	F	H	CH ₂ C≡CH
I.a.27.	F	H	CH ₂ C≡C-Br
I.a.28.	F	F	H
I.a.29.	F	F	CH ₃
I.a.30.	F	F	C ₂ H ₅
I.a.31.	F	F	CH ₂ -C ₂ H ₅
I.a.32.	F	F	CH(CH ₃) ₂
I.a.33.	F	F	CH ₂ -CH ₂ -(CH ₃) ₂
I.a.34.	F	F	CH ₂ -CH=CH ₂
I.a.35.	F	F	CH ₂ C≡CH
I.a.36.	F	F	CH ₂ C≡C-Br
I.a.37.	Cl	H	H
I.a.38.	Cl	H	CH ₃
I.a.39.	Cl	H	C ₂ H ₅
I.a.40.	Cl	H	CH ₂ -C ₂ H ₅
I.a.41.	Cl	H	CH(CH ₃) ₂
I.a.42.	Cl	H	CH ₂ -CH ₂ -(CH ₃) ₂
I.a.43.	Cl	H	CH ₂ -CH=CH ₂
I.a.44.	Cl	H	CH ₂ C≡CH
I.a.45.	Cl	H	CH ₂ C≡C-Br
I.a.46.	Cl	F	H
I.a.47.	Cl	F	CH ₃
I.a.48.	Cl	F	C ₂ H ₅
I.a.49.	Cl	F	CH ₂ -C ₂ H ₅
I.a.50.	Cl	F	CH(CH ₃) ₂
I.a.51.	Cl	F	CH ₂ -CH ₂ -(CH ₃) ₂
I.a.52.	Cl	F	CH ₂ -CH=CH ₂
I.a.53.	Cl	F	CH ₂ C≡CH
I.a.54.	Cl	F	CH ₂ C≡C-Br

Особливо переважним бензоксазином загальної формули I, де як компонент А є частина композиції відповідно до даного винаходу, є бензоксазін формули I.a.35, як визначено вище.

У відповідності з конкретним варіантом здійснення даного винаходу композиція, придатна для способу за даним винаходом, містить як компонент А бензоксазін формули I.a.35.



Описані вище похідні бензоксазину та композиції розкриті більш детально у Європейській патентній заявці 09163242.2, зокрема розкриття на сторінках 1-7 з посиланням на похідні бензоксазину та їх можливі замісники повністю включені шляхом посилання.

Похідні бензоксазинону, за даним винаходом, більш краще застосовувати в поєднанні з одним або декількома іншими гербіцидами, щоб отримати контроль над більш широким спектром небажаної рослинності. При використанні в поєднанні з іншими гербіцидами, заявлені сполуки можуть бути приготовані з іншим гербіцидом або гербіцидами, змішані в резервуарі з іншим гербіцидом або гербіцидами або нанесені послідовно з іншим гербіцидом або гербіцидами.

Гербіцидні сполуки даного винаходу можуть також бути використані в поєднанні з додатковими гербіцидами, до яких культурні рослини є природно толерантними, або до яких вони стійкі через експресію одного або більше додаткових трансгенів, як згадувалося вище. Деякі з цих гербіцидів, які можна використовувати в поєднанні зі сполуками за даним винаходом, включають сульфонаміди, такі як метосулам, флуметсулам, клорансулам-метил, діклосолам, пеноксулам і флорасулам, сульфонілсечовини, такі як хлорімулон, трибенурон, сульфометурон, нікосульфурон, хлорсульфурон, амідосульфурон, триасульфурон, просульфурон, трітосульфурон, тіфенсульфурон, сульфосульфурон і метсульфурон, імідазолінони, такі як імазахін, імазапік, ІМА-зетапір, імазапір, імазаметабенз і імазамокс, феноксиалканова кислота, такі як 2,4-D, MCPA, дихлорпроп і мекопроп, піридинілоксиоцтова кислота, такі як тріклопір і флуроксіпір, карбонові кислоти, такі як клопіралід, піклорама, амінопіралід і дикамби, дінитроаніліни, такі як тріфлуралін, бенефін, бенфлуралін і пендиметалін, хлорацетаніліди, такі як алахлор, ацетохлор і метолахлор, семікарбазони (інгібітори транспортування ауксину), такі як хлорфлуренол і діфлуфензоліром, ариоксифеноксипропіонати такі як флуазифоп, галоксіфоп, діклофоп, клодінафоп і феноксапроп та інших поширених гербіцидів включаючи гліфосат, глюфосинат, аціфлуорфен, бентазон, кломазон, фуміклорак, флуометурон, фомезафен, лактофіт, лінурон, ізопротурон симазин, норфлуразон, паракват, діурон, діфлуфенікан, піколінафен, цінідон, сетоксідімом, тралкоксідім, квінмерак, ізоксабен, бромоксініл, метрибузин і мезотріон.

Наприклад, гербіцид, що є похідним бензоксазинону, який може бути корисним для здійснення даного винаходу, може бути використаний в поєднанні з гліфосатом і глюфосінатом для культур, стійких до гліфосату або глюфосинату. Якщо це не було включено в розкритті вище, гербіцид, що є похідним бензоксазинону, який є корисним для здійснення даного винаходу може, крім того, використовуватися в поєднанні із сполуками:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів:

АСС-гербіциди, такі як аллоксідім, аллоксідім-натрій, бутроксідім, клетодим, клодінафоп, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофоп, цигалофоп-бутил, діклофоп, діклофоп-метил, феноксапроп, феноксапроп-етил, феноксапроп-Р, феноксапроп-Р-етил, флуазифоп, флуазифоп-бутил, флуазифоп-Р, флуазифоп-Р-бутил, галоксіфоп, галоксіфоп-метил, галоксіфоп-Р, галоксіфоп-Р-метил, metamifop, піноксаден, профоксідім, proaquizafop, квізалофоп, квізалофоп-етил, квізалофоп -тефурил, хизалофоп-Р, хизалофоп-Р-етил, хизалофоп-Р-тефурил, сетоксідімом, тепралоксидим і тралкоксидім і не АКК гербіциди, такі як бенфуресат, бутилат, циклоат, далапон, діметіперат, ЕРТС, еспрокарб, етофумесат, флупропанат, молінат, орбенкарб, пебулат, просульфокарб, ТСА, тіобенкарб, тіокарбазіл, тріаллат і вернолат;

b2) з групи інгібіторів АПС:

b3) з групи, що включає інгібітори фотосинтезу: амікарбазон, інгібітори фотосистеми II, наприклад, триазинові гербіциди, в тому числі хлортриазинони, триазинони, триазиндіони, метилтіотриазини і піридазинони такі як аметрін, атразин хлорідазон, цианазін, десметрин, діметаметрін, гексазіон, метрибузин, прометон Пром-Трин, пропазин, симазин, сіметрин, тербуметон, тербутілазин, тербутрін і трієтазин, арилсечовини, такі як хлоробромурон, хлоротолурон, хлороксурон, дімефурон, діурон, флуометурон, ізопротурон, ізоурон, лінурон, метамітрон, метабензтіазурон, метобензурон, метоксурон, монолінурон, небуроном, сідулон, тебутіурон і тіадіазурон, фенілкарбаматами, такі як десмідіпамам, карбутілат, фенмедифам, фенмедифаметил, нітрілгербіциди, такі як бромфеноксим, бромоксініл і його солі та естери, іоксініл та його солі та естери, такі як урацилес, бромаціл, ленаціл і тербаціл і бентазон, бентазон-натрій, піридатр, піридафол, пенатохлор і пропаном та інгібітори фотосистеми I, такі як дикват, дикват-дибромід паракват, паракват дихлорида і паракватдіметилсульфат. Серед них кращим варіантом здійснення даного винаходу щодо композицій є ті, що містять щонайменше один гербіцид арилсечовини. Серед них також переважним варіантом здійснення винаходу відносно таких композицій є ті, що містять принаймні один триазин гербіциду. Серед них також переважним варіантом здійснення винаходу щодо таких композицій є ті, що містять принаймні один нітрильний гербіцид;

b4) з групи інгібіторів оксидази протопорфіриногена-IX: аціфлуорфен, аціфлуорфен-натрій, азафенідін, бенкарбазон, бензфендізон, біфенокс, бутафенацил, карфентразон, карфентразонетіл, хлометоксифен, цінідонетил, флуазолат, флуфенпір, флуфенпіртетил, флуміклорак, флуміклорак-пентил, флуміоксазін, фторглікофен, фторглікофен-етил, сафлуфенацил, флутіацет-метил, фомезафен, галозафен, лактофіт, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифлуорфен, пентоксазон, профлуазол, пірахлоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тідіазімін, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]оцтової кислоти (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбонової кислоти (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбонової кислоти (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбонової кислоти (CAS 45100-03-7) і 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазін-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1, 3,5]тріазинан-2,4-діон;

b5) з групи відбілюючих гербіцидів:

PDS інгібітори бефлбутамід, діфлуфенікан, флуридон, флуорохлоридон, флуртамон, норфлуразон, піколинафен, і 4-(3-трифторметилфенокси)-2-(4-трифторметилфеніл) піримідин (CAS 180608-33-7), HPPD інгібітори: бензобіциклон, бензофенап, ізоксафлутол, мезотріону пірасульфотол, піразолінат, піразоксифен, сулкотріон, тефурилтріон, темботріон, топрамезон і біциклопірон, відбілювач, невідомого призначення: аклоніфен, амітрол, кломазон і флуметурон;

b6) з групи інгібіторів EPSP синтази:

гліфосат, гліфосат ізопропіламонія і гліфосат-тримесиум (сульфосат);

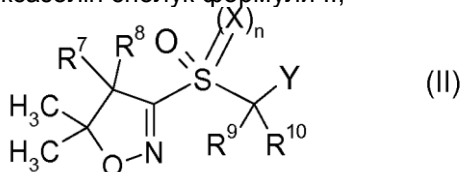
b7) з групи інгібіторів глутамінсинтази: біланафос (біалафос), біланафос-натрій, глюфосинат, глюфосинат-Р і глюфосинату амонію;

b8) з групи інгібіторів DHP синтази: асулам;

b9) з групи інгібіторів мітозу: сполуки групи K1: дінитроаніліни, такі як бенфлуралін, бутралін, дінітрамін, еталфлуралін, флухлоралін, оризалін, пендиметалін, продиамін і тріфлуралін, фосфорамідати, такі як амінопрофос, аміпрофосметил, бутаміфос, гербіциди бензойної кислоти, такі як хлортал, хлортал -диметил, піридини, такі як дитіопір і тіазопір, бензаміди, такі як пропізамід і тебутам, сполуки групи K2: хлорпрофам, профам і карбетамід, серед цих сполук групи K1, зокрема дінитроанілінам переважно;

b10) з групи інгібіторів VLCFA: Хлорацетаміди, такі як ацетохлор, алахлор, бутахлор, діметахлор, діметенамідом, діметенамід-Р, метазохлор, метолахлор метолахлор-S, петоксамід, претілахлор, пропахлор, пропісохлор і тенілхлор, таких як оксіяцетаніліди, флуфенацет і мефенацет, таких як ацетанілід діфенамід, напроанілід і напропамід, тетразолінони, такі як фентеразамід та інші гербіциди, такі як анілофос, кафенстрол, феноксасульфен, іпфенкарбазон, піперофос, руоксасульфен та

ізоксазолін сполук формули II,



де R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , W, Z і n мають такі значення:

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} незалежно один від одного водень, галоген або C_1 - C_4 -алкіл;

X кисень або NH;

Y феніл або моноциклічний 5-, 6-, 7-, 8-, 9- або 10-членний гетероциклі, що містить в доповнення одночленне вуглецеве кільце, два або три однакових чи різних гетероатома, вибраних з кисню, азоту та сірки як члени кільця, де феніл і гетероциклі є незаміщеними або несуть 1, 2 або 3 замісники, R^{yy} , вибраними з галогену, C_1 - C_4 -алкілу, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галоалкілу і C_1 - C_4 -галоалкокси; переважно феніл або 5- або 6-членний ароматичний гетероцикл (гетероарил), який містить, на додаток до члени карбонового кільця, один, два або три атоми азоту в якості членів кільця, де феніл і гетероарил є незаміщеними або несуть 1, 2 або 3 замісники R^{yy} ; та

n є нуль або одиниця;

серед ізоксазолінових сполук формули II, перевага віддається сполукам ізоксазоліну формули II, в якій

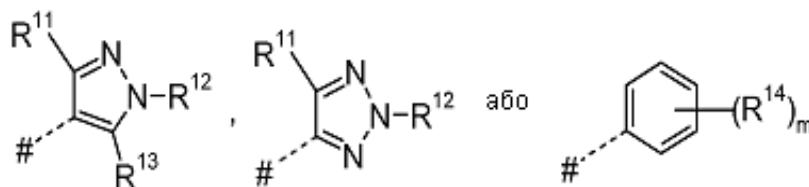
R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} незалежно один від одного являють собою H, F, Cl або метил;

X означає кисень;

n дорівнює 0 або 1; та

Y являє собою феніл, піразоліл або 1,2,3-триазоліл, причому три останні згаданих радикали є незаміщеними або мають один, два або три замісники R^{yy}, особливо один з наступних радикалів

5



де

R¹¹ являє собою галоген, C₁-C₄-алкіл або C₁-C₄-галогеналкіл;

10 R¹² позначає C₁-C₄-алкіл;

R¹³ являє собою галоген, C₁-C₄-алкокси або C₁-C₄-галогеналкокси;

R¹⁴ являє собою галоген, C₁-C₄-алкіл, C₁-C₄-галогеналкіл або C₁-C₄-галогеналкокси;

m=0, 1, 2 або 3, а також

позначає місце приєднання до групи CR¹³R¹⁴;

15 серед сполук ізоксазоліну формули II, особлива перевага віддається тим сполукам ізоксазоліну формули II, де

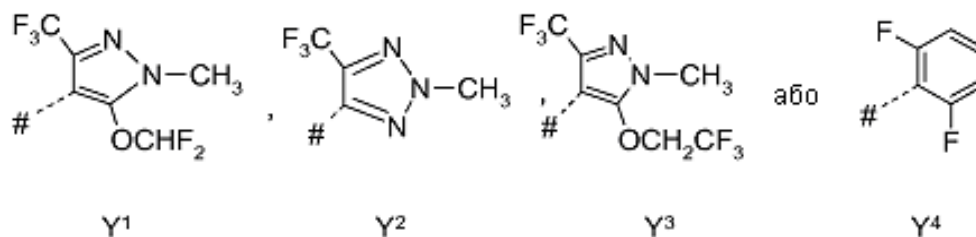
R⁷ являє собою водень;

R⁸ являє собою фтор;

R⁹ означає водень або фтор;

20 R¹⁰ означає водень або фтор; X означає кисень;

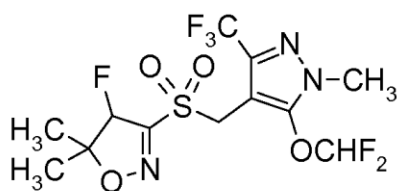
Y є одним з радикалів формул Y¹, Y², Y³ і Y⁴



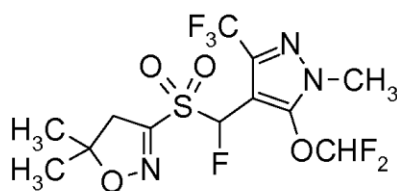
25 де # позначає точку приєднання до групи CR⁹R¹⁰;

n дорівнює нулю або 1, зокрема 1, і

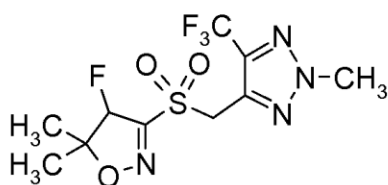
серед них особлива перевага сполукам ізоксазоліну формул II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 та II.9



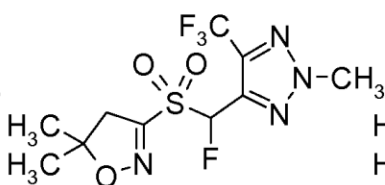
II.1



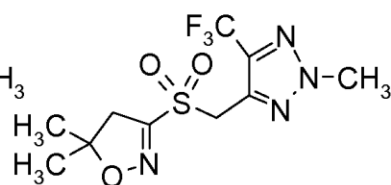
II.2



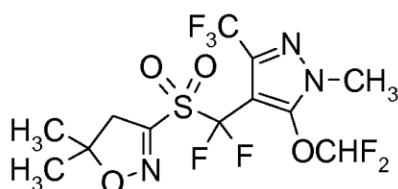
II.3



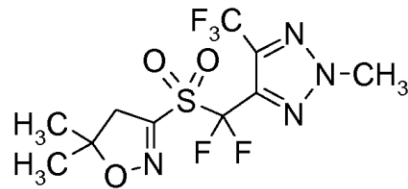
II.4



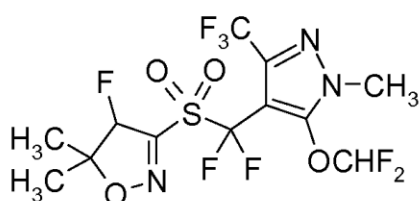
II.5



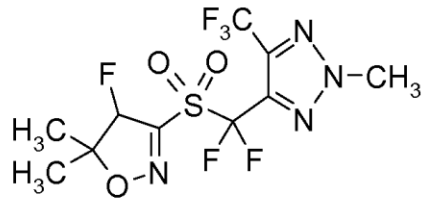
II.6



II.7



II.8

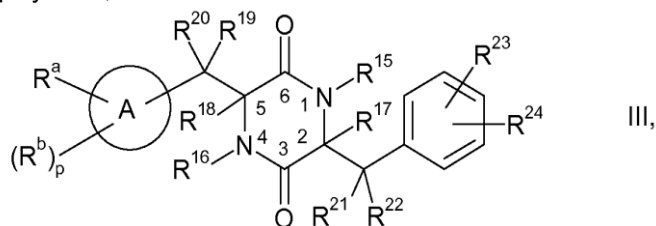


II.9

Сполуки ізоксазоліна формули II відомі в даній галузі, наприклад, з WO 2006/024820, WO 2006/037945, WO 2007/071900 та WO 2007/096576,

5 серед інгібіторів VLCFA перевага віддається хлорацетамідам та оксиацетамідам, особливо піроксасульфону;

b11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози: хлортиамід, дихлобеніл, флупоксам, ізоксабен, 1-циклогексил-5-пентафлуорфенілокси-1⁴-[1,2,4,6]тіатризин-3-іламін та сполукам піперазину формули III,



III,

10

де

A є феніл або піридил, де R^a приєднаний в орто-положенні до точки приєднання A до атома вуглецю;

R^a є CN, NO₂, C₁-C₄-алкіл, D-C₃-C₆-циклоалкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, O-D-C₃-C₆-циклоалкіл, S(O)_qR^y, C₂-C₆-алкеніл, D-C₃-C₆-ціклоалкеніл, C₃-C₆-алкенілокси, C₂-C₆-алкініл, C₃-C₆-алкінілокси, NR^AR^B, три-C₁-C₄-алкілсіліл, D-C(=O)-R^{a1}, D-P(=O)-R^{a1}, феніл, нафтил, 3-7-членне моноциклічне або 9- або 10-членний біциклічний насичений, ненасичений або ароматичний гетероцикл, який приєднаний через вуглець або азот, який містить 1, 2, 3 або 4 гетероатома, вибраних з групи, що складається з O, N та S, і яке може бути частково або повністю заміщені групами, R^{aa} та/або R^{a1}, а якщо R^a приєднаний до атома вуглецю, то додатково галоген;

R^y C₁-C₆-алкіл, C₃-C₄-алкеніл, C₃-C₄-алкініл, NR^AR^B або C₁-C₄-галогеналкіл і

q є 0, 1 або 2;

R^A, R^B незалежно один від одного являють собою водень, C₁-C₆-алкіл, C₃-C₆-алкеніл або C₃-C₆-алкініл; разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, R^A, R^B можуть також утворювати п'яти-або шестичленне насичене, частково або повністю ненасичене кільце, яке додатково до атомів вуглецю, може містити 1, 2 або 3 гетероатома, вибраних з групи, що складається з O, N і S, причому кільце може бути заміщено від 1 до 3 груп R^{aa};

D являє собою ковалентний зв'язок, C₁-C₄-алкілен, C₂-C₆-алкеніл або C₂-C₆-алкініл;

R^{a1} означає водень, OH, C₁-C₈-алкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₃-C₆-циклоалкіл, C₂-C₈-алкеніл, C₅-C₆-ціклоалкеніл, C₂-C₆-алкініл, C₁-C₆-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, C₃-C₈-алкенілокси, C₃-C₈-алкінілокси, NR^AR^B, C₁-C₆ алкоксіаміно, C₁-C₆-алкілсульфоніламіно, C₁-C₆-алкіламіносульфоніламіно, [ди-(C₁-C₆)алкіламіно] сульфониламіно, C₃-C₆-алкеніламіно, C₃-C₆-алкініламіно, N-(C₂-C₆-алкеніл)-N-(C₁-C₆-алкіл)аміно, N-(C₂-C₆-алкініл)-N-(C₁-C₆-алкіл)аміно, N-(C₁-C₆-алкокси)-N-(C₁-C₆-алкіл)аміно, N-(C₂-C₆-алкеніл)-N-(C₁-C₆-алкокси)аміно, N-(C₂-C₆-алкініл)-N-(C₁-C₆-алкокси)аміно, C₁-C₆-алкілсульфоніл-, три-C₁-C₄-алкілсіліл, феніл, фенокси, феніламіно або 5 - або 6-членний моноциклічний або 9- або 10-членний біциклічний гетероцикл, який містить 1, 2, 3 або 4 гетероатома, вибраних з групи, що складається з O, N і S, де циклічні групи незаміщені або заміщені 1, 2, 3 або 4 групами R^{aa};

R^{aa} являє собою галоген, OH, CN, NO₂, C₁-C₄-алкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, S(O)_qR^y, D-C(=O)-R^{a1} і три-C₁-C₄-алкілсіліл;

R^b незалежно один від одного означають водень, CN, NO₂, галоген, C₁-C₄-алкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₂-C₄-алкеніл, C₃-C₆-алкініл, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-галогеналкокси, бензил або S(O)_qR^y;

R^b разом з групою R^a або R^b, приєднані до сусіднього атому кільця можуть також утворювати п'яти-або шести-членний насичений або частково або повністю ненасичене кільце, яке, додатково до атомів вуглецю може містити 1, 2 або 3 гетероатоми, вибрані з групи, що складається з O, N і S, причому кільце може бути частково або повністю заміщене R^{aa};

r дорівнює 0, 1, 2 або 3;

R¹⁵ означає водень, OH, CN, C₁-C₁₂-алкіл, C₃-C₁₂-алкеніл, C₃-C₁₂-алкініл, C₁-C₄-алкокси, C₃-C₆-ціклоалкілом, C₅-C₆-ціклоалкеніл, NR^AR^B, S(O)_nR^y, S(O)_nNR^AR^B, C(=O)R²⁵, -CONR^AR^B, феніл або 5- або 6-членний моноциклічний або 9- або 10-членний біциклічний ароматичний гетероцикл, який містить 1, 2, 3 або 4 гетероатомів, вибраних з групи, що складається з O, N і S, де циклічні групи приєднані через D¹ і незаміщеними або заміщені 1, 2, 3 або 4 групами R^{aa}, а також наступні частково або повністю R^{aa}-заміщених груп: C₁-C₄-алкіл, C₃-C₄-алкеніл, C₃-C₄-алкініл, C₁-C₄-алкокси, C₃-C₆-ціклоалкілом, C₅-C₆-ціклоалкеніл, NR^AR^B, S(O)_nR^y, S(O)_nNR^AR^B, C(=O)R²⁵, CONR^AR^B; переважно означає водень, OH, CN, C₁-C₁₂-алкіл, C₃-C₁₂-алкеніл, C₃-C₁₂-алкініл, C₁-C₄-алкокси, C₃-C₆-ціклоалкіл, C₅-C₆-ціклоалкеніл, NR^AR^B, S(O)_nR^y, S(O)_nNR^AR^B, C(=O)R²⁵, CONR^AR^B, феніл або 5- або 6-членний моноциклічний або 9- або 10-членний біциклічний ароматичний гетероцикл, який містить 1, 2, 3 або 4 гетероатома, вибрані з групи, що складається з O, N і S, де циклічні групи приєднані через D¹ і незаміщені або заміщені 1, 2, 3 або 4 групами R^{aa}, а також наступні частково або повністю R^{aa}-заміщених груп: C₁-C₄-алкіл, C₃-C₄-алкеніл і C₃-C₄-алкініл;

R²⁵ означає водень, C₁-C₄-алкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₁-C₄-алкокси або C₁-C₄-галогеналкокси;

D¹ являє собою карбоніл або групу D;

де в групах R¹⁵, R^a та їх суб-замісників вуглецевого ланцюга і/або циклічні групи можуть нести 1, 2, 3 або 4 замісники, R^{aa} і/або R^{a1};

R¹⁶ означає C₁-C₄-алкіл, C₃-C₄-алкеніл або C₃-C₄-алкініл;

R¹⁷ означає OH, NH₂, C₁-C₄-алкіл, C₃-C₆-циклоалкіл, C₃-C₆-алкеніл, C₃-C₆-алкініл, C₁-C₄-гідроксіалкіл, C₁-C₄-ціаноалкіл, C₁-C₄-галогеналкіл, C₁-C₄-алкокси-C₁-C₄-алкіл або C(=O)R²⁵;

R¹⁸ означає водень, галоген, C₁-C₄-алкіл або C₁-C₄-галогеналкіл або R¹⁸ і R¹⁹ разом утворюють ковалентний зв'язок;

R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} незалежно один від одного означають водень, галоген, OH, CN, NO_2 , C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_2 - C_6 -алкеніл, C_2 - C_6 -алкініл, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галогеналкокси, C_3 - C_6 -циклоалкіл, C_3 - C_6 -ціклоалкеніл-і C_3 - C_6 -ціклоалкініл;

R^{23} , R^{24} незалежно один від одного означають водень, галоген, OH, галогеналкіл, $NR^A R^B$, $NR^A C(O)R^{26}$, CN, NO_2 , C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_2 - C_4 -алкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галогеналкокси, $O-C(O)R^{26}$, фенокси або бензилокси, причому в групах R^{23} і R^{24} вуглецеві ланцюги і/або циклічні групи можуть нести 1, 2, 3 або 4 замісники R^{aa} ;

R^{26} є C_1 - C_4 -алкіл або $NR^A R^B$;

серед сполук ізоксазоліну сполук піперазин формули III, перевага віддається сполукам піперазину формули III, де

A є фенол або піридил, де R^a приєднаний в орто-положенні до точки приєднання до атому вуглецю;

R^A є CN, NO_2 , C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галогеналкокси або $D-C(=O)-R^{a1}$;

R^Y C_1 - C_6 -алкіл, C_3 - C_4 -алкеніл, C_3 - C_4 -алкініл, $NR^A R^B$ або C_1 - C_4 -галогеналкіл і де q є 0, 1 або 2;

R^A , R^B незалежно один від одного являють собою водень, C_1 - C_6 -алкіл, C_3 - C_6 -алкеніл або C_3 - C_6 -алкініл; разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, R^A , R^B можуть також утворювати п'яти-або шестичленне насичене, частково або повністю ненасичене кільце, яке, на додаток до атомів вуглецю, може містити 1, 2 або 3 гетероатома, вибраних з групи, що складається з O, N і S, причому кільце може бути заміщено від 1 до 3 груп R^{aa} ;

D являє собою ковалентний зв'язок або C_1 - C_4 -алкілен;

R^{a1} означає водень, OH, C_1 - C_8 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл;

R^{aa} являє собою галоген, OH, CN, NO_2 , C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галогеналкокси, $S(O)_q R^Y$, $D-C(=O)-R^{a1}$ і три C_1 - C_4 -алкілсилілі;

R^b незалежно один від одного являє CN, NO_2 , галоген, C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_2 - C_4 -алкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_1 - C_4 -алкокси, C_1 - C_4 -галогеналкокси, або бензил $S(O)_q R^Y$;

R^b разом з групою R^a або R^b , приєднану до сусіднього атому можуть також утворювати п'яти-або шестичленне насичене або частково або повністю ненасичене кільце, яке, на додаток до атомів вуглецю, може містити 1, 2 або 3 гетероатома, вибраних з групи, що складається з O, N і S, причому кільце може бути частково або повністю заміщені R^{aa} ;

r являє собою 0 або 1;

R^{15} означає водень, C_1 - C_{12} -алкіл, C_3 - C_{12} -алкеніл, C_3 - C_{12} -алкініл, C_1 - C_4 -алкокси або $C(=O)R^{25}$, які можуть бути частково або повністю заміщені R^{aa} -групами; переважно являє собою водень, C_1 - C_{12} -алкіл, C_3 - C_{12} -алкеніл, C_3 - C_{12} -алкініл, C_1 - C_4 -алкокси або $C(=O)R^{25}$;

R^{25} означає водень, C_1 - C_4 -алкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл, C_1 - C_4 -алкокси або C_1 - C_4 -галогеналкокси, де в групах R^{15} , R^a та їх суб-замісників вуглецевого ланцюга і/або циклічні групи можуть нести 1, 2, 3 або 4 замісники, R^{aa} і/або R^{a1} ;

R^{16} означає C_1 - C_4 -алкіл;

R^{17} означає OH, NH_2 , C_1 - C_4 -алкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл, C_1 - C_4 -галогеналкіл або $C(=O)R^{25}$;

R^{18} означає водень, або R^{18} і R^{19} разом утворюють ковалентний зв'язок;

R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{21} незалежно один від одного являють собою водень;

R^{23} , R^{24} незалежно один від одного означають водень, галоген або OH;

b12) з групи розв'язуючих гербіцидів:

диносеб, дінотерб і DNOC та його солі;

b13) з групи ауксинових гербіцидів:

2,4-D і його солі та естери, 2,4-DB, його солі та естери, амінопіралід та його солі, такі як амінопіралід-трис (2-гідроксипропіл) амонію та його естери, беназолін, беназолін-етилу, хлорамбен і його солі та естери, кломеппроп, клопіралід і його солі та естери, дикамба і її солі та естери, дихлорпроп і його солі та естери, дихлорпроп-P і його солі та естери, флуроксіпір, флуроксіпір-бутометил, флуроксіпір-метил, MCPA і його солі та естери, MCPA-тіоетил, MCPB і його солі та естери, мекопроп і його солі та естери, мекопроп-P і його солі та естери, піклорам і його солі та естери, квінклорак, квінклорак ТВА (2,3, 6) і його солі та естери, триклопір та його солі та естери та аміноциклорихлор і його солі та естери;

b14) з групи, що включає інгібітори транспортування ауксину: діфлуфензопіром, діфлуфензопіром-натрій, напталам і напталам-натрій;

b15) з групи інших гербіцидів: бромобутід, хлорфлуренол, хлорфлуренол-метил, цінметилін, кумілуон, далапон, дазомет, діфензокват, діфензокват-метилсульфат, діметипін, DSMA, дімрон, ендотал та її солі, етобензанід, флампроп, флампроп-ізопропіл, флампроп-метилу, флампроп-M-ізопропіл, флампроп-M-метил, флуренол, флуренол-бутил, флурпрімідол, фозамін, фозамін-амоній, інданофан, індазіфлам, малеїновий гідрозид, мефлуїдід, метам,

метилазид, метилбромід метил-дімрон, метилйодид, MSMA, олеїнова кислота, оксазікломефон, пеларгонова кислота, пірібутікарб, хінокламін, тріазифлам, трідіфан і 6-хлор-3-(2-циклопропіл-6-метилфенокси)-4-піридазинол (CAS 499223-49-3) і його солі та естери.

Крім того, може бути корисно використовувати бензоксазинони формули I в поєднанні з антидотами. Антидотами є хімічні сполуки, які запобігають або зменшують пошкодження корисних рослин, не маючи великого впливу на гербіцидну дію бензоксазинону формули I до небажаних рослин. Їх можна застосовувати як до посіву (наприклад, для обробки насіння, пагонів або саджанців), або до появи сходів, або після появи сходів корисної рослини.

Крім того, антидоти С, бензоксазинони I та/або гербіциди В можуть застосовуватися одночасно або послідовно.

Відповідні антидоти є, наприклад, (хінолін-8-окси)оцтові кислоти, 1-феніл-5-галогеналкіл-1Н-1,2,4-триазол-3-карбонові кислоти, 1-феніл-4,5-дигідро-5-алкіл-1Н-піразол-3,5-дикарбонові кислоти, 4,5-дигідро-5,5-діарил-3-ізоксазолкарбонові кислоти, дихлорацетаміди, альфа-оксимінофенілацетонітрил, ацетофеноноксими, 4,6-дигалоген-2-фенілпіримідини, N-[[4-(амінокарбоніл)феніл]сульфоніл]-2-бензоїламід, 1,8-нафталеві ангідриди, 2-галоген-4-(галоїдалкіл)-5-тіазолкарбонові кислоти, фосфортіолати і N-алкіл-О-фенілкарбамати та їх сільськогосподарсько прийнятні солі і їх сільськогосподарсько прийнятні похідні, такі амід, естери і тіоестери, за умови, що вони мають кислотну групу.

Прикладами кращих антидотів С є беноксакор, клокви́нтоцет, циометриніл, ципросульфамід, дихлормід, дициклонон, діетолат, фенхлоразол, фенклорін, флуразол, флуксофеніл, фурилазол, ізоксадифен, мефенпір, мефенат, нафталевого ангідриду оксабетриніл, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4.5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) і 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4) і N-(2-метоксибензоїл)-4-[(метиламінокарбоніл)аміно]бензолсульфонамід (CAS 129531-12-0).

Особливо переважними антидотами С є беноксакор, клокви́нтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорін, флуразол, флуксофеніл, фурилазол, ізоксадифен, мефенпір, нафталевий ангідрид, оксабетриніл, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4.5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) і 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4), і N-(2-метоксибензоїл)-4-[(метиламінокарбоніл)аміно]бензолсульфонамід (CAS 129531-12-0).

Особливо переважними антидотами С є беноксакор, клокви́нтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорін, фурилазол, ізоксадифен, мефенпір, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4.5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) і 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4), і N-(2-метоксибензоїл)-4-[(метиламінокарбоніл)аміно]бензолсульфонамід (CAS 129531-12-0).

Особливо переважними антидотами С, в якості компонента С, є компонент композиції згідно з винаходом є антидоти С, як визначено вище, зокрема, антидоти С.1-С.13 перераховані нижче у таблиці С:

Таблиця С

Сафенер С	
	С.1 беноксакор
	С.2 клокви́нтоцет
	С.3 ципросульфамід
	С.4 дихлормід
	С.5 фенхлоразол
	С.6 фенклорим
	С.7 фурилазол
	С.8 ізоксадифен
	С.9 мефенпір
	С.10 ангідрид нафталевої кислоти
	С.11 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4.5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3)
	С.12 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4)
	С.13 N-(2-метоксибензоїл)-4-[(метиламінокарбоніл)аміно]бензолсульфонамід (CAS 129531-12-0)

Активні сполуки В груп b1) - b15) і активні сполуки С, відомі як гербіциди та антидоти, див., наприклад, The Compendium of Pesticide Common Names (<http://www.alanwood.net/pesticides/>); Farm Chemicals Handbook 2000 volume 86, Meister Publishing Company, 2000; B. Hock, C. Fedtke,

R.R. Schmidt, Herbicide [Herbicides], Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995; W. H. Ahrens, Herbicide Handbook, 7th edition, Weed Science Society of America, 1994; та K. K. Hatzios, Herbicide Handbook, Supplement for the 7th edition, Weed Science Society of America, 1998. 2,2,5-триметил-3-(дихлороацетил)-1,3-оксазолідин [CAS No. 52836-31-4] також відомий як R-29148. 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4.5]декан [CAS No. 71526-07-3] також відомий як AD-67 та MON 4660. Далі відомі активні гербіцидні сполуки з WO96/26202, WO 97/41 116, WO 97/41 1 17, WO 97/411 18 та WO 01/83459 а також з W. Kramer et al. (ed.) "Modern Crop Protection Compounds", Vol. 1, Wiley VCH, 2007 і цитована там література. Як правило, переважно використовувати сполуки за винаходом в комбінації з гербіцидами, які є селективними щодо врожаю, який виправляють, і які доповнюють спектр сполук для контролю бур'янів при нормальних робочих витратах. Крім того, зазвичай переважно застосовувати сполуки за винаходом та інші додаткові гербіциди одночасно або як комбінований препарат або у вигляді бакової суміші.

Термін "нуклеїнова кислота mut-PPO" відноситься до PPO нуклеїнової кислоти, що має послідовність, яка є мutowаною від дикого типу PPO нуклеїнової кислоти і який надає посиленої стійкості до гербіцидного похідного бензоксазинону рослинам в експресії. Крім того, термін "мutowана оксидаза протопорфіриногену (mut-PPO)" відноситься до заміни амінокислоти дикого типу первинних послідовностей SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, або 46, або її варіант, похідне, гомолог, ортолог або Паролог цього, іншими амінокислотами. Вираз "мutowана амінокислота" буде використаний нижче для позначення амінокислоти, яка замінена іншою амінокислотою, тим самим позначає сайт мутації в первинній послідовності білка. У переважному варіанті здійснення PPO нуклеотидна послідовність містить послідовність SEQ ID NO: 1, 25, 37 або 39 або її варіант або похідне. Крім того, повинно бути зрозуміло фахівцю в даній галузі техніки, що PPO нуклеотидні послідовності включають гомологи, парологи і ортологи SEQ ID NO: 1, 25, 37 або 39, як визначено нижче.

Термін "варіант" стосовно послідовності (наприклад, поліпептид або послідовність нуклеїнової кислоти, такий як, наприклад, - регуляції транскрипції нуклеотидної послідовності за винаходом), означає по суті аналогічну послідовність. Для нуклеотидної послідовності, що містить відкриту рамку зчитування, варіанти включають ті послідовності, які через вродженості генетичного коду кодують ідентичну амінокислотну послідовність нативного білка. Природні алельні варіанти є такими, які можуть бути ідентифіковані з використанням відомих методів молекулярної біології, як, наприклад, полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і методами гібридизації. Варіант нуклеотидних послідовностей включають також синтетично отримані нуклеотидні послідовності, такі що генеруються, наприклад, за допомогою сайт-спрямованого мутагенезу і відкритими рамками зчитування, що кодують нативний білок, а також ті, які кодують поліпептиди, що мають амінокислотні заміни відносно з нативним білком. Як правило, варіанти нуклеотидних послідовностей за винаходом можуть мати принаймні 30, 40, 50, 60, до 70 %, наприклад, переважно 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, до 79 %, зазвичай щонайменше 80 %, наприклад, 81-84 %, принаймні 85 %, наприклад, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % та 99 % нуклеотидної "ідентичності послідовності" до нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 і 45. Термін "варіант" поліпептиду означає поліпептид, отриманий з білка SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, або 46, шляхом делеції (так звані усічення) або додавання однієї або декількох амінокислот на N-кінці і/або C-кінець нативного білка, видалення або додавання одного або декількох амінокислот в одному або декількох сайтах в нативного білка, або заміщення однієї або декількох амінокислот в одному або декількох сайтах в нативного білка. Такі варіанти можуть бути результатом, наприклад, генетичного поліморфізму або з людських маніпуляцій. Методи таких маніпуляцій, як правило, відомі в даній галузі. Слід визнати, що полінуклеотидні молекули і поліпептиди за винаходом включають молекули полінуклеотидів і поліпептидів, що містить нуклеотидну або амінокислотну послідовність, яка є досить ідентичною нуклеотидній послідовності, викладений у SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, або 45, або амінокислотній послідовності, представлених у SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 або 46. Термін "досить ідентичні" використовується тут для позначення першої амінокислотної або нуклеотидної послідовності, яка містить достатню або мінімальну кількість ідентичних або еквівалентних (наприклад, з подібним бічним ланцюгом) амінокислотних залишків або нуклеотидів на другій амінокислотній або нуклеотидній послідовності, так, що перша і друга амінокислотна або нуклеотидна послідовності мають загальний структурний домен і/або загальну функціональну активність.

"Ідентичність послідовностей" відноситься до ступеня, в якому дві оптимально вирівняні ДНК або амінокислотні послідовності, інваріантні по всьому вікну вирівнювання компонентів, наприклад нуклеотидів або амінокислот. "Ідентичність фракції" для вирівняних сегментів з тестової послідовності і опорної послідовності числа ідентичних компонентів, які є спільними для двох вирівняних послідовностей, поділені на загальне число компонентів відносно сегмента послідовності, тобто вся послідовність відноситься або менше до певної частини еталонної послідовності. "Відсоток ідентичності" є ідентичність фракції 100. Оптимальне вирівнювання послідовностей для вирівнювання у вікні порівняння добре відомі фахівцям в даній галузі техніки і можуть проводитися засобами, такими як алгоритм локальної гомології Smith і Waterman, алгоритм гомології вирівнювання Needleman і Wunsch, пошук подібності методом Pearson і Lipman, переважно за допомогою комп'ютерної реалізації цих алгоритмів, таких як GAP, BESTFIT, FASTA, та TFASTA, доступними як частина GCG. Wisconsin Package. (Accelrys Inc. Burlington, Mass.).

Терміни "полінуклеотид (и)", "послідовність (ості) нуклеїнових кислот", "нуклеотидна послідовність (ості)", "нуклеїнова кислота (и)", "молекула нуклеїнової кислоти" використовуються тут взаємозаміно і відносяться до нуклеотидів, таких як рибонуклеотиди, або дезоксирибонуклеотиди або поєднання того й іншого в полімерні нерозгалужені форми будь-якої довжини.

"Похідні" пептидів, що вміщують білки, олігопептидів, поліпептидів, білків та ферментів мають амінокислотні заміни, делеції та/або інсерції, в порівнянні з немодифікованим білком, про який йде мова, та мають схожу біологічну та функціональну активності немодифікованого білка, з якого вони отримані.

"Гомологи" пептидів, що містять білки, олігопептидів, поліпептидів, білків і ферментів, що мають амінокислотні заміни, делеції та/або інсерції в порівнянні з немодифікованим білком, про який йде мова, та мають схожу біологічну та функціональну активності немодифікованого білка, з якого вони отримані.

Делеції стосуються видалення однієї або більше амінокислот з білка.

Інсерції стосуються одного або більше амінокислотних залишків, що вводять в заданому місці в білку. Інсерції можуть включати N-кінцеві та/або С-кінцеві вбудови, а також вставки всередині послідовності однієї або декількох амінокислот. Як правило, вставок в межах амінокислотної послідовності буде менше, ніж N-або С-кінцевих вбудов, порядку приблизно від 1 до 10 залишків. Приклади білків або пептидів з N-або С-кінцевими вбудовами білку включають зв'язуючий домен або домен активації активатора транскрипції, що використовують в дріжджовій двогібридній системі, білки фага (гістидин)-6-тег, глутатіон S-трансферази-тег, білок А, мальтоза-зв'язуючий білок, дигідрофолатредуктази, епітоп Тег¹⁰⁰, с-мус епітоп, FLAG[®]-епітоп, ІасZ, СМР (калмодулін зв'язуючий пептид), НА епітоп, епітоп білка С and VSV епітоп.

Заміщення відноситься до заміни амінокислоти білка іншими амінокислотами, які мають аналогічні властивості (наприклад, подібну гідрофобність, гідрофільність, антигенність, схильність до утворення перерв альфа-спіральної структури або β-складчастих структур). Амінокислотні заміни є, як правило, з одного залишків, але можуть бути згруповані залежно від функціональних обмежень місця накладанням на поліпептид і може знаходитися в діапазоні від 1 до 10 амінокислот; вставками, як правило, порядку приблизно від 1 до 10 амінокислотних залишків. Амінокислотні заміни переважно є консервативними амінокислотними замінами. Таблиці консервативних заміन добре відомі в даній галузі (див., наприклад Creighton (1984) Proteins. W.H. Freeman and Company (ред.).

Приклади консервативних амінокислотних заміни

Залишок	Консервативні заміщення	Залишок	Консервативні заміщення
Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu; Ile
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Gln	Asn	Ser	Thr; Gly
Cys	Ser	Thr	Ser; Val
Glu	Asp	Trp	Tyr
Gly	Pro	Tyr	Trp; Phe
His	Asn; Gln	Val	Ile; Leu
Ile	Leu, Val		

Амінокислотні заміни, делеції та/або інсерції, можуть бути легко виконані з використанням методів синтезу пептидів, добре відомими в даній галузі, наприклад, твердофазного синтезу пептидів тощо, або за допомогою маніпуляції рекомбінантної ДНК. Методи маніпуляції послідовності ДНК проведення варіантів заміни, вставки або делеції білків добре відомі в даній галузі. Наприклад, способи отримання заміщення мутацій в заздалегідь визначених місцях в ДНК добре відомі фахівцям в даній галузі і включають M13 мутагенез, мутагенез T7-гену in vitro у (USB, Cleveland, OH), мутагенез швидкої заміни направляючого сайту (Stratagene, San Diego, CA), мутагенез ПЛР-опосередкований направляючого сайту або інші протоколи мутагенезу направляючих.

"Похідні" додатково включають в себе пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які можуть, у порівнянні з амінокислотою послідовністю природної форми білка, такими як білок інтересу, включати заміни амінокислот з амінокислотними залишками неприродної форми або додатковими неприродними амінокислотними залишками. "Похідні" білка також включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які включають природні випадкові заміни (глікозильовані, ацильовані, пренильовані, фосфорильовані, міристоїльовані, сульфатовані і т. д.) або не природньо замінені амінокислотні залишки, в порівнянні з амінокислотою послідовністю природнього поліпептиду. Похідне може також містити один чи більше неамінокислотних замісників або додатків в порівнянні з амінокислотою послідовністю, з якої вони були отримані, наприклад, молекула-репортер або інший ліганд, ковалентно або нековалентно зв'язаний з амінокислотою послідовністю, наприклад, репортерною молекулою, яка пов'язана для полегшення його виявлення, і не зустрічаються в природних амінокислотних залишках, по відношенню до природньої амінокислотної послідовності білка. Крім того, "похідні" включають також злиття, що зустрічаються в природі, білків з міченими пептидами, такими як FLAG, HIS6 або тіоредоксин (для опису мічених пептидів див. Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523-533, 2003).

"Ортологи" та "парологи" включають еволюційні поняття, що використовуються для опису родових відносин генів. Парологами є гени в межах одного виду, які виникли через дублювання гена-попередника; ортологами є гени з різних організмів, які виникли через видоутворення, а також отримані із загальних генів-нащадків. Необмежений перелік прикладів таких ортологів, які показані в таблиці 1. Добре відомо з рівня техніки, що парологи та ортологи можуть ділити різні домени, приховуючи прийнятні амінокислотні залишки в даних сайтах, таких як зв'язувальні пакети для конкретних субстратів або зв'язувальні мотиви для взаємодії з іншими білками.

Термін "домени" відноситься до набору амінокислот, що зберігають специфічні положення вздовж вирівнювання послідовностей еволюційно споріднених білків. У той же час амінокислоти в інших положеннях можуть мінятися між гомологами, амінокислоти, які є високо консервативними у конкретному положенні вказують амінокислоти, які є істотно необхідними у структурі, стабільності або функціонуванні білку. Ідентифіковані їх високим ступенем консервативності в вирівняних послідовностях родини гомологів білків, вони можуть бути використані в якості ідентифікаторів для визначення, чи будь-який поліпептид за інтересом відноситься до раніше ідентифікованої родини поліпептидів.

Термін "мотив" або "консенсусна послідовність" стосується короткої консервативної області в послідовності еволюційно споріднених білків. Мотиви часто є високо консервативними частинами доменів, але може також включати в себе тільки частину домену або бути

розташовані поза консервативним доменом (якщо всі амінокислоти мотиву знаходяться за межами певного домену).

Існують спеціальні бази даних для ідентифікації областей, наприклад, SMART (Schultz et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 5857-5864; Letunic et al. (2002) *Nucleic Acids Res* 30, 242-244), InterPro (Mulder et al., (2003) *Nucl. Acids. Res.* 31, 315-318), Prosite (Bucher and Bairoch (1994), Узагальнений синтаксисний профіль для мотивів біомолекулярних послідовностей та його функції в автоматичній інтерпретації послідовності. (In) ISMB-94; Proceedings 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Eds., pp53-61, AAAI Press, Menlo Park; Hulo et al., *Nucl. Acids. Res.* 32:D134-D137, (2004)), or Pfam (Bateman et al., *Nucleic Acids Research* 30(1): 276-280 (2002)). Набір інструментів для кремнієвого аналізу білкових послідовностей доступний на ExPASy proteomics server. (Swiss Institute of Bioinformatics (Gasteiger et al., Ex-PASy: сервер протеоміки для поглибленого вивчення та аналізу білків, *Nucleic Acids Res.* 31:3784-3788(2003)). Домени або мотиви можуть бути також визначені за допомогою звичайних методів, наприклад, шляхом вирівнювання послідовностей.

Методи вирівнювання послідовностей для порівняння добре відомі в даній галузі техніки та включають GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA and TFASTA. GAP використовує алгоритм Needleman та Wunsch ((1970) *J Mol Biol* 48: 443-453 для пошуку глобальних (тобто, охоплює повні послідовності) вирівнювань двох послідовностей, який максимізує кількість збігів та мінімізує кількість пропусків. Алгоритм BLAST (Altschul et al. (1990) *J Mol Biol* 215: 403-10) підраховує відсоток ідентичності послідовності та виконує статистичний аналіз подібності між двома послідовностями. виконує статистичний аналіз подібності між двома послідовностями. Програмне забезпечення для виконання аналізу BLAST публічно доступне через Національний центр біоінформатики (NCBI). Гомологи можуть бути легко визначені з використанням, наприклад, алгоритму ClustalW вирівнювання декількох послідовностей (версія 1,83), при цьому типовим є параметри попарного вирівнювання та методи обчислювання у відсотках. Загальний відсоток подібності та ідентичності може бути також визначено з використанням одного з методів, доступних в пакеті програмного забезпечення MatGAT (Campanella et al., *BMC Bioinformatics.* 2003 Jul 10;4:29. MatGAT: додаток, який генерує матриці подібності/ідентичності з використанням послідовності білків або ДНК.). Мінімальне ручне корегування може виконуватися для оптимізації вирівнювання між консервативними мотивами, що очевидно для фахівця в даній галузі. (Smith TF, Waterman MS (1981) *J. Mol. Biol* 147(1); 195-7).

Автори даного винаходу несподівано виявили, що шляхом заміни одного або більше з ключових амінокислотних залишків толерантність або стійкість до гербіцидів може бути повторно чисельно збільшена в порівнянні з активністю дикого типу PPO ферментів з SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 або 46. Переважні заміни mut-PPO є ті, які підвищують стійкість до гербіцидів рослин, але залишена біологічна активність активності оксидази істотно не впливає.

Відповідно, в іншому об'єкті даного винаходу ключові амінокислотні залишки ферменту PPO, варіанту, похідного отолога, Паролога або його гомолога заміщено будь-якою іншою амінокислотою.

У переважному варіанті здійснення ключові амінокислотні залишки ферменту PPO, варіанту, похідного отолога, паролога або його гомолога заміщено консервативною амінокислотою, як показано у таблиці 2.

Фахівцеві в даній галузі повинно бути зрозуміло, що амінокислоти розташовані в безпосередній близькості від позицій амінокислот, зазначених нижче, також можуть бути заміщені. Таким чином, в іншому варіанті здійсненні варіант SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, або 46, варіант, похідне, паролог або гомолог містить mut-PPO, в яких амінокислота ± 3 , ± 2 або ± 1 в амінокислотних позиціях від ключової амінокислоти замінена будь-якою іншою амінокислотою. На основі методів, добре відомих в даній області, найвищі характерні зображення послідовності можуть бути розроблені, за допомогою яких в подальшому можуть бути знайдені mut-PPO кандидати з потрібною активністю.

Пошук подальших mut-PPO кандидатів шляхом застосування підходящої конфігурації послідовності буде також входити в обсяг даного винаходу. Слід розуміти кваліфікованому читачеві, що даний шаблон послідовності не обмежено точною відстанню між двома сусідніми амінокислотними залишками зазначеного шаблону. Кожна з відстаней між двома вище сусідніми моделями може, наприклад, змінюватися незалежно одна від одної більш ніж на ± 10 , ± 5 , ± 3 , ± 2 або ± 1 амінокислотних позицій без істотного впливу на бажану активність.

Відповідно до згаданих вище функціонального і просторового аналізів окремих амінокислотних залишків на основі кристалографічних даних, отриманих відповідно до даного винаходу, унікальні часткові амінокислотні послідовності характеризують потенційно корисних mut-PPO кандидатів згідно винаходу та можуть бути ідентифіковані.

- 5 В особливо кращому варіанті здійснення винаходу варіант або похідне mut-PPO з SEQ ID NO: 2, вибрані з наступної таблиці 3a та комбіновані амінокислотні заміни mut-PPO з SEQ ID NO: 2 вибраний з таблиці 3b.

Таблиця 3a

(Послідовність ID No: 2, 26, 38, 40): одиничні амінокислотні заміни

SEQ ID NO:	Ключова амінокислота	Переважає заміщення	Загальне заміщення
2	Arg128	Leu, Ala, Val	Leu, Ala, Val, Ile, Phe, Trp, Asp, Asn
2	Gly175	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
2	Gly209	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
2	Gly210	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
2	Leu295	Ser, Met, Ala	Ser, Met, Ala, Val, Asp, Asn Thr
2	Ser296	Leu, Met, Gly	Leu, Met, Gly, Val, Asp, Asn Thr
2	Leu334	Val, Ile, Phe	Val, Ile, Phe, Tyr, Asn, Asp, Thr
2	Phe353	Tyr, Leu	Tyr, Leu, Val, Ile, Asn
2	Gly382	Ala, Ser, Thr	Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Asp
2	Leu384	Ala, Val, Ile	Ala, Val, Ile, Asn, Asp, Thr
2	Leu397	Ala, Val, Ile	Ala, Val, Ile, Asn, Asp, Thr
2	Gly398	Ala, Ser, Thr	Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Asp
2	Thr399	Ser, Cys	Ser, Cys, Met, Ala, Asn
2	Leu400	Ala, Val, Ile, Phe	Ala, Val, Ile, Phe, Asn, Asp, Thr
2	Ser402	Gly, Ala, Cys	Gly, Ala, Cys, Asp, His
2	Ser403	Gly, Ala, Cys	Gly, Ala, Cys, Asp, His
2	Met404	Ser, Cys, Thr	Ser, Cys, Thr, Gly, Ala
2	Met405	Leu, Ala, Val	Leu, Ala, Val, Gly, Cys, Ser
2	Phe420	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Leu, Thr
2	Phe439	Tyr, Trp	Tyr, Trp, Ala, Val, Ile
26	Val389	Met, Ala, Cys	Met, Ala, Cys, His
38	Ala220	делеція, Val, Thr, Leu, Cys, Ile	делеція, Val, Thr, Leu, Cys, Ile, Met
38	S305	Leu, Ala, Val	Leu, Ala, Val
38	Tyr426	Met, Cys, Ile	Met, Cys, Ile, Leu, Thr
40	Gly178	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
40	Gly179	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
40	Phe372	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Phe	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Phe, Leu, Thr
40	Phe392	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp	Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Leu Thr

SEQ ID NO: 2 (комбіновані амінокислотні заміни)

Комбі- нація №	Ключове амінокислотне положення	Переважне	Загальне
		Заміщення	
1	Gly209 або Gly210	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
	Arg128	Leu, Ala, Val	Leu, Ala, Val, Ile, Phe, Trp, Asp, Asn
2	Phe420	Met, Cys, Ile	Met, Cys, Ile, Leu, Thr
	Leu295	Ser, Met, Ala	Ser, Met, Ala, Val, Asp, Asn Thr
3	Phe420	Met, Cys, Ile	Met, Cys, Ile, Leu, Thr
	Ser296	Leu, Met, Gly	Leu, Met, Gly, Val, Asp, Asn Thr
4	Arg128	Leu, Ala, Val	Leu, Ala, Val, Ile, Phe, Trp, Asp, Asn
	Phe420	Met, Cys, Ile	Met, Cys, Ile, Leu, Thr
5	Gly209 або Gly210	делеція, Ala, Val, Pro	делеція, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, Thr
	Phe420	Met, Cys, Ile	Met, Cys, Ile, Leu, Thr

Слід розуміти, що будь-яка амінокислота, крім тих, які згадані в наведених вище таблицях 3, може бути використана як заступник. Дослідження для перевірки функціональності таких мутантів і легко доступні в даній галузі техніки і, відповідно, описані в розділі прикладів здійснення даного винаходу.

У переважному варіанті амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності PPO SEQ ID NO: 2 в одному або декількох з наступних положень: 128, 175, 209, 210, 295, 296, 334, 353, 382, 384, 397, 398, 399, 400, 402, 403, 404, 405, 420, 439.

Приклади відмінностей у цих положеннях амінокислот включають, але не обмежуються ними, один або більше з таких дій: амінокислота в положенні 128 є іншою, ніж аргінін; амінокислота в положенні 175 є іншою, ніж гліцин; амінокислота в положенні 209 є іншою, ніж гліцин; амінокислота в положенні 210 є іншою, ніж гліцин; амінокислота в положенні 295 є іншою, ніж лейцин; амінокислота в положенні 296 є іншою, ніж серин; амінокислота в положенні 334 є іншою, ніж лейцин; амінокислота в положенні 353 є іншою, ніж фенілаланін; амінокислота в положенні 382 є іншою, ніж гліцин; амінокислота в положенні 384 є іншою, ніж лейцин; амінокислота в положенні 397 є іншою, ніж лейцин; амінокислота в положенні 398 є іншою, ніж гліцин; амінокислота в положенні 399 є іншою, ніж треонін; амінокислота в положенні 400 є іншою, ніж лейцин; амінокислота в положенні 402 є іншою, ніж серин; амінокислота в положенні 403 є іншою, ніж серину; амінокислота в положенні 404, крім метіоніну амінокислота в положенні 405, крім метіоніну амінокислота в положенні 420, крім фенілаланіну, амінокислота в положенні 439 є іншою, ніж фенілаланін.

У деяких варіантах здійснення фермент PPO SEQ ID NO: 2 містить одне або більше з наступного: амінокислота в положенні 128 є Leu, Ala, Val, Ile, Phe, Trp, Asp, або Asn; амінокислота в положенні 175 видаляється, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, або Thr; амінокислота в положенні 209 видаляється, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser або Thr; амінокислота в положенні 210 видаляється, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser, або Thr; амінокислота в положенні 295 є Ser, Met, Ala, Val, Asp, Asn або Thr; амінокислота в положенні 296 є Leu, Met, Gly, Val, Asp, Asn або Thr; амінокислота в положенні 334 є вал, брехня, Phe, Tyr, Asn, Asp або Thr; амінокислоти в положенні 353 є Tyr, Leu, Val, Ile, або Asn; амінокислота в положенні 382 є Ala, Ser, Thr, Cys, Val або Asp; амінокислоти в положенні 384 є Ala, Val, Ile, Asn, Asp або Thr; амінокислота в положенні 397 є Ala, Val, Ile, Asn, Asp або Thr; амінокислота в положенні 398 є Ala, Ser, Thr, Cys, Val, або Asp; амінокислоти в положенні 399 є Ser, Cys, Met, Ala або Asn; амінокислота в положенні 400 є Ala, Val, Ile, Phe, Asn, Asp або Thr; амінокислота в положенні 402 є Gly, Ala, Cys, Asp або His; амінокислота в положенні 403 є Gly, Ala, Cys, Asp або His; амінокислоти в положенні 404 є Ser, Cys, Thr, Gly або Ala; амінокислота в положенні 405 є Leu, Ala, Val, Gly, Cys, або Ser; амінокислота в положенні 420 є Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Leu або Thr; амінокислота в положенні 439 є Tyr, Trp, Ala, Val, або Ile.

У ще одному переважному варіанті амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності PPO SEQ ID NO: 26 в положенні 389. Переважно, амінокислоти в

положенні 389 є іншим, ніж валін. Більш переважно, коли амінокислота в положенні 389 є Met, Ala, Cys або His.

У ще одному переважному варіанті амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності PPO SEQ ID NO: 38 в одному або декількох з наступних положень: 220, 305, 426. Переважно амінокислоти в положенні 220 є іншим, ніж аланін, амінокислоти в положенні 305 є іншим, ніж серин, амінокислоти в положенні 426 є іншим, ніж тирозин.

Більш переважно, коли амінокислота в положенні 220 видаляється, Val, Thr, Leu, Cys, Ile, або Met; амінокислоти в положенні 305 є Leu, Ala, Val, амінокислоти в положенні 426 є Met, Cys, Ile, Leu або Thr.

У ще одному переважному варіанті амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності з PPO з SEQ ID NO: 40 в одному або декількох з наступних положень: 178, 179, 372, 392. Переважно амінокислоти в положенні 178 є іншим, ніж гліцин, амінокислота в положенні 179 є іншим, ніж гліцин, амінокислота в положенні 372 є іншим, ніж фенілаланін амінокислоти в положенні 392 є іншим, ніж фенілаланін.

Більш переважно, коли амінокислота в положенні 178 видаляється, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser або Thr; амінокислоти в положенні 179 видаляється, Ala, Val, Pro, Leu, Ile, Met, Ser або Thr; амінокислоти в положенні 372 є Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, Phe, Leu, або Thr; амінокислоти в положенні 392 є Met, Cys, Ile, Tyr, Trp, або Leu.

В межах знань фахівця в цій галузі, що виявлення консервативних областей і мотивів розділено між гомологами, ортологами і Парологами SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 або 45, як зображено в таблиці 1. Маючи ідентифікованими такі консервативні області, які можуть представляти прийнятні зв'язуючі мотиви, амінокислоти, що відповідають амінокислотам, перерахованим в таблиці 3a та 3b, можуть бути вибраними для заміни будь-якою іншою амінокислотою, переважно консервативною амінокислотою, як показано у таблиці 2, а також більш переважно амінокислотою з таблиць 3a і 3b.

Крім того, даний винахід відноситься до способу ідентифікації гербіцидне похідне бензоксазину за допомогою mut-PPO, що кодується нуклеїновою кислотою, яка включає нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 1+1, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, або 45, або його варіант або похідне.

Зазначений спосіб включає такі стадії:

а) генерація трансгенних клітин або рослин, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO, що відрізняється тим, mut-PPO є експресійним;

б) використання гербіцидного похідного бензоксазину до трансгенних клітин або рослин а) і контрольних клітин або рослин того ж сорту;

с) визначення зростання або життєздатності трансгенних клітин або рослин і контрольних клітин або рослин після застосування зазначеного гербіцидного похідного бензоксазину і

д) вибір "гербіцидного похідного бензоксазину", яке призведе до зниження росту контрольних клітин або рослин в порівнянні з ростом трансгенних клітин або рослин.

Під "контрольними клітинами" або "подібний, дикого типу, рослин, тканина рослин, рослинної клітини або клітина-хазяїн" розуміють рослин, рослинну тканину, рослинні клітини або клітину-хазяїна, відповідно, в яких відсутня характеристика гербіцидної стійкості та/або певний полінуклеотид за винаходом, як вказано в даному описі. Не використання терміну "дикий тип" мається на увазі, що рослині, тканині рослин, рослинній клітині або іншій клітині-хазяїну не вистачає рекомбінантної ДНК в своєму геномі, та/або не має характеристик стійкості до гербіцидів, які відрізняються від описаних тут.

Інший об'єкт стосується способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, що кодує mut-PPO який стійкий або толерантний до гербіцидне похідне бензоксазину, метод включає:

а) генерування бібліотеки нуклеїнових кислот, що кодує mut-PPO,

б) скринінг популяції в отриманих нуклеїнових кислот, що кодують mut-PPO, шляхом експресії кожної із зазначених нуклеїнових кислот у клітині або рослині та обробку вказаних клітин або рослин гербіцидним похідним бензоксазину

с) порівняння рівнів гербіцидної толерантності похідних бензоксазину, впроваджених у вказаній популяції нуклеїнових кислот mut-PPO, що кодують нуклеїнові кислоти з рівнем гербіцидної толерантності похідних бензоксазину, що спостерігається у контрольній нуклеїновій кислоті, що кодує mut-PPO,

д) вибір щонайменше однієї нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO, яка забезпечує значно вищий рівень стійкості до гербіцидне похідне бензоксазину в порівнянні з забезпеченим контролем нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO.

У переважному варіанті здійснення нуклеїнова кислота, що кодує *mut-PPO*, вибрана на стадії d), забезпечує щонайменше в 2 рази більше стійкості або толерантності клітин або рослин до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з забезпеченням контрольної нуклеїнової кислоти, що кодує *mut-PPO*.

У ще одному переважному варіанті здійснення нуклеїнова кислота, що кодує *mut-PPO*, вибрана на стадії d), забезпечує щонайменше в 2 рази, принаймні в 5 разів, принаймні в 10 разів, принаймні в 20 разів, принаймні в 50 разів, принаймні 100-кратно, принаймні в 500 разів, наскільки багато стійкості або толерантності клітини або рослин до гербіциду, що є похідним бензоксазину, в порівнянні до такої, що забезпечується контролем нуклеїновою кислотою, що кодує *PPO*.

Стійкість або толерантність можуть бути визначені шляхом генерації трансгенних рослин або клітини хазяїна, переважно рослинній клітині, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, бібліотеки на стадії a) і порівняння зазначеної трансгенної рослини з контрольною рослиною або клітиною-хазяїна, переважно рослинною клітиною.

Інше завдання стосується способу ідентифікації рослини або водорості, що містить нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує дикий тип або *mut-PPO*, який стійкий або толерантний до гербіцидного похідного бензоксазину, що містить етапи:

а) визначення ефективної кількості гербіцидного похідного бензоксазину в культурі клітин рослин або зеленої водорості, що призводить до загибелі цих клітин,

б) обробку зазначеної клітини рослини або зеленої водорості з мутагенізуючим агентом,

с) контактування зазначеної популяції мутантних клітин з ефективною кількістю гербіцидного похідного бензоксазину, зазначених у а)

г) вибір щонайменше однієї клітини, що вижила у цих умовах,

д) ПЛР-ампліфікація і секвенування генів *PPO* з клітин обраних в D) і порівняння таких послідовностей з послідовністю гену *PPO* дикого типу, відповідно.

У переважному варіанті здійснення згаданий мутагенізуючий агент є етилметанесульфатом (EMS).

Багато способів добре відомі фахівцям в даній області, доступні для отримання відповідних кандидатних нуклеїнових кислот для ідентифікації нуклеотидної послідовності, що кодує *mut-PPO* з різноманіття потенційних джерел організмів, включаючи мікробів, рослини, гриби, водорості, змішані культури також, як екологічні джерела ДНК, такі як ґрунт. Ці методи включають, між іншим, підготовку кДНК або геномних бібліотек ДНК, використання відповідних вироджених олігонуклеотидних праймерів, використання зондів на основі відомих послідовностей або аналізів комплементарності (наприклад, для зростання під впливом тирозину), а також використання мутагенезу, перестановки і для того, щоб забезпечити рекомбінації або перемішування послідовностей, що кодують *mut-PPO*.

Нуклеїнові кислоти, що містять кандидатні і регуляторні послідовності, що кодують *PPO*, можуть бути експресовані в дріжджах, в бактеріальному штамі хазяїна, у водорості або вищих рослинах таких як тютюн або *Arabidopsis* і відносні рівні, притаманної толерантності, послідовностей, що кодують *PPO*, піддані скринінгу згідно з видимим індикаторним фенотипом трансформованого штаму або рослин у присутності різних концентрацій обраного гербіциду, що є похідним бензоксазину. Дозові відповіді і відносні зрушення в дозі реакції, пов'язані з цими індикаторними фенотипами (утворення коричневого кольору, інгібування росту, гербіцидний ефект і т. і.) зручно виразити в термінах, наприклад, GR50 (концентрація для 50 %-вого зниження росту) або MIC (мінімальна інгібуюча концентрація) значення, де збільшення значення відповідають збільшенню притаманної толерантності експресованого *PPO*. Наприклад, у відносно швидкій аналізуючій системі, заснованій на перетворенні такої бактерії, як *E.coli*, кожна послідовність, що кодує *mut-PPO*, може бути експресована, наприклад, у вигляді послідовності ДНК під контролем експресії здатного контролювати промотора, такого як промотор *LacZ* і з прийнятним підрахунком, наприклад, шляхом використання синтетичних ДНК, таких як використання кодонів для того, щоб отримати так порівняно як можливо рівень експресії різних послідовностей *PPO*. Такі штами, що експресують нуклеїнові кислоти, що містять альтернативні кандидатні *PPO* послідовності, можуть бути поміщені при різних концентраціях обраного гербіциду, що є похідним бензоксазину, в, необов'язково на середовищі, доповненому тирозином, і відносних рівнях притаманної толерантності експресованих ферментах *PPO*, оцінених на основі ступеню і MIC для інгібування утворення коричневого кольору, охронотичного пігменту.

В іншому варіанті кандидатні нуклеїнові кислоти трансформують в рослинному матеріалі для отримання трансгенної рослини, регенерують в морфологічно нормальних фертильних рослинах, які потім вимірювали для диференціальної толерантності до вибраних гербіцидних

похідних бензоксазину. Багато підходящих для перетворення з використанням відповідних селективних маркерів, таких як канаміцин, виконавчі вектори, такі як від *Agrobacterium* і регенерації рослин, як, наприклад, з дисків листя тютюну добре відомі в даній галузі. Необов'язково, контроль популяції рослин аналогічним чином трансформовані нуклеїнової

5 кислоти, що виражають управління РРО. Крім того, не-трансформованих дводольних рослин, таких як *Arabidopsis* або тютюну може бути використаний в якості контролю, так як це, в будь-якому випадку, висловлює своє власне ендегенний РРО. Середнє значення та розподілення рівнів стійкості до гербіцидів ряду подій первинної трансформації рослин або їх потомства до описаних вище похідних бензоксазину оцінюються у звичайному порядку на основі ураження

10 рослин, симптомів меристематичного відбілювання тощо в діапазоні різних концентрацій гербіцидів. Ці дані можуть бути виражені у вигляді, наприклад, значень GR50, отриманих з кривих доза/відповідь, які мають "дозу", нанесену на вісь x, та "відсоток знищених", "гербіцидний ефект", "кількість нових зелених рослин" тощо, нанесені на вісь Y, де збільшені значення GR50 відповідають підвищенням рівням властивої стійкості експресованого РРО. Гербіциди можуть,

15 відповідно, застосовуватися до появи або після появи паростків.

Інший об'єкт стосується виділеної нуклеїнової кислоти, яка кодує *mut*-РРО, де нуклеїнову кислоту можуть ідентифікувати за способом, визначеним вище.

В іншому варіанті здійснення даний винахід відноситься до рослинної клітини, трансформованої від дикого типу або *mut*-РРО нуклеїнової кислоти або рослинної клітини, яка

20 була мутована для отримання рослини, що експресує нуклеїнову кислоту дикого типу або *mut*-РРО, де експресія нуклеїнової кислоти в клітині рослини призводить до збільшення стійкості або толерантності до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з варіантом дикого типу рослинної клітини.

Термін "експресія/експресує" або "генна експресія" означає транскрипцію конкретного гена

25 або специфічних генів або конкретного генетичного конструкту. Термін "експресія" або "генна експресія" означає, зокрема транскрипцію гена або генів, або генетичного конструкту в структурну РНК (рРНК, тРНК) або мРНК з або без наступної трансляції останнього в білку. Спосіб включає транскрипцію ДНК і обробку отриманого продукту мРНК.

Щоб отримати бажаний ефект, тобто рослини, які є толерантними або стійкими до

30 гербіцидного похідного бензоксазину даного винаходу, має бути зрозуміло, що щонайменше одна нуклеїнова кислота є "надекспресована" методами і засобами, відомими фахівцям в даній галузі.

Термін "підвищена експресія" або "надекспресія", що використовується тут, означає будь-яку форму експресії, яка є додатковою до рівня експресії вихідного дикого типу. Методи

35 підвищення експресії генів або генних продуктів добре відомі в даній галузі і включають, наприклад, надлишкову експресію, що управляється відповідними промоторами, використання енансерів транскрипції або енансерів трансляції. Виділені нуклеїнові кислоти, які служать в якості промотору або енансера можуть бути введені у відповідне положення (як правило, вище за напрямом) не гетерологічних форм полінуклеотида, з тим, щоб регулювати експресію

40 нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид інтересу. Наприклад, ендегенні промотори можуть бути змінені в природних умовах шляхом мутації, делеції та/або заміни (see, Kmiec, US 5,565,350; Zarling et al., W09322443), або виділені промотори можуть бути введені в рослинну клітину в правильній орієнтації та відстані від гену за винаходом так, щоб регулювати експресію гену.

Якщо експресія поліпептиду є бажаною, то загалом бажано включати область

45 поліаденілювання на 3'-кінці полінуклеотида, що кодує ділянки. Поліаденілювання можуть бути отримані з природного гена, з безлічі інших генів рослин, або з Т-ДНК. Кінці послідовності 3', які будуть додані, можуть бути отримані з, наприклад, генів нопалінсинтази або октопінсинтази, або, альтернативно, від іншого рослинного гена, або, менш переважно, від будь-яких інших

50 еукаріотичних генів.

Послідовність інтрону також може бути додана до 5'-нетранслюючої області (UTR) або послідовність, що кодує послідовність, що кодує частково, щоб збільшити кількість зрілих

меседжів, що накопичуються в цитозолі. Включення спеціального інтрону в одиницю

55 транскрипції в рослинних і тваринних експресійних конструкціях було показано збільшення експресії генів як на рівні мРНК та білка до 1000 разів (Buchman and Berg (1988) Mol. Cell Biol. 8: 4395-4405; Callis et al. (1987) Genes Dev 1:1 183-1200). Таке інтронне посилення експресії генів як правило максимальне коли розміщене поблизу 5'-кінця транскрипційної одиниці. Використання інтронів кукурудзи *Adh1-S* інтрона 1, 2 і 6, інтрон *Bronze-1* відомо в даній галузі. Для отримання загальної інформації див: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994).

60

Термін "введення" або "трансформація", про який йдеться тут, охоплює передачу екзогенного полінуклеотида в клітину-хазяїна. незалежно від методу, що використовується для передачі. Здатність рослинних тканин до подальшого клонального розповсюдження, будь то органогенез або ембріогенез, можуть бути трансформовані з генетичної конструкції за даним винаходом і вся рослина регенерувати від нього. Обрана конкретна тканина буде змінюватися в залежності від клональної систем, доступної для поширення, і найкраще підходить для конкретних трансформованих видів. Приклади тканинних мішеней включають тканини дисків

5 листя, пилкок, ембріони, сім'ядолі, гіпокотілі, мегагаметофітів, калюсної тканини, існуючі меристематичні тканини (наприклад, апікальної меристеми, пазушні бруньки, і коренева

10 меристема) і індукована меристемна тканина (наприклад, сім'ядолі меристеми і Гіпокотиль меристеми). Полінуклеотид може бути тимчасово або стабільно введено в клітину-хазяїна і може підтримуватися неінтегровано, наприклад, як плазміда.

Альтернативно, він може бути інтегрований в геном хазяїна. Отримана в результаті трансформована рослинна клітина може бути потім використана для регенерації трансформованої рослини способом, відомим фахівцям в даній області.

15

Передача чужорідних генів у геном рослини називається трансформацією. Трансформація рослини в даний час є досить звичайною методикою. Переважно, будь-які з декількох методів трансформації можуть бути використані для введення гена в підходящу клітину-предка. Способи, описані для трансформації та регенерації рослин з рослинних тканин або рослинних клітин можуть бути використані для тимчасової або стабільної трансформації. Методи трансформації включають застосування ліпосом, електропорації, хімічних речовин, які збільшують поглинання вільної ДНК, ін'єкції ДНК безпосередньо на рослину, бомбардування частинками, трансформації з використанням вірусів або пилку і мікропроекціювання. Методи можуть бути обрані з кальцій/поліетиленгліколь методів для протопластів (Krens, F.A. et al., (1982) Nature 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) Plant Mol Biol 8: 363-373); електропорацією протопластів (Shillito R.D. et al. (1985) Bio/Technol 3, 1099-1 102); мікроін'єкцією в рослинний матеріал (Crossway A et al., (1986) Mol. Gen Genet 202: 179-185); бомбардування частинками, що вкриті ДНК або РНК (Klein TM et al., (1987) Nature 327: 70) інфікування з (не інтегративними) вірусами, тощо. Трансгенні рослини, в тому числі трансгенні культурні рослини, отримують переважно за допомогою *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації. Вигідний спосіб перетворення є перетворення в підложці. З цією метою, наприклад, допускається дія агробактерій на насіння рослин або для інокуляції рослини меристеми з агробактеріями. Це виявилось особливо доцільним відповідно до винаходу, щоб дозволити суспензії трансформованих агробактерій діяти на інтактні рослини або принаймні на примордіальну квітку. Рослини, які вирости пізніше, ніж насіння оброблених рослин не будуть отримані (Clough and Bent, Plant J. (1998) 16, 735-743). Методи *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації рису включають достатньо відомі методи для трансформації рису, такі, як описані в будь-якому з наступних: EP 1 198985 A1, Aldemita та Hodges (Planta 199: 612-617, 1996); Chan та ін. (Plant Mol Biol 22 (3): 491-506, 1993), Hiei та ін. (Plant J 6 (2): 271-282, 1994), описи яких включені сюди за допомогою посилання, що повністю викладені. У разі трансформації кукурудзи, переважний спосіб, як описано в будь-якому з Ishida et al. (Nat. Biotechnol 14(6): 745-50, 1996) або Frame та ін. (Plant Physiol 129(1): 13-22, 2002), описи яких включені сюди за допомогою посилання, що повністю викладені. Зазначені способи описані далі як приклади у B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 and in Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205-225). Нуклеїнові кислоти або конструкти експресують переважно клонуванням у вектор, який підходить для експресії *Agrobacterium tumefaciens*, наприклад pBIN19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 871 1). Агробактеріальні трансформації таким вектором можуть бути використані відомим способом для трансформації рослин, таких як рослини, що використовували як моделі, такі, як арабидопсис (*Arabidopsis THALIANA* знаходиться в межах об'єму даного винаходу та не розглядається в якості культурних рослин) чи культурна рослин, наприклад, рослина тютюну, наприклад, шляхом занурення зім'ятого листа або подрібненого листа в агробактеріальний розчин, а потім культивуванням їх у підходящому середовищі. Трансформації рослин за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* описані, наприклад, у Hofgen та Willmitzer in Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 або відомі з F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 15-38. В доповнення до трансформації соматичних клітин, які потім повинні бути регенеровані в цілі рослини, також можна перетворити клітини рослинної меристеми і, зокрема, ті клітини, які розвиваються з гамет. У цьому випадку трансформовані гамети будуть слідувати природному розвитку рослин, що призведе до отримання трансгенних

50

55

60

рослин. Так, наприклад, насіння *Arabidopsis* обробляли агробактеріями і насіння, отримане з розвинутих рослин, з яких певна частина трансформується і, таким чином є трансгенною [Feldman, KA and Marks MD (1987). *Mol Gen Genet* 208:274-289; Feldmann K (1992). In: C Koncz, N-H Chua and J Shell, eds, *Methods in Arabidopsis Research*. Word Scientific, Singapore, pp. 274-289]. Альтернативні методи засновані на повторному видаленні суцвіть і інкубації місця видалення в центрі розетки з трансформованими агробактеріями, в результаті чого трансформоване насіння також може бути отримане в більш пізній момент часу [Chang (1994). *Plant J.* 5: 551-558; Katavic (1994). *Mol Gen Genet*, 245: 363-370]. Проте, особливо ефективним методом є метод вакуумної інфільтрації з його модифікацією, такою як "floral dip" методом. У разі вакуумної інфільтрації *Arabidopsis*, інтактні рослини при зниженому тиску обробляли агробактеріальною суспензією [Bechthold, N (1993). *C R Acad Sci Paris Life Sci*, 316: 1194-1199], водночас з методом "floral dip" розвивають квіткові тканини, витримуючи не довго у поверхнево-активних речовинах агробактеріальної суспензії [Clough, SJ and Bent AF (1998) *The Plant J.* 16, 735-743]. Певну частку трансгенного насіння збирають у обох випадках та це насіння можна відрізнити за ростом у вищеписаних селективних умовах. Крім того, стабільна трансформація пластид є переважною, тому що пластиди, успадковані по материнській лінії, є найбільшим культурним зниженням або усуненням трансгену передачею через пилок. Трансформація генома хлоропластів, як правило, досягається способом, який був схематично зображений в [Klaus та ін., 2004 *Nature Biotechnology* 22 (2), 225-229]. Стисло щодо послідовностей, їх клонують разом з селективним маркерним геном між фланкуючими послідовностями гомологів у хлоропластах геному. Ці бічні послідовності гомологів головних ділянок специфічно інтегрують у пластоми. Пластидна трансформація була описана для багатьох різних видів рослин та наведено у [Bock (2001) *Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology*. *J Mol Biol.* 2001 Sep 21; 312 (3):425-38 or Maliga, P (2003) *Progress towards commercialization of plastid transformation technology*. *Trends Biotechnol.* 21, 20-28]. Далі біотехнологічні досягнення повідомили нещодавно про форми трансформацій вільних пластид, які можуть бути отримані за допомогою перехідного маркерного гену [Klaus et al., 2004, *Nature Biotechnology* 22(2), 225-229]. Генетично модифіковані рослинні клітини можна регенерувати за допомогою всіх методів, з якими спеціалісти знайомі. Відповідні способи можна знайти у вищезгаданій публікації S.D. Kung and R. Wu, Potrykus або Hofgen та Willmitzer.

Зазвичай після трансформації, рослинні клітини або клітинні групи вибирають по присутності одного або більше маркерів, які кодують ген рослинної експресії співтрансферно з геном інтересу, після чого перетворений матеріал регенерує в цілу рослину. Щоб вибрати трансформовані рослини, рослинний матеріал, отриманий в процесі трансформації, як правило, піддають селективним умовам так, що трансформовані рослини можна відрізнити від нетрансформованих рослин. Наприклад, насіння, отримане у вищеписаному способі, може бути висаджене і після початкового періоду зростання піддається відповідній селекції шляхом розпилення. Інша можливість полягає у вирощуванні насіння, при необхідності, після стерилізації, на чашках з агаром з використанням відповідного селективного агента, так що тільки трансформоване насіння може рости в рослинах. З іншого боку, трансформовані рослини піддають скринінгу на присутність селективного маркера, такого як ті, які описані вище.

Після перенесення ДНК і регенерації, імовірно, трансформовані рослини також можуть бути оцінено, наприклад, за допомогою Northern або Western аналізу, на присутність гена інтересу, число копій і/або геномну організацію. Альтернативно або додатково рівні експресії знову введеної ДНК можна контролювати за допомогою Northern та/або Western аналізу, як методи добре відомі особам із звичайною кваліфікацією в даній області.

Згенеровані трансформовані рослини можна розмножувати за допомогою різних засобів, таких як клональне розмноження або класичними методами селекції. Наприклад, перше покоління (або T1) трансформованої рослини може бути самозапиленим і гомозиготним, друге покоління (або T2) трансформантів відібраних і T2 рослини можуть потім бути додатково розмножені за допомогою класичних методів селекції. Згенерований трансформований організм може приймати різні форми. Наприклад, вони можуть бути химерами трансформованих клітин і нетрансформованих клітин; клональними трансформантами (наприклад, всі трансформовані клітини містили касету експресії), щепленням трансформованих і нетрансформованих тканин (наприклад, в рослинах, трансформованих щепленням кореневища до нетрансформованих пагонів).

Переважно, нуклеїнова кислота дикого типу або mut-PPO містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з: а) полінуклеотиду, як показано в SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, або 45, або його варіант або похідне, б) полінуклеотиду, що кодує поліпептид, як показано в SEQ ID NO: 2, 4, 6,

8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, або 46, або його варіант або похідне; в) полінуклеотиду, який містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів будь-якого з а) або б), г) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду за будь-яким з а)-в).

5 Переважно, експресія нуклеїнової кислоти в рослині призводить до підвищеної стійкості рослин до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з диким типом різних рослин.

В іншому варіанті здійснення даний винахід відноситься до рослини, переважно від трансгенної рослини, що містить рослинні клітини, відповідно до даного винаходу, в яких експресія нуклеїнової кислоти в рослину призводить до підвищеної стійкості рослин до гербіцидного похідного бензоксазину порівняно з диким типом різних рослин.

10 Рослини, описані тут, можуть бути або трансгенними культурними рослинами або нетрансгенними рослинами.

В данному винаході термін "трансгенний", "трансгени" або "рекомбінантний" означає, наприклад, послідовність нуклеїнової кислоти, експресуюча касета, генну конструкцію або вектор, що містить послідовність нуклеїнової кислоти або організм, що трансформований з 15 послідовністю нуклеїнової кислоти, експресуючі касети або вектори відповідно до винаходу, всі ці побудови отримані рекомбінантними способами, в яких або

(А) нуклеїнові кислоти кодують білки, що використані в способах за винаходом, або

20 (Б) послідовність(ості) генетичного контролю функціонально пов'язані з послідовністю нуклеїнової кислоти згідно винаходу, наприклад, промотор, або

(С) а) і б)

не перебувають у їх природному генетичному оточенні або були модифіковані за допомогою рекомбінантних способів, причому для модифікації приймали форму, наприклад, заміну, 25 додавання, видалення, вставку або інверсію однієї або декількох нуклеотидних залишків. Природне генетичне оточення розуміють як природні геномні або хромосомні локуси в оригінальній рослині або наявність в геномній бібліотеці. У разі геномної бібліотеки природне генетичне середовище послідовності нуклеїнової кислоти переважно зберігається, принаймні, частково. Середовище фланків послідовності нуклеїнової кислоти, принаймні, на одній стороні і 30 має довжину послідовності, рівну принаймні 50 пар основ, переважно щонайменше 500 пар основ, особливо переважно щонайменше 1000 пар основ, більш переважно принаймні 5000 пар основ. Природні експресійні касети, наприклад з природним поєднанням природного промотора з послідовності нуклеїнової кислоти з відповідною послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, використані в способах за даним винаходом, як визначено вище, стає трансгенною експресійною касетою, коли ця касета експресії модифікована неприродними, синтетичними 35 ("штучними") методами, такими як, наприклад, обробка мутагеном. Відповідні способи описані, наприклад, в патенті US 5565350 або WO 00/15815.

Трансгенну рослину для цілей даного винаходу, треба розуміти в значенні так само, як вище, що нуклеїнові кислоти, які використовуються в способі за винаходом, є не в їх 40 природному локусі в геномі зазначеної рослини, причому для нуклеїнових кислот експресія буде гомологічною або гетерологічною. Однак, як згадувалося, трансгенний також означає, що, в той час як нуклеїнові кислоти згідно винаходу використовувалися в способі винаходу або знаходяться в їх природному положенні в геномі рослини, послідовність була модифікована стосовно природної послідовності та/або регуляторної послідовності, природна послідовність 45 була змінена. Під трансгенними переважно мають на увазі експресію нуклеїнових кислот, згідно винаходу, в неприродному локусі в геномі, тобто експресії нуклеїнових кислот відбувається гомологічно або, переважно, гетерологічно. Переважно трансгенні рослини згадуються в даному документі. Крім того, термін "трансгенний" відноситься до будь-яких рослин, рослинних клітин, калюсу, рослинної тканини або частини рослини, яка містить всі або частину щонайменше 50 одного рекомбінантного полінуклеотиду. У багатьох випадках весь або частина рекомбінантного полінуклеотиду стабільно інтегровані в хромосому або стабільний позахромосомний елемент, так що вона передається у наступних поколіннях. Для цілей даного винаходу термін "рекомбінантний полінуклеотид" відноситься до полінуклеотиду, який був змінений, змінений або модифікований генною інженерією. Приклади включають будь-який клонований 55 полінуклеотид або полінуклеотиди, які пов'язані або поєднані з гетерологічними послідовностями. Термін "рекомбінантний" не відноситься до змін полінуклеотидів, які є результатом природних подій, таких як спонтанні мутації або внаслідок неспонтанного мутагенезу подальшої селекції.

60 Рослини, що містять мутації, що виникають через неспонтанний мутагенез та селекцію згадуються тут як нетрансгенні рослини і включені в даний винахід. У варіантах здійснення, де

рослина є трансгенною і містить безліч *mut-PPO* нуклеїнових кислот, нуклеїнові кислоти можуть бути отримані з різних геномів або з того ж генома. Крім того, у варіантах здійснення, де рослина є нетрансгенною і містить безліч *mut-PPO* нуклеїнових кислот, нуклеїнові кислоти, розташовані на різних геномах або на тому ж геномі.

Деякі варіанти здійснення даного винаходу включають стійкі до гербіциду рослини, які отримують мутаційною селекцією. Такі рослини включають полінуклеотид, що кодує *mut-PPO* і стійкі до одного або кількох "похідних бензоксазину гербіцидів". Такі методи можуть включати в себе, наприклад, обробку рослин або насіння в мутагені, зокрема, хімічним мутагеном, таким як, наприклад, етилметансульфонат (EMS) і селекція для рослин, які мають підвищену стійкість до принаймні одного або більше гербіцидного похідного бензоксазину.

Однак даний винахід не обмежується рослинами, толерантними до гербіцидів, які отримують мутагенетичними способами, пов'язаними з хімічним мутагеном EMS. Будь-який мутагенний спосіб, відомий в даній галузі техніки, може бути використаний для отримання стійких до гербіцидів рослин за даним винаходом. Такі методи мутагенезу може включати в себе, наприклад, використання будь-якого одного або більше з таких мутагенів: випромінювання, такого як рентгенівське випромінювання, гамма промені (наприклад, кобальт-60 або цезій-137), нейтронів (наприклад, продукт ядерного розкладу на уран-235 в атомному реакторі), бета випромінювання (наприклад, випромінювання радіоіотопів, таких як фосфор 32 або вуглець 14) і ультрафіолетове випромінювання (переважно від 2500 до 2900 нм) і хімічних мутагенів, таких як основні аналоги (наприклад, 5-ром-урацил), споріднених сполук (наприклад, 8-етокси кофеїн), антибіотики (наприклад, стрептонігрин), алкілюючі агенти (наприклад, сірчастий іприт, азотистий іприт, епоксиди, етиленаміни, сульфати, сульфонати, сульфони, лактони), азид, гідроксиламін, азотиста кислота або акридин. Резистентні до гербіцидів рослини можуть бути також отримані за допомогою методів культури тканини, щоб вибрати рослинні клітини, що включають гербіцид-резистентні мутації, а потім регенерацію стійких до гербіцидів рослин також. Див., наприклад, патенти США № № 5773702 і 5859348, обидва з яких включені в даний опис у всій своїй повноті за допомогою посилання. Подальші подробиці мутаційної селекції можна знайти в "Principals of Cultivar Development" Fehr, 1993 Macmillan Publishing Company, розкриття якого включено тут шляхом посилання.

В доповнення до визначеного вище, термін "рослина" призначений для позначення культурних рослин в будь-якій стадії зрілості або розвитку, а також будь-яких тканин або органів (частин рослин), взяті або отримані з таких рослин, якщо інше не зазначено ясно в контексті. Частина рослин включають, але не обмежуються ними, стебла, коріння, квіти, насінний зародок, тичинки, листя, ембріони, меристематичні ділянки, калюсну тканину, пиляк культур, гаметофіти, спорофіти, пилок, мікроспори, протопласти, тощо.

Рослина з даним винаходом містить щонайменше одну *mut-PPO* нуклеїнову кислоту або нуклеїнову кислоту з підвищеною експресією дикого типу *PPO*, і підвищеною толерантністю до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з сортом дикого типу рослин. Не виключені рослини згідно з даним винаходом, що мають декілька нуклеїнових кислот дикого типу або *mut-PPO* з різних геномів, так як ці рослини можуть містити більше одного геному. Наприклад, рослина містить два генома, зазвичай називають А і В геноми. Оскільки *PPO* є обов'язковим метаболічним ферментом, передбачається, що кожен геном має принаймні один ген, що кодує фермент *PPO* (тобто принаймні один ген *PPO*). Використаний тут термін "локу *PPO* гена" відноситься до положення гена *PPO* у геномі, а терміни "*PPO* ген" і "*PPO* нуклеїнова кислота" відноситься до нуклеїнової кислоти, що кодує фермент *PPO*. *PPO* нуклеїнові кислоти в кожному геномі відрізняються за нуклеотидною послідовністю нуклеїнових кислот *PPO* на іншому геномі. Фахівець у даній галузі може визначити геном походження кожної *PPO* нуклеїнової кислоти за допомогою генетичного кросингу і/або іншого способу секвенування або способом екзонуклеазного розщеплення, відомого фахівцям в даній галузі техніки.

Представлений винахід включає рослини, що містять один, два, три або більше *mut-PPO* алелів, в якому рослина підвищеної толерантності до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з сортом дикого типу рослин. *mut-PPO* алелі можуть містити нуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з полінуклеотиду, як це визначено в SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 або 45", або його варіант або похідне, полінуклеотид, що кодує поліпептид, як визначено в SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 або 46", або його варіант або похідне, гомолог, ортолог, Паролог, їх полінуклеотид містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів будь-якого з вищевказаних полінуклеотидів, і полінуклеотиду, комплементарного будь-якому з вищевказаних полінуклеотидів.

"Алелі" або "алельні варіанти" є альтернативні форми даного гена, розташованого в тому ж хромосомному положенні. Алельні варіанти охоплюють одиничні нуклеотидні поліморфізми (SNP), а також невеликі вставки/видалення поліморфізмів (вставок). Розмір вставок, як правило, менше 100 пар основ. SNP та INDEL утворюють найбільший набір варіантів послідовностей в природних поліморфних штаммах більшості організмів.

Термін "сорт" відноситься до групи рослин у межах одного виду, визначається загальним набором характеристик або ознак, прийнятих фахівцями в даній галузі як достатні, щоб відрізнити один сорт або різновид від іншого сорту або культурного сорту. Тут немає ані якого натяку на поняття, що всі рослини з будь-якого сорту або сорт буде генетично ідентичними або на весь ген або на молекулярному рівні або, що будь-яка дана рослина буде гомозиготною у всіх локусах. Культурним сортом або сортом вважається "дійсно розведеним" по конкретним ознакам, якщо при простому розведенні сорту або різновиді присутнє самозапилювання, все потомство містять ознаки. Терміни "лінії розведення" або "лінії" відносяться до групи рослин у межах сорту, що визначається обміном загальним набором характеристик або ознак, прийнятих фахівцями в даній галузі як достатні, щоб відрізнити одне лінійне розведення або лінії від іншого лінійного розведення або лінії. Там немає натяку в будь-якому висловлюванні, що всі рослини будь-якої даної розведеної лінії або лінії будуть генетично ідентичними або в повному гені або на молекулярному рівні, або що будь-яка дана рослина буде гомозиготною у всіх локусах. Лінійним розведенням або лінією вважається "істине розведення" за конкретною ознакою, якщо справжні лінії розведення або лінії розведення самозапилюються і все потомство містить ознаку. У цьому винаході ознака виникає в результаті мутації в гені PPO рослини або насіння.

Стійкі до гербіцидів рослини за винаходом, які містять поліпептиди, що кодують mut-PPO поліпептиди, також знайдуть застосування у способах підвищення опору рослин до гербіцидів шляхом традиційної селекції рослин за участю статевого розмноження. Способи включають схрещування першої рослини, яка є стійкою до гербіцидів рослиною даного винаходу з другою рослиною, яка може або не може бути стійкою до того ж гербіциду або гербіцидів, як перша рослина, або може бути стійкою до іншого гербіциду або гербіцидів, ніж перша рослина. Друга рослина може бути будь-якою рослиною, яка здатна продукувати життєздатні рослини (наприклад, насіння) при схрещуванні з першою рослиною. Зазвичай, але не обов'язково, перша і друга рослини є того ж виду. Методи можуть додатково включати в себе вибір потомства рослин, які містять mut-PPO поліпептиди першої рослини і гербіцидно-стійкі характеристики другої рослини. Потомство рослин, отримане таким способом за даним винаходом мають підвищену стійкість до гербіциду порівняно з першою або другою рослиною або обох. Коли перша і друга рослини стійкі до різних гербіцидів, то потомство рослин матиме комбіновані гербіцидні характеристики першої та другої рослин. Способи за винаходом можуть додатково включати одне або декілька поколінь зворотного схрещування потомств рослин першого поперечного з рослинами тієї ж лінії або генотипу, як перша або друга рослини. З іншого боку, потомство першого зхрещування або будь-якого наступного зхрещувань можуть бути зхрещені з третьою рослиною, яка має іншу лінії або генотип, ніж перша або друга рослини. Даний винахід також відноситься до рослин, рослинних органів, рослинних тканин, рослинних клітин, насіння і нелюдських клітин-хазяїна, які перетворюються щонайменше одним поліпептидом молекули експресійної касети або вектором трансформації за винаходом. Такі трансформовані рослини, рослинні органи, рослинні тканини, рослинні клітини, насіння і нелюдські клітини-хазяїна підвищили толерантність або стійкість до принаймні одного гербіциду на рівні гербіциду, який вбиває або інгібує ріст нетрансформованих рослин, рослинної тканини, рослинної клітини або нелюдської клітини-хазяїна, відповідно. Переважно, трансформованими рослинами, рослинними тканинами, рослинними клітинами і насінням, згідно винаходу, є *Arabidopsis thaliana* і культурні рослини.

Слід мати на увазі, що рослина за даним винаходом може містити нуклеїнову кислоти PPO дикого типу додатково до mut-PPO нуклеїнової кислоти. Передбачається, що лінії, толерантні до гербіцидних похідних бензоксазину можуть містити мутацію тільки в одному з декількох ізоферментів PPO. Таким чином, даний винахід включає в себе рослину, що містить одну або більше mut-PPO нуклеїнових кислот, додатково до однієї або більше нуклеїнових кислот дикого типу PPO.

В іншому варіанті здійснення даний винахід відноситься до рослинного насіння трансгенних рослин, що містить рослинні клітини за даним винаходом, у якому насіння підходить для розмноження з підвищеною стійкістю до похідної бензоксазину гербіциду в порівнянні з диким типом іншого насіння.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання трансгенної рослинної клітини з підвищеною стійкістю до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з диким типом іншої рослинної клітини, що включає трансформації рослинної клітини з касетою експресії, яка містить *mut-PPO* нуклеїнової кислоти.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу одержання трансгенної рослини, що включає в себе: (а) трансформацію рослинної клітини з касетою експресії, яка містить *mut-PPO* нуклеїнову кислоту, і (б) отримання рослин з підвищеною стійкістю до гербіцидного похідного бензоксазину з рослинної клітини.

Отже, *mut-PPO* нуклеїнові кислоти за винаходом впроваджені в експресійні касети для експресії в рослині за інтересом. Касета буде включати регуляторні послідовності оперативно пов'язані з *mut-PPO* послідовністю нуклеїнової кислоти згідно з винаходом. Термін "регуляторний елемент", що використано тут, відноситься до полінуклеотиду, який здатний регулювати транскрипцію функціонально пов'язаного полінуклеотиду. Він включає, але не обмежується цим, промотори, енхансери, інтрони, 5' UTR, та 3' UTR. Під "функціонально пов'язаним" розуміють функціональний зв'язок між промотором і другою послідовністю, де послідовність промотору ініціює та опосередковує транскрипцію ДНК-послідовності відповідно другій послідовності. Як правило, функціонально пов'язаний означає, що послідовності нуклеїнових кислот пов'язані з суміжними, де необхідно з'єднати дві білка кодуєчі області суміжних і в тих же межах читування. Касета може додатково містити щонайменше один додатковий ген бути котрансформований в організм. Крім того, додатковий ген(и) може бути впровадженим на кілька експресійних касет. Така експресійна касета забезпечена множиною сайтів рестрикції для вставки *mut-PPO* послідовності нуклеїнової кислоти, що знаходиться під транскрипційним контролем регуляторних областей. Касета експресії може додатково містити селективні маркерні гени.

Касета експресії буде включати в 5'-3' направляючі транскрипції, транскрипції і трансляції ініціювання регіонів (тобто промотор), *mut-PPO* послідовність нуклеїнової кислоти за винаходом, а також транскрипції і трансляції областей термінації (тобто область термінації), що функціонує в рослинах. Промотор може бути природним або аналогом, або чужорідним або гетерологічним до рослини-хазяїна і/або *mut-PPO* послідовністю нуклеїнової кислоти за винаходом. Крім того, промотор може бути природної послідовності або, альтернативним, синтезованої послідовності. Де промотор є "чужорідним" або "гетерологічним" до рослини-хазяїна, передбачається, що промотор не знайдений в рідній рослині, в яку вводять промотор. Якщо промотор є "чужорідним" або "гетерологічним" до *mut-PPO* послідовності нуклеїнової кислоти за винаходом, передбачається, що промотор не є нативним або природним промотором для функціонально зв'язаної *mut-PPO* послідовності нуклеїнової кислоти за винаходом. Як використовується тут, химерний ген містить послідовність, що кодує, функціонально пов'язану з областю ініціації транскрипції, що є гетерологічною до кодуєчої послідовності.

Хоча для експресії *mut-PPO* нуклеїнових кислот за винаходом може бути кращим використати гетерологічний промотор, нативний промотор послідовності можна бути також використовувати. Такі конструкції призводять до зміни рівнів експресії *mut-PPO* білка в рослинній клітині рослини або рослині. Таким чином, фенотип рослинної клітини або рослини змінюється.

Термінальна область може бути нативної з регіон ініціації транскрипції, може бути нативної з функціонально пов'язаної *mut-PPO* послідовності інтересу, може бути нативної з рослини-хазяїна, або може бути отримана з іншого джерела (наприклад, зовнішньо або гетерологічним промотором, *mut-PPO* послідовності нуклеїнової кислоти інтересу, рослини-хазяїна, або будь-якої їх комбінації). Близький термінальний регіон доступні з Ті-плазміді *tumefaciens* A., такі як термінальні регіони октопінсинтази і нопалінсинтази. Див. також Guerinneau та ін. (1991) *Mol. Gen. Genet.* 262: 141-144; Proudfoot (1991) *Cell* 64:671-674; Sanfacon та ін. (1991) *Genes Dev.* 5: 141-149; Mogen та ін. (1990) *Plant Cell* 2: 1261-1272; Munroe та ін. (1990) *Gene* 91: 151-158; Ballas та ін. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:7891-7903; and Joshi та ін. (1987) *Nucleic Acid Res.* 15:9627-9639. У разі необхідності, ген(и) можуть бути оптимізовані для підвищеної експресії у трансформованій рослині. Це означає, що гени можуть бути синтезовані з використанням переважно рослинних кодонів для поліпшення експресії. Див. як приклади Campbell and Gowri (1990) *Plant Physiol.* 92: 1-11 for a discussion of host-preferred codon usage. Методи є доступними в цій галузі для синтезу переважно рослинних генів. Див. для прикладу U.S. Patent Nos. 5,380,831, і 5,436,391, та Murray та ін. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:477-498, що включені як посилання.

Додаткові модифікації послідовності є відомими для підсилення експресії гена в клітині-хазяїна. Вони включають елімінацію послідовності, що кодує побічні сигнали поліаденілювання,

екзон-інтронів сигнали сплайсингу, транспозон-подібні повтори, та інші подібні добре відомі послідовності, які можуть бути шкідливими для експресії генів. G-C зміст послідовності може бути відрегульованим до рівня середнього для даної клітини-хазяїна, шляхом розрахунку посилення на відомий ген, що експресується в клітині-хазяїна. Коли це можливо, послідовність модифікують, щоб уникнути пророкувань петлі вторинної структури мРНК. Нуклеотидні послідовності для посилення експресії гена можуть бути також використані у векторах експресії в рослині. До них відносяться інтрони кукурудзи *Adhl*, *intron1* гена [Callis et al. *Genes and Development* 1: 1 183-1200, 1987], та лідерна послідовність, (W- послідовність) у вірусі мозаїки тютюну (TMV), у вірусі хлоротичних зерен кукурудзи та вірус альфа-мозаїки [Gallie et al. *Nucleic Acid Res.* 15:8693-8711, 1987 і Skuzeski et al. *Plant Mol. Biol.* 15:65-79, 1990]. Перший інтрон зі зморщеного-1 локусу кукурудзи було показано для збільшення експресії генів у химерних генних конструктах. U.S. Pat. Nos. 5,424,412 та 5,593,874 розкриває використання конкретних інтронів в конструкції експресії генів, та Gallie et al. (*Plant Physiol.* 106:929-939, 1994) Також було показано, що інтрони можуть бути використані для регуляції експресії генів у тканинних специфічних основах. Для подальшого підвищення або оптимізації *mut-PPO* експресії генів, рослинний вектор експресії згідно винаходу може також містити послідовності ДНК, що містить матрицю кріплення областей (Марс). Рослинні клітини, трансформовані такими змінами системи експресії, таким чином, можуть володіти надлишковою експресією або конститивною експресією нуклеотидної послідовності за винаходом.

Касети експресії можуть додатково містити 5' лідерні послідовності в конструкції експресійної касети. Такі лідерні послідовності можуть діяти, посилюючи трансляцію. Трансляція лідерів відома в даній галузі і включають в себе: лідери пикорнавірусів, наприклад, EMCV лідер (енцефаломіокардит 5' некодуючий регіон) (Elroy-Stein et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6126-6130); противірусний лідер, як приклад, TEV лідер (Tobacco Etch Virus) (Gallie et al. (1995) *Gene* 165(2):233-238), MDMV лідер (Maize Dwarf Mosaic Virus) (*Virology* 154:9-20), та білок, зв'язуючий важкі ланцюги людського імуноглобуліну (BiP) (Macejak et al. (1991) *Nature* 353:90-94); нетрансльований лідер з мРНК білка оболонки вірусу мозаїки люцерни (AMV RNA 4) (Jobling et al. (1987) *Nature* 325:622-625); лідер вірусу мозаїки тютюну (TMV) (Gallie et al. (1989) in *Molecular Biology of RNA*, ed. Cech (Liss, New York), pp. 237-256); та лідер вірусу хлоротичної плямистості кукурудзи (MCMV) (Lommel et al. (1991) *Virology* 81:382-385). Див. також Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968. Інші способи, відомі для посилення трансляції, також можуть бути використані, наприклад, інтрони, тощо.

При підготовці касети експресії різними фрагментами ДНК можна маніпулювати таким чином, щоб забезпечити послідовності ДНК в правильній орієнтації і, при необхідності, в правильній рамці зчитування. З цією метою адаптери або лінкери можуть бути використані, щоб приєднатися до фрагменту ДНК або інші маніпуляції можуть бути залучені для забезпечення зручної рестрикції сайтів, видалення надлишкової ДНК, видалення сайтів рестрикції, або тому подібне. З цією метою можуть бути залучені мутагенез *in vitro*, праймерна репарація, рестрикція, повторна підстановка, наприклад, транссайтинг і трансверсія.

Множина використаних промоторів може бути в практиці даного винаходу. Промотори можуть бути обрані на основі бажаного результату. Нуклеїнові кислоти можуть бути об'єднані з конститутивними, переважно тканинними або іншими промоторами для експресії в рослинах. Такі конститутивні промотори включають, наприклад, основний промотор *Rsyn7*, промотор та інші конститутивні промотори, описані в WO 99/43838 та U.S. Patent No. 6,072,050; основний *CaMV 35S* промотор (Odell та ін. (1985) *Nature* 313:810-812); актин рису (McElroy et al. (1990) *Plant Cell* 2: 163-171); убіквітин (Christensen et al. (1989) *Plant Mol. Biol.* 12:619-632 та Christensen та ін. (1992) *Plant Mol. Biol.* 18:675-689); *pEMU* (Last et al. (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81:581-588); *MAS* (Velten et al. (1984) *EMBO J.* 3:2723-2730); *ALS* промотор (U.S. Patent No. 5,659,026), та подібні. Інші конститутивні промотори включають, наприклад, U.S. Patent Nos. 5,608,149; 5,608,144; 5,604,121; 5,569,597; 5,466,785; 5,399,680; 5,268,463; 5,608,142; і 6,177,61 1. Переважно тканинні промотори можуть бути використані для цільової розширеної *mut-PPO* експресії в конкретній рослинній тканині. Такі переважно тканинні промотори включають, але не обмежуються ними, промотори переважно листя, промотори переважно кореню, промотори переважно насіння і промотори переважно стовбуру. Промотори переважно листя включають Yamamoto et al. (1997) *Plant J.* 12(2):255-265; Kawamata et al. (1997) *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen та ін. (1997) *Mol. Gen. Genet.* 254(3):337-343; Russell et al. (1997) *Transgenic Res.* 6(2): 157-168; Rinehart et al. (1996) *Plant Physiol.* 1 12(3): 1331-1341; Van Camp et al. (1996) *Plant Physiol.* 1 12(2):525-535; Canevascini et al. (1996) *Plant Physiol.* 1 12(2):513-524; Yamamoto et al. (1994) *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Lam (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20: 181-196; Orozco et al. (1993) *Plant Mol Biol.* 23(6): 1129-1 138; Matsuoka et al. [alpha]/. (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA*

90(20):9586-9590; and Guevara-Garcia et al. (1993) *Plant J.* 4(3):495-505. Такі промотори можуть бути модифіковані, якщо це необхідно, слабкою експресією. В одному варіанті здійснення нуклеїнові кислоти інтересу орієнтовані в хлоропласти для експресії. Таким чином, нуклеїнової кислоти інтересу безпосередньо не вставлені в хлоропласт, експресійна касета додатково

5 містить послідовність хлоропласт-мішені, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує транзитний пептид хлоропласта, щоб направити продукт гену інтересу в хлоропласти. Такі транзитні пептиди відомі в даній галузі. Що стосується послідовності хлоропласт-мішені "функціонально пов'язаний" означає, що послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує транзитний пептид (тобто послідовність хлоропласт-мішені), пов'язаний з *mut*-PPO нуклеїнової

10 кислоти за винаходом, так що дві послідовності є суміжними і в тій же рамці зчитування. Див., наприклад, Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104-126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196:1414-1421; and Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481. Незважаючи на це, *mut*-PPO білки за винаходом включають нативний транзитний пептид

15 хлоропласту, будь-якого транзитного пептиду хлоропласта, відомого в даній області, можуть бути злиті з амінокислотною послідовністю зрілого *mut*-PPO протеїну за винаходом шляхом функціонального зв'язування послідовності хлоропласт-мішені з 5'-кінцем нуклеотидної послідовності, що кодує зрілий *mut*-PPO протеїн за винаходом. Хлоропласт послідовності відомі в даній галузі і включають хлоропласт малої субодиниці рибулозо-л, 5-бісфосфаткарбоксилазу

20 (Rubisco) (de Castro Silva Filho et al. (1996) *Plant Mol. Biol.* 30:769-780; Schnell et al. (1991) *J. Biol. Chem.* 266(5):3335-3342); 5-(енолпірувіл) шкімат-3-фосфат-синтаз (EPSPS) (Archer et al. (1990) *J. Bioenerg. Biomemb.* 22(6):789-810); триптофансинтетазу (Zhao et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270(11):6081-6087); пластоцианін (Lawrence et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(33):20357-20363); хорисматсинтетазу (Schmidt et al. (1993) *J. Biol. Chem.* 268(36):27447-27457); та світлозбираючий хлорофіл *a/b* зв'язуючий білок (LHBP) (Lamppa et al. (1988) *J. Biol. Chem.* 263:14996-14999). Також див. Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104-126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196: 1414-1421; and Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481.

30 Методи трансформації хлоропластів є відомими в даній галузі. Див., наприклад, Svab et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:8526-8530; Svab and Maliga (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:913-917; Svab and Maliga (1993) *EMBO J.* 12:601-606. Метод заснований на пушці доставки частинок ДНК, що містить селективний маркер і орієнтує ДНК в геном пластиди шляхом гомологічної рекомбінації. Крім того, трансформація пластид може бути досягнута шляхом

35 трансактивації трансгену легких пластид переважно тканинної експресії ядерно кодованих і пластид спрямованих РНК-полімеразою. Така система розкривалася в McBride et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:7301-7305. Нуклеїнові кислоти інтересу злиті з хлоропласти можуть бути оптимізовані для експресії в хлоропластах для обліку відмінностей у використанні кодонів між ядром рослини і цієї органели. Таким чином, нуклеїнові кислоти інтересу можуть бути

40 синтезовані з використанням хлоропласт-переважних кодонів. Див., наприклад, патент США № 5380831, який включений сюди шляхом посилання.

У переважному варіанті здійснення *mut*-PPO нуклеїнові кислоти складають полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з: а) полінуклеотиду, як показано в SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, або 45, або його

45 варіант або похідне, б) полінуклеотиду, що кодує поліпептид, як показано в SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, або 46, або варіант або похідне; в) полінуклеотид, містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів будь-якого з а), в) і с) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду будь-якого з а)-с).

Переважно касета експресії додатково містить ініціації транскрипції регуляторної області та ініціації трансляції регуляторної області, які є функціональними в рослині. У той час як полінуклеотиди за винаходом знаходять застосування в якості селективних маркерних генів для трансформації рослин, експресуючі касети згідно винаходу можуть включати в себе інший ген селективного маркера для відбору трансформованих клітин. Селективні маркерні гени, в тому числі за даним винаходом, використовують для відбору трансформованих клітин або тканин.

55 Гени-маркери включають, але не обмежуються ними, гени, що кодують стійкість до антибіотика, такі як гени, що кодують неоміцинфосфотрансферази II (NEO) і гіроміцинфосфотрансферазу (HPT), а також гени, що надають стійкість до гербіцидних сполук, таких як гліфоцинат амоній, бромоксініл, імідазолінони і 2,4-дихлорофеноксиацетат (2,4-D). Див. в цілому, Yarranton (1992) *Curr. Opin. Biotech.* 3:506-511; Christophers on et al (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6314-

60 6318; Yao et al. (1992) *Cell* 71:63-72; Reznikoff (1992) *Mol Microbiol* 6:2419-2422; Barkley et al

(1980) in *The Operon*, pp. 177-220; Hu et al (1987) *Cell* 48:555-566; Brown et al (1987) *Cell* 49:603-612; Figge et al (1988) *Cell* 52:713-722; Deuschle et al (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86:5400-5404; Fuerst et al (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86:2549-2553; Deuschle et al (1990) *Science* 248:480-483; Gossen (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Reines et al (1993) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90: 1917-1921; Labow et al (1990) *Mol Cell Biol* 10:3343-3356; Zambretti et al (1992) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89:3952-3956; Bairn et al (1991) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88:5072-5076; Wyborski et al (1991) *Nucleic Acids Res.* 19:4647-4653; Hillenand-Wissman (1989) *Topics Mol Struc. Biol* 10: 143-162; Degenkolb et al (1991) *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 1591-1595; Kleinschmidt et al (1988) *Biochemistry* 27: 1094-1 104; Bonin (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Gossen et al (1992) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89:5547-5551; Oliva et al (1992) *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:913-919; Hlavka et al (1985) *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 78 (Springer-Verlag, Berlin); Gill et al (1988) *Nature* 334:721-724. Таке розкриття включено в даний опис за допомогою посилання. Наведений вище список обраних маркерних генів не призначений для обмеження. Будь які селективні маркерні гени можуть бути використані в даному винаході.

Крім того, винахід відноситься до виділеного рекомбінантного вектора експресії, що містить експресійну касету з *mut-PPO* нуклеїновою кислотою, як описано вище, в якому експресія вектора в клітину-хазяїна призводить до підвищеної толерантності до гербіцидного похідного бензоксазину в порівнянні з диким типом інших з клітини-хазяїна. Використаний тут термін "вектор" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, здатної транспортувати іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона пов'язана. Одним типом вектора є "плазмід", яка відноситься до кільцевої дволанцюгової ДНК петлі, в якій додаткові сегменти ДНК можуть бути лігировані. Іншим типом вектора є вірусний вектор, в якому додаткові сегменти ДНК можуть бути лігировані в вірусний геном. Деякі вектори здатні до автономної реплікації в клітині-хазяїна, в яку вони введені (наприклад, бактеріальні вектори, що мають бактеріальний сайт ініціації реплікації і епісомні вектори ссавців). Інші вектори (наприклад, неепісомні вектори ссавців) інтегрують в геном клітини-хазяїна при введенні в клітину-хазяїна, і тим самим реплікуються разом з геномом хазяїна. Крім того, деякі вектори здатні направляти експресію генів, з якими вони функціонально пов'язані. Такі вектори називають тут "експресуючі вектори". У цілому, експресуючі вектори, використовувані в технології рекомбінантної ДНК, є часто у формі плазмід. У даному описі терміни "плазмід" і "вектор" можуть бути використані взаємозамінно, оскільки плазмід є формою вектора, що найбільш широко застосовується. Тим не менш, винахід включає інші форми експресуючих векторів, такі як вірусні вектори (наприклад, дефектні по реплікації ретровіруси, аденовіруси та аденоасоційовані віруси), які виконують еквівалентні функції.

Рекомбінантні вектори експресії за винаходом містять нуклеїнову кислоту згідно винаходу у формі, придатній для експресії нуклеїнової кислоти в клітині-хазяїна, яка означає, що рекомбінантні експресуючі вектори включають один або більше регуляторних послідовностей, обраних на основі клітини-хазяїна, які будуть використовуватися для експресії, яка функціонально пов'язана з послідовністю нуклеїнової кислоти, що експресується. Регуляторні послідовності включають ті, які керують конститивною експресією нуклеотидної послідовності в багатьох типах клітин-хазяїна і ті, які керують експресією нуклеотидної послідовності тільки в певних клітинах-хазяїна або за певних умов. Буде очевидно фахівцям в даній галузі техніки, що конструкція експресуючого вектора може залежати від таких факторів, як вибір клітини-хазяїна для трансформації, рівень експресії бажаного поліпептиду і т. д. Вектори експресії винаходу можуть бути введені в клітину-хазяїна для отримання таким чином поліпептида або пептиду, в тому числі злитого поліпептида або пептиду, який кодується нуклеїновими кислотами, як описано вище (наприклад, *mut-PPO* поліпептиди, злиті поліпептиди і т. д.).

У переважному варіанті здійснення даного винаходу *mut-PPO* поліпептиди експресуються у рослин і рослинних клітинах, таких як клітини одноклітинних рослин (наприклад, водорості) (Див. Falcatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1 (3):239-251 і посилання в ньому) і рослинні клітини вищих рослин (наприклад, насіннєвих, таких як хлібні злаки). *mut-PPO* поліпептид може бути "введений" в рослинну клітину за допомогою будь-яких засобів, у тому числі трансфекції, трансформації або трансдукції, електропорації, бомбардування частинками, агроінфікуванням, біолістики, тощо.

Придатні методи трансформації або трансфекції клітин-хазяїна, у тому числі клітини рослин можна знайти в Sambrook та ін. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) and other laboratory manuals such as *Methods in Molecular Biology*, 1995, Vol. 44, *Agro-bacterium protocols*, ed: Gartland and Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. Оскільки підвищена толерантність до гербіциду, що є похідним бензоксазину, є спільною рисою, яку було б бажано успадкувати

в найрізноманітніших рослинах, таких як кукурудза, пшениця, жито, овес, тритікале, рис, ячмінь, соєві боби, арахіс, бавовна, ріпак і канола, маніока, перець, соняшник та чорнобривці, пасльонові рослини, такі як картопля, тютюн, баклажани та помідори, *Vicia species*, горох, люцерна, чагарникові рослини (кава, какао, чай), *Salix species*, дерева (пальма олійна, кокосова), багаторічні трави, і кормові культури, сільськогосподарські рослини. Ці сільськогосподарські рослини також є рослинами-мішенями для генної інженерії в якості ще одного варіанту здійснення даного винаходу. У переважному варіанті здійснення винаходу рослина є культурною рослиною. Кормові культури включають, але не обмежують, Wheatgrass, Canarygrass, Bromegrass, Wildrye Grass, Bluegrass, Orchardgrass, Alfalfa, Salfoin, Birds-foot Trefoil, Alsike Clover, Red Clover, and Sweet Clover.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу трансфекції *mut-PPO* полінуклеотиду в рослину досягаються за рахунок *Agrobacterium*-опосередкованого перенесення гена. Один метод трансформації відомий фахівцям в даній галузі техніки є занурення рослини в розчин агробактерій, в якому агробактерій містить *mut-PPO* нуклеїнові кислоти, з подальшим розведенням перетворених гамет. Опосередковані *Agrobacterium* трансформації рослин можна виконати за допомогою, наприклад, GV3101 (pMP90) (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204:383-396) or LBA4404 (Clontech) штаму *Agrobacterium tumefaciens*. Трансформації можуть бути виконані стандартними трансформаціями та регенераційними способами (Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids. Res. 13:4777-4788; Gelvin, Stanton B. and Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2nd Ed. - Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. - in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT1 1-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R. and Thompson, John E., Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton: CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). Наприклад, рапсове насіння може бути перетворене за допомогою перетворення сім'ядолі або гіпокотилу (Moloney et al., 1989, Plant Cell Report 8:238-242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91:694-701). Використання антибіотиків для *Agrobacterium* та селекції рослин залежить від бінарного вектора і штаму *Agrobacterium*, що використовували для трансформації. Ріпакова селекція, як правило, здійснюється з використанням канаміцину як селективного маркера рослини. Опосередковане *Agrobacterium* перенесення гену льону може бути здійснено з використанням, наприклад, методики, описаної Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13:282-285. Крім того, перетворення сої можна проводити з використанням, наприклад, способу, описаного в Європейському патенті No. 0424 047, U.S. Patent No. 5,322,783, European Patent No. 0397 687, U.S. Patent No. 5,376,543, or U.S. Patent No. 5,169,770. Трансформація кукурудзи може бути досягнута шляхом бомбардування частинками, поліетиленгліколь опосередкованим поглинанням ДНК, або методом з використанням волокна карбїду кремнію. (Див., наприклад, Freeling and Walbot "The maize handbook" Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Конкретний приклад трансформації кукурудзи міститься в U.S. Patent No. 5,990,387, і конкретний приклад трансформації пшениці можна знайти в заявці PCT № WO 93/07256.

Відповідно до даного винаходу введені *mut-PPO* полінуклеотиди можуть бути збережені в рослинній клітині стабільно, якщо вони включені в нехромосомальний автономний реплікон або інтегровані в хромосоми рослин. Крім того, введені *mut-PPO* полінуклеотид можуть бути присутніми на позахромосомних нереплікованих векторах і бути тимчасово експресованими або тимчасово активними. В одному варіанті здійснення може бути створений гомологічний рекомбінантний мікроорганізм, в якому *mut-PPO* полінуклеотид інтегрований в хромосому, отримують вектор, який містить щонайменше частину гена *PPO*, в якому видалення, додавання або заміна була введена, щоб тим самим змінювати, наприклад, функціонального порушити, ендогенний ген *PPO* та створити *mut-PPO* гена. Щоб створити точку мутації за допомогою гомологічної рекомбінації ДНК-РНК, гібриди можуть бути використані в технології, відомій як chimera-plasty (Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27(5):1323-1330 and Kmiec, 1999, Gene therapy American Scientist 87(3):240-247). Інші процедури гомологічної рекомбінації виду *Triticum* також добре відомі в даній галузі техніки і розглядаються для використання в даному винаході.

У векторі гомологічної рекомбінації *mut-PPO* ген може бути замкнутий на своїх 5' і 3' кінцях додаткової молекули нуклеїнової кислоти гена *PPO* для забезпечення гомологічної рекомбінації між екзогенним *mut-PPO* геном, що несе вектор і ендогенним геном *PPO* в мікроорганізмі або рослині. Додаткова фланкуюча *PPO* молекула нуклеїнової кислоти має достатню довжину для успішної гомологічної рекомбінації з ендогенним геном. Як правило, кілька сотень пар основ до тисяч пар нуклеотидів фланкуючої ДНК (як на 5'-і 3'-кінців) включені у вектор (див., наприклад., Thomas, K.R., and Capes-chi, M.R., 1987, Cell 51:503 для опису векторів для гомологічної рекомбінації або Strepp et al., 1998, PNAS, 95(8):4368-4373 для кДНК на основі рекомбінації в патенті Physcomitrella). Однак, так як *mut-PPO* ген зазвичай відрізняється від гена *PPO* всього

декілька амінокислот, фланкуючі послідовності не завжди необхідні. Вектор гомологічної рекомбінації вводять в мікроорганізм або рослинну клітину (наприклад, через поліетилєн гліколь опосередкованих ДНК) і клітини, в яких введено mut-PPO геном гомологічної рекомбінації з ендогенним геном PPO вибираються за допомогою відомих в даній галузі техніки.

5 В іншому варіанті рекомбінантні мікроорганізми, можуть бути отримані системою селективного вмісту, що забезпечує регульовану експресію введеного гена. Наприклад, включення mut-PPO гена у вектор, який підпадає під контроль lak оперона, дозволяє експресію тільки mut-PPO в присутності IPTG. Така регуляторна система добре відома з рівня техніки.

10 Інший аспект даного винаходу відноситься до клітин-хазяїна, в які був введений рекомбінантний вектор експресії за винаходом. Термін "клітина хазяїна" і "рекомбінантна клітина хазяїна" використовуються тут взаємозамінно. Зрозуміло, що такі терміни відносяться не тільки до конкретної клітини, а і вони також застосовуються і до потомства або потенційного потомства такої клітини. Оскільки деякі модифікації можуть мати місце в наступних поколіннях внаслідок мутації або впливів навколишнього середовища, таке потомство може не бути фактично ідентичним батьківській клітині, але все ще буде включене в обсяг терміна в даному описі. Клітина хазяїна може бути будь-яка прокариотична або еукаріотична клітина. Наприклад, mut-PPO полінуклеотид може бути експресований в бактеріальних клітинах, таких як *S. glutamicum*, комах, клітинах грибів або клітинах ссавців (наприклад, клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO) або клітини COS), водоростей, інфузорії, клітинах рослин, грибів або інших мікроорганізмів, як *S. glutamicum*. Інші відповідні клітини хазяїна відомі фахівцям в даній області.

Клітина-хазяїн за винаходом, така як прокариотична або еукаріотична клітина-хазяїн в культурі, може бути використана для продукування (тобто експресії) mut-PPO полінуклеотиду. Відповідно, винахід також відноситься до способів отримання mut-PPO поліпептидів з використанням клітин-хазяїна за винаходом. В одному варіанті здійснення спосіб включає культивування клітини-хазяїна за винаходом (у якому було введено рекомбінантний вектор експресії, що кодує mut-PPO поліпептид, або в геном якої був введений ген, що кодує поліпептид дикого типу або mut-PPO) в відповідному середовищі перед тим як продукувати mut-PPO поліпептид. В іншому варіанті здійснення спосіб додатково включає виділення mut-PPO поліпептидів з середовища або з клітини-хазяїна. Інший аспект даного винаходу відноситься до виділених mut-PPO поліпептидів і їх біологічно активних частин. "Виділений" або "очищений" поліпептид або його біологічно активна частина є вільною від деякого клітинного матеріалу за допомогою технології рекомбінантної ДНК або хімічних попередників або інших хімічних речовин хімічним синтезом. Вираз "по суті вільний від клітинного матеріалу" включає препарати mut-PPO поліпептид, в яких поліпептид відділений від деяких клітинних компонентів клітин природним шляхом або рекомбінантним способом. Вираз "по суті вільний від клітинного матеріалу" включає препарати mut-PPO поліпептиду, що мають менш ніж близько 30 % (на суху вагу) не mut-PPO матеріалу (також зветься тут як "забруднений поліпептид"), більш переважно менше ніж приблизно 20 % не mut-PPO матеріалу, ще більш переважно менше ніж приблизно 10 % не mut-PPO матеріалу, а найбільш переважно менше ніж близько 5 % не mut-PPO матеріалу.

Коли mut-PPO поліпептид або його біологічно активна частина є рекомбінантно проіндукованої, він також є переважно по суті вільний від культурального середовища, тобто культуральне середовище представляє менш ніж приблизно 20 %, більш переважно менше ніж приблизно 10 %, і найбільш переважно менше ніж близько 5 % від обсягу поліпептидного препарату. Вираз "по суті вільний від хімічних попередників або інших хімічних речовин" включає препарати mut-PPO поліпептид, в яких поліпептид відділений від хімічних попередників або інших хімічних речовин, які беруть участь у синтезі поліпептида. В одному варіанті здійснення вираз "по суті вільний від хімічних попередників або інших хімічних речовин" включає препарати mut-PPO поліпептиду, що має менш ніж близько 30 % (по сухій вазі) хімічних попередників або mut-PPO хімічних речовин, більш переважно менше ніж близько 20 % хімічних попередників або mut-PPO хімічних речовин, ще більш переважно менше ніж приблизно 10 % хімічних попередників або mut-PPO хімічних речовин, і найбільш переважно менше ніж приблизно 5 % хімічних попередників або mut-PPO хімічних речовин. У переважних варіантах виділені поліпептиди або їх біологічно активні частини вільні від забруднення поліпептидів з того ж організму, з якого mut-PPO поліпептид походить. Зазвичай такі поліпептиди отримують шляхом рекомбінантної експресії, наприклад, mut-PPO поліпептид в рослинах, крім або в мікроорганізмах, таких як *S. glutamicum*, війчасті, водорості та гриби.

Як описано вище, даний винахід навчає композиціям і способам для збільшення толерантності до похідної бензоксазину у культурних рослин або насіння в порівнянні з сортом рослин або насіння дикого типу. У переважному варіанті толерантність культурних

рослин або насіння до похідної бензоксазину збільшується таким чином, що рослина або насіння витримують гербіцидне похідне бензоксазину переважно приблизно 1-1000 г на га-1, більш переважно 20-160 г на га-1, а найбільш переважно 40-80 г на га-1. Як тут використовується, "витримує" похідні бензоксазину гербіцидів означає, що рослина або не знищується або не страждає від такого застосування.

Крім того, даний винахід пропонує способи, які включають застосування щонайменше одного гербіцидного похідного бензоксазину, як детально описано вище.

У цих способах гербіцидне похідне бензоксазину може бути нанесено будь-яким способом, відомим в даній області, включаючи, але не обмежуючись цим, обробку насіння, обробку ґрунту та листя. Перед нанесенням гербіцидного похідного бензоксазину можуть бути перетворені в звичайні композиції, наприклад розчини, емульсії, суспензії, порошки, тонкі порошки, пасти і гранули. Використання форми залежить від мети застосування, в кожному разі вона має забезпечувати тонке і рівномірне розподілення сполуки згідно з винаходом.

Надаючи рослинам збільшену толерантність до гербіцидного похідного бензоксазину, можуть бути використані різноманітні препарати для захисту рослин від бур'янів, з тим щоб підвищити ріст рослин і знизити конкуренцію за поживні речовини. Гербіцидне похідне бензоксазину може бути використане само по собі передсходово, післясходово, перед посадкою і при посадці на ділянках боротьби з бур'янами, що оточують культурні рослини, описані тут, або препарат Гербіцидне похідне бензоксазину може бути використане разом з іншими добавками. Гербіцидне похідне бензоксазину також може бути використане для обробки насіння. Добавки, що знаходяться в складі гербіцидного похідного бензоксазину включають інші гербіциди, детергенти, допоміжні речовини, розпилючі агенти, клеючі агенти, стабілізуючі агенти або тому подібне. Гербіцидний препарат похідного бензоксазину може бути вологим або сухим препаратом і може включати, але не обмежуються ними, текучі порошки, емульгуючі концентрати та рідкі концентрати. Гербіцидне похідне бензоксазину і композиції гербіцидів можуть бути застосовані у відповідності зі звичайними методами, наприклад, шляхом розпилення, поливу, опилування або тому подібне.

Подібні композиції докладно описані в РСТ/EP2009/063387 і РСТ/EP2009/063386, які включені сюди шляхом посилання.

Слід також розуміти, що вищевикладене відноситься до кращого варіанту здійснення даного винаходу, і що численні зміни можуть бути зроблені в ньому без відступу від обсягу даного винаходу. Винахід далі ілюструється такими прикладами, які не повинні бути тлумачені жодним чином, що накладає обмеження на обсяг винаходу. Навпаки, вони для ясного розуміння того, що можуть бути різні інші варіанти, модифікації і еквіваленти, які після прочитання даного опису, можуть бути запропоновані фахівцям в даній галузі техніки без відступу від даного винаходу та/або об'єму прикладеної формули винаходу.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1: Сайт-спрямований мутагенез *Amaranthus PPO*

Клонування *Amaranthus PPO*

Було синтезовано кодувальну послідовність *Amaranthus tuberculatus* для PPO-сприйнятливих і стійких ізоформ, а мутантні комбінації (SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7) і клоновано Geneart (Geneart AG, Regensburg, Germany).

Плазмиди ізолювали з *E.coli* TOP10 шляхом плазмідного мінпрепарування і підтверджували шляхом секвенування ДНК.

Експресія та очищення рекомбінантної дикого типу і мутантної PPO

(Взято з: Franck E. Dayan, Pankaj R. Daga, Stephen O. Duke, Ryan M. Lee, Patrick J. Tranel, Robert J. Doerksen. Biochemical and structural consequences of a glycine deletion in the a-8 helix of protoporphyrinogen oxidase. Biochimica et Biophysica Acta 1804 (2010), 1548-56).

Клони в pRSET векторі були трансформовані в штам *E.coli* BL21 (DE3)-pLysS. Клітини вирощували в 250 мл LB з 100 мкг мл⁻¹ карбеніциліну, при струшуванні протягом ночі при 37 °C. Культури розводили в 1 л LB з антибіотиком і вирощували при 37 °C при струшуванні протягом 2 год., індукували з 1 mM IPTG і вирощували при 25 °C, струшуючи ще протягом 5 годин. Клітини збирали центрифугуванням при 1600×g, промивали 0,09 % NaCl, і зберігали при -80 °C.

Клітини лізували з використанням преса Френча при 140 МПа в 50 mM фосфату натрію pH 7,5, 1 M NaCl, 5 mM імідазолу, 5 % гліцерину і 1 мкг мл⁻¹ лейпептину. Після лізису, було додано 0,5 Од бензонази (Novagen, EMD Chemicals, Inc, Gibbstown, NJ) і PMSF (кінцева концентрація 1 mM). Клітинний дебрис видаляли центрифугуванням при 3000×g. Мічені гістидином білки PPO очищали на активованій нікелем Hitrap хелатуючий HP колонці (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ), врівноваженій 20 mM фосфату натрію, pH 8,0, 50 mM NaCl, 5 mM імідазолу, 5mM MgCl₂, 0,1 mM EDTO і 17 % гліцерину.

PPO елюювали 250 мМ імідазолу. Активний білок знесолювали на колонці PD-10 (GE Healthcare Bio-Sciences корпорації, Piscataway, NJ), врівноважений 20 мМ натрій-фосфатним буфером, pH 7.5, 5 мМ $MgCl_2$, 1 мМ ЕДТО і 17 % гліцерину. Кожен літр культури забезпечував приблизно 10 мг чистого PPO, який зберігали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до використання в аналізах.

5 Аналіз активності PPO

Ферментний аналіз PPO (нерекомбінантного). Білок PPO (EC 1.3.3.4) був екстрагований з колеоптелів або пагонів (150 г сирової ваги) вирощеної в темряві кукурудзи, пасльону чорного, ранкової слави і саджанців теофраста, як описано раніше (Grossmann et al. 2010). До збору урожаю саджанці протягом 2 годин зростали при світлі для досягнення найвищої специфічної активності ферментів у фракції тилакоїдів при низькій концентрації хлорофілу. При високій концентрації хлорофілу відбувається значне гасіння флуоресценції, що обмежує кількість зелених тилакоїдів, що може бути використано в тесті. Рослинні матеріали були гомогенізовані на холоді за допомогою блендера Braun при співвідношенні свіжої маси до об'єму 1: 4. Буфер для гомогенізації складався з трис(гідроксиметил) амінометана (Tris)-HCl (50 мМ; pH 7.3), сахарози (0,5 М), хлориду магнію (1 мМ), етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТО) (1 мМ) і бичачого сироваткового альбуміну (2 г L^{-1}). Після фільтрації через чотири шари Miracloth було отримано препарати сирих пластид після центрифугування при $10000\times g$ протягом 5 хв. і ресуспендування в буфері для гомогенізації перед центрифугуванням при $150\times g$ протягом 2 хв., з тим, щоб видалити дебрис сирих клітин. Супернатант центрифугували при $4000\times g$ протягом 15 хв. і осадові фракції ресуспендували в 1 мл буфера, що містить трис-HCl (50 мМ, pH 7.3), ЕДТО (2 мМ), лейпептину (2 мМ), пепстатину (2 мМ) і гліцерину (200 мл L^{-1}), і зберігали при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ перед використанням. Білок визначали у ферментному екстракті з бичачим сироватковим альбуміном в якості стандарту. Активність PPO визначали фторметрично шляхом моніторингу рівня утворення Proto з хімічно відновленого протопорфіриногена IX при початкових умовах швидкості. Суміш для аналізу складалася з трис-HCl (100 мМ, pH 7,3), ЕДТО (1 мМ), дитіотреїтолу (5 мМ), Tween 80 (0,085 %), протопорфіриногену IX (2 мМ) і 40 мкг екстрагованого білка в загальному об'ємі 200 мкл. Реакцію ініціювали додаванням субстрату протопорфіриноген IX при $22\text{ }^{\circ}\text{C}$. Сафлюфенацил, флуміоксазин і бутафенацил були підготовлені в розчині диметилсульфоксиду (ДМСО) (0,1 мМ концентрація ДМСО в аналізі) і додані в суміш для аналізу в концентраціях від 0,005 μM до 5 мМ до інкубації. Флуоресценцію контролювали безпосередньо за аналізом суміші з використанням Polarstar Optima/Galaxy (BMG) з активізацією при 405 нм і емісією при 630 нм. Неферментна активність в присутності інактивованого нагріванням екстракту була незначною. Інгібування ферментної активності індукване гербіцидом виражено як відсоток інгібування в порівнянні з необробленим контролем. Молярна концентрація сполуки, необхідна для 50 % інгібування ферменту (значення IC_{50}) розраховували шляхом встановлення значень рівняння доза-відповідь з використанням нелінійного регресійного аналізу.

PPO ферментний аналіз (рекомбінантний). Proto був придбаний у Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI). Протоген готували відповідно до Jacobs і Jacobs (N.J. Jacobs, J.M. Jacobs, Assay for enzymatic protoporphyrinogen oxidation, a late step in heme synthesis,

Enzyme 28 (1982) 206-219). Аналізи проводили в 100 мМ фосфату натрію, pH 7,4 за допомогою 0,1 мМ ЕДТО, 0,1 % Tween 20, 5 мМ FAD і 500 мМ імідазолу. Криві доза-відповідь з інгібіторами PPO ацидфлуорфеном, лактофітом, бензоксазином 1.а.35 або бажано з похідними бензоксазину (де X є O або S, R^4 є воднем, C_1-C_6 -алкілом, C_1-C_6 -галогеналкілом, C_3-C_6 -циклоалкілом, C_3-C_6 -алкенілом, C_3-C_6 -галогеналкенілом, C_3-C_6 -алкінілом, C_3-C_6 -галогеналкінілом, C_1-C_6 -алкокси, або C_3-C_6 -циклоалкіл- C_1-C_6 -алкілом, R^5 є воднем, NH_2 , C_1-C_6 -алкілом або C_3-C_6 -алкінілом, R^6 є воднем або C_1-C_6 -алкілом, або їх комбінацією), вимірюють у присутності 150 мМ протогену. Смуги збудження та емісії були встановлені на рівні 1,5 і 30 нм відповідно. Всі аналізи були зроблені двічі або тричі і виміряні за допомогою Polarstar Optima/Galaxy (BMG) із збудженням при 405 нм та емісією при 630 нм.

Значення дози відповіді (IC_{50}) для заміщених ферментів PPO є більшими, ніж значення IC_{50} для дикого типу (незаміщений) ферменту PPO (таблиця 4а та 4б). Це вказує на те, що ці заміщені ферменти PPO мати власну стійкість до бензоксазину і деяких тестованих похідних бензоксазину. Заміщені ферменти PPO dG210 і R128L відомі як такі, що замінюють PPO ферменти, знайдені в *Amaranthus tuberculatus*, і показано, що вони відповідають за резистентність PPO in planta до різних гербіцидів PPO (Dayan et al., 2010, Biochimica et Biophysica Acta, 1804:1548). Це вказує на те, що інші зазначені заміщені PPO ферменти з більш високим значенням IC_{50} , ніж dG210 або R128L, є також заміщеними PPO ферментами, які відповідають за in planta резистентність проти різних гербіцидів PPO, у тому числі бензоксазину 1.а.35 (табл. 4а) і перерахованих похідних бензоксазину (таблиця 4б). Всі

заміщені ферменти PPO показують порівняну активність ферменту, зміну одиниці флуоресценції за хвилину (FU/хв) порівняно з диким типом ферменту PPO (таблиця 4а). Крім того, всі значення активності ферментів для заміщених PPO є більшими, ніж для заміщеного PPO ферменту dG210. Заміщений PPO фермент dG210 є досить активним для функції in planta.

5 Це означає, що всі інші зазначені заміщені ферменти PPO також досить активні для функції in planta.

Таблиця 4а

IC₅₀ (M) значення для ферменту PPO дикого типу і ферменту PPO із заміщенням амінокислот, для інгібітору бензоксазину 1.а.35

Заміщення	IC ₅₀ (M) бензоксазину	Активність (FU/min)
Дикий тип	1,20E-10	800
R128A	1,40E-10	731
R128L	7,73E-10	750
dG210	2,12E-09	80
L397D	2,72E-10	250
L397N	2,35E-10	165
F420M	2,75E-10	353
F420I	4,95E-10	179
F420L	9,93E-10	203
F420V	2,45E-09	200
R128A, F420M	6,24E-09	378
R128A, F420I	1,98E-08	330
R128A, F420L	2,38E-08	281

Таблиця 4b:

IC₅₀ (M) значення для ферменту PPO дикого типу і ферменту PPO із заміщенням амінокислот, для перерахованих похідних бензоксазину

Заміщення	IC ₅₀ (M) аналоги бензоксазину							Активність FU/min
	X є O	R ⁴ є водень	X є O, R ⁴ є водень	R ⁵ є водень	R ⁶ є водень	X є O, R ⁵ є водень	X є O, R ⁶ є водень	
Дикий тип	2,20E-10	2,99E-10	2,04E-08	1,78E-09	1,78E-09	2,27E-08	2,27E-08	800
R128L	3,82E-08	2,02E-07	3,57E-06					750
dG210	3,33E-08	1,10E-07	1,64E-07					80
L397D				4,41E-07	4,41E-07	2,43E-06	2,43E-06	250
F420I				6,17E-07	6,17E-07	1,00E-05	1,00E-05	179
R128A, F420I				1,00E-05	1,00E-05	1,00E-05	1,00E-05	330

10 ПРИКЛАД 2: Скринінг мутантних клітин водоростей для виявлення стійких до гербіцидів клонів і причинно обумовлених мутацій в генах PPO.

Для створення мутації, що надають стійкість до гербіциду, що походить з бензоксазину, в генах PPO, можуть бути використані хімічний або УФ-мутагенез. Особливо корисними для ідентифікації домінуючих мутацій у стійкості до гербіцидів є одноклітинні організми, такі, як 15 *Chlamydomonas reinhardtii* або *Scenedesmus obliquus*.

Клітини водорості *Chlamydomonas reinhardtii* штамів CC-503 і CC-1691 (Duke University, Durham, США) розмножують в середовищі TAP (Горман і Левін (1965) PNAS 54: 1665-1669) при постійному струшуванні при 100 обертах за хвилину, 22 °C і світовому освітленні 30 мкмоль фот * м⁻² * с⁻².

20 *Scenedesmus obliquus* (Геттінгенського університету, Німеччина) розмножують в середовищі водоростей, як описано (Boger і Sandmann, (1993) в: Мета аналізу для сучасних гербіцидів і 15 пов'язаних фітотоксичності сполук, Льюїс видавців) при тих же умовах культивування, як зазначено для *Chlamydomonas*. Скринінг сполук виконується при освітленні 450 мкмоль фот * м⁻² * с⁻².

Чутливі штами *Chlamydomonas reinhardtii* або *Scenedesmus obliquus* мутують за допомогою 0,14 М етилметансульфонату (EMS) протягом 1 год., як описано Loppes (1969, 20 Mol Gen Genet 104: 172-177). Толерантні штами ідентифікують шляхом скринінгу мутагенізованих клітин на планшетах з твердим живильним розчином, що містять похідні гербіциду бензоксазинону за інтересом при низьких і летальних концентраціях сполуки в залежності від активності сполуки в специфічному штамі водорості.

Ампліфікація генів PPO від дикого типу і резистентної *Chlamydomonas reinhardtii* з геномної ДНК або копії ДНК як матриці виконують за допомогою стандартних методів ПЛР з використанням ДНК-олігонуклеотидів. Мутації були виявлені шляхом порівняння дикого типу і мутантних послідовностей PPO за допомогою програми вирівнювання послідовностей Align X ((Vector NTI Advance Software Version 10.3, Invitrogene, Carlsbad, CA, USA)).

На Фігурі 2 показаний вибір штаму *Chlamydomonas reinhardtii*, стійкого до похідної гербіциду бензоксазинону 1.а.35. (А) Мутагенізовані клітини висівали на тверде середовище без вибраного агента. (В) Мутагенізовані клітини висівали на тверде середовище, що містить 1×10^{-7} М похідної гербіциду бензоксазинону 1.а.35. Клітини, які є резистентними до похідної гербіциду бензоксазинону утворюють колонії (обведені колом і пронумеровані 33, 34, 35 і 36), тоді як чутливі клітини не ростуть. Вище число колоній на планшеті А в порівнянні з В, показує, що колонії на планшеті В стійкі до похідної гербіциду бензоксазинону 1.а.35.

На Фігурі 3 показано повторне зростання вибраних штамів *Chlamydomonas reinhardtii*, стійких до похідної гербіциду бензоксазинону 1.а.35. (А) Клітини дикого типу в рідкому середовищі без вибраного агента. (В) Клітини дикого типу в рідкому середовищі, що містить зростаючу похідну гербіциду бензоксазинону 1.а.35 (від 1×10^{-9} до 5×10^{-6} М). (С) Мутагенізовані клітини в рідкому середовищі без вибраного агента. (D1, D2, E1, E2) Мутагенізовані і відібрані штами в рідкому середовищі, що містить зростаючу похідну гербіциду бензоксазинону 1.а.35 (від 1×10^{-9} до 5×10^{-6} М). Штами, резистентні до гербіциду 1.а.35, похідної бензоксазинону, культивуються до більш темного кольору, що вказує ріст. Чутливі штами не культивуються і залишаються світлого кольору. Вища щільність клітин в рідкому середовищі з зростаючими клітинами демонструє темний колір. Низька щільність культури дає світліший колір або є цілком прозорою.

ПРИКЛАД 3. Скринінг EMS мутагенізованих популяцій *Arabidopsis thaliana* для виявлення стійких до гербіцидів рослин та ідентифікації причин мутацій в генах PPO.

M2 популяція рослин *Arabidopsis thaliana*, оброблених EMS отримують з насіння Lehle (Round Rock, TX, USA). Скринінг проведено на посіві насіння *Arabidopsis* на половинній концентрації живильного розчину Мурашиге-Скуга, що містить 0,5 % желатинного агента Gelrite® і похідну бензоксазинону гербіцидів (від 0,1 до 500 мкМ), залежно від активності сполук. Планшети інкубували в ростовій камері в 16:08 год. циклів світло:темрява при 22 °С на термін до трьох тижнів. Толерантні рослини з менш інтенсивним відбілюванням фенотипу висаджують у ґрунт і вирощують до зрілості в тепличних умовах. На стадії розетки рослини листові диски збирають з рослин з похідною бензоксазинону гербіцидів для виділення геномної ДНК з DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) або загальної мРНК з RNeasy Plant Mini Kit (Quagen, Hilden, Germany).

PPO послідовності ампліфікують за допомогою стандартних методів ПЛР для геномної ДНК з відповідними олігонуклеотидами. Для ампліфікації PPO з мРНК, ДНК копії синтезують in vitro використанням Superscript III зворотню транскриптазу (Invitrogene, Carlsbad, CA, USA). Після клонування продукти ПЛР в плазміді стандартної послідовності ДНК послідовність мutowаних генів PPO визначали за допомогою стандартних методів секвенування. Мутації були виявлені шляхом порівняння дикого типу і мутантних послідовностей PPO за допомогою засобів вирівнювання послідовностей Align X (Vector NTI Advance Software Version 10.3, Invitrogene, Carlsbad, CA, USA).

ПРИКЛАД 4. Конструювання толерантних до похідної гербіциду бензоксазинону рослин з дикого типу або мutowаних послідовностей PPO.

Толерантна до похідної гербіциду бензоксазинона рослини сої (*Glycine max*) отримували за способом, як описано Olhoff та співавт. (Патент США 2009/0049567). Послідовності мутантних PPO клонували за стандартними методами клонування, як описано в Sambrook і співавт. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) у бінарний вектор, що містить касету маркера гена стійкості (AHAS) і мutowані послідовності PPO (позначені як GOI) між промотором убіквітину (PcUbi) і послідовністю термінатора нопалін-синтази (NOS). Бінарні плазмідні конструції вводять в *Agrobacterium tumefaciens* для трансформації рослин. Плазмідні конструції вводяться в пахвову клітину меристеми сої на первинному вузлі розсади експлантата опосередковано через *Agrobacterium*. Після інокуляції та спільного культивування з *Agrobacterium*, експлантати переміщують, щоб злити первинне середовище без відбору протягом одного

тижня. Експлантати згодом переміщують, щоб злити індукційне середовище, що містить 1-3 мкМ імазапіру (Arsenal) протягом 3 тижнів, щоб відібрати трансформовані клітини. Експланти зі здоровими калюсом/зародки пагонів на первинному вузлі потім передаються в середовища для подовження пагонів, що містить 1-3 мкМ імазапіру, доки пагін не подовжиться або експлант не загине. Трансгенні проростки укорінюють, піддають аналізу TaqMan на наявність трансгенів, переносять в ґрунт і вирощують до зрілості в теплиці. Трансформацію рослини кукурудзи здійснюється за допомогою способу, описаного McElver і Singh (WO 2008/124495). Векторні конструкти трансформації рослин, що містять мутовані послідовності PPO, вводять в незрілі зародки кукурудзи шляхом трансформації, опосередкованої *Agrobacterium*.

Трансформовані клітини відбирають в селективному середовищі з додаванням 0,5-1,5 мкМ імазетапіру протягом 3-4 тижнів. Трансгенні проростки регенерували на середовищі для регенерації рослини та укорінювали згодом. Трансгенні проростки піддавали аналізу TaqMan на наявність трансгенів перед пересаджуванням у заливну суміш та вирощували до зрілості в теплиці. *Arabidopsis thaliana* трансформували мутованою послідовністю PPO методом занурення квіток, як описано McElver і Singh (WO 2008/124495). Трансформація *Oryza sativa* (рис) здійснювали шляхом трансформації протопласта як описано Пен та ін. (US 6653529) Трансгенні рослин T0 або T1 сої, кукурудзи, рису і *Arabidopsis thaliana*, що містять мутовану послідовність PPO, тестували на поліпшену толерантність до PPO-похідних гербіцидів у тепличних дослідженнях.

ПРИКЛАД 5. Функціональна комплементация та скринінгове дослідження.
(див. також: William L. Patzoldt, Aaron G. Hager, Joel S. McCormick, and Patrick J. Tranel. A codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase. PNAS 103 (33), 12329-34)

PPO бібліотеки генерування:

Бібліотеки PPO гену генерували випадковим мутагенезом (помилки, що допускала ПЛР) або сатураційним мутагенезом PPO-гена (Geneart AG, Regensburg, Germany) і клонували в експресуючому векторі (pBAD-TOPO) для *in vivo* скринінгу. Крім того, скорочений варіант генів дикого типу і мутантних PPO клонують в pBAD-TOPO векторі експресії (Invitrogen), так що трансляція починається з другого стартового кодону ATG. PPO кДНК ПЛР ампліфікують з використанням прямого праймера 5-CAGGAATAAGTAATGGGCAACATTTCTGAG-3, що містить сайт зв'язування рибосоми (AGGA) і стартовий кодон ATG, та зворотний праймер 5-GAAGAATTACGCGGTCTTCTCATC-3, що містить стоп-кодон. Чутливі і, як передбачається, стійкі плазмиди PPO використовують для трансформації hemG мутантного штаму *E. coli*, SASX38, люб'язно наданого Harry Dailey (University of Georgia, Athens, GA). SASX38 штам *E. coli* витримують на LB-середовищі, що містить 20 мг*мл⁻¹ гематину. Трансформовані колонії SASX38 і нетрансформований контроль тестують на їх здатність росту на одному LB середовищі або з додаванням 20 мг*мл⁻¹ гематину або з інгібітором PPO лактофеном і гербіцидним похідним бензоксазину в діапазоні від 0,01 до 500 мкМ, та інкубували при 37 °C протягом 14 год.

Комплементацию та скринінгове дослідження використовували з hemG (PPO) мутантним штамом *E. coli*, SASX38 (Sasman, A., Chartrand, P., Lavoie, M., Tardif, D., Proschek, R. & Lapointe, C. (1979) J. Gen. Microbiol. 1 13, 297-303.) для оцінки ефекту мутацій PPO до відповідей PPO гербіциду. SASX38 штам росте дуже повільно, якщо не доставляється з екзогенним гемом або не відновлений з альтернативним джерелом PPO. Крім того, оскільки *E. coli* дикого типу природно стійкі до PPO інгібіторів, використання штаму SASX38 включене до прямого аналізу чутливості до гербіциду дикого типу і мутантних PPO для *A. tuberculatus*. SASX38 штам *E. coli* трансформували плазмідним конструктом, що кодує дикий тип і мутантні PPO. Конструкти можуть відновити зростання штаму *E. coli* SASX38, тим самим вказуючи, що PPO гени кодують функціональні білки. Проте, додавання до живильного середовища похідної гербіциду бензоксазину значно інгібує ріст *E. coli*, трансформованої диким типом PPO, але не *E. coli*, трансформованої деякими мутантними PPO.

ПРИКЛАД 6. Умови культивування тканини.

Дослідження *in vitro* мутагенізації культуральної тканини були проведені, щоб виділити і охарактеризувати рослинні тканини (наприклад, тканини кукурудзи, рису), які стійкі до гербіцидів, інгібуючих протопорфіриногеноксидазу (наприклад, сафлуфенацил, біфенокс, діурон, лактофен, бутафенацил). При дослідженні використовували соматоклональний варіант, який знаходиться *in vitro* в культурі тканини. Спонтанні мутації отримані соматоклональними змінами можуть бути підвищені шляхом хімічного мутагенезу і подальшої підбору схожим чином при збільшенні концентрації гербіциду.

- Даний винахід відноситься до умов культури тканини для стимуляції росту живленням ембріогенної кукурудзи або калюсу рису, здатним до регенерації. Калюси ініціюють від 4 різних сортів кукурудзи або рису, що включає Zea Mays та Japonica (Taipеі 309, Nipponbare, Koshihikari) та Indica (Indica 1) сортів відповідно. Насіння поверхнево стерилізують в 70 % етанолі протягом приблизно 1 хв., а потім в 20 % комерційному відбілювачі Clorox протягом 20 хвилин. Насіння промивають стерильною водою і висівають на середовище для індукції калюсу. Різні середовища інтродукції калюсу було протестовано. Перелік інгредієнтів для тестового середовища представлені в Таблиці 5.

Таблиця 5

Інгредієнт	Виробник	R001M	R025M	R026M	R327M	R008M	MS711R
B5 вітаміни	Sigma					1.0 X	
MS солі	Sigma			1.0 X	1.0 X	1.0 X	1.0 X
MS вітаміни	Sigma			1.0 X	1.0 X		
N6 солі	Phytotech	4.0 г/л	4.0 г/л				
N6 вітаміни	Phytotech	1.0 X	1.0 X				
L-пролін	Sigma	2.9 г/л	0.5 г/л				1.2 г/л
Казаїнова кислота	BD	0.3 г/л	0.3 г/л	2 г/л			
Гідролізат казеїну	Sigma						1.0 г/л
L-Asp моногідрат	Phytotech						150 мг/л
Никотинова кислота	Sigma						0.5 мг/л
Піридоксин HCl	Sigma						0.5 мг/л
Тіамін HCL	Sigma						1.0 мг/л
Міоїнозитол	Sigma						100 мг/л
MES	Sigma	500мг/л	500мг/л	500мг/л	500мг/л	500мг/л	500мг/л
Мальтоза	VWR	30 г/л	30 г/л	30 г/л	30 г/л		
Сорбітол	Duchefa			30 г/л			
Цукроза	VWR					10 г/л	30 г/л
NAA	Duchefa					50 мг/л	
2,4-D	Sigma	2.0 мг/л					1.0 мг/л
MgCl ₂ ·6H ₂ O	VWR						
pH		5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.7
Gelrite	Duchefa	4.0 г/л				2.5 г/л	
Агароза типу 1	Sigma		7.0 г/л	10 г/л	10 г/л		
-Автоклав		15 хв.	15 хв.	15 хв.	15 хв.	15 хв.	20 хв.
Кінетин	Sigma		2.0 мг/л	2.0 мг/л			
NAA	Duchefa		1.0 мг/л	1.0 мг/л			
ABA	Sigma		5.0 мг/л				
Cefotaxime	Duchefa		0.1 г/л	0.1 г/л	0.1 г/л		
Ванкоміцин	Duchefa		0.1 г/л	0.1 г/л	0.1 г/л		
G418 дисульфат	Sigma		20 мг/л	20 мг/л	20 мг/л		

- R001M середовище індукції калюсу було відібрано після тестування множини варіантів. Культури зберігають в темряві при 30 °C. Ембріогенний калюс повторно пересівають у свіже середовище через 10-14 днів.
- ПРИКЛАД 7. Вибір толерантного до гербіциду калюсу.
- Як тільки умови культивування тканини визначено, подальше створення умов вибору встановлюють на основі аналізу тканин, що залишилися життєздатними в кривій знищення з сафлуфенацилом, біфеноксом, діуроном, лактофеном, бутафенацилом, аціфлуорфеном, похідним гербіциду бензоксазинона. Особливу увагу приділяли дослідженням накопичення гербіциду в тканинах, а також його стійкості і стабільності в клітині і культуральному

середовищу. Через ці експерименти сублетальна доза була створена протягом початкового відбору мутованого матеріалу.

Після встановлення початкової дози сафлуфенацилу, біфеноксу, діурону, лактофену, бутафенацилу, аціфлуорфену і гербіцидного похідного бензоксазину у виборі середовища, тканини підібрали поетапно, шляхом збільшення концентрації інгібітора РРО з кожною передачею повертали клітини, які росли енергійно у присутності токсичних доз. Отриманий калюс далі пересівають кожні 3-4 тижні до R001 M з селективним агентом. Більше 26000 калюсів піддані селекції протягом 4-5 субкультивувань до досягнення селективного тиску вище токсичних рівнів, як це визначено за кривими вбивання та спостереженнями подальшого культивування. Альтернативно, рідкі культури ініціювали з калюсу в MS711R з повільним струшуванням і щотижневим субкультуванням. Як тільки рідку культуру встановлено, селективний агент додають безпосередньо в колбу для кожної субкультури. Після 2-4 раундів вибору рідини, культури переносять до фільтрів на твердих середовищах R001 M для подальшого зростання.

ПРИКЛАД 8. Регенерація рослин.

Толерантну тканину регенерують і молекулярно характеризують для мутацій послідовностями РРО гена і/або біохімічно для зміненої активності РРО у присутності селективного агента. Крім того, гени, що беруть участь безпосередньо та/або опосередковано у біосинтезі тетрапіролу та/або шляхів метаболізму, також просеквеновані для характеристики мутацій. Нарешті, ферменти, які змінюють хід (наприклад, обмін речовин, транслокації, транспортації) також просеквеновані для характеристики мутацій.

Після вибору гербіциду калюс регенерували використанням режиму середовища R025M протягом 10-14 днів, R026M - протягом приблизно 2 тижнів, R327M поки добре сформовані пагони не будуть розділені і R008S поки пагони будуть мати коріння для перенесення в теплиці. Регенерація здійснюється на світлі. Неселективний агент виключають під час регенерації.

Після отримання міцних коренів M0 регенеранти пересаджують в теплицю в квадратних або круглих горщиках. Трансплантати утримують в прозорих пластикових чашках, поки вони не пристосуються до тепличних умов. Тепличний режим встановлюють на цикл день/ніч 27 °C/21 °C (80 °F/70 °F) з 600W високим тиском натрієвого світла, доповненого світлом для підтримки 14-годинного світлового дня. Рослини поливають відповідно до потреби в залежності від погоди і добрив щодня.

ПРИКЛАД 9. Аналіз послідовності.

Листову тканину збирали з клонованих рослин, розділених для пересадки і аналізували індивідуально. Геномну ДНК отримували за допомогою Wizard® 96 Magnetic DNA Plant System kit (Promega, US Patent Nos. 6,027,945 & 6,368,800), відповідно до вказівок виробника. Виділену ДНК ПЛР-ампліфікували з використанням відповідного прямого і зворотного праймерів. ПЛР-ампліфікацію проводили з використанням Hotstar Taq DNA полімерази (Qiagen) за допомогою термоциклічної програми наступним чином: 96 °C протягом 15 хв., потім 35 циклів (96 °C, 30 сек., 58 °C-0,2 °C за цикл, 30 сек., 72 °C, 3 хв. і 30 сек.), 10 хв. при 72 °C.

ПЛР-продукти перевіряли на концентрацію і розмір фрагмента через агарозний гель електрофорезу. Дефосфорильовані продукти ПЛР аналізували через прямі послідовності з використанням ПЛР-праймерів (DNA Landmarks, або Entelechon). Файли хроматографічних слідів (scf) аналізували для порівняння мутацій з диким типом гена з використанням Vector NTI Advance 10™ (Invitrogen). На основі інформації про послідовність, мутації визначали в множині представників. Аналіз послідовності виконується на типових хроматограмах і відповідні вирівнювання AlignX з настройками за замовчуванням і відредагованими, щоб фіксувати вторинні піки.

ПРИКЛАД 10. Демонстрація толерантності до гербіцидів.

Обраних мутантів переносять в невеликі горщики. Сорти дикого типу пророщують з насіння, що служить як контроль.

Після 3 тижнів після трансплантації, M0 регенеранти обприскують, використовуючи обприскувач з сафлуфеніцилом (BAS 800H) або похідним бензоксазину I.a.35 з додаванням 0,1 % метильованої насінневої олії. Після того, як рослини пристосувалися до умов теплиці, підмножину обприскують додатково сафлуфеніцилом (BAS 800H) або похідним бензоксазину I.a.35. Після розпилення рослини витримують в умовах посухи протягом 24 годин, після чого поливають і запліднюють знову. Обприскані рослини фотографують і оцінюють до гербіцидної обробки та після 1 та 2 тижнів відновлення.

ПРИКЛАД 11. Виділення гербіцидів за допомогою тканинної культури.

Обирають середовище для використання і розробляють криві вбивання, як зазначено вище. Для відбору, були використані різні методи. Будь-який крок вірного відбору або рівень швидкої

летальності від гербіциду відмічається. У будь-якому випадку всі калюси трансформують для кожного нового раунду відбору. Вибір 4-5 циклів культури з 3-5 тижнів для кожного циклу. Калюси поміщають на нейлонові мембрани для полегшення трансформації (листи з 200 мікронними порами, Biodesign, Saco, Maine). Мембрани вирізали під розмір чашки Петрі 100×20 мм і автоклаували перед використанням 25-35 калюсів (середня вага/калюс 22 мг) для кожного планшету. Крім того, один набір калюсів піддають селекції в рідкому культуральному середовищі з тижневими субкультурами з подальшим перенесенням на напівтверде середовище.

Мутантні лінії вибирали за допомогою сафлуфенацилу (BAS 800Н) або похідного бензоксазину I.a.35. Ефективність отримання мутантів висока, враховуючи відсоток калюсів, які регенеровані, мутантні лінії або кількість ліній, як визначено грамом використаної тканини. У цілому частота мутацій, в порівнянні з seashore paspalum, становить 5 разів більша, а в порівнянні з Maizee в 2 рази більша.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> БАСФ СЕ

<120> РОСЛИНИ, ЯКІ МАЮТЬ ПІДВИЩЕНУ ТОЛЕРАНТНІСТЬ ДО ГЕРБІЦИДІВ

<130> PF71580

<150> US 61/423604

<151> 2010-12-16

<150> EP 10195296.8

<151> 2010-12-16

<160> 46

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 1605

<212> ДНК

<213> Amaranthus tuberculatus

<400> 1

atggttaattc	aatccattac	ccacctttca	ccaaaccttg	cattgccatc	gccattgtca	60
gtttcaacca	agaactaccc	agtagctgta	atgggcaaca	tttctgagcg	ggaagaaccc	120
acttctgcta	aaaggggttg	tggtgttggt	gctggagtta	gtggacttgc	tgctgcatat	180
aagctaaaaat	cccatggttt	gagtgtgaca	ttgtttgaag	ctgattctag	agctggaggc	240
aaacttaaaaa	ctgttaaaaa	agatggtttt	atltgggatg	agggggcaaa	tactatgaca	300
gaaagtgagg	cagaggtctc	gagtttgatc	gatgatcttg	ggcttcgtga	gaagcaacag	360
ttgccaat	cacaaaataa	aagatacata	gctagagacg	gtcttcctgt	gctactacct	420
tcaaattccc	ctgcactact	cacgagcaat	atcctttcag	caaaatcaaa	gctgcaaatt	480
atgttggaac	catttctctg	gagaaaacac	aatgctactg	aactttctga	tgagcatggt	540
caggaaagcg	ttggtgaatt	ttttgagcga	cattttggga	aagagtttgt	tgattatggt	600
atcgaccctt	ttgttgcggt	tacatgtggt	ggagatcctc	aatcgctttc	catgcaccat	660
acatttccag	aagtatggaa	tattgaaaaa	aggtttggtc	ctgtgtttgc	tggaactaatt	720
caatcaacat	tgttatctaa	gaaggaaaaa	ggtagagaaa	atgcttctat	taagaagcct	780
cgtgtacgtg	gttcattttt	atltcaagggt	ggaatgcaga	cacttggtga	cacaatgtgc	840
aaacagcttg	gtgaagatga	actcaaaact	cagtgtgagg	tgctgtcctt	gtcatataac	900
cagaagggga	tcccttcatt	agggaattgg	tcagtctctt	ctatgtcaaa	taataaccagt	960
gaagatcaat	cttatgatgc	tgtggttggt	actgctccaa	ttcgcaatgt	caaagaaatg	1020
aagattatga	aatttgga	tccattttca	cttgacttta	ttccagaggt	gacgtacgta	1080
cccctttccg	ttatgattac	tgcatcca	aaggataaag	tgaagagacc	tcttgagggc	1140
ttcgaggttc	ttatccctc	taaagagcaa	cataatggac	tgaagactct	tggtacttta	1200
ttttcctcca	tgatgtttcc	tgatcgtgct	ccatctgaca	tgtgtctctt	tactacattt	1260
gtcggaggaa	gcagaaatag	aaaacttgca	aacgcttcaa	cggatgaatt	gaagcaataa	1320
gtttcttctg	accttcagca	gctgttgggc	actgaggacg	aaccttcatt	tgtcaatcat	1380
ctcttttgg	gcaacgcatt	cccattgtat	ggacacaatt	acgattctgt	tttgagagcc	1440

atagacaaga tggaaaagga tcttcctgga tttttttatg caggtaacca taaggggtgga 1500
ctttcagtg gaaaagcgat ggcctccgga tgcaaggctg cggaacttgt aatatacctat 1560
ctggactctc atatatacgt gaagatggat gagaagaccg cgtaa 1605

5 <210> 2
<211> 534
<212> PRT
<213> *Amaranthus tuberculatum*

10 <400> 2

	Met	Val	Ile	Gln	Ser	Ile	Thr	His	Leu	Ser	Pro	Asn	Leu	Ala	Leu	Pro
	1				5					10					15	
15	Ser	Pro	Leu	Ser	Val	Ser	Thr	Lys	Asn	Tyr	Pro	Val	Ala	Val	Met	Gly
				20					25					30		
	Asn	Ile	Ser	Glu	Arg	Glu	Glu	Pro	Thr	Ser	Ala	Lys	Arg	Val	Ala	Val
			35					40					45			
	Val	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Ala	Tyr	Lys	Leu	Lys	Ser
		50					55					60				
20	His	Gly	Leu	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Glu	Ala	Asp	Ser	Arg	Ala	Gly	Gly
	65					70					75				80	
	Lys	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Lys	Asp	Gly	Phe	Ile	Trp	Asp	Glu	Gly	Ala
				85					90					95		
	Asn	Thr	Met	Thr	Glu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Ile	Asp	Asp
25				100					105					110		
	Leu	Gly	Leu	Arg	Glu	Lys	Gln	Gln	Leu	Pro	Ile	Ser	Gln	Asn	Lys	Arg
			115				120						125			
	Tyr	Ile	Ala	Arg	Asp	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Ser	Asn	Pro	Ala
		130					135					140				
30	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln	Ile
	145					150					155				160	
	Met	Leu	Glu	Pro	Phe	Leu	Trp	Arg	Lys	His	Asn	Ala	Thr	Glu	Leu	Ser
					165				170					175		
	Asp	Glu	His	Val	Gln	Glu	Ser	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg	His	Phe
35				180					185					190		
	Gly	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Val	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala	Gly	Thr
			195				200						205			
	Cys	Gly	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	His	His	Thr	Phe	Pro	Glu
		210				215					220					
40	Val	Trp	Asn	Ile	Glu	Lys	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Phe	Ala	Gly	Leu	Ile
	225					230					235				240	
	Gln	Ser	Thr	Leu	Leu	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Glu	Asn	Ala	Ser
				245					250					255		
	Ile	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	Gln	Gly	Gly	Met
45				260					265					270		
	Gln	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Met	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Glu	Asp	Glu	Leu
			275				280						285			
	Lys	Leu	Gln	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile
		290					295					300				
50	Pro	Ser	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn	Asn	Thr	Ser
	305					310					315				320	
	Glu	Asp	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Ile	Arg	Asn
				325						330				335		
	Val	Lys	Glu	Met	Lys	Ile	Met	Lys	Phe	Gly	Asn	Pro	Phe	Ser	Leu	Asp
55				340					345					350		
	Phe	Ile	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Ser	Val	Met	Ile	Thr	Ala
			355				360						365			
	Phe	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu
		370					375					380				
60	Ile	Pro	Ser	Lys	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu
	385					390					395					400

	Phe	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp	Met	Cys	Leu	
				405						410					415		
	Phe	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Lys	Leu	Ala	Asn	Ala	
				420					425					430			
5	Ser	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Gln	Leu	
			435				440						445				
	Leu	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Pro	Ser	Phe	Val	Asn	His	Leu	Phe	Trp	Ser	
		450					455					460					
10	Asn	Ala	Phe	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asn	Tyr	Asp	Ser	Val	Leu	Arg	Ala	
	465					470					475					480	
	Ile	Asp	Lys	Met	Glu	Lys	Asp	Leu	Pro	Gly	Phe	Phe	Tyr	Ala	Gly	Asn	
				485						490					495		
	His	Lys	Gly	Gly	Leu	Ser	Val	Gly	Lys	Ala	Met	Ala	Ser	Gly	Cys	Lys	
				500					505					510			
15	Ala	Ala	Glu	Leu	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Asp	Ser	His	Ile	Tyr	Val	Lys	
			515					520						525			
	Met	Asp	Glu	Lys	Thr	Ala											
			530														
20	<210> 3																
	<211> 1605																
	<212> ДНК																
	<213> Amaranthus tuberculatus																
25	<400> 3																
	atggtaattc	aatccattac	ccacctttca	ccaaaccttg	cattgccatc	gccattgtca											60
	gtttcaacca	agaactaccc	agtagctgta	atgggcaaca	tttctgagcg	ggaagaaccc											120
	acttctgcta	aaagggttgc	tgttggttgt	gctggagtta	gtggacttgc	tgctgcatat											180
	aagctaanaa	cccatgggtt	gagtgtgaca	ttgtttgaag	ctgattctag	agctggaggc											240
30	aaacttaaaa	ctgttaaaaa	agatgggttt	atgtgggatg	agggggcaaa	tactatgaca											300
	gaaagtgagg	cagaggtctc	gagtttgatc	gatgatcttg	ggcttcgtga	gaagcaacag											360
	ttgccaat	cacaaaataa	aagatacata	gctagagccg	gtcttcctgt	gctactacct											420
	tcaaattccc	ctgcactact	cacgagcaat	atcctttcag	caaaatcaaa	gctgcaaat											480
	atgttggaac	catttctctg	gagaaaacac	aatgctactg	aactttctga	tgagcatggt											540
35	caggaaagcg	ttggtgaatt	ttttgagcga	cattttggga	aagagtttgt	tgattatggt											600
	attgaccctt	ttgttgcggt	tacatgttgt	ggagatcctc	aatcgctttc	catgcaccat											660
	acatttccag	aagtatggaa	tattgaaaaa	aggtttggct	ctgtgtttgc	cggactaatt											720
	caatcaacat	tggtatctaa	gaaggaaaaa	ggtggagaaa	atgcttctat	taagaagcct											780
	cgtgtacgtg	gttcattttc	atttcaaggt	ggaatgcaga	cacttggtga	cacaatgtgc											840
40	aaacagcttg	gtgaagatga	actcaaactc	cagtgtgagg	tgctgtcctt	gtcatataac											900
	cagaagggga	tccctcact	aggggaattg	tcagtctctt	ctatgtcaaa	taataaccagt											960
	gaagatcaat	cttatgatgc	tgtggttgtc	actgctccaa	ttcgcaatgt	caaagaaatg											1020
	aagattatga	aatttgga	tccattttca	cttgacttta	ttccagaggt	gacgtacgta											1080
	cccctttccg	ttatgattac	tgcattcaaa	aaggataaag	tgaagagacc	tcttgagggc											1140
45	ttcggagttc	ttatcccctc	taaagagcaa	cataatggac	tgaagactct	tggtacttta											1200
	ttttcctcca	tgatgtttcc	tgatcgtgct	ccatctgaca	tgtgtctctt	tactacattt											1260
	gtcggaggaa	gcagaaatag	aaaacttgca	aacgcttcaa	cggatgaatt	gaagcaaata											1320
	gtttcttctg	accttcagca	gctgttgggc	actgaggacg	aaccttcatt	tgtcaatcat											1380
	ctcttttgga	gcaacgcatt	cccattgtat	ggacacaatt	acgattctgt	tttgagagcc											1440
50	atagacaaga	tggaaaagga	tcttcttgga	tttttttatg	caggtaacca	taagggtgga											1500
	ctttcagtg	gaaaagcgat	ggcctccgga	tgcaaggctg	cggaaactgt	aatatcctat											1560
	ctggactctc	atatatacgt	gaagatggat	gagaagaccg	cgtaa												1605
55	<210> 4																
	<211> 534																
	<212> PRT																
	<213> Amaranthus tuberculatum																
60	<400> 4																

	Met	Val	Ile	Gln	Ser	Ile	Thr	His	Leu	Ser	Pro	Asn	Leu	Ala	Leu	Pro
	1				5					10					15	
	Ser	Pro	Leu	Ser	Val	Ser	Thr	Lys	Asn	Tyr	Pro	Val	Ala	Val	Met	Gly
				20					25					30		
5	Asn	Ile	Ser	Glu	Arg	Glu	Glu	Pro	Thr	Ser	Ala	Lys	Arg	Val	Ala	Val
			35					40					45			
	Val	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Ala	Tyr	Lys	Leu	Lys	Ser
	50						55					60				
10	His	Gly	Leu	Ser	Val	Thr	Leu	Phe	Glu	Ala	Asp	Ser	Arg	Ala	Gly	Gly
	65					70					75					80
	Lys	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Lys	Asp	Gly	Phe	Ile	Trp	Asp	Glu	Gly	Ala
					85					90					95	
	Asn	Thr	Met	Thr	Glu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Ile	Asp	Asp
				100					105					110		
15	Leu	Gly	Leu	Arg	Glu	Lys	Gln	Gln	Leu	Pro	Ile	Ser	Gln	Asn	Lys	Arg
			115					120					125			
	Tyr	Ile	Ala	Arg	Ala	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Ser	Asn	Pro	Ala
	130						135					140				
20	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln	Ile
	145					150					155					160
	Met	Leu	Glu	Pro	Phe	Leu	Trp	Arg	Lys	His	Asn	Ala	Thr	Glu	Leu	Ser
					165					170					175	
	Asp	Glu	His	Val	Gln	Glu	Ser	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg	His	Phe
				180					185					190		
25	Gly	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Val	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala	Gly	Thr
			195					200					205			
	Cys	Gly	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	His	His	Thr	Phe	Pro	Glu
			210				215					220				
30	Val	Trp	Asn	Ile	Glu	Lys	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Phe	Ala	Gly	Leu	Ile
	225					230					235					240
	Gln	Ser	Thr	Leu	Leu	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Glu	Asn	Ala	Ser
					245					250					255	
	Ile	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	Gln	Gly	Gly	Met
				260				265						270		
35	Gln	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Met	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Glu	Asp	Glu	Leu
			275					280					285			
	Lys	Leu	Gln	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile
			290				295					300				
40	Pro	Ser	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn	Asn	Thr	Ser
	305					310					315					320
	Glu	Asp	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Ile	Arg	Asn
					325					330					335	
	Val	Lys	Glu	Met	Lys	Ile	Met	Lys	Phe	Gly	Asn	Pro	Phe	Ser	Leu	Asp
				340					345					350		
45	Phe	Ile	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Ser	Val	Met	Ile	Thr	Ala
			355					360					365			
	Phe	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu
			370				375					380				
50	Ile	Pro	Ser	Lys	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu
	385					390					395					400
	Phe	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp	Met	Cys	Leu
				405						410					415	
	Phe	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Lys	Leu	Ala	Asn	Ala
				420					425					430		
55	Ser	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Gln	Leu
			435					440					445			
	Leu	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Pro	Ser	Phe	Val	Asn	His	Leu	Phe	Trp	Ser
		450					455					460				
60	Asn	Ala	Phe	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asn	Tyr	Asp	Ser	Val	Leu	Arg	Ala
	465					470					475					480

```

Ile Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn
      485                      490                      495
His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser Gly Cys Lys
      500                      505                      510
5  Ala Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile Tyr Val Lys
      515                      520                      525
Met Asp Glu Lys Thr Ala
      530

10
<210> 5
<211> 1602
<212> ДНК
<213> Amaranthus tuberculatus

15
<400> 5
atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttccacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg agaagaaccc 120
acttctgcta aaaggggttg tggtgttggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
20 aagctaaaaat cccatgggtt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc 240
aaacttaaaaa ctgttaaaaa agatggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaatth cacaaaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaatcccg ctgcactact cagagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt 480
25 atgttggaac catttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatgtt 540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga cattttggga aagagtttgt tgattatgtt 600
attgaccctt ttgttgcggg tacatgtgga gatcctcaat cgctttccat gcaccatata 660
tttcagaag tatggaatat tgaaaaaagg ttgggctctg tgtttgctgg actaattcaa 720
tcaacattgt tatctaagaa ggaaaagggt ggagaaaatg cttctattaa gaagcctcgt 780
30 gtacgtgggt cattttcatt tcaaggtgga atgcagacac ttgttgacac aatgtgcaaa 840
cagcttggtg aagatgaact caaactccag tgtgaggtgc tgtccttgtc atataaccag 900
aaggggatcc cctcattagg gaattggtca gtctcttcta tgtcaaataa taccagtga 960
gatcaatctt atgatgctgt ggttgctact gctccaattc gcaatgtcaa agaaatgaag 1020
attatgaaat ttggaaatcc attttcactt gactttattc cagaggtgac gtacgtaccc 1080
35 ctttccgtta tgattactgc attcaaaaag gataaagtga agagacctct tgagggcttc 1140
ggagttctta tcccctctaa agagcaacat aatggactga agactcttgg tactttatth 1200
tcctccatga tgtttcctga tcgtgctcca tctgacatgt gtctctttac tacatttgtc 1260
ggaggaagca gaaatagaaa acttgcaaac gcttcaacgg atgaattgaa gcaaatagtt 1320
tcttctgacc ttcagcagct gttgggcact gaggacgaac cttcatttgt caatcatctc 1380
40 ttttgagca acgcattccc attgtatgga cacaattacg attgtgtttt gagagccata 1440
gacaagatgg aaaaggatct tcctggatth ttttatgcag gtaaccataa ggggtggactt 1500
tcagtgggaa aagcgatggc ctccggatgc aaggctgcgg aacttgtaat atcctatctg 1560
gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgcgt aa 1602

45
<210> 6
<211> 533
<212> PRT
<213> Amaranthus tuberculatum

50
<400> 6

Met Val Ile Gln Ser Ile Thr His Leu Ser Pro Asn Leu Ala Leu Pro
1 5 10 15
Ser Pro Leu Ser Val Ser Thr Lys Asn Tyr Pro Val Ala Val Met Gly
55 20 25 30
Asn Ile Ser Glu Arg Glu Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val Ala Val
35 40 45
Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser
50 55 60
60 His Gly Leu Ser Val Thr Leu Phe Glu Ala Asp Ser Arg Ala Gly Gly
65 70 75 80

```

	Lys	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Lys	Asp	Gly	Phe	Ile	Trp	Asp	Glu	Gly	Ala	
				85						90					95		
	Asn	Thr	Met	Thr	Glu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Ile	Asp	Asp	
				100					105					110			
5	Leu	Gly	Leu	Arg	Glu	Lys	Gln	Gln	Leu	Pro	Ile	Ser	Gln	Asn	Lys	Arg	
			115				120						125				
	Tyr	Ile	Ala	Arg	Asp	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Ser	Asn	Pro	Ala	
		130					135					140					
10	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln	Ile	
	145					150					155					160	
	Met	Leu	Glu	Pro	Phe	Leu	Trp	Arg	Lys	His	Asn	Ala	Thr	Glu	Leu	Ser	
					165					170					175		
	Asp	Glu	His	Val	Gln	Glu	Ser	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg	His	Phe	
				180					185					190			
15	Gly	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Val	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala	Gly	Thr	
			195					200					205				
	Cys	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	His	His	Thr	Phe	Pro	Glu	Val	
		210					215					220					
20	Trp	Asn	Ile	Glu	Lys	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Phe	Ala	Gly	Leu	Ile	Gln	
	225					230					235					240	
	Ser	Thr	Leu	Leu	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Glu	Asn	Ala	Ser	Ile	
					245					250					255		
	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	Gln	Gly	Gly	Met	Gln	
				260					265					270			
25	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Met	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Glu	Asp	Glu	Leu	Lys	
			275					280					285				
	Leu	Gln	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile	Pro	
		290					295					300					
30	Ser	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn	Asn	Thr	Ser	Glu	
	305					310					315					320	
	Asp	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Ile	Arg	Asn	Val	
					325					330					335		
	Lys	Glu	Met	Lys	Ile	Met	Lys	Phe	Gly	Asn	Pro	Phe	Ser	Leu	Asp	Phe	
				340					345					350			
35	Ile	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Ser	Val	Met	Ile	Thr	Ala	Phe	
			355					360					365				
	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ile	
		370					375					380					
40	Pro	Ser	Lys	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu	Phe	
	385					390					395					400	
	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp	Met	Cys	Leu	Phe	
					405					410					415		
	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Lys	Leu	Ala	Asn	Ala	Ser	
				420					425					430			
45	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Gln	Leu	Leu	
			435					440					445				
	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Pro	Ser	Phe	Val	Asn	His	Leu	Phe	Trp	Ser	Asn	
							455					460					
50	Ala	Phe	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asn	Tyr	Asp	Cys	Val	Leu	Arg	Ala	Ile	
	465					470					475					480	
	Asp	Lys	Met	Glu	Lys	Asp	Leu	Pro	Gly	Phe	Phe	Tyr	Ala	Gly	Asn	His	
					485					490					495		
	Lys	Gly	Gly	Leu	Ser	Val	Gly	Lys	Ala	Met	Ala	Ser	Gly	Cys	Lys	Ala	
				500					505					510			
55	Ala	Glu	Leu	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Asp	Ser	His	Ile	Tyr	Val	Lys	Met	
			515					520					525				
	Asp	Glu	Lys	Thr	Ala												
				530													

60

<210> 7

<211> 1602
<212> ДНК
<213> *Amaranthus tuberculatus*

5 <400> 7
atggtaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttccacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc 120
acttctgcta aaaggggtgc tgttgttggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
aagctaaaaa cccatgggtt gagtgtgaca ttgtttgaag ctaattctag agctggaggc 240
10 aaacttaaaa ctgttaaaaa agatgggttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaatTT cacaaaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaatcccg ctgcactact cagcagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt 480
atgttgaac cttttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatggt 540
15 caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga ctttttgga aagagtttgt tgattatggt 600
attgaccctt ttgttgcggt tacatgtgga gatcctcaat cgctttccat gtaccataca 660
tttccagaag tatggaatat tgaaaaaagg tttggctctg tgtttgctgg actaattcaa 720
tcaacattgt tatctaagaa ggaaaagggt ggagaaaatg cttctattaa gaagcctcgt 780
gtacgtgggt ctttttcatt tcaaggtgga atgcagacac ttgttgacac aatgtgcaaa 840
20 cagcttggtg aagatgaact caaactccag tgtgaggtgc tgtccttggtc atataaccag 900
aaggggatcc cctcattagg gaattggtca gtctcttcta tgtcaaataa taccagtga 960
gatcaatctt atgatgctgt ggttgtcact gctccaattc gcaatgtcaa agaaatgaag 1020
attatgaaat ttggaaatcc attttcactt gactttattc cagaggtgac gtacgtaccc 1080
ctttccgtta tgattactgc attcaaaaag gataaagtga agagacctct tgagggcttc 1140
25 ggagttctta tccccctctaa agagcaacat aatggactga agactcttgg tactttatTT 1200
tcctccatga tgtttctga tcgtgctcca tctgacatgt gtctctttac tacatttgctc 1260
ggaggaagca gaaatagaaa acttgcaaac gcttcaacgg atgaattgaa gcaaattagt 1320
tcttctgacc ttcagcagct gttgggcact gaggacgaac cttcatttgt caatcatctc 1380
ttttggagca acgcattccc attgtatgga cacaattacg attctgtttt gagagccata 1440
30 gacaagatgg aaaaggatct tcctggattt ttttatgcag gtaaccataa ggggtggactt 1500
tcagtgggaa aagcgatggc ctccggatgc aaggctgcgg aacttgtaat atcctatctg 1560
gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgcgt aa 1602

35 <210> 8
<211> 533
<212> PRT
<213> *Amaranthus tuberculatum*

40 <400> 8

Met Val Ile Gln Ser Ile Thr His Leu Ser Pro Asn Leu Ala Leu Pro
1 5 10 15
Ser Pro Leu Ser Val Ser Thr Lys Asn Tyr Pro Val Ala Val Met Gly
20 25 30
45 Asn Ile Ser Glu Arg Glu Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val Ala Val
35 40 45
Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser
50 55 60
His Gly Leu Ser Val Thr Leu Phe Glu Ala Asn Ser Arg Ala Gly Gly
65 70 75 80
Lys Leu Lys Thr Val Lys Lys Asp Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala
85 90 95
Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ala Glu Val Ser Ser Leu Ile Asp Asp
100 105 110
55 Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn Lys Arg
115 120 125
Tyr Ile Ala Arg Asp Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn Pro Ala
130 135 140
60 Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu Gln Ile
145 150 155 160

	Met	Leu	Glu	Pro	Phe	Leu	Trp	Arg	Lys	His	Asn	Ala	Thr	Glu	Leu	Ser	
					165					170					175		
	Asp	Glu	His	Val	Gln	Glu	Ser	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg	His	Phe	
				180					185					190			
5	Gly	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Val	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala	Gly	Thr	
			195					200					205				
	Cys	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	Tyr	His	Thr	Phe	Pro	Glu	Val	
		210					215					220					
10	Trp	Asn	Ile	Glu	Lys	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Phe	Ala	Gly	Leu	Ile	Gln	
	225					230					235					240	
	Ser	Thr	Leu	Leu	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Glu	Asn	Ala	Ser	Ile	
					245					250					255		
	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	Gln	Gly	Gly	Met	Gln	
				260					265					270			
15	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Met	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Glu	Asp	Glu	Leu	Lys	
			275					280					285				
	Leu	Gln	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Gly	Ile	Pro	
		290					295					300					
20	Ser	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn	Asn	Thr	Ser	Glu	
	305					310					315					320	
	Asp	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Ile	Arg	Asn	Val	
					325					330					335		
	Lys	Glu	Met	Lys	Ile	Met	Lys	Phe	Gly	Asn	Pro	Phe	Ser	Leu	Asp	Phe	
				340					345					350			
25	Ile	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Leu	Ser	Val	Met	Ile	Thr	Ala	Phe	
			355					360					365				
	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ile	
		370					375					380					
30	Pro	Ser	Lys	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu	Phe	
	385					390					395					400	
	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp	Met	Cys	Leu	Phe	
					405					410					415		
	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Lys	Leu	Ala	Asn	Ala	Ser	
				420					425					430			
35	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Gln	Leu	Leu	
			435					440					445				
	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Pro	Ser	Phe	Val	Asn	His	Leu	Phe	Trp	Ser	Asn	
		450					455					460					
40	Ala	Phe	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asn	Tyr	Asp	Ser	Val	Leu	Arg	Ala	Ile	
	465					470				475						480	
	Asp	Lys	Met	Glu	Lys	Asp	Leu	Pro	Gly	Phe	Phe	Tyr	Ala	Gly	Asn	His	
					485					490					495		
	Lys	Gly	Gly	Leu	Ser	Val	Gly	Lys	Ala	Met	Ala	Ser	Gly	Cys	Lys	Ala	
				500					505					510			
45	Ala	Glu	Leu	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Asp	Ser	His	Ile	Tyr	Val	Lys	Met	
			515					520					525				
	Asp	Glu	Lys	Thr	Ala												
				530													
50																	
	<210>	9															
	<211>	1644															
	<212>	ДНК															
	<213>	Arabidopsis thaliana															
55																	
	<400>	9															
	atgggcctga	ttaaaaacgg	taccctttat	tgtcgttttg	ggataagctg	gaattttgcc											60
	gctgtgtttt	tttctactta	tttccgtcac	tgcttttcgac	tggtcagaga	ttttgactct											120
	gaattgttgc	agatagcaat	ggcgtctgga	gcagtagcag	atcatcaaat	tgaagcgggt											180
60	tcaggaaaaa	gagtcgcagt	cgtaggtgca	ggtgtaagt	gacttgcggc	ggcttacaag											240
	ttgaaatcga	ggggtttgaa	tgtgactgtg	tttgaagctg	atggaagagt	aggtgggaag											300

	ttgagaagtg	ttatgcaaaa	tggtttgatt	tgggatgaag	gagcaaacac	catgactgag	360
	gctgagccag	aagttgggag	tttacttgat	gatcttgggc	ttcgtgagaa	acaacaatth	420
	ccaatttcac	agaaaaagcg	gtatattgtg	cggaatggtg	tacctgtgat	gctacctacc	480
	aatccccatag	agctgggtcac	aagtagtggtg	ctctctaccc	aatctaagtt	tcaaattcttg	540
5	ttggaacccat	ttttatggaa	gaaaaagtcc	tcaaaagtct	cagatgcatc	tgctgaagaa	600
	agtgtaaagcg	agttctttca	acgccatttt	ggacaagagg	ttgttgacta	tctcatcgac	660
	ccttttggtg	gtggaacaag	tgctgcggac	cctgattccc	tttcaatgaa	gcattctttc	720
	ccagatctct	ggaatagttt	tggtctctatt	atagtcggtg	caatcagaac	aaagtttgct	780
	gctaaagggtg	gtaaaagtag	agacacaaag	agttctcctg	gcacaaaaaa	gggttcgcgt	840
10	gggtcattct	cttttaaggg	gggaatgcag	attcttcctg	atacgttggtg	caaaagtctc	900
	tcacatgatg	agatcaatth	agactccaag	gtactctctt	tgtcttataa	ttctggatca	960
	agacaggaga	actgggtcatt	atcttggtgtt	tcgcataatg	aaacgcagag	acaaaacccc	1020
	cattatgatg	ctgctcctct	gtgcaatgtg	aaggagatga	aggttatgaa	aggaggacaa	1080
	ccctttcagc	taaaactttct	ccccgagatt	aattacatgc	ccctctcggt	tttaatcacc	1140
15	acattcacaa	aggagaaagt	aaagagacct	cttgaaggct	ttgggggtact	cattccatct	1200
	aaggagcaaa	agcatgggtt	caaaactcta	ggtacacttt	tttcatcaat	gatgtttcca	1260
	gatcggtccc	ctagtgcagt	tcattctatat	acaactttta	ttgggtgggag	taggaaccag	1320
	gaactagcca	aagcttccac	tgacgaatta	aaacaagttg	tgacttctga	ccttcagcga	1380
	ctgttggggg	ttgaaggtga	acccgtgtct	gtcaaccatt	actattggag	gaaagcattc	1440
20	ccgttgatatg	acagcagcta	tgactcagtc	atggaagcaa	ttgacaagat	ggagaatgat	1500
	ctacctgggt	tcttctatgc	aggtaatcat	cgaggggggc	tctctgttgg	gaaatcaata	1560
	gcacaggtt	gcaaagcagc	tgacctgtgtg	atctcatacc	tggagtcttg	ctcaaatagc	1620
	aagaaaccaa	atgacagctt	ataa				1644
25							
	<210> 10						
	<211> 547						
	<212> PRT						
	<213> Arabidopsis thaliana						
30							
	<400> 10						
	Met	Gly	Leu	Ile	Lys	Asn	Gly
	1				5		
							10
	Trp	Asn	Phe	Ala	Ala	Val	Phe
				20			25
35							30
	Arg	Leu	Val	Arg	Asp	Phe	Asp
			35			40	
							45
	Ser	Gly	Ala	Val	Ala	Asp	His
			50			55	
							60
40	Val	Ala	Val	Val	Gly	Ala	Gly
	65				70		75
							80
	Leu	Lys	Ser	Arg	Gly	Leu	Asn
				85			90
							95
	Val	Gly	Gly	Lys	Leu	Arg	Ser
				100			105
45							110
	Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Met	Thr
			115			120	
							125
	Leu	Asp	Asp	Leu	Gly	Leu	Arg
		130				135	
							140
50	Lys	Lys	Arg	Tyr	Ile	Val	Arg
	145				150		155
							160
	Asn	Pro	Ile	Glu	Leu	Val	Thr
				165			170
							175
	Phe	Gln	Ile	Leu	Leu	Glu	Pro
				180			185
55							190
	Val	Ser	Asp	Ala	Ser	Ala	Glu
			195			200	
							205
	His	Phe	Gly	Gln	Glu	Val	Val
		210				215	
							220
60	Gly	Thr	Ser	Ala	Ala	Asp	Pro
	225				230		235
							240

Pro Asp Leu Trp Asn Ser Phe Gly Ser Ile Ile Val Gly Ala Ile Arg
 245 250 255
 Thr Lys Phe Ala Ala Lys Gly Gly Lys Ser Arg Asp Thr Lys Ser Ser
 260 265 270
 5 Pro Gly Thr Lys Lys Gly Ser Arg Gly Ser Phe Ser Phe Lys Gly Gly
 275 280 285
 Met Gln Ile Leu Pro Asp Thr Leu Cys Lys Ser Leu Ser His Asp Glu
 290 295 300
 10 Ile Asn Leu Asp Ser Lys Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Gly Ser
 305 310 315 320
 Arg Gln Glu Asn Trp Ser Leu Ser Cys Val Ser His Asn Glu Thr Gln
 325 330 335
 Arg Gln Asn Pro His Tyr Asp Ala Ala Pro Leu Cys Asn Val Lys Glu
 340 345 350
 15 Met Lys Val Met Lys Gly Gly Gln Pro Phe Gln Leu Asn Phe Leu Pro
 355 360 365
 Glu Ile Asn Tyr Met Pro Leu Ser Val Leu Ile Thr Thr Phe Thr Lys
 370 375 380
 20 Glu Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu Ile Pro Ser
 385 390 395 400
 Lys Glu Gln Lys His Gly Phe Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser
 405 410 415
 Met Met Phe Pro Asp Arg Ser Pro Ser Asp Val His Leu Tyr Thr Thr
 420 425 430
 25 Phe Ile Gly Gly Ser Arg Asn Gln Glu Leu Ala Lys Ala Ser Thr Asp
 435 440 445
 Glu Leu Lys Gln Val Val Thr Ser Asp Leu Gln Arg Leu Leu Gly Val
 450 455 460
 30 Glu Gly Glu Pro Val Ser Val Asn His Tyr Tyr Trp Arg Lys Ala Phe
 465 470 475 480
 Pro Leu Tyr Asp Ser Ser Tyr Asp Ser Val Met Glu Ala Ile Asp Lys
 485 490 495
 Met Glu Asn Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn His Arg Gly
 500 505 510
 35 Gly Leu Ser Val Gly Lys Ser Ile Ala Ser Gly Cys Lys Ala Ala Asp
 515 520 525
 Leu Val Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Cys Ser Asn Asp Lys Lys Pro Asn
 530 535 540
 Asp Ser Leu
 40 545

<210> 11

<211> 1647

45 <212> ДНК

<213> Nicotiana tabacum

<400> 11

atgacaacaa ctcccatcgc caatcatcct aatatttttca ctcaccagtc gtcgtcatcg 60
 50 ccattggcat tcttaaaccg tacgagtttc atccctttct cttcaatctc caagcgcaat 120
 agtgtcaatt gcaatggctg gagaacacga tgctccgttg ccaaagatta cacagttcct 180
 tcctcagcgg tcgacggcgg acccgccgcg gagctggact gtgttatagt tggagcagga 240
 attagtggcc tctgcattgc gcaggtgatg tccgctaatt accccaattt gatggtaacc 300
 gaggcgagag atcgtgccgg tggcaacata acgactgtgg aaagagacgg ctatttgtgg 360
 55 gaagaaggtc ccaacagttt ccagccgtcc gatcctatgt tgactatggc agtagattgt 420
 ggattgaagg atgatttggg gttgggagat cctaattgcgc cccgtttcgt tttgtggaag 480
 ggtaaattaa ggcccgtccc ctcaaaactc actgatcttc ccttttttga tttgatgagc 540
 attcctggca agttgagagc tggtttttgg gccattggcc tccgcccttc acctccaggt 600
 catgaggaat cagttgagca gttcgtgcgt cgtaatcttg gtggcgaagt ctttgaacgc 660
 60 ttgatagaac cattttgttc tgggtgttat gctggtgatc cctcaaaact gagtatgaaa 720
 gcagcatttg ggaaagttag gaagttggaa gaaactggtg gtagcattat tggaggaacc 780

```

      tttaaagcaa taaaggagag atccagtaca cctaaagcgc cccgcgatcc gcggtttacct 840
      aaacccaaaag gacagacagt tggatcattc aggaagggtc tcagaatgct gccggatgca 900
      atcagtgcaa gattgggaag caaattaaaa ctatcatgga agctttctag cattactaag 960
      tcagaaaaaag gaggatatca cttgacatac gagacaccag aaggagtagt ttctcttcaa 1020
5      agtcgaagca ttgtcatgac tgtgccatcc tatgtagcaa gcaacatatt acgtcctctt 1080
      tcggttgccg cagcagatgc actttcaaat ttctactatc cccagttgg agcagtcaca 1140
      atttcataat ctcaagaagc tattcgtgat gagcgtcttg ttgatggtga actaaaggga 1200
      tttgggcagt tgcattccacg tacacaggga gtggaaacac taggaacgat atatagttca 1260
      tcactcttcc ctaaccgtgc cccaaaaggt cgggtgctac tcttgaacta cattggagga 1320
10      gcaaaaaaat ctgaaatttt gtctaagacg gagagccaac ttgtggaagt agttgatcgt 1380
      gacctcagaa aaatgcttat aaaacccaaa gctcaagatc ctcttggtgt ggggtgtcga 1440
      gtatggccac aagctatccc acagtttttg gttggtcatc tggatacgct aagtactgca 1500
      aaagctgcta tgaatgataa tgggcttgaa gggctgtttc ttgggggtaa ttatgtgtca 1560
      ggtgtagcat tggggaggtg tgttgaaggt gcttatgaag ttgcatccga ggtaacagga 1620
15      tttctgtctc ggtatgcata caaatga 1647

```

<210> 12

<211> 548

<212> PRT

20 <213> Nicotiana tabacum

<400> 12

```

25      Met Thr Thr Thr Pro Ile Ala Asn His Pro Asn Ile Phe Thr His Gln
      1      5      10      15
      Ser Ser Ser Ser Pro Leu Ala Phe Leu Asn Arg Thr Ser Phe Ile Pro
      20      25      30
      Phe Ser Ser Ile Ser Lys Arg Asn Ser Val Asn Cys Asn Gly Trp Arg
      35      40      45
30      Thr Arg Cys Ser Val Ala Lys Asp Tyr Thr Val Pro Ser Ser Ala Val
      50      55      60
      Asp Gly Gly Pro Ala Ala Glu Leu Asp Cys Val Ile Val Gly Ala Gly
      65      70      75      80
      Ile Ser Gly Leu Cys Ile Ala Gln Val Met Ser Ala Asn Tyr Pro Asn
35      85      90      95
      Leu Met Val Thr Glu Ala Arg Asp Arg Ala Gly Gly Asn Ile Thr Thr
      100      105      110
      Val Glu Arg Asp Gly Tyr Leu Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln
      115      120      125
40      Pro Ser Asp Pro Met Leu Thr Met Ala Val Asp Cys Gly Leu Lys Asp
      130      135      140
      Asp Leu Val Leu Gly Asp Pro Asn Ala Pro Arg Phe Val Leu Trp Lys
      145      150      155      160
      Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Leu Thr Asp Leu Pro Phe Phe
45      165      170      175
      Asp Leu Met Ser Ile Pro Gly Lys Leu Arg Ala Gly Phe Gly Ala Ile
      180      185      190
      Gly Leu Arg Pro Ser Pro Pro Gly His Glu Glu Ser Val Glu Gln Phe
      195      200      205
50      Val Arg Arg Asn Leu Gly Gly Glu Val Phe Glu Arg Leu Ile Glu Pro
      210      215      220
      Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Lys
      225      230      235      240
      Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Lys Leu Glu Glu Thr Gly Gly Ser Ile
45      245      250      255
      Ile Gly Gly Thr Phe Lys Ala Ile Lys Glu Arg Ser Ser Thr Pro Lys
      260      265      270
      Ala Pro Arg Asp Pro Arg Leu Pro Lys Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly
      275      280      285
60      Ser Phe Arg Lys Gly Leu Arg Met Leu Pro Asp Ala Ile Ser Ala Arg
      290      295      300

```

	Leu	Gly	Ser	Lys	Leu	Lys	Leu	Ser	Trp	Lys	Leu	Ser	Ser	Ile	Thr	Lys
	305					310				315						320
	Ser	Glu	Lys	Gly	Gly	Tyr	His	Leu	Thr	Tyr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Val
				325						330					335	
5	Val	Ser	Leu	Gln	Ser	Arg	Ser	Ile	Val	Met	Thr	Val	Pro	Ser	Tyr	Val
				340					345					350		
	Ala	Ser	Asn	Ile	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser	Val	Ala	Ala	Ala	Asp	Ala	Leu
			355					360					365			
10	Ser	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Gly	Ala	Val	Thr	Ile	Ser	Tyr	Pro
		370					375					380				
	Gln	Glu	Ala	Ile	Arg	Asp	Glu	Arg	Leu	Val	Asp	Gly	Glu	Leu	Lys	Gly
						390					395					400
	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Thr	Gln	Gly	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Thr
					405					410					415	
15	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	Lys	Gly	Arg	Val
				420					425					430		
	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ala	Lys	Asn	Pro	Glu	Ile	Leu	Ser
			435					440					445			
20	Lys	Thr	Glu	Ser	Gln	Leu	Val	Glu	Val	Val	Asp	Arg	Asp	Leu	Arg	Lys
		450					455					460				
	Met	Leu	Ile	Lys	Pro	Lys	Ala	Gln	Asp	Pro	Leu	Val	Val	Gly	Val	Arg
						470					475					480
	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Val	Gly	His	Leu	Asp	Thr
					485					490					495	
25	Leu	Ser	Thr	Ala	Lys	Ala	Ala	Met	Asn	Asp	Asn	Gly	Leu	Glu	Gly	Leu
				500					505					510		
	Phe	Leu	Gly	Asn	Tyr	Val	Ser	Gly	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Cys	Val	
			515					520				525				
30	Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Val	Ala	Ser	Glu	Val	Thr	Gly	Phe	Leu	Ser	Arg
		530					535					540				
	Tyr	Ala	Tyr	Lys												
	545															
35	<210>	13														
	<211>	1668														
	<212>	ДНК														
	<213>	Cichorium intybus														
40	<400>	13														
	atgacatctc	tcacagacgt	ttgttccctc	aactgttgcc	gtagctgggc	ttcccttccg										60
	ccaccgggtt	ctgggtgggtc	gttgacgtca	aagaatccta	ggtaccta	cacgtatagt										120
	ccggcgcatc	gcaaatgcaa	taggtggagg	ttccgctgct	ctatagccaa	ggattcccca										180
	attactcctc	ccatttcaaa	tgagttcaac	tctcagccat	tggttgactg	tgctcattgtg										240
45	ggcgccggca	ttagcggcct	ttgcattgcg	caggccctag	cgactaaaca	cgccctccgtc										300
	tctccggatg	tgatcgtcac	cgaggcacga	gacagagtcg	ggggtaatat	atcaacgggt										360
	gaaagggatg	gctatctctg	ggaagaaggt	cctaacagct	tccagccatc	tgatgccatg										420
	ctcaccatgg	tggtggatag	tgggttgaag	gatgatttgg	tgttaggtga	cccaacagca										480
	ccccgctttg	tattatgggg	aggtgatttg	aaaccggttc	cttccaaacc	ggctgacctc										540
50	cctttctttg	acctcatgag	ctttcctgga	aaactcagag	ccggttttgg	tgctcttgga										600
	ttccgtcctt	cacctccaga	tcgcgaagaa	tcggttgagg	agtttgttag	acgtaattctt										660
	ggagatgaag	ttttcgaacg	cttgatagaa	cctttttgct	caggtgttta	tgctgggtgat										720
	ccatcaaaac	ttagtatgaa	agcagcattt	gggaaggtct	ggaatctgga	gcaaaatggt										780
	ggtagcattg	ttggtggagc	cttcaaggct	attcaggaca	gaaagaatag	tcaaaagcct										840
55	ccacgggacc	cgaggttacc	gaaaccaaag	ggccaaactg	ttggatcttt	taggaaagga										900
	caagcgatgt	tgccaatgac	aatctcaacg	aggttaggta	gcagagtga	attgtgttgg										960
	aagctcacga	gtatttcaaa	attggagaat	agaggttata	atttgacata	tgaacacca										1020
	caaggatttg	aaagtctgca	gactaaaact	atcgtgatga	ctgttccatc	ctacgtggcg										1080
	agtgacttgt	tgcgctccgct	ttcggttgggt	gcagcagatg	cattgtcaaa	attttattat										1140
60	cctccgggtg	cagctgtatc	aatttcatat	ccaaaagacg	caattcgtgc	tgaccggctg										1200
	attgatggtc	aactcaaagg	ttttgggcaa	ttgcatccac	gaagtcaagg	ggtggaaact										1260

	ttaggtacga	tctacagttc	atctcttttc	cctaaccgag	cgccacctgg	aagggttctg	1320									
	ctcttgaact	acatcggagg	ggctacaaat	cctgaaattc	tatcaaagac	ggagggcgaa	1380									
	attgtggatg	cggtggaccg	ggacctacgg	acgatgctga	taaggcgtga	tgcggaagat	1440									
	ccattgacgt	tgggggtgcg	ggtgtggcct	cgagcaatcc	cgcagtttct	gatcggtcat	1500									
5	tatgacattc	tagattctgc	aaaagctgct	ctgagtagcg	gtggattcca	aggtatgttt	1560									
	cttggtggca	actatgtgtc	tgggtgtggct	ttaggtaaat	gtgtcgaggc	tgcttatgat	1620									
	gttgccgctg	aggtaatgaa	ctttttgtcg	caaggggtgt	acaagtga		1668									
	<210> 14															
10	<211> 555															
	<212> PRT															
	<213> Cichorium															
	<400> 14															
15	Met	Thr	Ser	Leu	Thr	Asp	Val	Cys	Ser	Leu	Asn	Cys	Cys	Arg	Ser	Trp
	1				5					10					15	
	Ser	Ser	Leu	Pro	Pro	Pro	Val	Ser	Gly	Gly	Ser	Leu	Thr	Ser	Lys	Asn
				20					25					30		
20	Pro	Arg	Tyr	Leu	Ile	Thr	Tyr	Ser	Pro	Ala	His	Arg	Lys	Cys	Asn	Arg
			35					40					45			
	Trp	Arg	Phe	Arg	Cys	Ser	Ile	Ala	Lys	Asp	Ser	Pro	Ile	Thr	Pro	Pro
	50						55					60				
	Ile	Ser	Asn	Glu	Phe	Asn	Ser	Gln	Pro	Leu	Leu	Asp	Cys	Val	Ile	Val
25	65					70					75				80	
	Gly	Ala	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu	Cys	Ile	Ala	Gln	Ala	Leu	Ala	Thr	Lys
					85					90					95	
	His	Ala	Ser	Val	Ser	Pro	Asp	Val	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Arg	Asp	Arg
				100					105					110		
30	Val	Gly	Gly	Asn	Ile	Ser	Thr	Val	Glu	Arg	Asp	Gly	Tyr	Leu	Trp	Glu
			115					120					125			
	Glu	Gly	Pro	Asn	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Asp	Ala	Met	Leu	Thr	Met	Val
	130						135					140				
	Val	Asp	Ser	Gly	Leu	Lys	Asp	Asp	Leu	Val	Leu	Gly	Asp	Pro	Thr	Ala
35	145					150					155				160	
	Pro	Arg	Phe	Val	Leu	Trp	Gly	Gly	Asp	Leu	Lys	Pro	Val	Pro	Ser	Lys
				165					170					175		
	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Phe	Pro	Gly	Lys	Leu
				180				185						190		
40	Arg	Ala	Gly	Phe	Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg	Pro	Ser	Pro	Pro	Asp	Arg
			195					200					205			
	Glu	Glu	Ser	Val	Glu	Glu	Phe	Val	Arg	Arg	Asn	Leu	Gly	Asp	Glu	Val
	210						215					220				
	Phe	Glu	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	Gly	Asp
45	225					230					235				240	
	Pro	Ser	Lys	Leu	Ser	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Val	Trp	Asn	Leu
				245						250				255		
	Glu	Gln	Asn	Gly	Gly	Ser	Ile	Val	Gly	Gly	Ala	Phe	Lys	Ala	Ile	Gln
				260					265					270		
50	Asp	Arg	Lys	Asn	Ser	Gln	Lys	Pro	Pro	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Lys
			275					280					285			
	Pro	Lys	Gly	Gln	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Gln	Ala	Met	Leu
	290						295					300				
	Pro	Asn	Ala	Ile	Ser	Thr	Arg	Leu	Gly	Ser	Arg	Val	Lys	Leu	Cys	Trp
55	305					310					315				320	
	Lys	Leu	Thr	Ser	Ile	Ser	Lys	Leu	Glu	Asn	Arg	Gly	Tyr	Asn	Leu	Thr
				325						330				335		
	Tyr	Glu	Thr	Pro	Gln	Gly	Phe	Glu	Ser	Leu	Gln	Thr	Lys	Thr	Ile	Val
				340				345					350			
60	Met	Thr	Val	Pro	Ser	Tyr	Val	Ala	Ser	Asp	Leu	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser
			355					360					365			

Leu Gly Ala Ala Asp Ala Leu Ser Lys Phe Tyr Tyr Pro Pro Val Ala
 370 375 380
 Ala Val Ser Ile Ser Tyr Pro Lys Asp Ala Ile Arg Ala Asp Arg Leu
 385 390 395 400
 5 Ile Asp Gly Gln Leu Lys Gly Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Ser Gln
 405 410 415
 Gly Val Glu Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn
 420 425 430
 10 Arg Ala Pro Pro Gly Arg Val Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ala
 435 440 445
 Thr Asn Pro Glu Ile Leu Ser Lys Thr Glu Gly Glu Ile Val Asp Ala
 450 455 460
 Val Asp Arg Asp Leu Arg Thr Met Leu Ile Arg Arg Asp Ala Glu Asp
 465 470 475 480
 15 Pro Leu Thr Leu Gly Val Arg Val Trp Pro Arg Ala Ile Pro Gln Phe
 485 490 495
 Leu Ile Gly His Tyr Asp Ile Leu Asp Ser Ala Lys Ala Ala Leu Ser
 500 505 510
 20 Ser Gly Gly Phe Gln Gly Met Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly
 515 520 525
 Val Ala Leu Gly Lys Cys Val Glu Ala Ala Tyr Asp Val Ala Ala Glu
 530 535 540
 Val Met Asn Phe Leu Ser Gln Gly Val Tyr Lys
 545 550 555

25

<210> 15

<211> 1689

<212> ДНК

30 <213> Spinacia oleracea

<400> 15

atgagcgcta tggcgttatc gagtacaatg gcccttttcgt tgccgcaatc ttctatgtca 60
 ttatcccatt gtaggcacaa ccgtatcacc atttttgattc catcttcgtc gcttcgaaga 120
 35 cgaggaggaa gctctatccg ctgctctaca atctcaacct ctaattccgc ggctgcagcc 180
 aattaccaga acaaaaacat aggcacaaac ggagttgacg gcggcggagg cggaggaggt 240
 gtgttagact gtgtgattgt aggaggtgga atcagtgacg tttgcattgc acaggctcta 300
 tctactaaat actccaacct ctccacgaat ttcattgtca ccgaggctaa ggatcgagtt 360
 ggcggaaca tcactaccat ggaagctgat gggatattat gggaagaggg tcctaatagc 420
 40 tticagccat ctgatgcagt gctcaccatg gctgttgaca gtggtttgaa agaggaattg 480
 gtgctgggag atcccaattc gcctcgcttt gtgctgtgga atggcaaatt aaggcctgta 540
 ccttccaagc tactgacct ccttttcttt gatctcatga gcttccttg aaagattagg 600
 gctggctctg gtgctcttg cttacgacca tctcctccg ctcagtagga atccgttgaa 660
 caatttgctc gtcgtaatct tggatgatgag gtctttgaac gcttgatcga acctttttgt 720
 45 tcaggtgtgt atgctggtga tccttccaag ttgagtagga aagctgcttt tggcagggtt 780
 tgggtcttgg agcaaaagg tggtagtatc attggtggca cctcaaaac aatccaggaa 840
 agaaaggata atcctaagcc acctcgagac ccgcgcctcc ccaaaccaaa gggccagaca 900
 gttggatcct tcaggaaagg actgagtagt ttgccaaccg ccattttctga aaggcttggc 960
 aacaaagtga aagtatcatg gaccttttct ggtattgcta agtcgtcgaa cggagagtat 1020
 50 aatctgactt atgaaacacc agatggactg gtttccgtta ggacaaaag tgttgtgatg 1080
 actgtcccgt catatgttgc aagtagcctc cttcgtccac tttcagatgt cgccgcagaa 1140
 tctctttcaa aatttcatta tccaccagtt gcagctgtgt cacttttcta tcctaaagaa 1200
 gcaattagat cagagtgtt gattgacggt gaacttaaag gattcgggca attacattcc 1260
 cgagtcgaag gtgtggaaac cttgggaaca atttatagtt catctctttt ccctgggcga 1320
 55 gcaccacctg gtaggacctt gattttgaac tacattggag gtgatactaa ccctggcata 1380
 ttagacaaga cgaaagatga actagctgaa gcagttgaca gggatttgag aagaattctc 1440
 ataaacccta atgcaaaagc tccccgggtt ttgggtgtga gagtatggcc acaagcaatt 1500
 cccaatttt taattggcca ctttgatctg ctcgatgcag caaaagctgc tttgactgat 1560
 ggtggacaca aaggattgtt tcttggtgga aactatgtat caggtgttgc tttgggccga 1620
 60 tgatatagag gtgcttatga atctgcagcc gaggtttag attttctgtc acagtactcg 1680
 gataaatag 1689

<210> 16
 <211> 562
 <212> PRT
 <213> Spinacia

5

<400> 16

	Met	Ser	Ala	Met	Ala	Leu	Ser	Ser	Thr	Met	Ala	Leu	Ser	Leu	Pro	Gln
	1				5					10					15	
10	Ser	Ser	Met	Ser	Leu	Ser	His	Cys	Arg	His	Asn	Arg	Ile	Thr	Ile	Leu
				20					25					30		
	Ile	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Arg	Arg	Arg	Gly	Gly	Ser	Ser	Ile	Arg	Cys
			35					40					45			
15	Ser	Thr	Ile	Ser	Thr	Ser	Asn	Ser	Ala	Ala	Ala	Ala	Asn	Tyr	Gln	Asn
		50					55					60				
	Lys	Asn	Ile	Gly	Thr	Asn	Gly	Val	Asp	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly
	65					70				75					80	
	Val	Leu	Asp	Cys	Val	Ile	Val	Gly	Gly	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu	Cys	Ile
					85				90					95		
20	Ala	Gln	Ala	Leu	Ser	Thr	Lys	Tyr	Ser	Asn	Leu	Ser	Thr	Asn	Phe	Ile
				100					105					110		
	Val	Thr	Glu	Ala	Lys	Asp	Arg	Val	Gly	Gly	Asn	Ile	Thr	Thr	Met	Glu
			115					120					125			
25	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Trp	Glu	Glu	Gly	Pro	Asn	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser
		130					135					140				
	Asp	Ala	Val	Leu	Thr	Met	Ala	Val	Asp	Ser	Gly	Leu	Lys	Glu	Glu	Leu
	145					150					155				160	
	Val	Leu	Gly	Asp	Pro	Asn	Ser	Pro	Arg	Phe	Val	Leu	Trp	Asn	Gly	Lys
					165				170					175		
30	Leu	Arg	Pro	Val	Pro	Ser	Lys	Leu	Thr	Asp	Leu	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu
				180					185					190		
	Met	Ser	Phe	Pro	Gly	Lys	Ile	Arg	Ala	Gly	Leu	Gly	Ala	Leu	Gly	Leu
			195					200					205			
35	Arg	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	His	Glu	Glu	Ser	Val	Glu	Gln	Phe	Val	Arg
		210					215					220				
	Arg	Asn	Leu	Gly	Asp	Glu	Val	Phe	Glu	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys
	225					230					235				240	
	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	Gly	Asp	Pro	Ser	Lys	Leu	Ser	Met	Lys	Ala	Ala
					245				250					255		
40	Phe	Gly	Arg	Val	Trp	Val	Leu	Glu	Gln	Lys	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Gly
				260					265					270		
	Gly	Thr	Leu	Lys	Thr	Ile	Gln	Glu	Arg	Lys	Asp	Asn	Pro	Lys	Pro	Pro
			275					280					285			
45	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Lys	Gly	Gln	Thr	Val	Gly	Ser	Phe
		290					295					300				
	Arg	Lys	Gly	Leu	Ser	Met	Leu	Pro	Thr	Ala	Ile	Ser	Glu	Arg	Leu	Gly
	305					310					315				320	
	Asn	Lys	Val	Lys	Val	Ser	Trp	Thr	Leu	Ser	Gly	Ile	Ala	Lys	Ser	Ser
					325				330					335		
50	Asn	Gly	Glu	Tyr	Asn	Leu	Thr	Tyr	Glu	Thr	Pro	Asp	Gly	Leu	Val	Ser
				340					345					350		
	Val	Arg	Thr	Lys	Ser	Val	Val	Met	Thr	Val	Pro	Ser	Tyr	Val	Ala	Ser
			355					360					365			
55	Ser	Leu	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser	Asp	Val	Ala	Ala	Glu	Ser	Leu	Ser	Lys
		370					375					380				
	Phe	His	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Glu
	385					390					395				400	
	Ala	Ile	Arg	Ser	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp	Gly	Glu	Leu	Lys	Gly	Phe	Gly
					405				410					415		
60	Gln	Leu	His	Ser	Arg	Ser	Gln	Gly	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr
				420				425						430		

	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Gly	Arg	Ala	Pro	Pro	Gly	Arg	Thr	Leu	Ile	
			435					440					445				
	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Asp	Thr	Asn	Pro	Gly	Ile	Leu	Asp	Lys	Thr	
		450				455					460						
5	Lys	Asp	Glu	Leu	Ala	Glu	Ala	Val	Asp	Arg	Asp	Leu	Arg	Arg	Ile	Leu	
	465					470					475				480		
	Ile	Asn	Pro	Asn	Ala	Lys	Ala	Pro	Arg	Val	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Trp	
					485					490					495		
10	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Ile	Gly	His	Phe	Asp	Leu	Leu	Asp	
			500						505					510			
	Ala	Ala	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Asp	Gly	Gly	His	Lys	Gly	Leu	Phe	Leu	
			515					520					525				
	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Ser	Gly	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Cys	Ile	Glu	Gly	
		530					535					540					
15	Ala	Tyr	Glu	Ser	Ala	Ala	Glu	Val	Val	Asp	Phe	Leu	Ser	Gln	Tyr	Ser	
	545					550					555					560	
	Asp	Lys															
20																	
	<210> 17																
	<211> 1596																
	<212> ДНК																
	<213> Spinacia oleracea																
25	<400> 17																
	atg	g	t	a	a	t	a	c	t	a	a	c	t	a	c	t	a
	t	a	c	c	g	t	t	t	c	c	a	g	t	a	t	c	a
	a	c	c	a	a	g	a	a	c	a	c	a	a	c	a	a	c
	t	c	t	g	c	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
30	c	t	a	a	a	a	t	c	g	a	t	a	t	c	g	a	t
	t	t	g	t	a	a	a	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	c	t	c	a	a	a	a	c	t	a	c	a	a	a	a	a	a
	a	g	c	g	a	t	g	a	g	a	g	a	g	a	g	a	g
	c	c	a	a	t	t	t	c	a	c	a	a	a	a	a	a	a
	a	a	t	c	c	a	g	t	t	g	a	a	a	a	a	a	a
35	t	t	g	a	a	c	c	t	t	t	g	a	a	a	a	a	a
	g	a	a	a	g	t	g	t	g	g	a	a	a	a	a	a	a
	g	a	t	c	c	t	t	t	t	g	a	a	a	a	a	a	a
	t	c	g	c	g	g	t	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a
	t	t	c	c	a	a	a	t	a	t	t	c	a	a	a	a	a
	t	c	t	a	a	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
40	c	g	t	g	a	a	t	g	a	a	t	g	a	a	a	a	a
	a	a	a	g	a	t	t	t	g	a	a	t	g	a	a	a	a
	c	a	t	a	t	g	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	c	a	a	t	g	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	a	g	a	t	t	a	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a
45	c	c	c	t	c	t	c	t	g	a	a	a	a	a	a	a	a
	t	t	g	t	g	t	t	c	t	a	a	a	a	a	a	a	a
	t	t	t	c	c	t	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	g	t	t	g	a	a	a	t	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	g	t	t	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
50	t	t	t	a	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	a	t	a	g	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	c	t	g	t	c	t	g	t	g	a	a	a	a	a	a	a	a
	c	t	c	g	a	t	g	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a
	c	t	c	g	a	t	g	a	c	a	a	a	a	a	a	a	a
55	<210> 18																
	<211> 531																
	<212> PRT																
	<213> Spinacia																
60	<400> 18																

	Met	Val	Ile	Leu	Pro	Val	Ser	Gln	Leu	Ser	Thr	Asn	Leu	Gly	Leu	Ser
	1				5					10					15	
	Leu	Val	Ser	Pro	Thr	Lys	Asn	Asn	Pro	Val	Met	Gly	Asn	Val	Ser	Glu
				20					25					30		
5	Arg	Asn	Gln	Val	Asn	Gln	Pro	Ile	Ser	Ala	Lys	Arg	Val	Ala	Val	Val
			35					40					45			
	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Ala	Tyr	Lys	Leu	Lys	Ser	Asn
		50					55					60				
10	Gly	Leu	Asn	Val	Thr	Leu	Phe	Glu	Ala	Asp	Ser	Arg	Ala	Gly	Gly	Lys
	65					70					75					80
	Leu	Lys	Thr	Val	Val	Lys	Asp	Gly	Leu	Ile	Trp	Asp	Glu	Gly	Ala	Asn
					85					90					95	
	Thr	Met	Thr	Glu	Ser	Asp	Glu	Glu	Val	Thr	Ser	Leu	Phe	Asp	Asp	Leu
				100					105					110		
15	Gly	Ile	Arg	Glu	Lys	Leu	Gln	Leu	Pro	Ile	Ser	Gln	Asn	Lys	Arg	Tyr
			115					120					125			
	Ile	Ala	Arg	Asp	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Ser	Asn	Pro	Val	Ala
		130					135					140				
20	Leu	Leu	Lys	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu	Gln	Ile	Met
	145					150					155					160
	Leu	Glu	Pro	Phe	Leu	Trp	Lys	Lys	His	Asn	Gly	Ala	Lys	Val	Ser	Asp
					165					170					175	
	Glu	Asn	Ala	Gln	Glu	Ser	Val	Ala	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg	His	Phe	Gly
				180					185				190			
25	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Leu	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala	Gly	Thr	Ser
			195					200					205			
	Gly	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	Arg	His	Ala	Phe	Pro	Glu	Leu
		210					215					220				
30	Trp	Asn	Ile	Glu	Asn	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Ile	Ser	Gly	Phe	Ile	Gln
	225					230					235					240
	Ser	Lys	Leu	Ser	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Glu	Lys	Gln	Ser	Ser
					245					250					255	
	Asn	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	Gln	Gly	Gly	Met
				260				265					270			
35	Gln	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Ile	Cys	Lys	Glu	Phe	Gly	Glu	Asp	Glu	Leu
			275					280					285			
	Lys	Leu	Gln	Ser	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Ser	His	Asn	Gly	Ser
		290					295					300				
40	Leu	Thr	Ser	Glu	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn	Ser	Thr	Ile
	305					310					315					320
	Gln	Asp	Gln	Pro	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Ile	Asn	Asn
					325					330					335	
	Val	Lys	Glu	Leu	Lys	Ile	Met	Lys	Val	Glu	Asn	Pro	Phe	Ser	Leu	Asp
				340					345					350		
45	Phe	Ile	Pro	Glu	Val	Ser	Cys	Leu	Pro	Leu	Ser	Val	Ile	Ile	Thr	Thr
			355					360					365			
	Phe	Lys	Lys	Thr	Asn	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu
		370					375					380				
50	Val	Pro	Ser	Asn	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu
	385					390					395					400
	Phe	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp	Val	Tyr	Leu
				405						410					415	
	Tyr	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Glu	Leu	Ala	Lys	Ala
				420					425					430		
55	Ser	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Gln	Leu
			435					440					445			
	Leu	Gly	Thr	Glu	Gly	Glu	Pro	Thr	Phe	Val	Asn	His	Phe	Tyr	Trp	Ser
		450					455					460				
60	Lys	Ala	Phe	Pro	Leu	Tyr	Gly	Arg	Asn	Tyr	Asp	Ser	Val	Leu	Arg	Ala
	465					470					475					480

Ile Glu Lys Met Glu Arg Asp Leu Pro Gly Leu Phe Tyr Ala Gly Asn
485 490 495
His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ser Ile Ala Ser Gly Tyr Lys
500 505 510
5 Ala Ala Glu Leu Ala Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Asn Lys Met Thr Glu
515 520 525
Glu Thr Ile
530

10
<210> 19
<211> 1674
<212> ДНК
<213> Solanum tuberosum

15
<400> 19
atgacaacaa cggccgtcgc caaccatcct agcattttca ctcaccgggc gccgctgccg 60
tcgccgtcgt cctcctcctc atcgccgtca tttttatttt taaaccgtac gaatttcatt 120
ccttactttt ccacctccaa gcgcaatagt gtcaattgca atggctggag aacacgatgt 180
20 tccgttgcca aggattatac agttcctccc tcggaagtcg acggtaatca gttcccggag 240
ctggattgtg tggtagttgg agcaggaatt agtggactct gcattgctaa ggtgatttcg 300
gctaattatc ccaatttgat ggtgacggag gcgagggatc gtgccgggtg aaacataacg 360
acggtggaaa gagatggata cttatgggaa gaaggtccta acagtttcca gccttcggat 420
cctatgttga caatggctgt agattgtgga ttgaaggatg atttggtgtt gggagatcct 480
25 gatgcgcctc gctttgtctt gtggaaggat aaactaaggc ctgttcccgg caagctcact 540
gatcttcctt tctttgattt gatgagtatc cctggcaagc tcagagctgg ttttggtgcc 600
attggccttc gcccttcacc tccaggttat gaggaatcag ttgagcagtt cgtgcgtcgt 660
aatcttgggtg cagaagtctt tgaacgtttg attgaacctt tttgttctgg tgtttacgcc 720
ggtgacccct caaaattgat tatgaaagca gcattttgga aagtgtggaa gctagaacaa 780
30 actggtggta gcattattgg gggaaccttt aaagcaatta aggagagatc cagtaaccct 840
aaaccgcctc gtgatccgcg tttaccaaca ccaaaaggac aaactgttg atcatttagg 900
aagggtctga gaatgctgcc ggatgcaatt tgtgaaagac tgggaagcaa agtaaaacta 960
tcatggaagc tttctagcat tacaaagtca gaaaaaggag gatattctctt gacatacgag 1020
acaccagaag gagtagtttc tctgcgaagt cgaagcattg tcatgactgt tccatcctat 1080
35 gtagcaagca acatattacg ccctctttcg gtcgctgcag cagatgcact ttcaagtttc 1140
tactatcccc cagtagcagc agtgacaatt tcatatcctc aagaggctat tcgtgatgag 1200
cgtctggttg atggtgaact aaagggtatt gggcagttgc atccacgttc acagggagtg 1260
gaaacactag gaacaatata tagttcatca ctctttccta accgtgctcc aaatggccgg 1320
gtgctactct tgaactacat tggaggagca acaaatactg aaattgtgtc taagacggag 1380
40 agccaacttg tggaagcagt tgaccgtgac ctcagaaaaa tgcttataaa acccaaagca 1440
caagatccct ttgttacggg tgtgcgagta tggccacaag ctatcccaca gtttttggtc 1500
ggacatctgg atacactagg tactgcaaaa actgctctaa gtgataatgg gcttgacggg 1560
ctattccttg ggggtaatta tgtgtctggt gtagcattgg gaaggtgtgt tgaaggtgct 1620
tatgaaatag catctgaggt aactggattt ctgtctcagt atgcatacaa atga 1674

45
<210> 20
<211> 557
<212> PRT
<213> Solanum tuberosum

50
<400> 20
Met Thr Thr Thr Ala Val Ala Asn His Pro Ser Ile Phe Thr His Arg
1 5 10 15
Ser Pro Leu Pro Ser Pro Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Pro Ser Phe Leu
55 20 25 30
Phe Leu Asn Arg Thr Asn Phe Ile Pro Tyr Phe Ser Thr Ser Lys Arg
35 40 45
Asn Ser Val Asn Cys Asn Gly Trp Arg Thr Arg Cys Ser Val Ala Lys
50 55 60
60 Asp Tyr Thr Val Pro Pro Ser Glu Val Asp Gly Asn Gln Phe Pro Glu
65 70 75 80

	Leu	Asp	Cys	Val	Val	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu	Cys	Ile	Ala	
				85						90					95		
	Lys	Val	Ile	Ser	Ala	Asn	Tyr	Pro	Asn	Leu	Met	Val	Thr	Glu	Ala	Arg	
				100					105					110			
5	Asp	Arg	Ala	Gly	Gly	Asn	Ile	Thr	Thr	Val	Glu	Arg	Asp	Gly	Tyr	Leu	
			115					120					125				
	Trp	Glu	Glu	Gly	Pro	Asn	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Asp	Pro	Met	Leu	Thr	
		130					135					140					
10	Met	Ala	Val	Asp	Cys	Gly	Leu	Lys	Asp	Asp	Leu	Val	Leu	Gly	Asp	Pro	
	145					150					155					160	
	Asp	Ala	Pro	Arg	Phe	Val	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Leu	Arg	Pro	Val	Pro	
				165						170					175		
	Gly	Lys	Leu	Thr	Asp	Leu	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Ile	Pro	Gly	
				180					185					190			
15	Lys	Leu	Arg	Ala	Gly	Phe	Gly	Ala	Ile	Gly	Leu	Arg	Pro	Ser	Pro	Pro	
			195					200					205				
	Gly	Tyr	Glu	Glu	Ser	Val	Glu	Gln	Phe	Val	Arg	Arg	Asn	Leu	Gly	Ala	
		210					215					220					
20	Glu	Val	Phe	Glu	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	
	225					230					235					240	
	Gly	Asp	Pro	Ser	Lys	Leu	Ile	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Val	Trp	
				245						250					255		
	Lys	Leu	Glu	Gln	Thr	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Gly	Gly	Thr	Phe	Lys	Ala	
				260					265					270			
25	Ile	Lys	Glu	Arg	Ser	Ser	Asn	Pro	Lys	Pro	Pro	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	
			275					280					285				
	Pro	Thr	Pro	Lys	Gly	Gln	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Leu	Arg	
		290					295					300					
30	Met	Leu	Pro	Asp	Ala	Ile	Cys	Glu	Arg	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Lys	Leu	
	305					310					315					320	
	Ser	Trp	Lys	Leu	Ser	Ser	Ile	Thr	Lys	Ser	Glu	Lys	Gly	Gly	Tyr	Leu	
				325						330					335		
	Leu	Thr	Tyr	Glu	Thr	Pro	Glu	Gly	Val	Val	Ser	Leu	Arg	Ser	Arg	Ser	
				340					345					350			
35	Ile	Val	Met	Thr	Val	Pro	Ser	Tyr	Val	Ala	Ser	Asn	Ile	Leu	Arg	Pro	
			355					360					365				
	Leu	Ser	Val	Ala	Ala	Ala	Asp	Ala	Leu	Ser	Ser	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	
		370					375					380					
40	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Ile	Ser	Tyr	Pro	Gln	Glu	Ala	Ile	Arg	Asp	Glu	
	385					390					395					400	
	Arg	Leu	Val	Asp	Gly	Glu	Leu	Lys	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	
				405						410					415		
	Ser	Gln	Gly	Val	Glu	Thr	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	
				420					425					430			
45	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	Asn	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	
			435					440					445				
	Gly	Ala	Thr	Asn	Thr	Glu	Ile	Val	Ser	Lys	Thr	Glu	Ser	Gln	Leu	Val	
		450					455					460					
50	Glu	Ala	Val	Asp	Arg	Asp	Leu	Arg	Lys	Met	Leu	Ile	Lys	Pro	Lys	Ala	
	465					470					475					480	
	Gln	Asp	Pro	Phe	Val	Thr	Gly	Val	Arg	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	
				485						490					495		
	Gln	Phe	Leu	Val	Gly	His	Leu	Asp	Thr	Leu	Gly	Thr	Ala	Lys	Thr	Ala	
				500					505					510			
55	Leu	Ser	Asp	Asn	Gly	Leu	Asp	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	
			515					520					525				
	Ser	Gly	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Ile	Ala	
		530					535					540					
60	Ser	Glu	Val	Thr	Gly	Phe	Leu	Ser	Gln	Tyr	Ala	Tyr	Lys				
	545					550					555						

<210> 21
 <211> 1608
 <212> ДНК
 <213> Zea mays

5

<400> 21
 atggtcgcgcg ccacagccac cgccatggcc accgctgcat cgccgctact caacgggacc 60
 cgaataacctg cgcggctccg ccatcgagga ctcagcgtgc gctgcgctgc tgtggcgggc 120
 ggcgcgggcg aggcaccggc atccaccggc gcgcggctgt ccgcggactg cgtcgtggtg 180
 10 ggcgaggga tcagtggcct ctgcaccgcg caggcgctgg ccacgcggca cggcgctcggg 240
 gacgtgcttg tcacggaggc ccgcgcccgc cccggcgga acattaccac cgtcgagcgc 300
 cccgaggaag ggtacctctg ggaggagggt cccaacagct tccagccctc cgaccccggt 360
 ctaccatgg ccgtggacag cggactgaag gatgacttg tttttgggga cccaaacgcg 420
 ccgcgtttcg tgctgtggga ggggaagctg aggcccgctgc catccaagcc cgccgacctc 480
 15 ccgttcttcg atctcatgag catcccaggg aagctcaggg ccggtctagg cgcgcttggc 540
 atccgcccgc ctctccagg ccgcgaagag tcagtggagg agttcgtgcg ccgcaacctc 600
 ggtgctgagg tctttgagcg cctcattgag cttttctgct caggtgtcta tgctggtgat 660
 ccttctaagc tcagcatgaa ggctgcattt gggaaggttt ggcggttgga agaaactgga 720
 ggtagtatta ttggtggaac catcaagaca attcaggaga ggagcaagaa tccaaaacca 780
 20 ccgagggatg cccgccttcc gaagccaaaa gggcagacag ttgcatcttt caggaagggt 840
 cttgccatgc ttccaaatgc cattacatcc agcttggtgta gtaaagtcaa actatcatgg 900
 aaactcacga gcattacaaa atcagatgac aagggatatg ttttgagta tgaaacgcca 960
 gaaggggttg tttcggtgca ggctaaaagt gttatcatga ctattccatc atatgttgct 1020
 agcaacattt tgcgtccact ttcaagcgat gctgcagatg ctctatcaag attctattat 1080
 25 ccaccggttg ctgctgtaac tgtttcgtat ccaaaggaag caattagaaa agaattgctta 1140
 attgatgggg aactccaggg ctttgccag ttgcatccac gtagtcaagg agttgagaca 1200
 ttaggaacaa tatacagttc ctactcttt ccaaatcgctg ctctgacgg taggggtgta 1260
 cttctaaact acataggagg tgctacaaac acaggaattg tttccaagac tgaaagtgag 1320
 ctggtcgaag cagttgaccg tgacctccga aaaatgctta taaattctac agcagtgagc 1380
 30 ctttagtcc ttggtgttcg agtttgccca caagccatac ctcagttcct ggtaggacat 1440
 cttgatcttc tggaagccgc aaaagctgcc ctggaccgag gtggctacga tgggctgttc 1500
 ctaggagggg actatgttgc aggagttgcc ctgggcagat gcgttgaggg cgcgtatgaa 1560
 agtgcctcgc aaatatctga cttcttgacc aagtatgcct acaagtga 1608

35 <210> 22
 <211> 535
 <212> PRT
 <213> Zea mays

40 <400> 22

	Met	Val	Ala	Ala	Thr	Ala	Thr	Ala	Met	Ala	Thr	Ala	Ala	Ser	Pro	Leu
	1			5					10					15		
45	Leu	Asn	Gly	Thr	Arg	Ile	Pro	Ala	Arg	Leu	Arg	His	Arg	Gly	Leu	Ser
			20					25					30			
	Val	Arg	Cys	Ala	Ala	Val	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Glu	Ala	Pro	Ala	Ser
			35					40					45			
	Thr	Gly	Ala	Arg	Leu	Ser	Ala	Asp	Cys	Val	Val	Val	Gly	Gly	Gly	Ile
		50					55					60				
50	Ser	Gly	Leu	Cys	Thr	Ala	Gln	Ala	Leu	Ala	Thr	Arg	His	Gly	Val	Gly
		65				70					75				80	
	Asp	Val	Leu	Val	Thr	Glu	Ala	Arg	Ala	Arg	Pro	Gly	Gly	Asn	Ile	Thr
					85					90					95	
	Thr	Val	Glu	Arg	Pro	Glu	Glu	Gly	Tyr	Leu	Trp	Glu	Glu	Gly	Pro	Asn
55					100				105					110		
	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Asp	Pro	Val	Leu	Thr	Met	Ala	Val	Asp	Ser	Gly
			115					120					125			
	Leu	Lys	Asp	Asp	Leu	Val	Phe	Gly	Asp	Pro	Asn	Ala	Pro	Arg	Phe	Val
		130					135					140				
60	Leu	Trp	Glu	Gly	Lys	Leu	Arg	Pro	Val	Pro	Ser	Lys	Pro	Ala	Asp	Leu
		145				150					155					160

	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Ile	Pro	Gly	Lys	Leu	Arg	Ala	Gly	Leu	
				165						170					175		
	Gly	Ala	Leu	Gly	Ile	Arg	Pro	Pro	Pro	Pro	Gly	Arg	Glu	Glu	Ser	Val	
				180						185					190		
5	Glu	Glu	Phe	Val	Arg	Arg	Asn	Leu	Gly	Ala	Glu	Val	Phe	Glu	Arg	Leu	
			195				200						205				
	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	Gly	Asp	Pro	Ser	Lys	Leu	
		210					215					220					
10	Ser	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Val	Trp	Arg	Leu	Glu	Glu	Thr	Gly	
	225					230					235					240	
	Gly	Ser	Ile	Ile	Gly	Gly	Thr	Ile	Lys	Thr	Ile	Gln	Glu	Arg	Ser	Lys	
					245					250						255	
	Asn	Pro	Lys	Pro	Pro	Arg	Asp	Ala	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Lys	Gly	Gln	
				260					265						270		
15	Thr	Val	Ala	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Leu	Ala	Met	Leu	Pro	Asn	Ala	Ile	
			275					280						285			
	Thr	Ser	Ser	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Lys	Leu	Ser	Trp	Lys	Leu	Thr	Ser	
		290					295					300					
20	Ile	Thr	Lys	Ser	Asp	Asp	Lys	Gly	Tyr	Val	Leu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Pro	
	305					310					315					320	
	Glu	Gly	Val	Val	Ser	Val	Gln	Ala	Lys	Ser	Val	Ile	Met	Thr	Ile	Pro	
					325					330					335		
	Ser	Tyr	Val	Ala	Ser	Asn	Ile	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser	Ser	Asp	Ala	Ala	
				340					345					350			
25	Asp	Ala	Leu	Ser	Arg	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Val	
			355					360					365				
	Ser	Tyr	Pro	Lys	Glu	Ala	Ile	Arg	Lys	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp	Gly	Glu	
		370					375					380					
30	Leu	Gln	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Gly	Val	Glu	Thr	
	385					390					395					400	
	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	Asp	
					405					410					415		
	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ala	Thr	Asn	Thr	Gly	
				420					425					430			
35	Ile	Val	Ser	Lys	Thr	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Glu	Ala	Val	Asp	Arg	Asp	
			435					440						445			
	Leu	Arg	Lys	Met	Leu	Ile	Asn	Ser	Thr	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Val	Leu	
		450					455					460					
40	Gly	Val	Arg	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Val	Gly	His	
	465					470					475					480	
	Leu	Asp	Leu	Leu	Glu	Ala	Ala	Lys	Ala	Ala	Leu	Asp	Arg	Gly	Gly	Tyr	
					485					490					495		
	Asp	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Ala	Gly	Val	Ala	Leu	Gly	
				500					505					510			
45	Arg	Cys	Val	Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Ser	Ala	Ser	Gln	Ile	Ser	Asp	Phe	
			515					520					525				
	Leu	Thr	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Lys										
		530					535										
50																	
	<210> 23																
	<211> 1635																
	<212> ДНК																
	<213> Zea mays																
55																	
	<400> 23																
	atgctcgctt	tgactgcctc	agcctcatcc	gcttcgtccc	atccttatcg	ccacgcctcc											60
	gcgcacactc	gtcgcccccg	ctacgtgcg	gtcctcgcg	tgccgggctc	cgacgacccc											120
	cgtgcagcgc	ccgccagatc	ggtcgccgtc	gtcggcgccg	gggtcagcgg	gctcgcgggc											180
60	gcgtacaggc	tcagacagag	cggcgtgaac	gtaacgggtg	tcgaagcggc	cgacagggcg											240
	ggaggaaga	tacggaccaa	ttccgagggc	gggtttgtct	gggatgaagg	agctaacacc											300

	atgacagaag	gtgaatggga	ggccagtaga	ctgattgatg	atcttgggtct	acaagacaaa	360									
	cagcagtatc	ctaactccca	acacaagcgt	tacattgtca	aagatggagc	accagcactg	420									
	attccttcgg	atccccatttc	gctaatagaaa	agcagtgttc	tttcgacaaa	atcaaagatt	480									
	gcgttatttt	ttgaaccatt	tctctacaag	aaagctaaca	caagaaactc	tggaaaagtg	540									
5	tctgaggagc	acttgagtga	gagtgttggg	agcttctgtg	aacgccactt	tggaaagagaa	600									
	gttgttgact	attttgttga	tccatttgta	gctggaacaa	gtgcaggaga	tccagagtca	660									
	ctatctattc	gtcatgcatt	cccagcattg	tgggaatttg	aaagaaagta	tggttcagtt	720									
	attgttggtg	ccatcttgtc	taagctagca	gctaaagggtg	atccagtaaa	gacaagacat	780									
	gattcatcag	ggaaaagaag	gaatagacga	gtgtcgtttt	catttcatgg	tggaatgcag	840									
10	tcactaataa	atgcacttca	caatgaagtt	ggagatgata	atgtgaagct	tggtagagaa	900									
	gtgttgtcat	tggcatgtac	atttgatgga	gttcctgcac	taggcaggtg	gtcaatttct	960									
	gttgattcga	aggatagcgg	tgacaaggac	cttgctagta	accaaactt	tgatgctggt	1020									
	ataatgacag	ctccattgtc	aaatgtccgg	aggatgaagt	tcaccaaagg	tggagctccg	1080									
	gttgttcttg	actttcttcc	taagatggat	tatctaccac	tatctctcat	ggtgactgct	1140									
15	tttaagaagg	atgatgtcaa	gaaacctctg	gaaggatttg	gggtcttaat	accttacaag	1200									
	gaacagcaaa	aacatggtct	gaaaaccctt	gggactctct	tttcctcaat	gatgttccca	1260									
	gatcgagctc	ctgatgacca	atattttatat	acaacatttg	ttgggggtag	ccacaataga	1320									
	gatcttgctg	gagctccaac	gtctattctg	aaacaacttg	tgacctctga	ccttaaaaaa	1380									
	ctcttggggc	tagaggggca	accaactttt	gtcaagcatg	tatactgggg	aaatgctttt	1440									
20	cctttgtatg	gccatgatta	tagttctgta	ttggaagcta	tagaaaagat	ggagaaaaac	1500									
	cttccagggt	tcttctacgc	aggaaatagc	aaggatgggc	ttgctgttgg	aagtgttata	1560									
	gcttcaggaa	gcaaggctgc	tgaccttgca	atctcatatc	ttgaatctca	caccaagcat	1620									
	aataattcac	attga					1635									
25	<210>	24														
	<211>	544														
	<212>	PRT														
	<213>	Zea mays														
30	<400>	24														
	Met	Leu	Ala	Leu	Thr	Ala	Ser	Ala	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	His	Pro	Tyr
	1				5					10					15	
35	Arg	His	Ala	Ser	Ala	His	Thr	Arg	Arg	Pro	Arg	Leu	Arg	Ala	Val	Leu
				20					25					30		
	Ala	Met	Ala	Gly	Ser	Asp	Asp	Pro	Arg	Ala	Ala	Pro	Ala	Arg	Ser	Val
			35					40					45			
	Ala	Val	Val	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Ala	Tyr	Arg	Leu
			50				55					60				
40	Arg	Gln	Ser	Gly	Val	Asn	Val	Thr	Val	Phe	Glu	Ala	Ala	Asp	Arg	Ala
	65					70					75				80	
	Gly	Gly	Lys	Ile	Arg	Thr	Asn	Ser	Glu	Gly	Gly	Phe	Val	Trp	Asp	Glu
				85						90				95		
	Gly	Ala	Asn	Thr	Met	Thr	Glu	Gly	Glu	Trp	Glu	Ala	Ser	Arg	Leu	Ile
45				100					105					110		
	Asp	Asp	Leu	Gly	Leu	Gln	Asp	Lys	Gln	Gln	Tyr	Pro	Asn	Ser	Gln	His
			115					120					125			
	Lys	Arg	Tyr	Ile	Val	Lys	Asp	Gly	Ala	Pro	Ala	Leu	Ile	Pro	Ser	Asp
			130				135					140				
50	Pro	Ile	Ser	Leu	Met	Lys	Ser	Ser	Val	Leu	Ser	Thr	Lys	Ser	Lys	Ile
	145					150					155				160	
	Ala	Leu	Phe	Phe	Glu	Pro	Phe	Leu	Tyr	Lys	Lys	Ala	Asn	Thr	Arg	Asn
				165					170					175		
	Ser	Gly	Lys	Val	Ser	Glu	Glu	His	Leu	Ser	Glu	Ser	Val	Gly	Ser	Phe
55				180					185					190		
	Cys	Glu	Arg	His	Phe	Gly	Arg	Glu	Val	Val	Asp	Tyr	Phe	Val	Asp	Pro
			195				200					205				
	Phe	Val	Ala	Gly	Thr	Ser	Ala	Gly	Asp	Pro	Glu	Ser	Leu	Ser	Ile	Arg
		210				215					220					
60	His	Ala	Phe	Pro	Ala	Leu	Trp	Asn	Leu	Glu	Arg	Lys	Tyr	Gly	Ser	Val
	225				230					235				240		

	Ile	Val	Gly	Ala	Ile	Leu	Ser	Lys	Leu	Ala	Ala	Lys	Gly	Asp	Pro	Val
				245					250						255	
	Lys	Thr	Arg	His	Asp	Ser	Ser	Gly	Lys	Arg	Arg	Asn	Arg	Arg	Val	Ser
				260				265					270			
5	Phe	Ser	Phe	His	Gly	Gly	Met	Gln	Ser	Leu	Ile	Asn	Ala	Leu	His	Asn
			275				280					285				
	Glu	Val	Gly	Asp	Asp	Asn	Val	Lys	Leu	Gly	Thr	Glu	Val	Leu	Ser	Leu
		290				295					300					
10	Ala	Cys	Thr	Phe	Asp	Gly	Val	Pro	Ala	Leu	Gly	Arg	Trp	Ser	Ile	Ser
	305				310						315					320
	Val	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Gly	Asp	Lys	Asp	Leu	Ala	Ser	Asn	Gln	Thr
				325					330						335	
	Phe	Asp	Ala	Val	Ile	Met	Thr	Ala	Pro	Leu	Ser	Asn	Val	Arg	Arg	Met
				340				345						350		
15	Lys	Phe	Thr	Lys	Gly	Gly	Ala	Pro	Val	Val	Leu	Asp	Phe	Leu	Pro	Lys
			355				360						365			
	Met	Asp	Tyr	Leu	Pro	Leu	Ser	Leu	Met	Val	Thr	Ala	Phe	Lys	Lys	Asp
		370				375						380				
20	Asp	Val	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ile	Pro	Tyr	Lys
	385				390						395					400
	Glu	Gln	Gln	Lys	His	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu	Phe	Ser	Ser
				405					410						415	
	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Asp	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Thr
				420					425					430		
25	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	His	Asn	Arg	Asp	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Thr	Ser
			435				440						445			
	Ile	Leu	Lys	Gln	Leu	Val	Thr	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Gly	Val
		450				455						460				
30	Glu	Gly	Gln	Pro	Thr	Phe	Val	Lys	His	Val	Tyr	Trp	Gly	Asn	Ala	Phe
	465				470					475						480
	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asp	Tyr	Ser	Ser	Val	Leu	Glu	Ala	Ile	Glu	Lys
				485					490					495		
	Met	Glu	Lys	Asn	Leu	Pro	Gly	Phe	Phe	Tyr	Ala	Gly	Asn	Ser	Lys	Asp
				500				505					510			
35	Gly	Leu	Ala	Val	Gly	Ser	Val	Ile	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Ala	Ala	Asp
			515				520						525			
	Leu	Ala	Ile	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser	His	Thr	Lys	His	Asn	Asn	Ser	His
		530				535						540				

40

<210> 25
 <211> 1692
 <212> ДНК
 <213> Chlamydomonas reinhardtii

45

<400> 25

atgatgttga	cccagactcc	tgggaccgcc	acggcttcta	gccggcggtc	gcagatccgc	60
tcggctgcgc	acgtctccgc	caaggtcgcg	cctcggccca	cgccattctc	ggtcgcgagc	120
cccgcgaccg	ctgcgagccc	cgcgaccgcg	gcggcccgcc	gcacactcca	ccgcactgct	180
gcggcgggcca	ctggtgctcc	cacggcgctc	ggagccggcg	tcgccaagac	gctcgacaat	240
gtgtatgacg	tgatcgtggt	cgggtggaggt	ctctcggggc	tggtgaccgg	ccaggccctg	300
gcggctcagc	acaaaattca	gaacttcctt	gttacggagg	ctcgcgagcg	cgtcggcggc	360
aacattacgt	ccatgtcggg	cgatggctac	gtgtggggag	agggcccga	cagcttccag	420
cccaacgata	gcatgctgca	gattgcgggt	gactctggct	gcgagaagga	ccttggtgttc	480
ggtgacccca	cggctccccg	cttcgtgtgg	tgggagggca	agctgcgccc	cgtgccctcg	540
ggcctggacg	ccttcacctt	cgacctcatg	tccatccccg	gcaagatccg	cgccgggctg	600
ggcgccatcg	gcctcatcaa	cggagccatg	ccctccttcg	aggagagtgt	ggagcagttc	660
atccgccgca	acctgggcca	tgaggtgttc	ttccgcctga	tcgagccctt	ctgctccggc	720
gtgtacgcgg	gcgaccctc	caagctgtcc	atgaaggcgg	ccttcaacag	gatctggatt	780
ctggagaaga	acggcggcag	cctgggtggga	ggtgccatca	agctgttcca	ggaacgccag	840
tccaaccg	ccccgccg	ggaccgcgc	ctgccgccca	agcccaaggg	ccagacggtg	900

```

ggctcgttcc gcaagggcct gaagatgctg ccggacgcca ttgagcgcaa catccccgac 960
aagatccgcg tgaactggaa gctgggtgtct ctggggccgcg aggcgggacgg gcggtacggg 1020
ctggtgtacg acacgcccga gggccgtgtc aaggtgtttg cccgcgccgt ggctctgacc 1080
gcgcccagct acgtggtggc ggacctggtc aaggagcagg cgcccgcgcg cgccgaggcc 1140
5 ctggggtcct tcgactaccc gccggtgggc gccgtgacgc tgtcgtaccc gctgagcgcc 1200
gtgcgggagg agcgcaaggc ctcggaaggc tccgtgccgcg gcttcgggtca gctgcaccgcg 1260
cgcacgcagg gcatcaccac tctgggcacc atctacagct ccagcctggt ccccgggccgc 1320
gcgcccaggg gccacatgct gctgctcaac tacatcggcg gcaccaccaa ccgcggcacgc 1380
gtcaaccaga ccaccgagca gctggtggag caggtggaca aggacctgcg caacatggtc 1440
10 atcaagcccg acgcgcccga gcccgtgtg gtgggcgtgc gcgtgtggcc gcgcgccatc 1500
ccgcagttca acctgggcca cctggagcag ctggacaagg cgcgcaaggc gctggacgcg 1560
gcggggctgc agggcggtgca cctggggggc aactacgtca gcggtgtggc cctgggcaag 1620
gtggtggagc acggctacga gtccgcagcc aacctggcca agagcgtgtc caaggccgca 1680
gtcaaggcct aa 1692

```

15

<210> 26

<211> 563

<212> PRT

20 <213> Chlamydomonas

<400> 26

```

Met Met Leu Thr Gln Thr Pro Gly Thr Ala Thr Ala Ser Ser Arg Arg
25 1 5 10 15
Ser Gln Ile Arg Ser Ala Ala His Val Ser Ala Lys Val Ala Pro Arg
20 25 30
Pro Thr Pro Phe Ser Val Ala Ser Pro Ala Thr Ala Ala Ser Pro Ala
35 35 40 45
30 Thr Ala Ala Ala Arg Arg Thr Leu His Arg Thr Ala Ala Ala Ala Thr
50 55 60
Gly Ala Pro Thr Ala Ser Gly Ala Gly Val Ala Lys Thr Leu Asp Asn
65 70 75 80
Val Tyr Asp Val Ile Val Val Gly Gly Gly Leu Ser Gly Leu Val Thr
35 85 90 95
Gly Gln Ala Leu Ala Ala Gln His Lys Ile Gln Asn Phe Leu Val Thr
100 105 110
Glu Ala Arg Glu Arg Val Gly Gly Asn Ile Thr Ser Met Ser Gly Asp
115 120 125
40 Gly Tyr Val Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Asn Asp Ser
130 135 140
Met Leu Gln Ile Ala Val Asp Ser Gly Cys Glu Lys Asp Leu Val Phe
145 150 155 160
Gly Asp Pro Thr Ala Pro Arg Phe Val Trp Trp Glu Gly Lys Leu Arg
45 165 170 175
Pro Val Pro Ser Gly Leu Asp Ala Phe Thr Phe Asp Leu Met Ser Ile
180 185 190
Pro Gly Lys Ile Arg Ala Gly Leu Gly Ala Ile Gly Leu Ile Asn Gly
195 200 205
50 Ala Met Pro Ser Phe Glu Glu Ser Val Glu Gln Phe Ile Arg Arg Asn
210 215 220
Leu Gly Asp Glu Val Phe Phe Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly
225 230 235 240
Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Asn
55 245 250 255
Arg Ile Trp Ile Leu Glu Lys Asn Gly Gly Ser Leu Val Gly Gly Ala
260 265 270
Ile Lys Leu Phe Gln Glu Arg Gln Ser Asn Pro Ala Pro Pro Arg Asp
275 280 285
60 Pro Arg Leu Pro Pro Lys Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg
290 295 300

```


Lys Gly Leu Lys Met Leu Pro Asp Ala Ile Glu Arg Asn Ile Pro Asp
 305 310 315 320
 Lys Ile Arg Val Asn Trp Lys Leu Val Ser Leu Gly Arg Glu Ala Asp
 325 330 335
 5 Gly Arg Tyr Gly Leu Val Tyr Asp Thr Pro Glu Gly Arg Val Lys Val
 340 345 350
 Phe Ala Arg Ala Val Ala Leu Thr Ala Pro Ser Tyr Val Val Ala Asp
 355 360 365
 10 Leu Val Lys Glu Gln Ala Pro Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ser Phe
 370 375 380
 Asp Tyr Pro Pro Val Gly Ala Val Thr Leu Ser Tyr Pro Leu Ser Ala
 385 390 395 400
 Val Arg Glu Glu Arg Lys Ala Ser Asp Gly Ser Val Pro Gly Phe Gly
 405 410 415
 15 Gln Leu His Pro Arg Thr Gln Gly Ile Thr Thr Leu Gly Thr Ile Tyr
 420 425 430
 Ser Ser Ser Leu Phe Pro Gly Arg Ala Pro Glu Gly His Met Leu Leu
 435 440 445
 20 Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Thr Thr Asn Arg Gly Ile Val Asn Gln Thr
 450 455 460
 Thr Glu Gln Leu Val Glu Gln Val Asp Lys Asp Leu Arg Asn Met Val
 465 470 475 480
 Ile Lys Pro Asp Ala Pro Lys Pro Arg Val Val Gly Val Arg Val Trp
 485 490 495
 25 Pro Arg Ala Ile Pro Gln Phe Asn Leu Gly His Leu Glu Gln Leu Asp
 500 505 510
 Lys Ala Arg Lys Ala Leu Asp Ala Gly Leu Gln Gly Val His Leu
 515 520 525
 30 Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly Val Ala Leu Gly Lys Val Val Glu His
 530 535 540
 Gly Tyr Glu Ser Ala Ala Asn Leu Ala Lys Ser Val Ser Lys Ala Ala
 545 550 555 560
 Val Lys Ala

35

<210> 27
 <211> 1734
 <212> ДНК

40 <213> Polytomella sp

<400> 27
 atgtcgaagt cgcactaag gctattatgc gggcgaacaa gtttcttttaa tttatgccaa 60
 aaatatcctc cttcctttct gtcacaattg tcgaccttaa atttctcaac ccattcgcct 120
 45 ttcgatagca cttatgatgt cgtcgtcggt ggtgccggaa tctctgggtt gtctactgcc 180
 caagcactta gcattcaaca taagatcgat aatgttcttg ttactgaagc tgatcatcgt 240
 gtaggcggta aaattacgac gaaaaggaat aaagatttcc tgtgggagga ggggtccaaat 300
 agttgcctaa tgaacgacgc tttatatcgc gctgcccag atgccggcgt ggaatccaaa 360
 attctatcgg cggatccaaa attaccacgt tggattctgt ggggtcgtcg tttgcgtgtg 420
 50 gccccattg gaagctacgc tttaaaatcc gaccttttat ctaccaagg cctactccgt 480
 gccatccgag ggtcacagg ttttggtgtg tcaccggctc cacctaaggg tcaggaggag 540
 agcgtggagg gctttgttcg acggacctta ggagacgaga tttttgagcg actcgttgag 600
 cccttttgct ccgggggtta tgcgggggat cctagcaa atgtccatgcg tgctgctttc 660
 ggaaaacttg tggaattcga agagacgggt gatggtagct tacttcgcgg cgtctttcgt 720
 55 tacgtaatga acaaacgacg cgaaagaagg acgggagggg cgaaagacgg ggacacggtc 780
 ctttgaacg agacggccaa ggcacccaaa tcatcctctg gcccaacagt atcgtctttc 840
 gaggggggaa tcgagatcct gcccaaggcc attgcgcaaa agctgggtga tcgagttcgt 900
 cttggcctac gactcgtgcg catcgatccc acgcagctcg cggatggtac gacagcgtac 960
 cgtctgtcgt accgtcggat gagtcatcaa ggcgatgacg actcgagtcg tacggcaggt 1020
 60 gctgtaccgc gtacggcgga ggggatgtc gcggcggggg acgaggacgc cgtggtggag 1080
 gtggtggcga agaaggtcgt gctgacgacg ccggcattcg acgccgcgga catcttgtcg 1140

```

cgttccggct tgggtggcggc ggcgaacccg ttgaaggagg tggattaccc gccagtagcg 1200
ttggtcggtc tttcgtacga cgtcgactcg atttccgcca tacaccgctg gagtcacgtg 1260
gctcatggcc tcagcggctt tggccaactc caccctcgcc cagaggggtct ccgtagatta 1320
ggaaccattt acggcagtac attatttccc aaccgttccc ccgtagctcg tacgacgctt 1380
5 ttaaatttcg ttggtggatc caccgaccgt gcagtggggt ccgcggtatcc aatggctttg 1440
gcgatggagg tggatctgga tctgaaaaag agcgggttga tccgagaggg agctgcgaag 1500
ccagaagtcc tcggggtgaa agtatatcca aaggctattc ctcagtttga tattgggtcat 1560
ttggatcgag tggaaaaggc caaatgatg ttaaagaacg aaaggggggg tgcagattgg 1620
agtggggtca aattggcggg aaattatgtg tgcggcgtcg cagtgggcag atgcatagaa 1680
10 tttggattcg aaattgcgga gaacttggcg caggaattgg cgagaaaaaa atag 1734

```

```

<210> 28
<211> 577
15 <212> PRT
    <213> Polytomella

```

```

<400> 28

```

```

20 Met Ser Ser Ser Ala Leu Arg Leu Leu Cys Gly Arg Thr Ser Phe Phe
   1          5          10          15
   Asn Leu Cys Gln Lys Tyr Pro Pro Ser Phe Leu Ser Gln Leu Ser Thr
      20          25          30
25 Leu Asn Phe Ser Thr His Ser Pro Phe Asp Ser Thr Tyr Asp Val Val
   35          40          45
   Val Val Gly Ala Gly Ile Ser Gly Leu Ser Thr Ala Gln Ala Leu Ser
      50          55          60
   Ile Gln His Lys Ile Asp Asn Val Leu Val Thr Glu Ala Asp His Arg
      65          70          75          80
30 Val Gly Gly Lys Ile Thr Thr Lys Arg Asn Lys Asp Phe Leu Trp Glu
   85          90          95
   Glu Gly Pro Asn Ser Cys Leu Met Asn Asp Ala Leu Tyr Arg Ala Ala
      100          105          110
   Arg Asp Ala Gly Val Glu Ser Lys Ile Leu Ser Ala Asp Pro Lys Leu
      115          120          125
35 Pro Arg Trp Ile Leu Trp Gly Arg Arg Leu Arg Val Ala Pro Ile Gly
   130          135          140
   Ser Tyr Ala Leu Lys Ser Asp Leu Leu Ser Thr Gln Gly Leu Leu Arg
      145          150          155          160
40 Ala Ile Arg Gly Val Thr Gly Phe Gly Val Ser Pro Ala Pro Pro Lys
   165          170          175
   Gly Gln Glu Glu Ser Val Glu Gly Phe Val Arg Arg Thr Leu Gly Asp
      180          185          190
   Glu Ile Phe Glu Arg Leu Val Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala
      195          200          205
45 Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Arg Ala Ala Phe Gly Lys Leu Val
   210          215          220
   Glu Phe Glu Glu Thr Gly Asp Gly Ser Leu Leu Arg Gly Val Phe Arg
      225          230          235          240
50 Tyr Val Met Asn Lys Arg Arg Glu Arg Arg Thr Gly Gly Ala Lys Asp
   245          250          255
   Gly Asp Thr Val Pro Leu Asn Glu Thr Ala Lys Ala Pro Lys Ser Ser
      260          265          270
   Ser Gly Pro Thr Val Ser Ser Phe Glu Gly Gly Ile Glu Ile Leu Pro
      275          280          285
55 Lys Ala Ile Ala Gln Lys Leu Gly Asp Arg Val Arg Leu Gly Leu Arg
   290          295          300
   Leu Val Arg Ile Asp Pro Thr Gln Leu Ala Asp Gly Thr Thr Ala Tyr
      305          310          315          320
60 Arg Leu Ser Tyr Arg Arg Met Ser His Gln Gly Asp Asp Asp Ser Ser
   325          330          335

```

Arg Thr Ala Gly Ala Val Pro Arg Thr Ala Glu Gly Asp Val Ala Ala
340 345 350
Gly Asp Glu Asp Ala Val Val Glu Val Val Ala Lys Lys Val Val Leu
355 360 365
5 Thr Thr Pro Ala Phe Asp Ala Ala Asp Ile Leu Ser Arg Ser Gly Leu
370 375 380
Val Ala Ala Ala Asn Pro Leu Lys Glu Val Asp Tyr Pro Pro Val Ala
385 390 395 400
10 Leu Val Val Leu Ser Tyr Asp Val Asp Ser Ile Ser Ala Ile His Arg
405 410 415
Val Ser His Val Ala His Gly Leu Ser Gly Phe Gly Gln Leu His Pro
420 425 430
Arg Pro Glu Gly Leu Arg Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Gly Ser Thr Leu
435 440 445
15 Phe Pro Asn Arg Ser Pro Val Ala Arg Thr Thr Leu Leu Asn Phe Val
450 455 460
Gly Gly Ser Thr Asp Arg Ala Val Gly Ser Ala Asp Pro Met Ala Leu
465 470 475 480
Ala Met Glu Val Asp Leu Asp Leu Lys Lys Ser Gly Leu Ile Arg Glu
485 490 495
20 Gly Ala Ala Lys Pro Glu Val Leu Gly Val Lys Val Tyr Pro Lys Ala
500 505 510
Ile Pro Gln Phe Asp Ile Gly His Leu Asp Arg Val Glu Lys Ala Lys
515 520 525
25 Met Met Leu Lys Asn Glu Arg Gly Gly Ala Asp Trp Ser Gly Val Lys
530 535 540
Leu Ala Gly Asn Tyr Val Cys Gly Val Ala Val Gly Arg Cys Ile Glu
545 550 555 560
30 Phe Gly Phe Glu Ile Ala Glu Asn Leu Ala Gln Glu Leu Ala Arg Lys
565 570 575
Lys

35 <210> 29
<211> 1635
<212> ДНК
<213> Sorghum bicolor

40 <400> 29
atgctcgtc ggactgccac ggtctcctcc acttcgtccc actcccatcc ttatcgcccc 60
acctccgtc gcagtctccg cctacgtccg gtcctcgcga tggcgggctc cgacgactcc 120
cgcgagctc ccgccaggtc ggtcgccgtc gtcggcgccg gggtcagcgg gctcgtggcg 180
gcgtacaggc tcaggaagag cggcgtgaat gtgacgggtg tcgaggcggc cgacagggcg 240
45 ggaggaaaga tacggaccaa ttccgagggc gggtttctct gggatgaagg agcgaacacc 300
atgacagaag gtgaattgga ggccagtaga ctgatagatg atctcggctc acaagacaaa 360
cagcagtatc ctaactccca acacaagcgt tacattgtca aagatggagc accagcactg 420
attccttcgg atcccatttc gctgatgaaa agcagtgttc tttctacaaa atcaaagatt 480
gcgttatatt ttgaaccatt tctctacaag aaagctaaca caagaaaccc tggaaaagta 540
50 tctgatgagc atttgagtga gagtgttggg agcttctttg aacgccactt cggaagagaa 600
gttgttgact atcttattga tccatttgta gctggaacaa gtgcaggaga tccagagtca 660
ctatctatatt gtcatgcatt cccagcactg tgggaatttg aaagaaaata tggttcagtt 720
gttgttggtg ccatcttggtc taagctaaca gctaaagggtg atccagtaaa gacaagacgt 780
gattcatcag cgaagaagaag gaatagacgc gtgtcgtttt catttcatgg tggaatgcag 840
55 tactaataaa atgcacttca caatgaagtt ggagatgata atgtgaagct tggtagagaa 900
gtgttgatcat tggcgtgtac attagatgga gcccctgcac caggcgggtg gtcaatttct 960
gatgattcga aggatgctag tggcaaggac cttgctaata accaaacctt tgatgctgtt 1020
ataatgacag ctccattgtc aaatgtccag aggatgaagt tcacaaaagg tggagctcct 1080
tttgttctag actttcttcc taaggtggat tatctaccac tatctctcat ggtgactgct 1140
60 ttttaagaagg aagatgtcaa gaaacctctg gaaggatttg gcgtcttaac accctacaag 1200
gaacagcaaa aacatgggtc aaaaacctt gggactctct tctcctcaat gatgttccca 1260

```

gatcgagctc ctgacgacca atatttatat acaacatttg ttgggggtag ccacaataga 1320
gatcttgctg gagctccaac gtctattctg aaacaacttg tgacctctga ccttaaaaaa 1380
ctcttaggcg tacaggggca accaactttt gtcaagcata tatactgggg aaatgctttt 1440
cctttgtatg gtcattgatta caattctgta ttggaagcta tagaaaagat ggagaaaaat 1500
5 cttccagggt tcttctacgc aggaaataac aaggatgggc ttgctgttg gagtggtata 1560
gcttcaggaa gcaaggctgc tgaccttgca atctcgtatc ttgaatctca caccaagcat 1620
aataatttac attga 1635

10 <210> 30
    <211> 544
    <212> PRT
    <213> Sorghum

15 <400> 30
    Met Leu Ala Arg Thr Ala Thr Val Ser Ser Thr Ser Ser His Ser His
    1 5 10 15
    Pro Tyr Arg Pro Thr Ser Ala Arg Ser Leu Arg Leu Arg Pro Val Leu
    20 25 30
    Ala Met Ala Gly Ser Asp Asp Ser Arg Ala Ala Pro Ala Arg Ser Val
    25 35 40 45
    Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Val Ala Ala Tyr Arg Leu
    50 55 60
    Arg Lys Ser Gly Val Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Ala Asp Arg Ala
    25 65 70 75 80
    Gly Gly Lys Ile Arg Thr Asn Ser Glu Gly Gly Phe Leu Trp Asp Glu
    85 90 95
    Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Gly Glu Leu Glu Ala Ser Arg Leu Ile
    100 105 110
    30 Asp Asp Leu Gly Leu Gln Asp Lys Gln Gln Tyr Pro Asn Ser Gln His
    115 120 125
    Lys Arg Tyr Ile Val Lys Asp Gly Ala Pro Ala Leu Ile Pro Ser Asp
    130 135 140
    Pro Ile Ser Leu Met Lys Ser Ser Val Leu Ser Thr Lys Ser Lys Ile
    35 145 150 155 160
    Ala Leu Phe Phe Glu Pro Phe Leu Tyr Lys Lys Ala Asn Thr Arg Asn
    165 170 175
    Pro Gly Lys Val Ser Asp Glu His Leu Ser Glu Ser Val Gly Ser Phe
    180 185 190
    40 Phe Glu Arg His Phe Gly Arg Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro
    195 200 205
    Phe Val Ala Gly Thr Ser Ala Gly Asp Pro Glu Ser Leu Ser Ile Cys
    210 215 220
    His Ala Phe Pro Ala Leu Trp Asn Leu Glu Arg Lys Tyr Gly Ser Val
    45 225 230 235 240
    Val Val Gly Ala Ile Leu Ser Lys Leu Thr Ala Lys Gly Asp Pro Val
    245 250 255
    Lys Thr Arg Arg Asp Ser Ser Ala Lys Arg Arg Asn Arg Arg Val Ser
    260 265 270
    50 Phe Ser Phe His Gly Gly Met Gln Ser Leu Ile Asn Ala Leu His Asn
    275 280 285
    Glu Val Gly Asp Asp Asn Val Lys Leu Gly Thr Glu Val Leu Ser Leu
    290 295 300
    Ala Cys Thr Leu Asp Gly Ala Pro Ala Pro Gly Gly Trp Ser Ile Ser
    55 305 310 315 320
    Asp Asp Ser Lys Asp Ala Ser Gly Lys Asp Leu Ala Lys Asn Gln Thr
    325 330 335
    Phe Asp Ala Val Ile Met Thr Ala Pro Leu Ser Asn Val Gln Arg Met
    340 345 350
    60 Lys Phe Thr Lys Gly Gly Ala Pro Phe Val Leu Asp Phe Leu Pro Lys
    355 360 365

```

	Val	Asp	Tyr	Leu	Pro	Leu	Ser	Leu	Met	Val	Thr	Ala	Phe	Lys	Lys	Glu	
	370						375					380					
	Asp	Val	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe	Gly	Val	Leu	Ile	Pro	Tyr	Lys	
	385					390					395					400	
5	Glu	Gln	Gln	Lys	His	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu	Gly	Thr	Leu	Phe	Ser	Ser	
					405					410					415		
	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Asp	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Thr	
				420					425					430			
10	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	His	Asn	Arg	Asp	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Thr	Ser	
			435					440					445				
	Ile	Leu	Lys	Gln	Leu	Val	Thr	Ser	Asp	Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Gly	Val	
	450						455					460					
	Gln	Gly	Gln	Pro	Thr	Phe	Val	Lys	His	Ile	Tyr	Trp	Gly	Asn	Ala	Phe	
	465					470					475					480	
15	Pro	Leu	Tyr	Gly	His	Asp	Tyr	Asn	Ser	Val	Leu	Glu	Ala	Ile	Glu	Lys	
					485					490					495		
	Met	Glu	Lys	Asn	Leu	Pro	Gly	Phe	Phe	Tyr	Ala	Gly	Asn	Asn	Lys	Asp	
				500					505					510			
20	Gly	Leu	Ala	Val	Gly	Ser	Val	Ile	Ala	Ser	Gly	Ser	Lys	Ala	Ala	Asp	
			515					520				525					
	Leu	Ala	Ile	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser	His	Thr	Lys	His	Asn	Asn	Leu	His	
	530						535					540					
25	<210>	31															
	<211>	1017															
	<212>	ДНК															
	<213>	Chlorella sp															
30	<400>	31															
	atggcctcca	cagcaacact	gcacggcgcg	ccctgctgct	cggcgcggcc	cgtgggcgcg										60	
	cggcataattg	cagcaccgag	catccagcac	aatgggcccgc	gcctggcggc	caggggtgcag										120	
	cagcgggaagg	gggcagggga	gcggcgctcg	gcactgcgtg	tgcaggccgt	ccaggcccct										180	
	cccgagaagg	cgggggcgag	cacagggagc	gcagcagacg	acagcggcgt	ttacgacgtt										240	
35	gtggtcgtgg	gcgccggcat	ctccggcctc	accaccgccc	aggcgctgac	cacgcagcac										300	
	agcggcgctgg	cgcggcgggt	gctggtgacc	gagggccgcg	accgcgtggg	cggcaacatc										360	
	acctccgtgt	ccaacaagga	ggaggggctg	ctgtgggagg	aggggcccaa	ctccttccag										420	
	ccaaacgact	ccatcctgca	ggccgcggtg	gacgccggcg	tggcggacca	gctggtactg										480	
	ggcgacccca	cggcgcgcg	ttttgtgtac	tgggacaaga	agctgcgccc	cacgccctcc										540	
40	ggccccgacg	cgctcacgtt	cgacctgatg	agcatcgtgg	gcaagatccg	ggcggggctg										600	
	ggcgcgctgg	gcttcaaggc	gcccattgcca	gactatgagg	agagcgtgga	gcagtatgtg										660	
	cggcgcaacc	tggggggcca	ggtgttttag	cgctgatcgc	agcccttctg	cagcggcgctg										720	
	tacgccggcg	accccaagaa	gctgtccatg	aaggcggcct	ttggcaaggt	gtacgacctg										780	
	gagaagaagg	gcggcagcat	cgtgggcggc	gtgatcaagc	tgattcagga	gcggcgcgcc										840	
45	aaccgcgcgc	cgccgcgcag	cccagcgctg	ccgcccaagc	ccgcggggcca	gacgggtgggc										900	
	tccttccgct	cggcctgcg	cacgtgcgcg	gatgccatgg	cggcgcggct	gggagacgcg										960	
	gtgcgcacca	gctggcagct	caaggagctc	agcaaggaag	gggaggccta	caagtga										1017	
50	<210>	32															
	<211>	338															
	<212>	PRT															
	<213>	Chlorella															
55	<400>	32															
	Met	Ala	Ser	Thr	Ala	Thr	Leu	His	Gly	Ala	Pro	Cys	Cys	Ser	Ala	Arg	
	1				5					10					15		
	Pro	Val	Gly	Arg	Arg	His	Ile	Ala	Ala	Pro	Ser	Ile	Gln	His	Asn	Gly	
				20					25					30			
60	Pro	Arg	Leu	Ala	Ala	Arg	Val	Gln	Gln	Arg	Lys	Gly	Ala	Gly	Glu	Arg	
			35					40					45				

	Arg	Ser	Ala	Leu	Arg	Val	Gln	Ala	Val	Gln	Ala	Pro	Pro	Glu	Lys	Ala
	50						55					60				
	Gly	Ala	Ser	Thr	Gly	Ser	Ala	Ala	Asp	Asp	Ser	Gly	Val	Tyr	Asp	Val
	65					70				75					80	
5	Val	Val	Val	Gly	Ala	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu	Thr	Thr	Ala	Gln	Ala	Leu
					85					90					95	
	Thr	Thr	Gln	His	Ser	Gly	Val	Ala	Arg	Arg	Val	Leu	Val	Thr	Glu	Gly
				100					105					110		
	Arg	Asp	Arg	Val	Gly	Gly	Asn	Ile	Thr	Ser	Val	Ser	Asn	Lys	Glu	Glu
10				115				120					125			
	Gly	Leu	Leu	Trp	Glu	Glu	Gly	Pro	Asn	Ser	Phe	Gln	Pro	Asn	Asp	Ser
		130					135					140				
	Ile	Leu	Gln	Ala	Ala	Val	Asp	Ala	Gly	Val	Ala	Asp	Gln	Leu	Val	Leu
	145					150					155					160
15	Gly	Asp	Pro	Thr	Ala	Pro	Arg	Phe	Val	Tyr	Trp	Asp	Lys	Lys	Leu	Arg
					165					170					175	
	Pro	Thr	Pro	Ser	Gly	Pro	Asp	Ala	Leu	Thr	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Ile
				180					185					190		
	Val	Gly	Lys	Ile	Arg	Ala	Gly	Leu	Gly	Ala	Leu	Gly	Phe	Lys	Ala	Pro
20			195					200					205			
	Met	Pro	Asp	Tyr	Glu	Glu	Ser	Val	Glu	Gln	Tyr	Val	Arg	Arg	Asn	Leu
		210					215					220				
	Gly	Ala	Glu	Val	Phe	Glu	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val
	225					230					235					240
25	Tyr	Ala	Gly	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu	Ser	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys
					245					250					255	
	Val	Tyr	Asp	Leu	Glu	Lys	Lys	Gly	Gly	Ser	Ile	Val	Gly	Gly	Val	Ile
				260					265						270	
	Lys	Leu	Ile	Gln	Glu	Arg	Arg	Ala	Asn	Pro	Pro	Pro	Pro	Arg	Ser	Pro
30				275				280						285		
	Ala	Leu	Pro	Pro	Lys	Pro	Ala	Gly	Gln	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Ser
		290					295					300				
	Gly	Leu	Arg	Thr	Leu	Pro	Asp	Ala	Met	Ala	Ala	Arg	Leu	Gly	Asp	Ala
	305					310				315						320
35	Val	Arg	Thr	Ser	Trp	Gln	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Glu	Gly	Glu	Ala
					325					330					335	
	Tyr	Lys														

40

<210> 33
 <211> 1611
 <212> ДНК
 <213> Oryza sativa

45

	<400>	33	
	atggccgccc	ccgcccgcagc	catggccacc gccacctccg ccacggcagc gccgcccgtc 60
	cgcattcgcg	acgccgcgag	gaggaccgcg cgacgcggcc acgttcgctg cgccgtcgcc 120
	agcggcgccg	ccgaggcgcc	cgcggcgccc ggggcgcggg tgtcggcgga ctgcgtcgctg 180
50	gtgggcggcg	gcatcagcgg	gctctgcacc gcgcaggcgc tggccacaaa gcacggcgctc 240
	ggcgacgtgc	tcgtcacgga	ggcccgcgcc cgccccggcg gcaacatcac caccgcgcgag 300
	cgcgccggcg	agggctacct	ctgggaggag gggcccaaca gttccagcc ttccgacccc 360
	gtcctcacca	tggccgtgga	cagcgggctc aaggacgatc tcgtgttcgg ggaccccaac 420
	gcgcgcgggt	tcgtgctgtg	ggaggggaag ctaaggccgg tgccgtccaa gcccggcgac 480
55	ctgccgttct	tcgacctcat	gagcatcccc ggcaagctca gggccggcct tggcgcgctc 540
	ggcgttcgag	cgccacctcc	agggcgtgag gagtcgggtg aggacttcgt gcggcgcaac 600
	ctcggcgccg	aggtctttga	gcgcctcatt gagcctttct gctcaggtgt gtatgctggt 660
	gatccttcaa	agctcagtat	gaaggctgca tttgggaagg tgtggaggct ggaggatact 720
	ggaggtagca	ttattggtgg	aaccatcaaa acaatccagg agagggggaa aaaccccaaa 780
60	ccgccgaggg	atccccgcct	tccaacgcc aaggggcaga cagttgcatt tttcaggaag 840
	ggtctgacta	tgctcccgga	tgctattaca tctaggttgg gtagcaaagt caaactttca 900

```

    tggaagttga caagcattac aaagtcagac aacaaaggat atgcattagt gtatgaaaca    960
    ccagaagggg tggctctcggg gcaagctaaa actgttggtca tgaccatccc atcatatggt    1020
    gctagtgata tcttgcgggc actttcaagt gatgcagcag atgctctgtc aatattctat    1080
    tatccaccag ttgctgctgt aactgtttca tatccaaaag aagcaattag aaaagaatgc    1140
5   ttaattgacg gagagctcca gggtttcggc cagctgcata cgcgtagtca gggagttgag    1200
    actttaggaa caatatatag ctcatcactc tttccaaatc gtgctccagc tggaaggggtg    1260
    ttacttctga actacatagg aggttctaca aatacaggga ttgtttccaa gactgaaagt    1320
    gagctggtag aagcagttga ccgtgacctc aggaagatgc tgataaatcc taaagcagtg    1380
    gaccctttgg tccttggcgt ccgggtatgg ccacaagcca taccacagtt cctcattggc    1440
10  catcttgatc atcttgaggc tgcaaaatct gccctgggca aaggtgggta tgatggattg    1500
    ttctcggag ggaactatgt tgcaggagtt gccctgggca gatgcgttga aggtgcatat    1560
    gagagtgcct cacaaatatc tgactacttg accaagtacg cctacaagtg a    1611

```

```

15  <210> 34
    <211> 536
    <212> PRT
    <213> Oryza sativa

```

```

20  <400> 34

```

```

Met Ala Ala Ala Ala Ala Ala Met Ala Thr Ala Thr Ser Ala Thr Ala
1      5      10      15
Ala Pro Pro Leu Arg Ile Arg Asp Ala Arg Arg Thr Arg Arg Arg
25      20      25      30
Gly His Val Arg Cys Ala Val Ala Ser Gly Ala Ala Glu Ala Pro Ala
      35      40      45
Ala Pro Gly Ala Arg Val Ser Ala Asp Cys Val Val Val Gly Gly Gly
      50      55      60
30  Ile Ser Gly Leu Cys Thr Ala Gln Ala Leu Ala Thr Lys His Gly Val
      65      70      75      80
Gly Asp Val Leu Val Thr Glu Ala Arg Ala Arg Pro Gly Gly Asn Ile
      85      90      95
Thr Thr Ala Glu Arg Ala Gly Glu Gly Tyr Leu Trp Glu Glu Gly Pro
35      100     105     110
Asn Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Val Leu Thr Met Ala Val Asp Ser
      115     120     125
Gly Leu Lys Asp Asp Leu Val Phe Gly Asp Pro Asn Ala Pro Arg Phe
      130     135     140
40  Val Leu Trp Glu Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Pro Gly Asp
      145     150     155     160
Leu Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Pro Gly Lys Leu Arg Ala Gly
      165     170     175
Leu Gly Ala Leu Gly Val Arg Ala Pro Pro Gly Arg Glu Glu Ser
45      180     185     190
Val Glu Asp Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Ala Glu Val Phe Glu Arg
      195     200     205
Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys
      210     215     220
50  Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Arg Leu Glu Asp Thr
      225     230     235     240
Gly Gly Ser Ile Ile Gly Gly Thr Ile Lys Thr Ile Gln Glu Arg Gly
      245     250     255
Lys Asn Pro Lys Pro Pro Arg Asp Pro Arg Leu Pro Thr Pro Lys Gly
55      260     265     270
Gln Thr Val Ala Ser Phe Arg Lys Gly Leu Thr Met Leu Pro Asp Ala
      275     280     285
Ile Thr Ser Arg Leu Gly Ser Lys Val Lys Leu Ser Trp Lys Leu Thr
      290     295     300
60  Ser Ile Thr Lys Ser Asp Asn Lys Gly Tyr Ala Leu Val Tyr Glu Thr
      305     310     315     320

```

	Pro	Glu	Gly	Val	Val	Ser	Val	Gln	Ala	Lys	Thr	Val	Val	Met	Thr	Ile	
					325					330					335		
	Pro	Ser	Tyr	Val	Ala	Ser	Asp	Ile	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser	Ser	Asp	Ala	
				340					345					350			
5	Ala	Asp	Ala	Leu	Ser	Ile	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ala	Val	Thr	
			355					360					365				
	Val	Ser	Tyr	Pro	Lys	Glu	Ala	Ile	Arg	Lys	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp	Gly	
		370					375					380					
10	Glu	Leu	Gln	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Gly	Val	Glu	
	385					390					395					400	
	Thr	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	
					405					410					415		
	Ala	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Thr	
				420					425					430			
15	Gly	Ile	Val	Ser	Lys	Thr	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Glu	Ala	Val	Asp	Arg	
			435					440					445				
	Asp	Leu	Arg	Lys	Met	Leu	Ile	Asn	Pro	Lys	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Val	
		450					455					460					
20	Leu	Gly	Val	Arg	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Ile	Gly	
	465					470					475					480	
	His	Leu	Asp	His	Leu	Glu	Ala	Ala	Lys	Ser	Ala	Leu	Gly	Lys	Gly	Gly	
					485					490					495		
	Tyr	Asp	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Ala	Gly	Val	Ala	Leu	
				500					505					510			
25	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Ser	Ala	Ser	Gln	Ile	Ser	Asp	
			515					520					525				
	Tyr	Leu	Thr	Lys	Tyr	Ala	Tyr	Lys									
		530					535										
30	<210> 35																
	<211> 1518																
	<212> ДНК																
	<213> Amaranthus tuberculatus																
35	<400> 35																
	atgggcaaca	tttctgagcg	ggatgaaccc	acttctgcta	aaaggggtgc	tgttggttgg											60
	gctggagtta	gtggacttgc	tgctgcatat	aagctaaaat	cccatgggtt	gaatgtgaca											120
	ttgtttgaag	ctgattctag	agctggaggc	aaacttaaaa	ctgttaaaaa	agatgggttt											180
	atttgggatg	agggggcaaa	tactatgaca	gaaagtggag	cagaagtctc	gagtttgatc											240
40	gatgatcttg	ggcttcgtga	gaagcaacag	ttgccaattt	cacaaaataa	aagatacata											300
	gctagagatg	gtcttctgtg	gctactacct	tcaaattccc	ctgcactgct	cacgagcaat											360
	atcctttcag	caaaatcaaa	gctgcaaatt	atgttggaac	cattttttctg	gagaaaacac											420
	aatgctactg	agctttctga	tgagcatggt	caggaaagcg	ttggtgaatt	ttttgagcga											480
	cattttggga	aagagtttgt	tgattatggt	attgaccctt	ttgttgcggg	tacatgtggt											540
45	ggagatcctc	aatcgctttc	tatgcacat	acatttccag	aagtatggaa	tattgaaaaa											600
	aggtttggtc	ctgtgtttgc	tgactaatt	caatcaacat	tgttatctaa	gaaggaaaag											660
	ggtggaggag	gaaatgcttc	tatcaagaag	cctcgtgtac	gtggttcatt	ttcattccat											720
	ggtggaatgc	agacacttgt	tgacacaata	tgcaaacagc	ttggtgaaga	tgaactcaaa											780
	ctccagtgtg	aggtgctgtc	cttgtcatac	aaccagaagg	ggatcccttc	attagggaat											840
50	tggtcagtct	cttctatgtc	aaataatacc	agtgaagatc	aatcttatga	tgctgtgggt											900
	gtcactgtc	caattcgcaa	tgtcaaagaa	atgaagatta	tgaaattcgg	aatccattt											960
	tcacttgact	ttattccaga	ggtgagttac	gtaccctct	ctgttatgat	tactgcattc											1020
	aagaaggata	aagtgaagag	accactcgag	ggctttggag	ttcttatccc	ctctaaagag											1080
	caacataatg	gactgaagac	tcttggtact	ttattttcct	ccatgatgtt	tcccgatcgt											1140
55	gctccatctg	acatgtgtct	ctttactaca	tttgctggag	gaagcagaaa	tagaaaactt											1200
	gcaaacgctt	caacggatga	attgaagcaa	atagtttctt	ctgaccttca	gcagctgttg											1260
	ggcactgagg	acgaaccttc	atttgtcaat	catctctttt	ggagcaacgc	attcccgttg											1320
	tatggacaca	attacgattc	tgttttgaga	gccatagaca	agatggaaaa	ggatcttctt											1380
	ggattttttt	atgcaggtaa	ccataagggt	ggactttcag	tgggaaaagc	gatggcctcc											1440
60	ggatgcaagg	ctgcggaact	tgtaatatcc	tatctggact	ctcatatata	tgtgaagatg											1500
	gatgagaaga	ccgcgtaa															1518

<210> 36
 <211> 505
 <212> PRT
 <213> Amaranthus

5

<400> 36

	Met	Gly	Asn	Ile	Ser	Glu	Arg	Asp	Glu	Pro	Thr	Ser	Ala	Lys	Arg	Val
	1				5					10					15	
10	Ala	Val	Val	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Leu	Ala	Ala	Ala	Tyr	Lys	Leu
				20					25					30		
	Lys	Ser	His	Gly	Leu	Asn	Val	Thr	Leu	Phe	Glu	Ala	Asp	Ser	Arg	Ala
			35					40					45			
15	Gly	Gly	Lys	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Lys	Asp	Gly	Phe	Ile	Trp	Asp	Glu
		50					55					60				
	Gly	Ala	Asn	Thr	Met	Thr	Glu	Ser	Glu	Ala	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Ile
	65					70					75					80
	Asp	Asp	Leu	Gly	Leu	Arg	Glu	Lys	Gln	Gln	Leu	Pro	Ile	Ser	Gln	Asn
					85					90					95	
20	Lys	Arg	Tyr	Ile	Ala	Arg	Asp	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Leu	Pro	Ser	Asn
				100					105					110		
	Pro	Ala	Ala	Leu	Leu	Thr	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu
			115					120					125			
25	Gln	Ile	Met	Leu	Glu	Pro	Phe	Phe	Trp	Arg	Lys	His	Asn	Ala	Thr	Glu
		130					135					140				
	Leu	Ser	Asp	Glu	His	Val	Gln	Glu	Ser	Val	Gly	Glu	Phe	Phe	Glu	Arg
	145					150					155					160
	His	Phe	Gly	Lys	Glu	Phe	Val	Asp	Tyr	Val	Ile	Asp	Pro	Phe	Val	Ala
					165					170					175	
30	Gly	Thr	Cys	Gly	Gly	Asp	Pro	Gln	Ser	Leu	Ser	Met	His	His	Thr	Phe
				180					185					190		
	Pro	Glu	Val	Trp	Asn	Ile	Glu	Lys	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Phe	Ala	Gly
			195					200					205			
35	Leu	Ile	Gln	Ser	Thr	Leu	Leu	Ser	Lys	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly
		210					215					220				
	Asn	Ala	Ser	Ile	Lys	Lys	Pro	Arg	Val	Arg	Gly	Ser	Phe	Ser	Phe	His
	225					230					235					240
	Gly	Gly	Met	Gln	Thr	Leu	Val	Asp	Thr	Ile	Cys	Lys	Gln	Leu	Gly	Glu
					245					250					255	
40	Asp	Glu	Leu	Lys	Leu	Gln	Cys	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	Ser	Tyr	Asn	Gln
				260					265					270		
	Lys	Gly	Ile	Pro	Ser	Leu	Gly	Asn	Trp	Ser	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Asn
			275					280					285			
45	Asn	Thr	Ser	Glu	Asp	Gln	Ser	Tyr	Asp	Ala	Val	Val	Val	Thr	Ala	Pro
						295						300				
	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	Glu	Met	Lys	Ile	Met	Lys	Phe	Gly	Asn	Pro	Phe
	305					310					315					320
	Ser	Leu	Asp	Phe	Ile	Pro	Glu	Val	Ser	Tyr	Val	Pro	Leu	Ser	Val	Met
					325					330					335	
50	Ile	Thr	Ala	Phe	Lys	Lys	Asp	Lys	Val	Lys	Arg	Pro	Leu	Glu	Gly	Phe
				340					345					350		
	Gly	Val	Leu	Ile	Pro	Ser	Lys	Glu	Gln	His	Asn	Gly	Leu	Lys	Thr	Leu
			355					360					365			
55	Gly	Thr	Leu	Phe	Ser	Ser	Met	Met	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala	Pro	Ser	Asp
			370				375					380				
	Met	Cys	Leu	Phe	Thr	Thr	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Arg	Asn	Arg	Lys	Leu
	385					390					395					400
	Ala	Asn	Ala	Ser	Thr	Asp	Glu	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Leu
					405					410					415	
60	Gln	Gln	Leu	Leu	Gly	Thr	Glu	Asp	Glu	Pro	Ser	Phe	Val	Asn	His	Leu
				420					425					430		

Phe Trp Ser Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser Val
 435 440 445
 Leu Arg Ala Ile Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr
 450 455 460
 5 Ala Gly Asn His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser
 465 470 475 480
 Gly Cys Lys Ala Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile
 485 490 495
 Tyr Val Lys Met Asp Glu Lys Thr Ala
 10 500 505

<210> 37
 <211> 1521
 15 <212> ДНК
 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 37
 atggagttat ctcttctccg tccgacgact caatcgcttc ttccgtcggt ttcgaagccc 60
 20 aatctccgat taaatgttta taagcctctt agactccggt gttcagtggt cgggtggacca 120
 accgtcggat cttcaaaaat cgaaggcgga ggaggcacca ccatcacgac ggattgtgtg 180
 attgtcggcg gaggtattag tggctcttgc atcgctcagg cgcttgctac taagcatcct 240
 gatgctgctc cgaatttaat tgtgaccgag gctaaggatc gtgttgagg caacattatc 300
 actcgtgaag agaatgggtt tctctgggaa gaagggtcca atagttttca accgtctgat 360
 25 cctatgctca ctatggtggt agatagtgtt ttgaaggatg atttggtgtt gggagatcct 420
 actgcgcaa gggttggtt gtggaatggg aaattgaggc cggttccatc gaagctaaca 480
 gacttaccgt tctttgattt gatgagtatt ggtgggaaga ttagagctgg ttttggtgca 540
 cttggcattc gaccgtcacc tccaggtcgt gaagaatctg tggaggagt tgtacggcgt 600
 aacctcgggt atgaggtttt tgagcgctg attgaaccgt tttgttcagg tgtttatgct 660
 30 ggtgatcctt caaaactgag catgaaagca gcgtttggga aggtttggaa actagagcaa 720
 aatggtggaa gcataatagg tggactttt aaggcaattc aggagaggaa aaacgctccc 780
 aaggcagaac gagaccgcg cctgccaaaa ccacagggcc aaacagttgg ttctttcagg 840
 aagggacttc gaatgttgcc agaagcaata tctgcaagat taggtagcaa agttaagttg 900
 tcttggaagc tctcaggtat cactaagctg gagagcggag gatacaactt aacatatgag 960
 35 actccagatg gtttagtttc cgtgcagagc aaaagtgtt taatgacggt gccatctcat 1020
 gttgcaagtg gtctcttgcg ccctctttct gaatctgctg caaatgcaact ctcaaaacta 1080
 tattaccac cagttgcagc agtatctatc tcgtaccgga aagaagcaat ccgaacagaa 1140
 tgttgatag atggtgaact aaagggtttt gggcaattgc atccacgcac gcaaggagt 1200
 gaaacattag gaactatcta cagctcctca ctctttccaa atcgcgacac gcccggaaga 1260
 40 attttgctgt tgaactacat tggcggttct acaaacaccg gaattctgtc caagtctgaa 1320
 ggtgagttag tggaagcatt tctagtgtgt cactttgata tccttgacac ggctaaatca 1380
 tctctaactg cttcgggcta cgaagggcta tttttgggtg gcaattacgt cgctggtgta 1440
 gccttaggcc ggtgtgtaga aggcgcataa gaaaccgcga ttgaggtcaa caacttcatg 1500
 tcacggtacg cttacaagta a 1521
 45

<210> 38
 <211> 506
 <212> PRT
 50 <213> Arabidopsis

<400> 38
 Met Glu Leu Ser Leu Leu Arg Pro Thr Thr Gln Ser Leu Leu Pro Ser
 55 1 5 10 15
 Phe Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Asn Val Tyr Lys Pro Leu Arg Leu
 20 25 30
 Arg Cys Ser Val Ala Gly Gly Pro Thr Val Gly Ser Ser Lys Ile Glu
 35 40 45
 60 Gly Gly Gly Gly Thr Thr Ile Thr Thr Asp Cys Val Ile Val Gly Gly
 50 55 60

	Gly	Ile	Ser	Gly	Leu	Cys	Ile	Ala	Gln	Ala	Leu	Ala	Thr	Lys	His	Pro
	65					70				75					80	
	Asp	Ala	Ala	Pro	Asn	Leu	Ile	Val	Thr	Glu	Ala	Lys	Asp	Arg	Val	Gly
					85					90					95	
5	Gly	Asn	Ile	Ile	Thr	Arg	Glu	Glu	Asn	Gly	Phe	Leu	Trp	Glu	Glu	Gly
				100					105					110		
	Pro	Asn	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Asp	Pro	Met	Leu	Thr	Met	Val	Val	Asp
			115					120					125			
10	Ser	Gly	Leu	Lys	Asp	Asp	Leu	Val	Leu	Gly	Asp	Pro	Thr	Ala	Pro	Arg
		130					135					140				
	Phe	Val	Leu	Trp	Asn	Gly	Lys	Leu	Arg	Pro	Val	Pro	Ser	Lys	Leu	Thr
	145				150						155					160
	Asp	Leu	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Ile	Gly	Gly	Lys	Ile	Arg	Ala
					165					170					175	
15	Gly	Phe	Gly	Ala	Leu	Gly	Ile	Arg	Pro	Ser	Pro	Pro	Gly	Arg	Glu	Glu
				180					185					190		
	Ser	Val	Glu	Glu	Phe	Val	Arg	Arg	Asn	Leu	Gly	Asp	Glu	Val	Phe	Glu
			195				200					205				
20	Arg	Leu	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	Gly	Asp	Pro	Ser
		210					215					220				
	Lys	Leu	Ser	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Val	Trp	Lys	Leu	Glu	Gln
	225					230					235					240
	Asn	Gly	Gly	Ser	Ile	Ile	Gly	Gly	Thr	Phe	Lys	Ala	Ile	Gln	Glu	Arg
					245					250					255	
25	Lys	Asn	Ala	Pro	Lys	Ala	Glu	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Gln
				260					265					270		
	Gly	Gln	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Pro	Glu
			275					280					285			
30	Ala	Ile	Ser	Ala	Arg	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Lys	Leu	Ser	Trp	Lys	Leu
		290					295					300				
	Ser	Gly	Ile	Thr	Lys	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Tyr	Asn	Leu	Thr	Tyr	Glu
	305					310					315					320
	Thr	Pro	Asp	Gly	Leu	Val	Ser	Val	Gln	Ser	Lys	Ser	Val	Val	Met	Thr
					325				330						335	
35	Val	Pro	Ser	His	Val	Ala	Ser	Gly	Leu	Leu	Arg	Pro	Leu	Ser	Glu	Ser
				340					345					350		
	Ala	Ala	Asn	Ala	Leu	Ser	Lys	Leu	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ala	Val
			355					360					365			
40	Ser	Ile	Ser	Tyr	Pro	Lys	Glu	Ala	Ile	Arg	Thr	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp
		370					375					380				
	Gly	Glu	Leu	Lys	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Thr	Gln	Gly	Val
	385					390					395					400
	Glu	Thr	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala
					405					410					415	
45	Pro	Pro	Gly	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn
				420					425					430		
	Thr	Gly	Ile	Leu	Ser	Lys	Ser	Glu	Gly	Glu	Leu	Val	Glu	Ala	Phe	Leu
			435					440					445			
50	Val	Gly	His	Phe	Asp	Ile	Leu	Asp	Thr	Ala	Lys	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser
		450					455					460				
	Ser	Gly	Tyr	Glu	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Ala	Gly	Val
	465					470					475					480
	Ala	Leu	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Thr	Ala	Ile	Glu	Val
					485					490					495	
55	Asn	Asn	Phe	Met	Ser	Arg	Tyr	Ala	Tyr	Lys						
				500					505							
60	<210>	39														
	<211>	1515														
	<212>	ДНК														

<213> Nicotiana tabacum

<400> 39

```

5  atggctcctt ctgccggaga agataaacac agttctgcga agagagtcgc agtcattgggt 60
   gcaggcgctca gtgggcttgc tgcagcatac aagttgaaaa tccatggcctt gaatgtgaca 120
   gtatttgaag cagaagggaa agctggaggg aagttacgta gcgtgagcca agatggcctg 180
   atatgggatg aaggggcaaa tactatgact gaaagtgaag gtgatgttac atttttgatt 240
   gattctcttg gactccgaga aaagcaacaa tttccacttt cacaaaacaa gcgctacatt 300
   gccagaaatg gtactcctgt actgttacct tcaaatacaa ttgatctgat caaaagcaat 360
10 tttctttcca ctggatcaaa gcttcagatg cttctggaac caatattatg gaagaataaa 420
   aagctctccc aggtgtctga ctcacatgaa agtgtcagtg gattcttcca gcgtcatttt 480
   ggaaaggagg ttgttgacta tctaattgac ccttttggtg ctggaacgtg tgggtggtgat 540
   cctgactcgc tttcaatgca ccattcattt ccagagttgt ggaattttaga gaaaagggtt 600
   ggctcagtcg tacttgagc tattcgatct aagttatccc ctaaaaatga aaagaagcaa 660
15 gggccaccca aaacttcagc aaataagaag cgccagcggg gatctttttc ctttttgggc 720
   ggaatgcaaa cacttactga tgcaatatgc aaagatctca gagaagatga acttagacta 780
   aactctagag ttctggaatt atcttgtagc tgtactgagg actctgcgat agatagctgg 840
   tcaattattt ctgcctctcc acacaaaagg caatcagaag aagaatcatt tgatgctgta 900
   attatgacgg cccactctg tgatgttaag agtatgaaga ttgctaagag aggaaatcca 960
20 tttctactca actttattcc tgaggttgat tatgtaccgc tatctgttgt tataaccaca 1020
   tttaagaggg aaaacgtaaa gtatcccctt gaggggtttt ggggttcttg accttccaag 1080
   gagcaacaac atggtctcaa gacactaggc accctcttct cttctatgat gtttccagat 1140
   cgggcaccaa acaatgttta tctctatact acttttggtg gtggaagccg aaatagagaa 1200
   cttgcaaaag cctcaaggac tgagctgaaa gagatagtaa cttctgacct taagcagctg 1260
25 ttgggtgctg agggagagcc aacatatgtg aatcatctat actggagtaa agcatttcca 1320
   ttgtacgggc ataactatga ttcagtccta gatgcaattg acaaaatgga gaaaaatctt 1380
   cctggattat tctatgcagg taaccacagg gggggattgt cagttggcaa agcattatct 1440
   tctggatgca atgcagctga tcttggtata tcatatcttg aatccgtctc aactgactcc 1500
   aaaagacatt gctga 1515
30

```

<210> 40

<211> 504

<212> PRT

35 <213> Nicotiana

<400> 40

```

Met Ala Pro Ser Ala Gly Glu Asp Lys His Ser Ser Ala Lys Arg Val
1      5      10      15
40 Ala Val Ile Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu
   20      25      30
   Lys Ile His Gly Leu Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Glu Gly Lys Ala
   35      40      45
45 Gly Gly Lys Leu Arg Ser Val Ser Gln Asp Gly Leu Ile Trp Asp Glu
   50      55      60
   Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Gly Asp Val Thr Phe Leu Ile
   65      70      75      80
   Asp Ser Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Phe Pro Leu Ser Gln Asn
   85      90      95
50 Lys Arg Tyr Ile Ala Arg Asn Gly Thr Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn
   100      105      110
   Pro Ile Asp Leu Ile Lys Ser Asn Phe Leu Ser Thr Gly Ser Lys Leu
   115      120      125
   Gln Met Leu Leu Glu Pro Ile Leu Trp Lys Asn Lys Lys Leu Ser Gln
55      130      135      140
   Val Ser Asp Ser His Glu Ser Val Ser Gly Phe Phe Gln Arg His Phe
   145      150      155      160
   Gly Lys Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr
   165      170      175
60 Cys Gly Gly Asp Pro Asp Ser Leu Ser Met His His Ser Phe Pro Glu
   180      185      190

```

Leu Trp Asn Leu Glu Lys Arg Phe Gly Ser Val Ile Leu Gly Ala Ile
 195 200 205
 Arg Ser Lys Leu Ser Pro Lys Asn Glu Lys Lys Gln Gly Pro Pro Lys
 210 215 220
 5 Thr Ser Ala Asn Lys Lys Arg Gln Arg Gly Ser Phe Ser Phe Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Met Gln Thr Leu Thr Asp Ala Ile Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asp
 245 250 255
 10 Glu Leu Arg Leu Asn Ser Arg Val Leu Glu Leu Ser Cys Ser Cys Thr
 260 265 270
 Glu Asp Ser Ala Ile Asp Ser Trp Ser Ile Ile Ser Ala Ser Pro His
 275 280 285
 Lys Arg Gln Ser Glu Glu Glu Ser Phe Asp Ala Val Ile Met Thr Ala
 290 295 300
 15 Pro Leu Cys Asp Val Lys Ser Met Lys Ile Ala Lys Arg Gly Asn Pro
 305 310 315 320
 Phe Leu Leu Asn Phe Ile Pro Glu Val Asp Tyr Val Pro Leu Ser Val
 325 330 335
 20 Val Ile Thr Thr Phe Lys Arg Glu Asn Val Lys Tyr Pro Leu Glu Gly
 340 345 350
 Phe Gly Val Leu Val Pro Ser Lys Glu Gln Gln His Gly Leu Lys Thr
 355 360 365
 Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Asn
 370 375 380
 25 Asn Val Tyr Leu Tyr Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Glu
 385 390 395 400
 Leu Ala Lys Ala Ser Arg Thr Glu Leu Lys Glu Ile Val Thr Ser Asp
 405 410 415
 30 Leu Lys Gln Leu Leu Gly Ala Glu Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asn His
 420 425 430
 Leu Tyr Trp Ser Lys Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser
 435 440 445
 Val Leu Asp Ala Ile Asp Lys Met Glu Lys Asn Leu Pro Gly Leu Phe
 450 455 460
 35 Tyr Ala Gly Asn His Arg Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Leu Ser
 465 470 475 480
 Ser Gly Cys Asn Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Val
 485 490 495
 40 Ser Thr Asp Ser Lys Arg His Cys
 500

<210> 41
 <211> 1509
 45 <212> ДНК
 <213> Glycine max

<400> 41
 atggcttcct ctgcaacaga cgataaccca agatctgtaa aaagagtagc tgttggtggt 60
 50 gctggggtaa gtgggcttgc tgcggcttac aaattgaaat cacatggtct ggatgtcact 120
 gtatttgaag ctgagggaag agctggaggg aggttgagaa gtgtttctca ggatggtcta 180
 atttgggatg agggagctaa tacaatgact gaaagtgaat ttgagggttaa aggtttgatt 240
 gatgctcttg gacttcaaga aaagcagcag tttccaatat cacagcataa gcgctatatt 300
 gtgaaaaatg gggcaccact tctggtacct acaaactctg ctgcactact gaagagtaaa 360
 55 ctgctttctg cacaatcaaa gatccatctc atttttgaac catttatgtg gaaaagaagt 420
 gaccttcta atgtgtgtga tgaaaattct gtggaaagt taggcagggt ctttgaacgt 480
 cattttggaa aagaggttgt ggactatctg attgatcctt ttgttggggg cactagtgca 540
 gcagatcctg aatctctctc tatgcgccat tctttcccag agctatggaa tttggagaaa 600
 aggtttggct ccattatagc cggggcattg caatctaagt tattcgccaa aagggaaaaa 660
 60 actggagaaa ataggactgc actaagaaaa aacaaacaca agcgtggttc gttttctttc 720
 cagggtggga tgcagacact gacagatata ttgtgcaaag agcttggcaa agacgacctt 780

```

aaattaaatg aaaaggtttt gacattagct tatgggtcatg atggaagtgc ctcttcacaa 840
aactgggtcta ttactagtgct ttctaaccaa agtacacaag atgttgatgc agtaatcatg 900
acggctcctc tatataatgt caaggacatc aagatcacaa aaaggggaac tccctttcca 960
cttaattttc ttcccgaggt aagctacgtg ccaatctcag tcatgattac taccttcaaa 1020
5 aaggagaatg taaagagacc tttggagggg tttggaggtt ttgttccttc taaagagcaa 1080
aaaaatggtt taaaaaccct tggtagactt ttttcctcta tgatgttccc agatcgtgca 1140
cctagtgatt tataatctcta taccaccttc attggcggaa ctcaaaacag ggaacttgct 1200
caagcttcaa ctgacgagct taggaaaatt gttacttctg acctgagaaa gttgttgga 1260
gcagaggggg aaccaacatt tgtaaacat ttctattgga gtaaaggctt tcctttgtat 1320
10 ggacgtaact atgggtcagt tcttcaagca attgataaga tagaaaaaga tcttcccga 1380
tttttcttg caggtaacta caaagggtga ctctcagttg gcaaagcaat agcctcaggc 1440
tgcaaagcag ctgatcttgt gatatcctac ctcaactctg cttcagacaa cacagtgcct 1500
gataaatga 1509

```

```

15 <210> 42
    <211> 502
    <212> PRT
    <213> Glycine

```

```

20 <400> 42

```

```

Met Ala Ser Ser Ala Thr Asp Asp Asn Pro Arg Ser Val Lys Arg Val
1      5      10      15
25 Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu
    20      25      30
    Lys Ser His Gly Leu Asp Val Thr Val Phe Glu Ala Glu Gly Arg Ala
        35      40      45
    Gly Gly Arg Leu Arg Ser Val Ser Gln Asp Gly Leu Ile Trp Asp Glu
        50      55      60
30 Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ile Glu Val Lys Gly Leu Ile
    65      70      75      80
    Asp Ala Leu Gly Leu Gln Glu Lys Gln Gln Phe Pro Ile Ser Gln His
        85      90      95
    Lys Arg Tyr Ile Val Lys Asn Gly Ala Pro Leu Leu Val Pro Thr Asn
        100      105      110
35 Pro Ala Ala Leu Leu Lys Ser Lys Leu Leu Ser Ala Gln Ser Lys Ile
    115      120      125
    His Leu Ile Phe Glu Pro Phe Met Trp Lys Arg Ser Asp Pro Ser Asn
        130      135      140
40 Val Cys Asp Glu Asn Ser Val Glu Ser Val Gly Arg Phe Phe Glu Arg
    145      150      155      160
    His Phe Gly Lys Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Gly
        165      170      175
    Gly Thr Ser Ala Ala Asp Pro Glu Ser Leu Ser Met Arg His Ser Phe
        180      185      190
45 Pro Glu Leu Trp Asn Leu Glu Lys Arg Phe Gly Ser Ile Ile Ala Gly
    195      200      205
    Ala Leu Gln Ser Lys Leu Phe Ala Lys Arg Glu Lys Thr Gly Glu Asn
        210      215      220
50 Arg Thr Ala Leu Arg Lys Asn Lys His Lys Arg Gly Ser Phe Ser Phe
    225      230      235      240
    Gln Gly Gly Met Gln Thr Leu Thr Asp Thr Leu Cys Lys Glu Leu Gly
        245      250      255
    Lys Asp Asp Leu Lys Leu Asn Glu Lys Val Leu Thr Leu Ala Tyr Gly
        260      265      270
55 His Asp Gly Ser Ser Ser Ser Gln Asn Trp Ser Ile Thr Ser Ala Ser
    275      280      285
    Asn Gln Ser Thr Gln Asp Val Asp Ala Val Ile Met Thr Ala Pro Leu
        290      295      300
60 Tyr Asn Val Lys Asp Ile Lys Ile Thr Lys Arg Gly Thr Pro Phe Pro
    305      310      315      320

```

Leu Asn Phe Leu Pro Glu Val Ser Tyr Val Pro Ile Ser Val Met Ile
 325 330 335
 Thr Thr Phe Lys Lys Glu Asn Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly
 340 345 350
 5 Val Leu Val Pro Ser Lys Glu Gln Lys Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly
 355 360 365
 Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Leu
 370 375 380
 10 Tyr Leu Tyr Thr Thr Phe Ile Gly Gly Thr Gln Asn Arg Glu Leu Ala
 385 390 395 400
 Gln Ala Ser Thr Asp Glu Leu Arg Lys Ile Val Thr Ser Asp Leu Arg
 405 410 415
 Lys Leu Leu Gly Ala Glu Gly Glu Pro Thr Phe Val Asn His Phe Tyr
 420 425 430
 15 Trp Ser Lys Gly Phe Pro Leu Tyr Gly Arg Asn Tyr Gly Ser Val Leu
 435 440 445
 Gln Ala Ile Asp Lys Ile Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Phe Ala
 450 455 460
 20 Gly Asn Tyr Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Ile Ala Ser Gly
 465 470 475 480
 Cys Lys Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asn Ser Ala Ser Asp
 485 490 495
 Asn Thr Val Pro Asp Lys
 500

25

<210> 43
 <211> 1205
 <212> ДНК

30 <213> Cucumis sativus

<400> 43
 agcttccaac cttccgatcc tattctcacc atggtggtgg atagtggctt aaaagatgat 60
 ttagttctgg gagaccaga tgcacctcga tttgtattgt ggaatggaaa gctcagacca 120
 35 gtgcctgcga aacctaata tctacctttc tttgacctga tgagcattgg tggaaaaatc 180
 agagcaggct ttggtgccct gggcattcgc cctcctcctc caggctcgaga ggaatcagtt 240
 gaagaatttg tccgtcggaa ccttggaat gaagtttttg aacgtttgat agagccattt 300
 tgttctggtg tatacgctgg tgacccttca aagctaagca tgaaagcagc ttttggttaag 360
 gtttgagggc tagagcaaaa tgggtgtagt attattggtg ggactttcaa agcacttcaa 420
 40 gaaaggaata aaactaccaa accaccaaga gatccgcgtc taccaaagcc taagggccaa 480
 actgttggtg cttttcggaa aggacttacc atgttgccaa atgctatttc tacttgtttg 540
 gggagtaaag taaaagtatc ttggaagcta tctagtatca gtaaagtgga tgacggaggt 600
 tatagtttga catacgaaac accagaagga ctagtctcca tactaagcag aagtgtcatc 660
 atgacgggtc cttcttatat tgctggcact ctgttgcgct caatctcggg gaaagctgca 720
 45 gatgcacttt caaaatttta ttatccacca gttgcatcag tgaccatatc atatccaaaa 780
 ggagcaatta ggaaagaatg cttgattgat ggtgaactaa aggggtttgg tcaattgcac 840
 cctcgtagcc agggggtgac tactttggga actatataca gtcatacact ttttcctaata 900
 cgagcgccag atggaagggt attgctcttg aactacattg gaggggctac taatactgga 960
 attctttctc agacagagag cgagctcata gaagtagttg atcgggattt aagaaaaatc 1020
 50 ctcataaacc caaacgcaga ggatcctcta ccattgagcg tgaggggtgtg gccacaagcc 1080
 attccacagt tcttgattgg ccatctcgat gttctagaca ccgccaaggc cggactgaga 1140
 gaggctggaa tggaggggct attttttaggt ggaaactatg tatgcggtgt ggccttgggg 1200
 agatg 1205

55

<210> 44
 <211> 401
 <212> PRT
 <213> Cucumis

60

<400> 44

	Ser	Phe	Gln	Pro	Ser	Asp	Pro	Ile	Leu	Thr	Met	Val	Val	Asp	Ser	Gly
	1				5					10					15	
5	Leu	Lys	Asp	Asp	Leu	Val	Leu	Gly	Asp	Pro	Asp	Ala	Pro	Arg	Phe	Val
			20					25						30		
	Leu	Trp	Asn	Gly	Lys	Leu	Arg	Pro	Val	Pro	Ala	Lys	Pro	Asn	Asp	Leu
			35					40					45			
	Pro	Phe	Phe	Asp	Leu	Met	Ser	Ile	Gly	Gly	Lys	Ile	Arg	Ala	Gly	Phe
		50					55					60				
10	Gly	Ala	Leu	Gly	Ile	Arg	Pro	Pro	Pro	Pro	Gly	Arg	Glu	Glu	Ser	Val
	65					70					75					80
	Glu	Glu	Phe	Val	Arg	Arg	Asn	Leu	Gly	Asn	Glu	Val	Phe	Glu	Arg	Leu
					85					90					95	
	Ile	Glu	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly	Val	Tyr	Ala	Gly	Asp	Pro	Ser	Lys	Leu
15				100					105					110		
	Ser	Met	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Lys	Val	Trp	Arg	Leu	Glu	Gln	Asn	Gly
			115					120					125			
	Gly	Ser	Ile	Ile	Gly	Gly	Thr	Phe	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Arg	Asn	Lys
		130					135					140				
20	Thr	Thr	Lys	Pro	Pro	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Lys	Gly	Gln
	145					150					155					160
	Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Leu	Thr	Met	Leu	Pro	Asn	Ala	Ile
					165					170					175	
	Ser	Thr	Cys	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Lys	Val	Ser	Trp	Lys	Leu	Ser	Ser
25				180					185					190		
	Ile	Ser	Lys	Val	Asp	Asp	Gly	Gly	Tyr	Ser	Leu	Thr	Tyr	Glu	Thr	Pro
			195				200						205			
	Glu	Gly	Leu	Val	Ser	Ile	Leu	Ser	Arg	Ser	Val	Ile	Met	Thr	Val	Pro
		210					215					220				
30	Ser	Tyr	Ile	Ala	Gly	Thr	Leu	Leu	Arg	Pro	Ile	Ser	Gly	Lys	Ala	Ala
	225					230					235					240
	Asp	Ala	Leu	Ser	Lys	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ser	Val	Thr	Ile
					245				250						255	
	Ser	Tyr	Pro	Lys	Gly	Ala	Ile	Arg	Lys	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp	Gly	Glu
35				260					265					270		
	Leu	Lys	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Gly	Val	Thr	Thr
			275					280					285			
	Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	Asp
		290					295					300				
40	Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ala	Thr	Asn	Thr	Gly
	305						310				315					320
	Ile	Leu	Ser	Gln	Thr	Glu	Ser	Glu	Leu	Ile	Glu	Val	Val	Asp	Arg	Asp
				325						330				335		
	Leu	Arg	Lys	Ile	Leu	Ile	Asn	Pro	Asn	Ala	Glu	Asp	Pro	Leu	Pro	Leu
45				340					345					350		
	Ser	Val	Arg	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Ile	Gly	His
			355					360					365			
	Leu	Asp	Val	Leu	Asp	Thr	Ala	Lys	Ala	Gly	Leu	Arg	Glu	Ala	Gly	Met
		370					375					380				
50	Glu	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Cys	Gly	Val	Ala	Leu	Gly
	385					390					395					400
	Arg															

55

<210> 45
 <211> 1521
 <212> ДНК
 <213> Oryza sativa

60

<400> 45


```

atggccgcct ccgacgaccc ccgcgggcggg aggtccgtcg ccgtcgtcgg cgccggcgctc 60
agtgggctcg cggcgggcgta caggctgagg aagcgcgggcg tgcagggtgac ggtgttcgag 120
gcggccgaca gggcggggtgg gaagatacgg accaactccg agggcggggtt catctgggac 180
gaagggggcca acaccatgac agagagtga tggaggcaa gcaggcttat tgacgatctt 240
5 ggcctacaag gcaaacagca gtatcctaac tcacaacaca agcgttacat tgtcaaagat 300
ggagcaccaa cactgattcc ctcatatccc attgcgctca tgaaaagcac tgttctttct 360
acaaaatcaa agctcaagct atttctggaa ccatttctct atgagaaatc tagcagaagg 420
acctcgggaa aagtgtctga tgaacattta agtgagagtg tgatttttct gtgtatatgt 480
agagataatc aggttggtga ttatcttatt gatccatttg tggctggaac aagcggagga 540
10 gatcctgagt cattatcaat tcgtcatgca ttccagcat tatggaattt ggagaataag 600
tatggctctg tcattgctgg tgccatcttg tccaaactat ccactaaggg tgattcagt 660
aagacaggag gtgcttcgcc agggaaagga aggaataaac gtgtgtcatt ttcatttcat 720
ggtggaatgc agtcactaat agatgcactt cacaatgaag ttggagatgg taacgtgaag 780
cttggtacag aagtgttgct attggcatgt tgctgtgatg gagtctcttc ttctgggtgt 840
15 tggtaattt ctgttgattc aaaagatgct aaagggaag atctcagaaa gaaccaatct 900
ttcgtatgct ttataatgac tgctccattg tctaattgtc agaggatgaa gtttacaaaa 960
ggtggagttc ctttgtgct agactttctt cctaaggctc attatctacc actatctctc 1020
atggtaacag cttttaagaa ggaagatgct aaaaaacat tggaaggatt tgggtgcctt 1080
ataccctata aggaacagca aaagcatggt ctcaaaaccc ttgggaccct cttctcctcg 1140
20 atgatgtttc cagatcgagc tcctaattgat caatatctat atacatcttt cattgggggg 1200
agccataata gagacctcgc tggggctcca acggctattc tgaaacaact tgtgacctct 1260
gacctaagaa agctcttggg tgttgagga caacctactt ttgtgaagca tgtacattgg 1320
agaaatgctt ttcctttata tggccagaat tatgatctgg tactggaagc tatagcaaaa 1380
atggagaaca atcttcagg gttcttttac gcaggaaata acaaggatgg gttggctgtt 1440
25 ggaaatgtta tagcttcagg aagcaaggct gctgaccttg tgatctctta tcttgaatct 1500
tgacacagatc aggacaatta g 1521

```

```

<210> 46
30 <211> 506
    <212> PRT
    <213> Oryza sativa

```

```

<400> 46
35

```

```

Met Ala Ala Ser Asp Asp Pro Arg Gly Gly Arg Ser Val Ala Val Val
1          5          10          15
Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Arg Leu Arg Lys Arg
20          25          30
40 Gly Val Gln Val Thr Val Phe Glu Ala Ala Asp Arg Ala Gly Gly Lys
    35          40          45
Ile Arg Thr Asn Ser Glu Gly Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala Asn
50          55          60
Thr Met Thr Glu Ser Glu Leu Glu Ala Ser Arg Leu Ile Asp Asp Leu
45 65          70          75          80
Gly Leu Gln Gly Lys Gln Gln Tyr Pro Asn Ser Gln His Lys Arg Tyr
    85          90          95
Ile Val Lys Asp Gly Ala Pro Thr Leu Ile Pro Ser Asp Pro Ile Ala
100          105          110
50 Leu Met Lys Ser Thr Val Leu Ser Thr Lys Ser Lys Leu Lys Leu Phe
    115          120          125
Leu Glu Pro Phe Leu Tyr Glu Lys Ser Ser Arg Arg Thr Ser Gly Lys
130          135          140
Val Ser Asp Glu His Leu Ser Glu Ser Val Ile Phe Leu Cys Ile Cys
55 145          150          155          160
Arg Asp Asn Gln Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly
    165          170          175
Thr Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ser Leu Ser Ile Arg His Ala Phe Pro
180          185          190
60 Ala Leu Trp Asn Leu Glu Asn Lys Tyr Gly Ser Val Ile Ala Gly Ala
    195          200          205

```

Ile Leu Ser Lys Leu Ser Thr Lys Gly Asp Ser Val Lys Thr Gly Gly
210 215 220
Ala Ser Pro Gly Lys Gly Arg Asn Lys Arg Val Ser Phe Ser Phe His
225 230 235 240
5 Gly Gly Met Gln Ser Leu Ile Asp Ala Leu His Asn Glu Val Gly Asp
245 250 255
Gly Asn Val Lys Leu Gly Thr Glu Val Leu Ser Leu Ala Cys Cys Cys
260 265 270
10 Asp Gly Val Ser Ser Ser Gly Gly Trp Ser Ile Ser Val Asp Ser Lys
275 280 285
Asp Ala Lys Gly Lys Asp Leu Arg Lys Asn Gln Ser Phe Asp Ala Val
290 295 300
Ile Met Thr Ala Pro Leu Ser Asn Val Gln Arg Met Lys Phe Thr Lys
305 310 315 320
15 Gly Gly Val Pro Phe Val Leu Asp Phe Leu Pro Lys Val Asp Tyr Leu
325 330 335
Pro Leu Ser Leu Met Val Thr Ala Phe Lys Lys Glu Asp Val Lys Lys
340 345 350
20 Pro Leu Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ile Pro Tyr Lys Glu Gln Gln Lys
355 360 365
His Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro
370 375 380
Asp Arg Ala Pro Asn Asp Gln Tyr Leu Tyr Thr Ser Phe Ile Gly Gly
385 390 395 400
25 Ser His Asn Arg Asp Leu Ala Gly Ala Pro Thr Ala Ile Leu Lys Gln
405 410 415
Leu Val Thr Ser Asp Leu Arg Lys Leu Gly Val Glu Gly Gln Pro
420 425 430
30 Thr Phe Val Lys His Val His Trp Arg Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly
435 440 445
Gln Asn Tyr Asp Leu Val Leu Glu Ala Ile Ala Lys Met Glu Asn Asn
450 455 460
Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn Asn Lys Asp Gly Leu Ala Val
465 470 475 480
35 Gly Asn Val Ile Ala Ser Gly Ser Lys Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser
485 490 495
Tyr Leu Glu Ser Cys Thr Asp Gln Asp Asn
500 505

40

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Клітина трансгенної рослини, трансформована нуклеїновою кислотою, що кодує mut-PPO, де експресія нуклеїнової кислоти в клітині рослини приводить до підвищеної стійкості або толерантності до гербіциду, що походить з бензоксазину, в порівнянні з рослинною клітиною дикого типу, причому нуклеїнова кислота mut-PPO містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з:
 - а) полінуклеотиду, який містить послідовність, що має принаймні 80 % ідентичності послідовності до послідовності SEQ ID NO: 1,
 - б) полінуклеотиду, що кодує варіант поліпептиду, який показано в SEQ ID NO: 2, причому варіант поліпептиду SEQ ID NO: 2 в б) включає: амінокислота в положенні 128 є аланіном та амінокислота в положенні 420 є метіоніном, ізолейцином або лейцином.
2. Трансгенна рослина, що містить клітину рослини, як визначено у п. 1, де експресія зазначеної нуклеїнової кислоти в рослині приводить до підвищеної стійкості рослин до гербіциду, що походить з бензоксазину, в порівнянні з рослиною дикого типу.
3. Рослина, яка експресує мутантну або рекомбінантну mut-PPO, що містить SEQ ID NO: 2, в якій амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності PPO дикого типу відповідної рослини дикого типу, де амінокислота в положенні 128 є аланіном та амінокислота в положенні 420 є метіоніном, ізолейцином або лейцином.
4. Спосіб продукування трансгенної рослини, що включає:

60

(а) трансформацію клітини рослини касетою експресії, яка містить нуклеїнову кислоту mut-РРО,

(b) продукування рослини з підвищеною стійкістю до гербіциду, що походить з бензоксазину, з рослинної клітини.

5 причому нуклеїнова кислота mut-PPO містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з:

а) полінуклеотиду, який містить послідовність, що має принаймні 80 % ідентичності послідовності до послідовності SEQ ID NO: 1,

b) поліуклеотиду, що кодує варіант поліпептиду, який показано в SEQ ID NO: 2,

10 причому варіант поліпептиду SEQ ID NO: 2 в b) включає: амінокислота в положенні 128 є аланіном та амінокислота в положенні 420 є метіоніном, ізолейцином або лейцином.

5. Спосіб за п. 4, в якому касета експресії додатково містить регуляторну область ініціації транскрипції та регуляторну область ініціації трансляції, які функціонують в рослині.

[illegible]

ΦΙΓ.1

A.tuberculatus : AULTSNTLSAKSKLQIHLPEFLPWKGNATELSDHVOEESVCGEFPBHPGSEFVDYVDPVATCGGDPQSLSMHHTFPEPUNTEK-RPESWFAELIQTST : 243
 A.tuberculatus_R : AULTSNTLSAKSKLQIHLPEFLPWKGNATELSDHVOEESVCGEFPBHPGSEFVDYVDPVATCGGDPQSLSMHHTFPEPUNTEK-RPESWFAELIQTST : 242
 A.thaliana_2 : EHVTSVSLSTQSFQIILEPFLWKK-KSSKVSVDASAESESVGFQFHPGQGVVDYLIDPPVGTGSAAADPOLSMHSHSPDLNN-----SPGSLTIGATERTK : 258
 S.oleracea_2 : AULKSNILSAKSKLQIHLPEFLPWKGNCAKVSDEMAQSEVAEFPBHPGSEFVDYLIDPPVATGSGDQPSLSMHAFPELUNEN-RPESWISCFEIQSK : 242
 N.tabacum_2 : DLTKSFLSTGSKLQIHLPEFLPWKGLKSLSD-----HSSVSGEFGFHPGSEFVDYLIDPPVATGCGDQPSLSMHSHSPDLNLEK-RPESWILCAITRSK : 211
 Glycine_max : AULKSKLQIHLPEFLPWKGNKSDSVNDCENSVSCFPEFHPGSEFVDYLIDPPVGTGSAAADPOLSMHSHSPDLNLEK-RPSTIATALQSK : 213
 A.thaliana_1 : DLPPFFDLMSIGCKIRACGAGLGLCP-----SPPGCAESVEQFVRPNLGGVFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTPRAI : 253
 N.tabacum_1 : DLPPFFDLMSIPCKIRACGAGLGLCP-----SPPGCAESVEQFVRPNLGGVFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTPRAI : 264
 C.reinhardtii_1 : DAFTFDLMSIPCKIRACGAGLGLNG-----AMPSFESEVQFVRPNLGGVFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCATIRLF : 276
 Z.mays : DLPPFFDLMSIPCKIRACGAGLGLCP-----PPPGCAESVEQFVRPNLCAEYFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTIRTI : 253
 O.sativa_1 : DLPPFFDLMSIPCKIRACGAGLGVRA-----PPPGCAESVEQFVRPNLCAEYFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTIRTI : 252
 S.tuberosum : DLPPFFDLMSIPCKIRACGAGLGLCP-----SPPGYSESEVQFVRPNLCAEYFERLIHPFPCSVYAGDPKSLIMMAAFKRVULBQMG-CSIIIGCTPRAI : 273
 C.sativus : DLPPFFDLMSIGCKIRACGAGLGLCP-----PPPGCAESVEQFVRPNLCAEYFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTPRAI : 139
 C.intybus_1 : DLPPFFDLMSIPCKIRACGAGLGLCP-----SPPPDAESVEQFVRPNLGGVFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCATRAI : 27
 S.oleracea_1 : DLPPFFDLMSFPCKIRACGAGLGLCP-----SPPAHSESEVQFVRPNLGGVFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTIRTI : 278
 Polytomella : YALKSDLSLTOGLRAIRFETGFCVSPA-----PPKQGESEVRCGVTPLCGEYFERLIHPFPCSVYAGDPKSLSMKAAFGKRVULBQMG-CSIIIGCTPRAI : 242
 1 6S k ESV F R G E 66 PF G gDP LsH F 6w e GS6 G

A.tuberculatus : LLSK-----KKEKGG-ASIKK-PBVRGSFSPQCCQITVTVTCKKQCGDEBHKQCEVLSYNGKQIPSLGMSYSSSHNN----- : 318
 A.tuberculatus_R : LLSK-----KKEKGG-ASIKK-PBVRGSFSPQCCQITVTVTCKKQCGDEBHKQCEVLSYNGKQIPSLGMSYSSSHNN----- : 317
 A.thaliana_2 : FAAR-----CGKSRDTKSSPCKKGRSGFSFQCCQITVTVTCKKSHDEBHDKQVLSGYN-----SGSRQENSGCVSHN : 333
 S.oleracea_2 : LSKK-----KKEKGGSGSMRK-PBVRGSFSPQCCQITVTVTCKKCFDEBHKQCEVLSYNGKQIPSLGMSYSSSHNS : 318
 N.tabacum_2 : LSPHN-----EKQGGPKPTSAANK-KHQKGSFSPQCCQITVTVTCKKQCGDEBHDKQVLSGSCCTSDAISDSISASPHK : 289
 Glycine_max : LFAK-----REKTCENTARLRKMGKRGFSFQCCQITVTVTCKKQCGDEBHKQCEVLSYNGKQIPSLGMSYSSSHNS : 290
 A.thaliana_1 : QERK-----NAKPAEDPRLP-KPGQGTVCSEFKGRLPMDPAICERGC-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 322
 N.tabacum_1 : KERS-----STPKAPDPRLP-KPGQGTVCSEFKGRLPMDPAISARIC-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 333
 C.reinhardtii_1 : QERQ-----SNPAPPDPRLPKPKPGQGTVCSEFKGRLPMDPAITERNP-DRTFNNKWLVSQCREADRP-----VCGVYDTP : 346
 Z.mays : QERS-----KNPKPPDPARLP-KPKGQTVASFKGRLPMDPAITERNSG-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 322
 O.sativa_1 : QERG-----KNPKPPDPRLP-TPKGQTVASFKGRLPMDPAITERNSG-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 321
 S.tuberosum : KERS-----SNPKPPDPRLP-TPKGQGTVCSEFKGRLPMDPAICERGC-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 342
 C.sativus : QERN-----KITKPPDPRLP-KPKGQGTVCSEFKGRLPMDPAISTERGC-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 208
 C.intybus_1 : QDRK-----NSQKPPDPRLP-KPKGQGTVCSEFKGRLPMDPAISTERGC-SRVRKSWKLSSTKLESGC-----NLTGYETP : 340
 S.oleracea_1 : QERN-----DNPKPPDPRLP-KPKGQGTVCSEFKGRLPMDPAISTERGC-NRTYVSWLTSKGAKSNGE-----NLTGYETP : 347
 Polytomella : MNKRRERRTGAKGCDGTVPNLNETAKAPKSSSGPTVSSSEGCIRILPKAAQKIC-DRTFNNKWLVSQCREADRP-----VCGVYDTP : 340
 SF G L 6 g 6 6 6 6 5 6

A.tuberculatus : -----TSRDSQSYDAVVVTAIRNVKMKI--MKFGNP-FSLDIPENTYTPPLSVHITAFKDK-----KKRPLDGFVLIPIRQKHNL : 394
 A.tuberculatus_R : -----TSRDSQSYDAVVVTAIRNVKMKI--MKFGNP-FSLDIPENTYTPPLSVHITAFKDK-----KKRPLDGFVLIPIRQKHNL : 393
 A.thaliana_2 : -----ETQRNPHYDAALPLNVKMKI--MKGGQP-FQLNLDEPNTYTPPLSVLITITFKKC-----KKRPLDGFVLIPIRQKHNL : 407
 S.oleracea_2 : -----TIQDQSYDAVVVTAIRNVKMKI--MKVKNP-FSLDIPENTYTPPLSVIITTFKTN-----KKRPLDGFVLIPIRQKHNL : 394
 N.tabacum_2 : -----RQSEESFADAVINTAPLCDVKSMTI--AKRGNP-FLNLNDEPNTYTPPLSVIITTFKRN-----KKYPLDGFVLIPIRQKHNL : 366
 Glycine_max : -----STQDQSYDAVVVTAIRNVKMKI--TKRGTP-FPLNLDEPNTYTPPLSVIITTFKKN-----KKRPLDGFVLIPIRQKHNL : 364
 A.thaliana_1 : -----DGLVSVQKRSVVHVTGSHVASCLR-PLSESAANLAKSLYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 400
 N.tabacum_1 : -----ECVSVQKRSVVHVTGSHVASCLR-PLSVAADALSNFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 411
 C.reinhardtii_1 : -----ECRVKVPARALNAPSVVADLVK-RQAPAAALALGCFDYPPVAASISYPKAALTEC-----ASDCSVGCFGLHPRSC : CV : 425
 Z.mays : -----ECVSVQKRSVVHVTGSHVASCLR-PLSSDAADALSNFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 400
 O.sativa_1 : -----ECVSVQKRSVVHVTGSHVASCLR-PLSSDAADALSNFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 399
 S.tuberosum : -----ECVSVLBSRSVVHVTGSHVASCLR-PLSVAADALSSFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 420
 C.sativus : -----ECLVSLBSRSVVHVTGSHVASCLR-PLSVAADALSKFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 286
 C.intybus_1 : -----CGFESLQTKTIVHVTGSHVASCLR-PLSVAADALSKFYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 418
 S.oleracea_1 : -----DGLVSVRTKSVVHVTGSHVASCLR-PLSDVAASLSKFHYPPVAASISYPKAALTEC-----LDCGLGCFGLHPRSC : CV : 425
 Polytomella : -----AVPRTAGCDVAAGDEDAVGVVAKKVVLTTPADDAADILSRGSLVAAANPKEVDYPPVAALVLSVVDVDSISAIHRVSHAHGSGCFGLHPRSC : CV : 437
 t P 6 P 6 6 6S 6 6FG L P 2 G

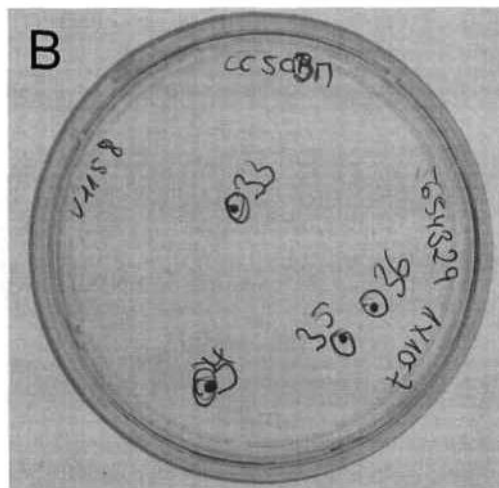
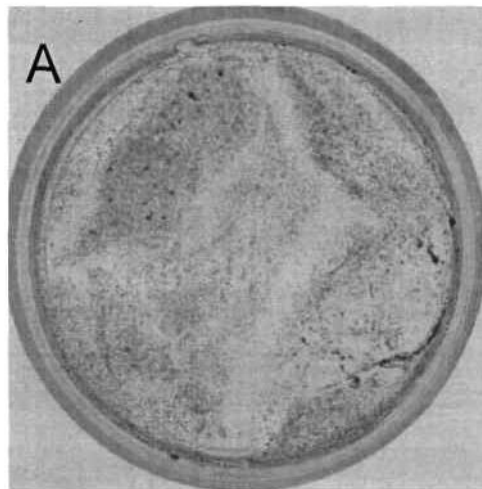
A.tuberculatus : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 487
 A.tuberculatus_R : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 486
 A.thaliana_2 : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 500
 S.oleracea_2 : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 487
 N.tabacum_2 : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 459
 Glycine_max : FTLGTFLSSHHFPDRAPSDHCFITTFVGCSSRRRLAKASTDLKRLQTSGLQQLCTED-----EPFSFNHLFFSKGFFLYGHNYDSVDAIDKHEKD : 457
 A.thaliana_1 : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 564
 N.tabacum_1 : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 495
 C.reinhardtii_1 : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 520
 Z.mays : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 494
 O.sativa_1 : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 495
 S.tuberosum : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 515
 C.sativus : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIVADRLRKL-LINKPAQDLVGVVRVPOPIQFGLVGHLDLTAARAALDR : 581
 C.intybus_1 : FTLGTIYSSSLFPNRPACRGRVLLNYIGCATHTVSKSESLEIV

```

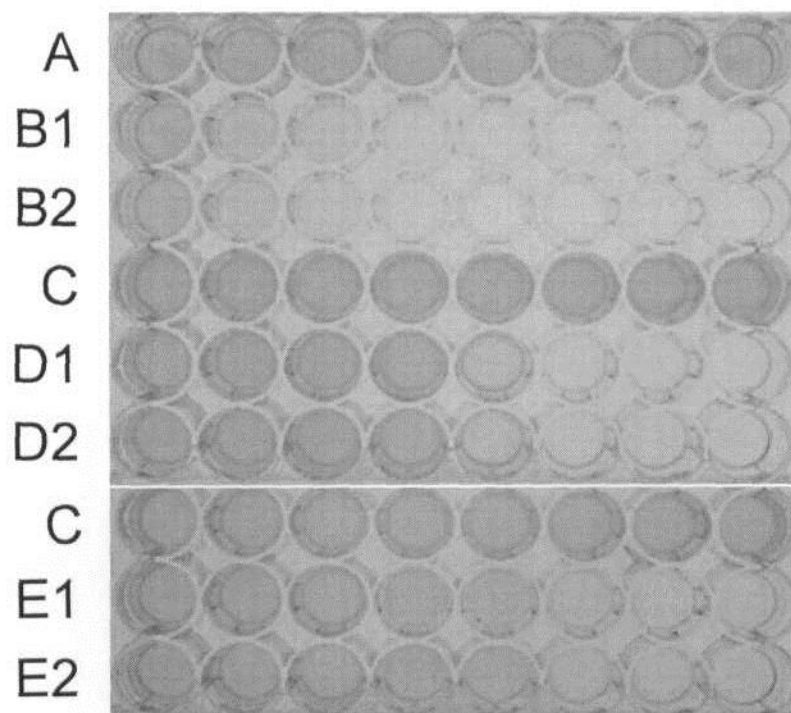
      *      620      *      640      *
A.tuberculosis : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 534
A.tuberculosis_R : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 533
A.thaliana_2 : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 547
S.oleracea_2 : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 531
N.tabacum_2 : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 504
Glycine_max : --LPFFYYACNHRGCLSVCHMASGCKAELTWISYDSHIYVKMDKTA-- : 502
A.thaliana_1 : SCYEELFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 506
N.tabacum_1 : NCLEELFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 548
C.reinhardtii_1 : ACLOCFHLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 563
Z.mays : GCYDCLFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 537
O.sativa_1 : GCYDCLFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 536
S.tuberosum : NCLEELFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 557
C.sativus : ACHEELFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 401
C.intybus_1 : GCYDCLFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 555
S.oleracea_1 : GCHKCLFLGENTVVCVALGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 562
Polycornella : ADWSEVKLAGNVCVAVGFCNEGAYEVSSEDTGFLSRYAYK----- : 577
      C f CN G6 G64      a

```

ФІГ. 1·продовження



ФІГ. 2



ФІГ. 3

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601