



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 120741

(13) C2

(51) МПК

C12N 15/82 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2015 00348	(72) Винахідник(и):	Апonte Рафаель (DE), Треш Штефан (DE), Вічель Маттіас (DE), Лерхль Єнс (DE), Полік Джілл Марі (US), Броммер Чед (US), Зайсер Тобіас (DE), Масса Даріо (DE)
(22) Дата подання заявки:	19.06.2013	(73) Власник(и):	БАСФ АГРО Б.В., Groningsingel 1, NL-6835 EA Arnhem, The Netherlands (NL)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.02.2020	(74) Представник:	Пахаренко Олександр Володимирович, реєстр. №136
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/661,364, 12172557.6	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2010100988 A1, 22.04.2010 US 5939602 A, 17.08.1999 WO 2011/018486 A2, 17.02.2011 WO 2012/080975 A1, 21.06.2012 X. Li, "Development of Protoporphyrinogen Oxidase as an Efficient Selection Marker for Agrobacterium tumefaciens-Mediated Transformation of Maize", Plant Physiology, 11.09.2003, vol. 133, no. 2, P. 736–747 Hao Ge-Fei et al, "Protoporphyrinogen Oxidase Inhibitor: An Ideal Target for Herbicide Discovery", Chimia, Schweizerische Chemische Gesellschaft, CH, 01.12.2011, vol. 65, no. 12, P. 961 - 969
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	19.06.2012, 19.06.2012		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.06.2015, Бюл.№ 12		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.02.2020, Бюл.№ 3		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2013/062744, 19.06.2013		

(54) РОСЛИНА З МУТОВАНОЮ ПРОТОПОРФІРИНОГЕНОКСИДАЗОЮ**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу підвищення росту культурних рослин за допомогою контролю небажаної рослинності, що оточує ці культурні рослини в місці вирощування рослини шляхом забезпечення на зазначеному місці рослини, що містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує мутовану протопорфіриногеноксидазу (mut-PPO) та нанесення на зазначене місце ефективної кількості зазначеного гербіциду. Винахід також стосується виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO поліпептид; поліпептиду mut-PPO; клітини трансгенної рослини; трансгенної рослини; рослини, що експресує мутагенізований або рекомбінантний mut-PPO поліпептид, та способу одержання трансгенної рослини.

UA 120741 C2

Даний винахід стосується, загалом, способів надання рослинам толерантності до гербіциду на сільськогосподарському рівні. Зокрема, даний винахід відноситься до рослин, які мають підвищену стійкість до РРО-інгібуючих гербіцидів. Більш конкретно, даний винахід відноситься до способів і рослин, отриманих в результаті мутагенезу, схрещування і трансформації, які

мають підвищену стійкість до РРО-інгібуючих гербіцидів.

Передумови створення винаходу

Гербіциди, які інгібують протопорфіриногеноксидазу (у цій заявці нижче за текстом Protox або РРО; ЕС:1.3.3.4), ключовий фермент у біосинтезі протопорфірину IX, використовувалися для селективного контролю бур'янів з 60-х років минулого століття. РРО каталізує останню загальну стадію в біосинтезі хлорофілу і гема, а саме окиснення протопорфіриногену IX в протопорфірин IX. (Matrinngge et al., 1989. Biochem. 1. 260: 231). РРО-інгібуючі гербіциди включають багато різних за структурою класів молекул (Duke et al. 1991. Weed Sci. 39: 465; Nandihalli et al. 1992. Pesticide Biochem. Physiol. 43: 193; Matrinngge et al. 1989. FEBS Lett. 245: 35; Yanase and Taoh. 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 оксифторфен, 2-хлор-1-(3-етокси-4-нітрофенокси)-4-(трифторбензол)), оксидіазоли, (наприклад, оксидіазон, 3-(2,4-дихлор-5-(1-метилетокси)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; хлорофталім, N-(4-хлорфеніл)-3,4,5,6-тетрагідрофталімід), фенілпіразоли (наприклад, TNPP-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- і піперідинкарбаматні аналоги. Багато з цих сполук конкурентно інгібують нормальну реакцію, каталізовану ферментом, який, імовірно, діє як аналоги субстрату.

Застосування РРО-інгібуючих гербіцидів призводить до накопичення протопорфіриногену IX в хлоропласті і мітохондріях, які, як вважається, витікають у цитозоль, де окиснюються пероксидазою. Під впливом світла протопорфірин IX викликає утворення синглетного кисню в цитозолі і утворення інших видів реактивного кисню, що може призвести до перекисного окиснення ліпідів і руйнування мембрани, що призводить до швидкої загибелі клітин (Lee et al. 1993. Plant Physiol. 102: 881). Не всі ферменти РРО чутливі до гербіцидів, що інгібують рослинні РРО ферменти. Як *Escherichia coli*, так і *Bacillus subtilis* РРО ферменти (Sasarmen et al. 1993. Can. J. Microbial. 39: 1155; Dailey et al. 1994. J. Biol. Chem. 269: 813), стійкі до цих гербіцидних інгібіторів. Мутанти одноклітинної водорості *Chlamydomonas reinhardtii*, стійкі до фенілімідного гербіциду S-23142 були розкриті (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). Щонайменше один з цих мутантів, як видається, має змінену активність РРО, що стійкий не тільки до гербіцидного інгібітора, на якому був обраний мутант, але також і до інших класів інгібіторів протоксу (Oshio et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c: 339; Sato et al. 1994. In ACS Symposium on Porphyrin Pesticides, S. Duke, ed. ACS Press: Washington, D.C.). Також повідомлялося, що мутантна клітинна лінія тютюну, має стійкість до впливу інгібітору S-21432 (Che et al. 1993.3. Naturforsch. 48c: 350). Ауксотрофні мутанти *E.coli* були використані для підтвердження стійкості до гербіцидів клонованих рослин РРО-інгібуючих гербіцидів.

Наявні три основні стратегії для створення рослин, стійких до гербіцидів, тобто (1) детоксикація гербіциду ферментом, який перетворює гербіцид або його активний метаболіт, на нетоксичні продукти, такі як, наприклад, ферменти толерантності до бромоксинілу або баста (EP242236, EP337899); (2) мутація цільового ферменту у функціональний фермент, який менш чутливий до гербіцидів, або його активний метаболіт, такий як, наприклад, фермент толерантності до гліфосату (EP293356, Padgett et al., J.Biol.Chem, 266, 33, 1991); або (3) надлишкова експресія чутливого ферменту таким чином, щоб отримати кількість цільового ферменту в рослині, достатню по відношенню до гербіциду, з урахуванням кінетичних констант цього ферменту, так, щоб мати доступну достатню кількість функціонального ферменту, незважаючи на наявність його інгібітора. Третя стратегія була описана для успішного отримання рослин, які були толерантні до інгібіторів РРО (дивись, наприклад, US5,767,373 або US5,939,602, і члени їх патентного сімейства). Додатково, US 2010/0100988 і WO 2007/024739 розкривають нуклеотидні послідовності, що кодують амінокислотні послідовності, які мають ферментну активність, таким чином, щоб амінокислотні послідовності були стійкі до інгібіторів РРО гербіцидних хімічних речовин, зокрема інгібіторів 3-фенілурацил специфічних РРО мутантів.

На сьогоднішній день рівень техніки не описує РРО-інгібуючих гербіцидів рослин, що містять

щонайменше, одну нуклеїнову кислоту PPO дикого типу або мутантну за даним винаходом. Також в попередньому рівні техніки не описано толерантні до PPO-інгібуючих гербіцидів культурні рослини, що містять мутації в геномах, інших, ніж геном, з якого отримано ген PPO. Таким чином, те, що необхідно в даній галузі, є ідентифікацією генів толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду з додаткових геномів і видів. Також необхідні в даній галузі культурні рослини, які мають підвищену стійкість до гербіцидів, таких як PPO-інгібуючі гербіциди та містять, щонайменше, одну нуклеїнову кислоту PPO дикого типу та/або мутантну. Також необхідні способи контролю росту бур'янів в безпосередній близькості від таких культурних рослин. Ці композиції і способи дозволять використання методів обприскування при застосуванні гербіцидів в районах, що містять культурні рослини.

Стислий опис винаходу

Дана проблема вирішується за допомогою способу за даним винаходом, який відноситься до способів боротьби з небажаною рослинністю на місці культивування рослин, де спосіб включає стадії:

а) забезпечення, на зазначеному місці, рослини, яка містить, щонайменше, одну нуклеїнову кислоту, що містить нуклеотидну послідовність, яка кодує протопорфіриноген-оксидазу (PPO) дикого типу або мутантну протопорфіриноген-оксидазу (mut-PPO), яка стійка або толерантна до PPO-інгібуючого гербіциду,

б) нанесення на вказане місце ефективною кількістю зазначеного гербіциду. Додатково, даний винахід відноситься до способу ідентифікації PPO-інгібуючих гербіцидів за допомогою дикого типу або mut-PPO за даним винаходом, кодованих нуклеїновою кислотою, яка містить нуклеотидну послідовність 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 її варіантом.

Зазначений спосіб включає стадії:

а) отримання трансгенної рослини або клітини, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує mut-PPO за даним винаходом, де mut-PPO за даним винаходом експресується;

б) нанесення PPO-інгібуючого гербіциду на трансгенну клітину або рослину за а) та контрольну клітину або рослину того ж сорту;

в) ідентифікацію зростання або життєздатності трансгенної клітини або рослини та контрольної клітини або рослини після нанесення зазначеної тестової сполуки, і

г) вибір тестових сполук, які забезпечують зниження зростання для контрольної клітини або рослини порівняно зі зростанням трансгенної клітини або рослини.

Інший об'єкт відноситься до способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, що кодує mut-PPO, стійкої чи толерантної до PPO-інгібуючих гербіцидів, де спосіб включає:

а) генерування бібліотеки mut-PPO-кодуючих нуклеїнових кислот,

б) скринінг популяції отриманих в результаті mut-PPO-кодуючих нуклеїнових кислот шляхом експресії кожної із зазначених нуклеїнових кислот в клітині або рослині, та обробку зазначеної клітини або рослини PPO-інгібуючим гербіцидом,

в) порівняння рівнів толерантності до PPO-інгібуючих гербіцидів, що надаються зазначеною популяцією mut-PPO кодуючих нуклеїнових кислот, з рівнем толерантності до PPO-інгібуючих гербіцидів, що надається контрольною PPO-кодуючою нуклеїновою кислотою,

г) вибір щонайменше однієї mut-PPO-кодуючої нуклеїнової кислоти, що забезпечує значно підвищений рівень толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рівнем, що забезпечує контрольна PPO-кодуюча нуклеїнова кислота.

У переважному варіанті здійснення mut-PPO-кодуюча нуклеїнова кислота, обрана на стадії г), забезпечує, щонайменше, вдвічі більшу толерантність до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рівнем, що забезпечує контрольна PPO-кодуюча нуклеїнова кислота.

Стійкість або толерантність може бути визначена шляхом створення трансгенної рослини, що містить послідовність нуклеїнової кислоти бібліотеки стадії а), і порівняння трансгенної рослини з контрольною рослиною.

Інший об'єкт відноситься до способу ідентифікації рослини або водорості, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO, стійкої чи толерантної до PPO-інгібуючого гербіциду, де спосіб включає:

а) ідентифікацію ефективною кількістю PPO-інгібуючого гербіциду в культурі клітин рослин або зелених водоростей.

б) обробку зазначених клітин рослин або зелених водоростей мутагенезуючим агентом,

в) контактування зазначеної мутагенезованої клітинної популяції з ефективною кількістю PPO-інгібуючого гербіциду, ідентифікованого у а),

г) вибір щонайменше однієї клітини, що вижила з даних тестових умов,

е) ПЛР-ампліфікацію і секвенування генів PPO з клітин, вибраних в d) і порівняння таких послідовностей з послідовностями дикого типу гена PPO, відповідно.

У переважному варіанті здійснення, мутагенезуючий агент являє собою етилметансульфонат. Інший об'єкт стосується виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO, де нуклеїнова кислота містить 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 її варіант, як визначено у цій заявці нижче.

Інший об'єкт стосується виділеного mut-PPO поліпептиду, де поліпептид містить послідовність, представлену 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, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, як визначено у цій заявці нижче.

У переважному варіанті здійснення нуклеїнова кислота ідентифікована за допомогою способу, визначеного вище.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується рослинної клітини, трансформованої та, що експресує нуклеїнову кислоту дикого типу або mut-PPO за даним винаходом, або рослини, яку було мutowано, щоб отримати рослину, що експресує, переважно надлишково експресує нуклеїнову кислоту дикого типу або mut-PPO за даним винаходом, де експресія зазначеної нуклеїнової кислоти в рослинній клітині призводить до збільшення стійкості або толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рослинною клітиною сортів дикого типу.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується рослини, що містить рослинну клітину за даним винаходом, де експресія нуклеїнової кислоти в рослині призводить до підвищеної стійкості рослини до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з сортами рослин дикого типу.

Рослини за даним винаходом можуть бути трансгенними або нетрансгенними.

Переважно, експресія нуклеїнової кислоти за даним винаходом в рослині призводить до збільшення стійкості рослини до PPO-інгібуючих гербіцидів, порівняно з сортами рослин дикого типу.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується насіння, отриманого з трансгенної рослини, що містить рослинну клітину за даним винаходом, де насіння розмножують гомозиготно для підвищеної стійкості до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з сортами насіння дикого типу.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу отримання трансгенної рослинної клітини з підвищеною стійкістю до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рослинною клітиною сортів дикого типу, що містить трансформації рослинної клітини касетою експресії, що містить нуклеїнову кислоту дикого типу або mut-PPO.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу отримання трансгенної рослини, що включає:

(а) трансформацію рослинної клітини касетою експресії, що містить нуклеїнову кислоту дикого типу або mut-PPO, і

(b) генерування рослини з підвищеною стійкістю до PPO-інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.

Переважно, касета експресії додатково містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції і регуляторну ділянку ініціації трансляції, які є функціональними в рослині.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується використання mut-PPO за даним винаходом як селективний маркер. Даний винахід забезпечує спосіб ідентифікації або відбору трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, що включає

а) забезпечення трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, де зазначені трансформована рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або її частина містить виділену нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO поліпептид за даним винаходом, як описано у цій заявці нижче, де поліпептид використовують як селективний маркер, і де вказані трансформовані рослинна клітина, рослинна тканина, рослина або її частина можуть необов'язково містити додатково виділену нуклеїнову кислоту, яку розглядають;

b) контактування трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини, зі щонайменше, однією PPO-інгібуючою сполукою;

с) визначення, чи впливає інгібітор або інгібуюча сполука на рослинну клітину, рослинну тканину, рослину або її частину; і

d) ідентифікацію або відбір трансформованої рослинної клітини, рослинної тканини, рослини або її частини.

Варіантом здійснення даного винаходу також є очищені mut-PPO білки, що містять мутації, описані в цій заявці, які можуть бути використані в дослідженнях з молекулярного моделювання для розробки подальших вдосконалень толерантності до гербіцидів.

Методи очищення білка добре відомі і можуть бути легко виконані з використанням комерційно доступних продуктів або спеціально розроблених методів, як викладено, наприклад, у Protein Biotechnology, Walsh та Headon (Wiley, 1994).

Стислий опис фігур

5 На Фіг. 1 показано вирівнювання амінокислот *Amaranthus tuberculatus* (A.tuberculatus), *Amaranthus tuberculatus resistant* (A.tuberculatus_R), *Arabidopsis thaliana long* (A.thaliana_2), *Spinacia oleracea short* (S.oleracea_2), *Nicotiana tabacum short* (N.tabacum_2), *Glycine max* (Glycine_max), *Arabidopsis thaliana short* (A.thaliana_1), *Nicotiana tabacum long* (N.tabacum_1), *Chlamydomonas reinhardtii long* (C.reinhardtii_1), *Zea mays* (Z.mays), *Oryza sativa* (O.sativa_1),
10 *Solanum tuberosum* (S.tuberosum), *Cucumis sativus* (C.sativus), *Cichorium intybus* (C.intybus_1), *Spinacia oleracea long* (S.oleracea_1), *Polytomella* sp. Pringsheim 198.80 (*Polytomella*) PPO послідовностей. Консервативні ділянки зазначено світло-сірим, сірим і чорним.

На Фіг. 2 показано відбір штамів *Chlamydomonas reinhardtii*, стійких до PPO-інгібуючих гербіцидів 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо
15 [b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4). (А) Мутагенезовані клітини висівали на тверде середовище без відбору агента селекції. (В) Мутагенезовані клітини висівали на тверде середовище, що містить 1×10^{-7} М PPO-інгібуючого гербіциду 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-
20 триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4). Клітини стійкі до PPO-інгібуючого гербіцид-утворюючих колоній (відмічені колом і пронумеровані 31 і 32), в той час як чутливі клітини не ростуть. Більша кількість колоній на планшеті А порівняно з В вказує на те, що колонії на планшеті В стійкі до PPO-інгібуючого гербіциду 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-1,3,5-триазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4).

На Фіг.3 показано характеристики зростання обраних штамів *Chlamydomonas reinhardtii*, як показано на Фіг. 2, стійких до PPO-інгібуючого гербіциду 1,5-диметил-6-тіоксо-3- (2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4). (А) Крива доза-відповідь клітин дикого типу, оброблених PPO-інгібуючим гербіцидом 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діоном (CAS 1258836-72-4) з відповідним IC₅₀. (В)
30 Крива доза-відповідь мутагенезованих клітин (штам 17), оброблених PPO-інгібуючим гербіцидом 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діоном (CAS 1258836-72-4) з відповідним IC₅₀. Штам 17 (В), стійкий до PPO-інгібуючого гербіциду 1,5-диметил-6-тіоксо-3- (2,2,7-трифтор)-1,3,5-триазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4), показує значно нижчий IC₅₀, порівняно з клітинами
35 дикого типу.

На Фіг. 4 показано Т1 рослини сої, дикого типу та трансгенні рослини, оброблені зі вказаною швидкістю обприскування (г а.а./га) PPO гербіцидів, що інгібують, з 1 % MSO.

А означає Т1 рослину сої дикого типу.

В означає соєву рослину, трансформовану нуклеїновою кислотою, що кодує mut-PPO SEQ ID NO: 2, де лейцин в положенні 397 заміщений аспарагіновою кислотою і фенілаланін в положенні 420 заміщений валіном.

1 означає необроблений.

2 означає 150 г сафлуфенацилу.

3 означає 100 г 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4] оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4).

4 означає 150 г флуміоксазину.

5 означає 600 г фомесафену.

Ключ до переліку послідовностей

Таблица 1

SEQ. ID NO:	Опис	Організм	ген	Номер доступу
1	PPO нуклеїнова кислота	<i>Amaranthus</i> (Щириця)	PPX2L_WC	DQ386114
2	PPO амінокислота	<i>Amaranthus</i>	ABD52326	
3	PPO нуклеїнова кислота	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_AC	DQ386117
4	PPO амінокислота	<i>Amaranthus</i>	ABD52329	
5	PPO нуклеїнова кислота	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_CC_R	DQ386118
6	PPO амінокислота	<i>Amaranthus</i>	ABD52330	
7	PPO нуклеїнова кислота	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_AC_R	DQ386116

Таблиця 1

SEQ. ID NO:	Опис	Організм	ген	Номер доступу
8	PPO амінокислота	Amaranthus	ABD52328	
9	PPO нуклеїнова кислота	Arabidopsis (Арабідопсис)	PPX	AB007650
10	PPO амінокислота	Arabidopsis	BAB08301	
11	PPO нуклеїнова кислота	Nicotiana (Тютюн)	ppxl	AF044128
12	PPO амінокислота	Nicotiana	AAD02290	
13	PPO нуклеїнова кислота	Cichorium (Цикорій)	PPX1	AF160961
14	PPO амінокислота	Cichorium	AF160961_1	
15	PPO нуклеїнова кислота	Spinacia (Салат)	SO-POX1	AB029492
16	PPO амінокислота	Spinacia	BAA96808	
17	PPO нуклеїнова кислота	Spinacia	SO-POX2	AB046993
18	PPO амінокислота	Spinacia	BAB60710	
19	PPO нуклеїнова кислота	Solanum (Пасльон)	PPOX	AJ225107
20	PPO амінокислота	Solanum	CAA12400	
21	PPO нуклеїнова кислота	Zea (бавовна)	ZM_BFc0091803	BT063659
22	PPO амінокислота	Zea	ACN28356	
23	PPO нуклеїнова кислота	Zea	prpo2	NM_001111534
24	PPO амінокислота	Zea	NP_001105004	
25	PPO нуклеїнова кислота	Chlamydomonas (Хламідомонада)	Ppx1	AF068635
26	PPO амінокислота	Chlamydomonas	AAC79685	
27	PPO нуклеїнова кислота	Polytomella	PPO	AF332964
28	PPO амінокислота	Polytomella	AF332964_1	
29	PPO нуклеїнова кислота	Sorghum (сорго)	Hyp. Protein	XM_002446665
30	PPO амінокислота	Sorghum	XP_002446710	
31	PPO нуклеїнова кислота	Chlorella (хлорела)		
32	PPO амінокислота	Chlorella		51538
33	PPO нуклеїнова кислота	Oryza (рис)	PPOX1	AB057771
34	PPO амінокислота	Oryza	BAB39760	
35	PPO нуклеїнова кислота	Amaranthus (амарант)	PPX2	DQ386113
36	PPO амінокислота	Amaranthus	ABD52325	
37	PPO нуклеїнова кислота	Arabidopsis	PPOX	NM_178952
38	PPO амінокислота	Arabidopsis	NP_849283	
39	PPO нуклеїнова кислота	Nicotiana	ppxll	AF044129
40	PPO амінокислота	Nicotiana	AAD02291	
41	PPO нуклеїнова кислота	Glycine (гліцин)	hemG	AB025102
42	PPO амінокислота	Glycine	BAA76348	
43	PPO нуклеїнова кислота	Cucumis (огірок)	CsPPO	AB512426
44	PPO амінокислота	Cucumis	BAH84864.1	
45	PPO нуклеїнова кислота	Oryza	Hyp. Protein	AL606613
46	PPO амінокислота	Oryza	CAE01661	

Детальний опис винаходу

5 Форми однини використовують у цій заявці для позначення одного або більш ніж одного (тобто, щонайменше, одного) граматичного об'єкта. Як приклад, "елемент" означає один або декілька елементів. Як використовується у цій заявці, слово "містить", або варіації, такі як "містить" або "що містить", слід розуміти як такі, що включають зазначений елемент, цілого числа або стадії, або групи елементів, цілого числа або стадії, але не виключення будь-якого іншого елемента, цілого числа або стадії, або групи елементів, цілих чисел або стадій.

10 Даний винахід стосується способу боротьби з небажаною рослинністю на місці культивування рослин, де спосіб включає стадії:

а) забезпечення, на зазначеному місці, рослини, яка містить, щонайменше, одну нуклеїнову кислоту, що містить нуклеотидну послідовність, що кодує протопорфіриноген-оксидазу дикого типу або мутовану протопорфіриноген-оксидазу (mut-PPO), стійку чи толерантну до PPO-інгібуючого гербіциду,

б) нанесення на зазначене місце ефективної кількості зазначеного гербіциду.

Термін "контроль небажаної рослинності" слід розуміти як знищення бур'янів та/або іншим чином уповільнення або інгібування нормального росту бур'янів. Під бур'янами, в самому широкому сенсі, маються на увазі всі ті рослини, які зростають в місцях, де вони небажані.

- 5 Бур'яни в даному винаході включають, наприклад, дводольні та однодольні бур'яни. Дводольні бур'яни включають, але не обмежуються наведеним, бур'яни з родів: *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 обмежуються наведеним, бур'яни родів: *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 за даним винаходом можуть
- 15 включати, наприклад, культурні рослини, які зростають в небажаному місці. Наприклад, самопосівну рослину кукурудзи, що знаходиться на полі, яке в основному містить соєві рослини, можна вважати бур'янами, якщо рослина кукурудзи небажана на полі рослин сої. Термін "рослина" використовується у найширшому сенсі, оскільки він стосується органічних матеріалів, і призначений, щоб охопити еукаріотичні організми, які є членами родини *Plantae*, приклади яких
- 20 включають, але не обмежуються наведеним, судинні рослини, овочі, крупи, квіти, дерева, лікарські трави, чагарники, трави, виноград, папороті, мохи, гриби і водорості тощо, а також клони, паростки і частини рослин, які використовують для безстатевого розмноження (наприклад, живці, паростки, пагони, кореневища, підземні стебла, групи дерев, крони, бульби, бульбоцибулини, кореневища, рослини/тканини, вироблені в культурі тканини тощо). Термін "рослина" також включає цільні рослини, попередники і нащадки рослин і частин рослин, у тому числі насіння, пагони, стебла, листя, коріння (у тому числі бульби), квіти, суцвіття, плоди, ніжки стеблин, плодоніжки, тичинки, пилля, рильця, спікули, яєчники, пелюстки, чашолистки, маточки, кінчики кореня, кореневі волоски, волоски листя, волоски насіння, пилкові зерна, мікроспори, сім'ядолі, гіпокотиль, епікотиль, ксилеми, флоєми, паренхіму, ендосперм,
- 25 супутникові клітини, клітини, що замикають, а також будь-які інші відомі органи, тканини і клітини рослин, а також тканини і органи, де кожен із зазначених вище містить ген/нуклеїнову кислоту, що розглядається.

Термін "рослина" включає також рослинні клітини, суспензійні культури, калусні тканини, зародки, меристематичні ділянки, гаметофіти, спорофіти, пилки і мікроспори, де кожен з вищезазначених містить ген/нуклеїнову кислоту, що розглядаються.

- 35 Рослини, які особливо корисні в способах за даним винаходом, включають всі рослини, які відносяться до надродової *Viridiplantae*, зокрема, однодольних і дводольних рослин, включаючи кормові боби, декоративні рослини, сільськогосподарські культури, дерева або чагарники, вибрані з списку, що включає *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. (наприклад, *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [канола, ріпак олійний, ріпа олійна]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum* spp., *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macrocarpa*, *Carya* spp., *Carthamus tinctorius*, *Castanea* spp., *Celastrus 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.,
- 40 *Dimocarpus 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 pyriforme*), *Macrotyloma* spp., *Malus* spp., *Malpighia emarginata*, *Mammea americana*, *Mangifera indica*, *Manihot* spp., *Manilkara zapota*, *Medicago sativa*,
- 50 *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.,
 5 *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*,
 10 *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, капусту, ріпак, моркву, цвітну капусту, селеру, зелень, льон, кучеряву капусту, сочевицю, ріпак, бамію, цибулю, картоплю, рис, сою, полуницю,
 15 цукровий буряк, цукровий очерет, соняшник, помідори, кабачки, чай і водорості тощо. Відповідно до переважного варіанту здійснення даного винаходу, рослина являє собою культурну рослину. Приклади сільськогосподарських культур включають, зокрема сою, соняшник, ріпак, люцерну, рапс, бавовну, помідори, картоплю або тютюн. Додатково, переважно
 20 рослина є однодольною рослиною, такою як цукровий очерет. Додатково, переважно рослина є зерновим, таким як рис, кукурудза, пшениця, ячмінь, просо, жито, сорго або овес. У переважному варіанті здійснення даного винаходу рослину раніше отримали способом, що включає рекомбінантне одержання рослини шляхом введення і надлишкової експресії дикого типу або *mut-PPO* трансгену за даним винаходом, як описано більш детально у представленій заявці. В іншому переважному варіанті здійснення даного винаходу рослину раніше отримали
 25 способом, що включає *in situ* мутагенез рослинних клітин, щоб отримати рослинні клітини, які експресують *mut-PPO*.

Як описано у цій заявці, нуклеїнові кислоти за даним винаходом застосовуються для підвищення стійкості до гербіцидів рослин, які містять в своїх геномах ген, що кодує білок,
 30 толерантний до гербіцидів дикого типу або *mut-PPO*. Такий ген може бути ендемічним геном або трансгеном, як описано нижче. Додатково, в деяких варіантах здійснення нуклеїнові кислоти за даним винаходом можуть вкладатися в будь-якій комбінації полінуклеотидних послідовностей, що розглядаються, для створення рослин з бажаним фенотипом. Наприклад, нуклеїнові кислоти за даним винаходом можуть вкладатися з іншими полінуклеотидами, що
 35 кодують поліпептиди, що мають пестицидну та/або інсектицидну активність, такі як, наприклад, *Bacillus Thuringiensis* токсинові білки (описані в патентах США №№ 5,366,892; 5,747,450; 5,737,514; 5,723,756; 5,593,881; та Geiser et al (1986) Gene 48: 109), 5-енолпірувілкімат-3-фосфат-синтаза (EPSPS), гліфосат ацетил трансфераза (GAT), цитохром P450 монооксигеназа, фосфінотрицинацетилтрансфераза (PAT), ацетооксикислоти синтаза (AHAS; EC 4.1. 3.18, також
 40 відома як ацетолактатсинтаза або ALS), гідроксифенілпіруватдіоксигеназа (HPPD), фітоендесатураза (PD) і дикамб руйнують ферменти, як описано в WO 02/068607, або феноксиацетової кислоти- і феноксипропіонової кислоти похідні, що руйнують ферменти, як описано в WO 2008141 154 або WO 2005107437. Комбінації, що генеруються, можуть також включати множинні копії будь-якого з полінуклеотидів, що розглядаються. Як правило, термін
 45 "гербіцид" використовується у цій заявці для позначення активного інгредієнта, який вбиває, контролює чи інакше несприятливо змінює ріст рослин. Переважна кількість або концентрація гербіциду є "ефективною кількістю" або "ефективною концентрацією". Під "ефективною кількістю" і "ефективною концентрацією" маються на увазі призначену кількість і концентрацію, відповідно, які є достатніми, щоб знищити або інгібувати ріст аналогічної рослини дикого типу,
 50 рослинної тканини, рослинної клітини або клітини-господаря, але що вказана кількість не знищує або сильно не інгібує ріст стійких до гербіциду рослин, рослинних тканин, рослинних клітин і клітин-господарів за даним винаходом. Як правило, ефективна кількість гербіциду являє собою кількість, яка зазвичай використовується в системах сільськогосподарського виробництва, щоб знищити бур'яни, що розглядаються. Така кількість відома фахівцям у цій галузі. Гербіцидна активність проявляється гербіцидами, придатними для застосування за даним винаходом, коли вони нанесені безпосередньо на рослину або на локус рослини на будь-якій стадії росту або перед посівом чи пророщуванням. Спостережуваний ефект залежить від видів рослин, що підлягають знищенню, стадії росту рослини, параметрів нанесення розбавлення і розміру крапель обприскування, розміру часток твердих компонентів, умов навколишнього середовища
 55 під час використання, конкретної використовуваної сполуки, використовуваних специфічних

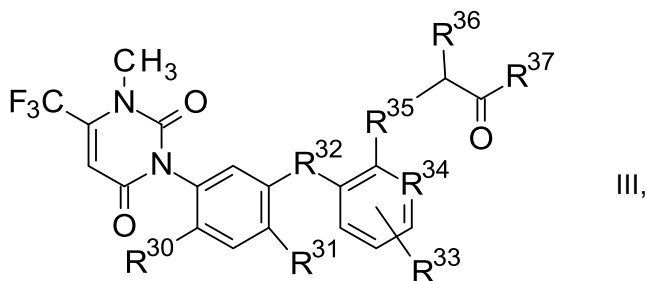
ад'ювантів та носіїв, типу ґрунту тощо, а також кількості нанесених хімікатів. Ці та інші чинники можна регулювати, як відомо в даній галузі, щоб сприяти неселективній або селективній гербіцидній дії. Як правило, переважно застосовувати гербіциди після появи сходів до відносно незрілої небажаної рослинності для досягнення максимальної боротьби з бур'янами. Під "толерантністю до гербіцидів" або "стійкістю до гербіцидів" рослини мається на увазі, що рослина толерантна або стійка до щонайменше, одного гербіцида на рівні, який, як правило, знищує або інгібує ріст нормальної рослини або рослини дикого типу. Під "білком, толерантним до гербіцидів дикого типу або mut-PPO" або "білком, стійким до гербіцидів дикого типу або mut-PPO", передбачається, що такий PPO білок проявляє високу активність PPO, по відношенню до PPO активності PPO білка дикого типу, в присутності, щонайменше, одного гербіциду, що, як відомо, заважає активності PPO та при концентрації або рівні гербіциду, які, як відомо, інгібують активність PPO дикого типу mut-PPO білка. Додатково, PPO активність такого толерантного до гербіцидів або стійкого до білка mut-PPO має у цій заявці назву "толерантної до гербіцидів" або "стійкої до гербіцидів" PPO активності.

Як правило, якщо PPO-інгібуючі гербіциди (A) та/або гербіцидні сполуки B, як описано в цій заявці, які можуть бути використані в контексті даного винаходу, здатні утворювати геометричні ізомери, наприклад, E/Z-ізомери, можна використовувати обидва, чисті ізомери та їх суміші, в композиції за даним винаходом. Якщо PPO-інгібуючі гербіциди та/або гербіцидні сполуки B, як описано у цій заявці, мають один або декілька центрів хіральності і, як наслідок, присутні у вигляді енантіомерів або діастереомерів, можна використовувати обидва, чисті енантіомери і діастереомери та їх суміші в композиціях за даним винаходом. Якщо PPO-інгібуючі гербіциди та/або гербіцидні сполуки B, як описано у цій заявці, містять функціональні групи, що іонізуються, вони також можуть бути використані у вигляді їх сільськогосподарсько прийнятних солей. Придатними є, загалом, солі таких катіонів та кислотно-адитивні солі таких кислот, катіони й аніони яких, відповідно, не мають негативного впливу на активність активних сполук. Переважними катіонами є іони лужних металів, переважно літію, натрій і калію, лужноземельних металів, переважно кальцію і магнію, і перехідних металів, переважно марганцю, міді, цинку і заліза, додатково амонію і заміщеного амонію, де від одного до чотирьох атомів водню заміщені C₁-C₄-алкілом, гідрокси-C₁-C₄-алкілом, C₁-C₄-алкокси-алкілом, гідрокси-C₁-C₄-алкокси-C₁-C₄-алкілом, фенілом або бензилом, переважно амонію, метиламонію, ізопропіламонію, диметиламонію, диізопропіламонію, триметиламонію, гептиламонію, додециламонію, тетрадециламонію, тетраметиламонію, тетраетиламонію, тетрабутиламонію, 2-гідроксиетиламонію (сіль оламіну), 2-(2-гідроксиет-1-окси)ет-1-іламонію(диглікольамінова сіль), ди(2-гідроксиет-1-іл)амонію(сіль діоламіну), трис(2-гідроксietил)амонію (сіль троламіну), трис(2-гідроксипропил)амонію, бензилтриметиламонію, бензилтриетиламонію, N,N,N-триметилетаноламонію (сіль холіну), додатково іонів фосфонію, іонів сульфонію, переважно три(C₁-C₄-алкіл)сульфонію, такого як триметилсульфонію та іонів сульфоксонію, переважно три(C₁-C₄-алкіл)сульфоксонію, і, нарешті, солі багатосновних амінів, таких як N, N-біс-(3-амінопропіл)метиламінів і диетилентриаміну. Аніонами корисних солей приєднання кислот, в першу чергу, є хлорид, бромід, фторид, йодид, гідросульфат, метилсульфат, сульфат, дигідрофосфат, гідрофосфат, нітрат, бікарбонат, карбонат, гексафторсилікат, гексафторфосфат, бензоат, а також аніони C₁-C₄-алканових кислот, переважно форміат, ацетат, пропіонат і бутират.

PPO-інгібуючі гербіциди та/або гербіцидні сполуки B, як описано у цій заявці, що мають карбоксильну групу, можуть бути використані у формі кислоти, у формі сільськогосподарсько придатної солі, як згадувалося вище, або у вигляді сільськогосподарсько прийнятної похідної, наприклад, у вигляді амідів, таких як моно- та ди-C₁-C₆-алкіламіди або ариламіди, як естери, наприклад, алільні естери, пропаргільні естери, C₁-C₁₀-алкільні естери, алкоксиалкільні естери, тефурил((тетра-гідрофуран-2-іл)метил) естери, а також як тіоестери, наприклад, у вигляді C₁-C₁₀-алкілтію естерів. Переважними моно- і ди- C₁-C₆-алкіламідами є метил і диметиламіди. Переважні ариламіди є, наприклад, анілідами і 2-хлоранілідами. Переважними алкільними естерами є, наприклад, метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, ізобутил, пентил, мексил (1-метилгексил), мептил (1-метилгептил), гептил, октил або ізооктил (2-етилгексил) естери. Переважними C₁-C₄-алкокси-C₁-C₄-алкільними естерами є нерозгалужені або розгалужені C₁-C₄-алкокси етилові естери, наприклад, 2-метоксиетілові, 2-етоксиетілові, 2-бутоксietiлові (бутотил), 2-бутоксипропілові або 3-бутоксипропілові естери. Прикладом нерозгалуженого або розгалуженого C₁-C₁₀-алкілтію естеру є етилтіоестер.

Приклади гербіцидів, що інгібують PPO, які можуть бути використані за даним винаходом, являють собою ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, біфенокс, бутафенацил, карфентразон, карфентразон-етил, хлометоксифен, цинідон-етил,

флуазолат, флуфенпір, флуфенпір-етил, флуміклорак, флуміклорак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен, фторглікофен-етил, флутіацет, флутіацет-метил, фомесафен, галосафен, лактофен, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифторфен, пентоксазон, профлуазол, піраклоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тидіазимін, тіафеніцил, хлорнітрофен, флуміпропін, фторнітрофен, флупропацил, фурилоксифен, нітрофлуорофен, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1-Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфуріл-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5]триазанан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон (CAS 1300118-96-0), 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон, метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1-Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-єноат [CAS 948893-00-3], 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1-Н-бензимидазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4), і урацил формули III



III,

де R^{30} та R^{31} незалежно один від одного являють собою F, Cl або CN;

R^{32} являє собою O або S;

R^{33} являє собою H, F, Cl, $\text{CH}_3\text{OCOCH}_3$;

R^{34} являє собою CH або N;

R^{35} являє собою O або S;

R^{36} являє собою H, CN, CH_3 , CF_3 , OCH_3 , OC_2H_5 , SCH_3 , SC_2H_5 , $(\text{CO})\text{OC}_2\text{H}_5$ або CH_2R^{38} , де R^{38} являє собою F, Cl, OCH_3 , SCH_3 , SC_2H_5 , CH_2F , CH_2Br або CH_2OH ;

та

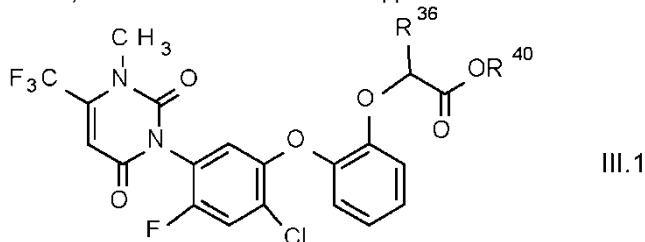
R^{37} являє собою $(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл})\text{аміно}$, $(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-диалкіл})\text{аміно}$, $(\text{NH})\text{OR}^{39}$, OH, OR^{40} або SR^{40} де R^{39} являє собою CH_3 , C_2H_5 або феніл; та R^{40} незалежно один від одного являють собою $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_2\text{-C}_6\text{-алкеніл}$, $\text{C}_3\text{-C}_6\text{-алініл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-галоалкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_2\text{-C}_6\text{-ціаноалкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкокси-карбоніл-}\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкіл-карбоніл-аміно}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкілсульфініл-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл-сульфоніл-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-діалкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл-карбонілокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, феніл-карбоніл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, три($\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$)-силіл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, три($\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$)-силіл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкеніл}$, три($\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$)-силіл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкініл}$, три($\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$)-силіл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, диметиламіно, тетрагідропропаніл, тетрагідрофураніл- $\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$, феніл- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкокси-}\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкіл}$, феніл- $\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$, піридил- $\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкіл}$, піридил, феніл, де піридини та феніли незалежно один від одного заміщені одним-п'ятьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, $\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкілу}$ або $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-галоалкілу}$; $\text{C}_3\text{-C}_6\text{-циклоалкілу}$ або $\text{C}_3\text{-C}_6\text{-циклоалкіл-}\text{C}_1\text{-C}_4\text{-алкілу}$, де циклоалкіли незалежно один від одного є незаміщеними або заміщеними одним-п'ятьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, $\text{C}_1\text{-C}_3\text{-алкілу}$ та $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-галоалкілу}$; включаючи їх прийнятні у сільському господарстві солі лужних металів або амонію,

Переважними РРО-інгібуючими гербіцидами, що можуть бути використані за даним винаходом, є:

ацифторфен, ацифлуорфен-натрій, азафенідин, бенкарбазон, бензфендізон, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуфенпір-етил, флуміклорак-пентил, флуміоксазин, фторглікофен-етил, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксадіазон, оксифторфен, пентоксазон, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-

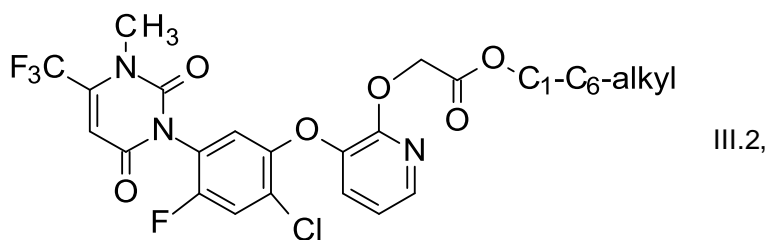
4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл) фенокси]-2-піндилокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5] триазінан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон (CAS 13001 18-96-0); 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 1304113-05-0), 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1H-бензимидазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4)

урацил Формула III.1 (відповідно до урацилу формули III, де R^{30} являє собою F, R^{31} являє собою Cl, R^{32} являє собою являє собою O; R^{33} являє собою H; R^{34} являє собою CH; R^{35} являє собою O, а R^{37} являє собою OR^{40} де R^{40} являє собою C_1 - C_6 -алкіл



III.1

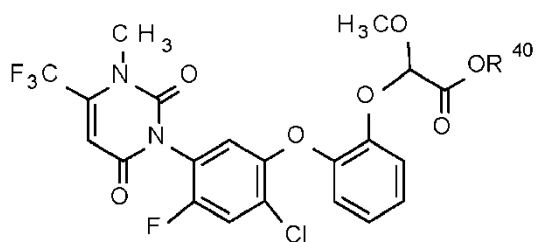
де R^{36} являє собою OCH_3 , OC_2H_5 , SCH_3 або SC_2H_5 та R^{40} являє собою C_1 - C_6 -алкіл, C_2 - C_6 -алкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_1 - C_6 -галогеналкіл, C_1 - C_6 -алкокси- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -алкокси- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_3 -ціаноалкіл, фенол- C_1 - C_3 -алкіл, піридин- C_1 - C_3 -алкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_4 -алкіл, де циклоалкіли є незаміщеними або заміщеними одним-п'ятьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, C_1 - C_3 -алкілу і C_1 - C_2 -галогеналкілу; і урацилу формули III.2 (відповідно до урацилу формули III, де R^{30} являє собою F, R^{31} являє собою Cl; R^{32} являє собою являє собою O; R^{33} являє собою H; R^{34} являє собою N; R^{35} являє собою O, а R^{37} являє собою OR^{40} де R^{40} являє собою C_1 - C_6 -алкіл)



III.2,

Особливо переважними РРО-інгібуючими гербіцидами, які можуть бути використані за даним винаходом, є: ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуміоксазин, флутфацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5]триазінан-2,4-діон (CAS 451484-50-7), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), і 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4] оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон (CAS 1300118-96-0), 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 1304113-05-0),

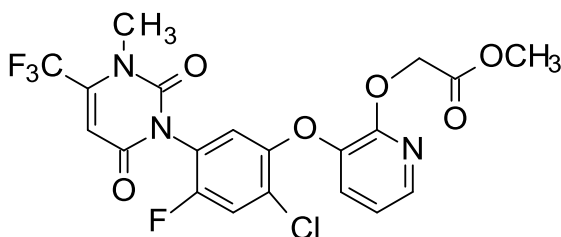
урацил формули III.1.1 (відповідно до урацилу формули III, де R^{30} являє собою F, R^{31} являє собою Cl, R^{32} являє собою O; R^{33} являє собою H; R^{34} являє собою CH; R^{35} являє собою O, R^{36} являє собою OCH_3 , та R^{37} являє собою OR^{40}



III.1.1,

де R^{40} являє собою C_1 - C_6 -алкіл, C_2 - C_6 -алкеніл, C_3 - C_6 -алкініл, C_1 - C_6 -галогеналкіл, C_1 - C_6 -алкокси- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_6 -алкокси- C_1 - C_6 -алкокси- C_1 - C_6 -алкіл, C_1 - C_3 -ціаноалкіл, феніл- C_1 - C_3 -алкіл, піридил- C_1 - C_3 -алкіл, C_3 - C_6 -циклоалкіл або C_3 - C_6 -циклоалкіл- C_1 - C_4 -алкіл, де циклоалкіли є незаміщеними або заміщеними одним-п'ятьма замісниками, вибраними з групи, що складається з галогену, C_1 - C_3 -алкілу, C_2 - C_6 -галогеналкілу; переважно CH_3 , $CH_2CH_2OC_2H_5$, CH_2CHF_2 , циклогексила, (1-метилциклопропіл)метилу або CH_2 (піридин-4-ілу);

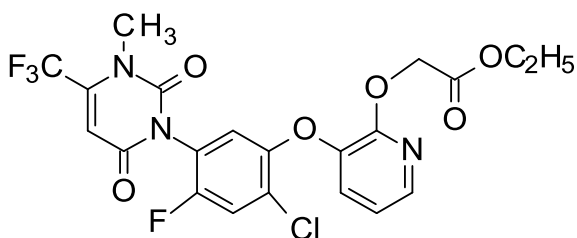
урацилів формули III.2.1 (відповідно до урацилу формули III, в якому R^{30} являє собою F, R^{31} являє собою Cl; R^{32} являє собою O; R^{33} являє собою H; R^{34} являє собою N; R^{35} являє собою O, а R^{37} являє собою OR^{40} являє собою CH_3)



III.2.1,

i

урацилів формули III.2.2 (відповідно до урацилів формули III, де R^{30} являє собою F, R^{31} являє собою Cl; R^{32} являє собою O; R^{33} являє собою H; R^{34} являє собою N; R^{35} являє собою O, а R^{37} являє собою OR^{40} де R^{40} являє собою C_2H_5)



III.2.2,

Особливо переважними РРО-інгібуючими гербіцидами є інгібуючі РРО гербіциди. А.1 - А.14 перераховані нижче в таблиці А:

Таблица А

A.1	Ацифлуорфен
A.2	Бутафенацил
A.3	карфентразон-етил
A.4	Цинідон-етил
A.5	Флуміоксазин
A.6	флутіацет-метил
A.7	фомесафен
A.8	лактофен
A.9	аксациаргіл
A.10	оксифторфен
A.11	сафлуфенацил
A.12	сульфентразон
A.13	етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6)
A.14	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)

РРО-інгібуючі гербіциди, описані вище, які корисні для здійснення даного винаходу, переважніше застосовувати в поєднанні з одним або декількома іншими гербіцидами, щоб отримати контроль над більш широким розмаїттям небажаної рослинності.

Наприклад, РРО-інгібуючі гербіциди, додатково, можуть бути використані в поєднанні з додатковими гербіцидами, до яких культурних рослин, природно, толерантні, або до яких вони стійкі за експресією одного або більше додаткових трансгенів, як згадувалося вище.

При використанні в поєднанні з іншими гербіцидами-мішенями, заявлені в даний час сполуки можуть бути складені у композиції з іншим гербіцидом або гербіцидами, змішані в резервуарі з іншим гербіцидом або гербіцидами, або їх наносять послідовно з іншим гербіцидом або гербіцидами.

Відповідні компоненти для сумішей, наприклад, вибирають з класу гербіцидів від b1) до b15) B) гербіциди класу b1)- b15):

b1) інгібітори біосинтезу ліпідів;

b2) інгібітори ацетолактатсинтази (інгібітори ALS);

b3) інгібітори фотосинтезу;

b4) інгібітори протопорфіриногену IX-оксидази,

b5) гербіциди-відбілювачі;

b6) інгібітори енолпірувілшикімат 3-фосфат-синтази (EPSP інгібітори);

b7) інгібітори глутамінсинтетази;

b8) 7,8-дигідрофтороат інгібітори синтази (інгібітори DHP);

b9) інгібітори мітозу;

b10) інгібітори синтезу жирних кислот з дуже довгим ланцюгом (інгібітори VLCFA);

b11) інгібітори біосинтезу целюлози;

b12) гербіциди руйнування зв'язків;

b13) ауксинові гербіциди;

b14) інгібітори переносу ауксину; і

b15) інші гербіциди, вибрані з групи, що складається з бромобутиду, хлорфлуренолу, хлорфлуренол-метилу, цинметиліну, кумілуруну, далапону, дазомету, дифензоквату, дифензокват-метилсульфату, диметипіну, ДДМА, димрону, ендоталу і його солей, етобензаніду, флампропу, флампроп-ізопропілу, флампроп-метилу, флампроп-М-ізопропілу, флампроп-М-метилу, флуренолу, флуренол-бутилу, флурпримідолу, фозаміну, фозамін-амонію, інданфану, індазифламу, малеїнового гідрозиду, мефлуїдиду, метаму, метіозоліну (CAS 403640-27-7), метил азиду, бромистого метилу, метил-димрону, метилйодиду, MSMA, олеїнової кислоти, оксазікломефону, пеларгонової кислоти, пірибутикарбу, квінокламіну, триазифламу, тридифану і 6-хлор-3-(2-циклопропіл-6-метилфенокси)-4-піридиназолу(CAS 499223-49-3) і їх солей та естерів; включаючи їх сільськогосподарсько прийнятні солі або похідні.

Приклади гербіцидів В, які можуть бути використані в поєднанні з РРО-інгібуючими гербіцидами за даним винаходом, являють собою:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів:

АСС-гербіциди, такі як алоксидим, алоксидим-натрій, бутроксидим, клетодим, клодінафоп, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидим, цигалофоп, цигалофоп-бутил, диклофоп, диклофоп-метил, феноксапроп, феноксапроп-етил, феноксапроп-Р, феноксапроп-Р-етил, флуазіфоп, флуазіфоп-бутил, флуазіфоп-Р, флуазіфоп-Р-бутил, галоксифоп, галоксифоп-метил, галоксифоп-Р, галоксифоп-Р-метил, метаміфоп, піноксаден, профоксидим, пропаквізафоп, квізалофоп, квізалофоп-етил, квізалофоп-теруфіл, квізалофоп-Р, квізалофоп-Р-етил, квізалофоп-Р- теруфіл, сетоксидим, тепралоксидим, тралоксидим, 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1'-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н, 6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти; 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий

естер вугільної кислоти (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2H-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1033760-58-5); і які не є АСС гербіцидами, такими як бенфуресат, бутилат, циклоат, далапон, димепіперат, ЕРТС, еспрокарб, етофумезат, флупропанат, молінат, орбен-карб, пебулат, просульфоккарб, ТСА, тіобенкарб, тіокарбазил, тріалат і вернолат;

b2) з групи інгібіторів ALS:

сульфонілсечовини, такі як амідосульфурон, азімсульфурон, бенсульфурон, бенсульфурон-метил, хлоримурон, хлоримурон-етил, хлорсульфурон, ціносульфурон, циклосульфамурон, етаметсульфурон, етаметсульфурон-метил, етокиссульфурон, флазасульфурон, флуцетосульфурон, флупірсульфурон, флупірсульфурон-метил-натрій, форамсульфурон, галосульфурон, галосульфурон метил, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрій, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрій, мезосульфурон, метазосульфурон, метсульфурон, метсульфурон-метил, нікосульфурон, ортосульфамурон, оксасульфурон, примісульфурон, примісульфурон-метил, пропірісульфурон, просульфурон, піразосульфурон, піразосульфурон-етил, римсульфурон, сульфометурон, сульфометурон-метил, сульфосульфурон, тифенсульфурон, тифенсульфурон-метил, триасульфурон, трибенурон, трибенурон-метил, трифлорисульфурон, трифлусульфурон, трифлусульфурон-метил і триосульфурон,

імідазолінони, такі як імазаметабенз, імазаметабенз-метил, імазамокс, імазапик, імазапир, імазахін і імазетапир, триазолопіримідинові гербіциди і сульфаніламід, такі як клорансулам, клорансулам-метил, диклосулам, флуметсулам, флорасулам, метосулам, пенокксулам, піримісульфан і пірокксулам,

піримідинілбензоати, такі як біспірибак, біспірибак-натрій, пірибензоксим, пірифталід, піримінобак, піримінобак-метил, піритіобак, піритіобак-натрій, 4-[[[2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси]феніл]метил]аміно]бензойної кислоти-1-метилетиловий естер (CAS 420138-41-6), 4-[[[2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси]феніл]метил]аміно] бензойної кислоти пропілів естер (CAS 420138-40-5), N-(4-бромфеніл)-2-[[[2-[(4,6-диметокси-2-піримідиніл)окси] бензолметанамін (CAS 420138-01-8), сульфоніламінокарбоніл-триазолінонові гербіциди, такі як флукарбазон, флукарбазон-натрій, пропоксикарбазон, пропоксикарбазон-натрій, тіенкарбазон і тіенкарбазон-метил; і тріафамон;

серед них, переважний варіант здійснення даного винаходу стосується композицій, що містять щонайменше, один імідазоліноновий гербіцид;

b3) з групи, що включає інгібітори фотосинтезу:

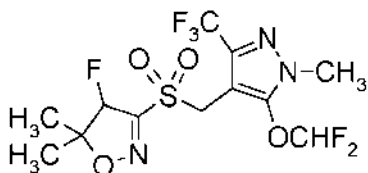
амікарбазон, інгібітори фотосистеми II, наприклад, триазинові гербіциди, в тому числі хлоротриазин, триазинон, триазиндіон, метилтіотриазини, піридазинони, такі як аметрин, атразин, хлоридазон, ціаназин, десметрин, диметаметрин, гексазинон, метрибузин, прометон, прометрин, пропазин, сімацин, сіметрин, тербуметон, тербуїлазин, тербутрин і триетазин, арилсечовини, такі як хлоробромурон, хлоротолурон, хлороксурон, димефурон, діурон, флуометурон, ізопротурон, ізоурон, лінурон, метамітрон, метабензтіазурон, метобензурон, метоксурон, монолінурон, небурон, сидурон, тебутіурон і тіадіазурон, фенілкарбамати, такі як десмедифам, карбутилат, фенмедифам, фенмедифам-етил, нітрилові гербіциди, такі як бромоксиніл бромфеноксим, і їх солі і естери, іоксиніл та його солі і естери, урацили, такі як бромацил, ленацил і тербацил, та бентазон і бентазон-натрій, піридат, піридафол, пентанохлор і пропаніл та інгібітори фотосистеми I, такі як дикват, дикват-дибромід, паракват, паракват дихлорид і паракват-диметилсульфат.

Серед них переважний варіант здійснення даного винаходу стосується таких композицій, що містять, щонайменше, один гербіцид на основі арил сечовини. Серед них, аналогічно переважний варіант здійснення даного винаходу стосується таких композицій, що містять щонайменше один триазиновий гербіцид. Серед них, аналогічно переважний варіант здійснення даного винаходу стосується таких композицій, що містять щонайменше один нітрильний гербіцид;

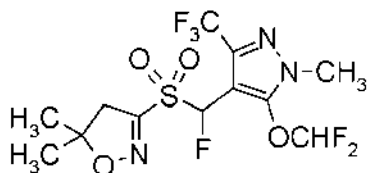
b4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-ІХ оксидази:

ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, азафенидин, бенкарбазон, бензфендизон, біфенокс, бутафенацил, карфентразон, карфентразон-етил, хлометоксифен, цинідон-етил, флуазолат, флуфенпир, флуфенпир-етил, флуміклолак, флуміклолак-пентил, флуміоксазин, фтороглікофен, фтороглікофен-етил, флутіацет, флутіацет-метил, фомесафен, галосафен, лактофен, оксадиаргіл, оксадиазон, оксифторфен, пентоксазен, профлуазол, піраклоніл, пірафлуфен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, тіадіазимін, тіафенацил, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл) феноксид]-2-піриділоксид] ацетат (CAS 353292-31-6); S-3100, N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифтор-метилфеноксид)-

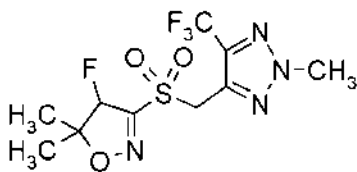
- 5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1H-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5]тріазінан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон, 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2H-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1H-піримідин-2,4 (CAS 13-05-0 13041), метил(Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1H-метил-піразол-3-іл]-4-фторфенокси]-3-метокси-бут-2-єноат [CAS 948893-00-3; і 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1H-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1H-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4);
- b5) з групи відбілюючих гербіцидів:
- 15 PDS інгібітори: бефлубутамід, дифлуфенікан, флурідон, флуорохлорідон, флуртамон, норфлуразон, піколінафен, і 4-(3-трифторметилфенокси)-2-(4-трифторметилфеніл)піримідин (CAS 180608-33-7), інгібітори HPPD: бензобіциклон, бензофенап, кломазон, ізоксафлутол, мезотріон, пірасульфотол, піразолінат, піразоксифен, сулкотріон, тефурилтіон, темботріон, топрамезон і біциклопірон, відбілювач, невідома мішень: аклоніфен, амітрол і флуметурон;
- 20 b6) з групи інгібіторів EPSP синтази: гліфосат, гліфосат-ізопропіламоній, гліфосат калій, і гліфосат-тримезій (сульфосат); b7) з групи інгібіторів глютамін синтази: біланафос (біалафос), біланафос натрій, глюфозінат, глюфозінат-Р і глюфозінат амоній; b8) з групи інгібіторів DHP синтази: асулам;
- 25 b9) з групи інгібіторів мітозу: сполуки групи K1: динітроаніліни, такі як бенфлуралін, бутралін, динітрамін, еталфлуралін, флухлоралін, орізалін, пендиметалін, продіамін і трифлурамін, фосфорамідати, такі як ампрофос, ампрофос-метил і бутаміфос, гербіциди на основі бензойної кислоти, такі як хлорталь, хлорталь-диметил, піридини, такі як дитіопір і тіазопір, бензаміди, такі як пропізамід і тебутам; сполуки групи K2: хлорпрофам, профам і карбетамід, серед них переважні сполуки групи K1, зокрема динітроаніліни;
- 30 b10) з групи інгібіторів VLCFA: хлорацетаміди, такі як ацетохлор, алахлор, бутахлор, диметахлор, диметенамід, диметенамід-Р, метазахлор, метолахлор, метолахлор-S, петоксамід, претілахлор, пропахлор, пропізохлор і тенілахлор, оксиацетаніліди, такі як флуфенацет і мефенацет, ацетаніліди, такі як дифенамід, напроанілід і напропамід, тетразолінони, наприклад, фентразамід, та інші гербіциди, такі як анілофос, кафенстрол, феноксасульффон, іпфенкарбазон, піперофос, піроксасульффон і ізоксазолінові сполуки формул II.1, II.2, II.3, II. 4, II.5, II.6, II.7, II.8 і II.9



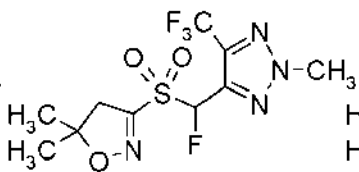
II.1



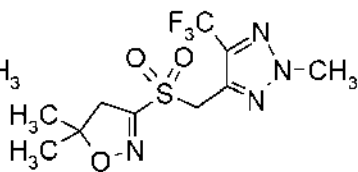
II.2



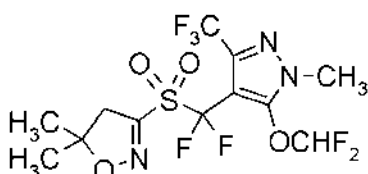
II.3



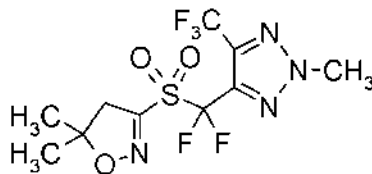
II.4



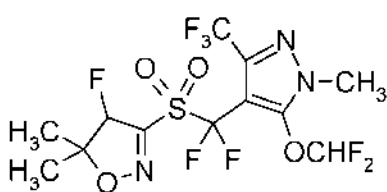
II.5



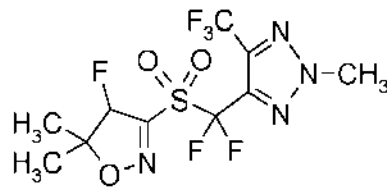
II.6



II.7



II.8



II.9

ізоксазолінові сполуки формули (1)1 відомі в даній галузі, наприклад, з WO 2006/024820, WO 2006/037945, WO 2007/071900 і WO 2007/096576; серед інгібіторів VLCFA, перевага віддається хлорацетамідам і оксиацетамідам;

5 б11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози:

хлортіамід, дихлобеніл, флупоксам, індазіфлам, триазіфлам, ізоксабен і 1-циклогексил-5-пентафторфенілокси-1⁴-[1,2,4,6]тіатриазин-3-іламін;

б12) з групи гербіцидів, що руйнують зв'язки: диносеб, дінотерб і DNOC та його солі;

б13) з групи ауксинових гербіцидів:

10 2,4-D та його солі та естери, такі як клацифос, 2,4-DB, його солі та естери, аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі, такі як амінопіралід-трис(2-гідроксипропіл)амонію і його естери, беназолін, беназолін-етил, хлорамбен та його солі і естери, кломеппроп, клопіралід та його солі і естери, дикамб та його солі і естери, дихлорпроп та його солі і естери, дихлорпроп-Р та його солі і естери, фтороксипір, флуороксипір-бутометил, флуороксипір-мептил, галауксифен та його солі та естери (CAS 943832-60-8); MCPA та його солі та естери, MCPA-тіоетил, MCPB та його солі та естери, мекопроп та його солі та естери, мекопроп-Р та його солі та естери, піклорам та його солі та естери, квінклорак, квінмерак, ТВА (2,3, 6) та його солі і естери та триклопір та його солі та естери;

20 б14) з групи інгібіторів транспортування ауксину: дифлуфензопіром, дифлуфензопір-натрій, напалам і напалам-натрій;

25 б15) з групи інших гербіцидів: бромобутид, хлорфлуренол, хлорфлуренол-метил, цинметилін, кумілуран, циклопіриморат (CAS 499223-49-3) та його солі та естери, далапон, дазомет, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, диметипін, DSMA, димрон, ендотал та його солі, етобензанід, фламппроп, фламппроп-ізопропіл, фламппроп-метил, фламппроп-М-ізопропіл, фламппроп-М-метил, флуренол, флуренол-бутил, флурпіримідол, фозамін, фозамін-амонію,

інданофан, індазіфлам, малеїновий гідрозид, мефлуїдид, метам, метіозолін (CAS 403640-27-7), метил азид, бромистий метил, метил-димрон, метилйодид, MSMA, олеїнова кислота, оксазікломефон, пеларгонова кислота, піробутікарбон, квінокламін, триазіфлам і тридифан.

Переважними гербіцидами В, які можуть бути використані в поєднанні з РРО-інгібіруючими гербіцидами за даним винаходом, є гербіциди:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів: клетодим, клодінафоп-пропаргіл, циклоксидім, цигалофоп-бутил, диклофоп-метил, феноксапроп-Р-етил, флуазифоп-Р-бутил, галоксифоп-Р-метил, метаміфоп, піноксаден, профоксидим, пропаквізафоп, квізафоп-Р-етил, квізалофоп-Р-тефурил, сетоксидим, тепралоксидим, тралкоксидим, 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл [1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2'',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н, 6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2'',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1312337-51-1); 4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти; 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор [1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1312340-83-2); 4-(2'',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1033760-58-5); бенфуресат, димепіперат, ЕРТС, еспрокарб, етофумезат, молінат, орбенкарб, просульфокарб, тіобенкарб і триаллат;

b2) з групи інгібіторів ALS: амідосульфурон, азимсульфурон, бенсульфурон-метил, біспірибак-натрій, хлорімурон-етил, хлорсульфурон, клорансулам-метил, циклосульфамурон, диклосулам, етаметсульфурон-метил, етоксисульфурон, флазасульфурон, флорасулам, флукарбазон-натрій, флуцетосульфурон, флуметсулам, флупірсульфурон-метил-натрій, форамсульфурон, галосульфурон-метил, імазаметабенз-метил, імазамокс, імазапек, імазапек, імазаквін, імазетапек, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрій, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрій, мезосульфурон, метазосульфурон, метосулам, метосульфурон-метил, нікосульфурон, ортосульфамурон, оксасульфурон, пеноксиулам, примісульфурон-метил, пропоксикарбазон-натрій, пропірісульфурон, просульфурон, піразосульфурон-етил, пірибензоксим, піримісульфам, пірифталід, піримінобак-метил, піритіобак натрій, піроксисулам, римсульфурон, сульфометурон-метил, сульфосульфурон, тіенкарбазон-метил, тіфенсульфурон-метил, триасульфурон, трибенурон-метил, трифлорисульфурон, трифлусульфурон-метил, тритосульфурон і триафамон;

b3) з групи, що включає інгібітори фотосинтезу: аметрін, амікарбазон, атразин, бентазон бентазон-натрій, бромексініл та його солі та естери, хлорідазон, хлоротолурон, ціаназин, десмедифам, дикват-дибромід, діурон, флуометурон, гексазіон, іоксініл та його солі та естери, ізопротурон, ленацил, лінурон, метамітрон, метабензтіазурон, метрибузин, паракват, паракват-дихлорид, фенмедифам, пропаном, піридат, сімазин, тербутрин, тербутілазин і тідазулон;

b4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-ІХ оксидази: ацифлуорфен, натрій ацифлуорфен, азафенідін, бенкарбазон, бензфендізон, бутафенацил, карфентразон-етил, цинідон-етил, флуфенпек-етил, флуміклорак-пентил, флуміоксазин, фтороглікофен-етил, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадиаргіл, оксадіазон, оксифторфен, пентоксазен, пірафлуфен-етил, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4] оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5]тріазінан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4] оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон; 1-

метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон і 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4);

5 b5) з групи відбілюючих гербіцидів: аклоніфен, бефлбутамід, бензобіциклон, кломазон, дифлуфенікан, флуорохлорідон, флуртамон, ізоксафлутол, мезотріон, норфлуразон, піколінафен, пірасульфотол, піразолінат, сулкотріон, тефурилтріон, темботріон, топрамезон, біциклопірон-4-(3-трифторметилфенокси)-2-(4-трифторметилфеніл)піримідин (CAS 180608-33-7), амітрол і флуметурон;

10 b6) з групи інгібіторів EPSP синтази: гліфосат, гліфосат-ізопропіламоній, гліфосат-калій, і гліфосат-тримезіум (сульфосат);

b7) з групи інгібіторів глютамін синтази: глюфозінат, глюфозінат-Р, глюфозінат амонію;

b8) з групи інгібіторів DHP-синтази: асулам;

b9) з групи інгібіторів мітозу: бенфлуралін, дитіопір, еталфлуралін, оризалін, пендиметалін, тіазопір і трифлуралін;

15 b10) з групи інгібіторів VLCFA: ацетохлор, алахлор, анілофос, бутахлор, кафенстрол, диметенамід, диметенамід-Р, фентразамід, флуфенацет, мефенацет, метазахлор, метолахлор, S-метолахлор, напроанлід, напропамід, претілахлор, феноксасульфон, іпфенкарбазон, піроксасульфон тенілхлор та ізоксазолінові сполуки Формули 11.1, 11.2, 11.3, 11.4, 11.5, 11.6, 11.7, 11.8 і 11.9, як вже згадувалося вище;

20 b11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози: дихлобеніл, флупоксам, ізоксабен та 1-циклогексил-5-пентафторфенілокси-14-[1,2,4,6] тіатриазин-3-іламін;

b13) з групи ауксинових гербіцидів: 2,4-D та його солі та естери, аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі, такі як амінопіралід-трис(2-гідроксипропіл)амоній і його естери, клопіралід та його солі і естери, дикамба та його солі і естери, дихлорпроп-Р та його солі та естери, флуороксіпир-мептил, галауксифен та його солі та естери (CAS 943832-60-8), MCPA та його солі та естери, MCPB та його солі та естери, мекопроп-Р та його солі та естери, піклорам та його солі та естери, квінклорак, квінмерак і триклопір та його солі та естери;

b14) з групи інгібіторів транспортування ауксину: дифлуфензопіром і дифлуфензопір-натрій;

30 b15) з групи інших гербіцидів: бромобутид, цинметилін, кумілулон, циклопіріморат (CAS 499223-49-3) та його солі та естери, далапон, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, ДДМА, димрон (=даймурон), флампроп, флампроп-ізопропіл, флампроп-метил, флампроп-М ізопропіл, флампроп-М-метил, інданофан, індазіфлам, метам, метилбромид, MSMA, оксазімefon, пірибутікарб, триазіфлам і тридіфан.

35 Переважними гербіцидами В, які можуть бути використані в поєднанні з РРО-інгібуючими гербіцидами за даним винаходом, є:

b1) з групи інгібіторів біосинтезу ліпідів: клодінафоп-пропаргіл, циклоксидім, цигалофоп-бутил, феноксапроп-Р-етил, піноксаден, профоксидім, тепралоксидім, тралоксидім, 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-72-6); 4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3(6Н)-он (CAS 1033757-93-5); 4-(2'',4'-дихлор-4-етил [1,1-біфеніл]-3-іл)-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3,5(4Н, 6Н)-діон (CAS 1312340-84-3); 5-(ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312337-48-6); 5-(ацетилокси)-4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он; 5- (ацетилокси)-4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1312340-82-1); 5-(ацетилокси)-4-(2'',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-3,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-2Н-піран-3-он (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-хлор-4-циклопропіл-2'-фтор[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1312337-51-1); 4-(2'',4'-дихлор-4-циклопропіл[1,1'-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер карбонової кислоти; 4-(4'-хлор-4-етил-2'-фтор [1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1312340-83-2); 4-(2'',4'-дихлор-4-етил[1,1-біфеніл]-3-іл)-5,6-дигідро-2,2,6,6-тетраметил-5-оксо-2Н-піран-3-іл метиловий естер вугільної кислоти (CAS 1033760-58-5); еспрокарб, просульфоккарб, тіобенкарб і триаллат;

55 b2) з групи інгібіторів ALS: бенсульфурон-метил, біспірибак-натрій, циклосульфамурон, диклосулам, флуметсулам, флупірсульфурон-метил-натрій, форамсульфурон, імазамокс, імазапек, імазапек, імазаксин, імазетапек, імазосульфурон, йодосульфурон, йодосульфурон-метил-натрій, іофенсульфурон, іофенсульфурон-натрій, мезосульфурон, метазосульфурон, нікосульфурон, пенноксулам, пропоксикарбазон-натрій, пропірисульфурон, піразосульфурон-

етил, піроксисулам, римсульфурон, сульфосульфурон, тіенкарбазон-метил, тритосульфурон і триафамон;

5 б3) з групи інгібіторів фотосинтезу: аметрин, атразин, діурон, флуометурон, гексазінон, ізопротурон, лінурон, метрибузин, паракват, паракват-дихлорид, пропаном, тербутрин і тер-бутилазин;

б4) з групи інгібіторів протопорфіриноген-оксидази IX: ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадиаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл) феноксид]-2-піриділокси] ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]тріазінан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) і 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон і 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трет-фтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон;

б5) з групи відбілюючих гербіцидів: кломазон, дифлуфенікан, флуорохлоридон, ізоксафлутолом, мезотріон, піколінафен, сулкотріон, тефурилтіон, темботріон, топрамезон, біцикло-пірон, амітрол і флуметурон;

б6) з групи EPSP інгібіторів синтази: гліфосат, гліфосат-ізопропіламоній і гліфосат-тримезіум (сульфосат);

б7) з групи інгібіторів глутамін синтази: глюфозінат, глюфозінат-Р і глюфозінат-амоній;

б9) з групи інгібіторів мітозу: пендиметалін і трифлурамін;

б10) з групи інгібіторів VLCFA: ацетохлор, кафенстрол, диметенамід-Р, фентразамід, флуфенацет, мефенацет, метазахлор, метолахлор, S-метолахлор, феноксасульфен, іпфенкарбазон і піроксасульфен. Додатково, перевага віддається ізоксазоліновій сполуці формул 11.1, 11.2, 11.3, 11.4, 11.5, 11.6, 11.7, 11.8 і 11.9 як уже згадувалося вище;

б11) з групи інгібіторів біосинтезу целюлози: ізоксабен;

б13) з групи ауксинових гербіцидів: 2,4-D та його солі і естери, таких як клацифос і аміноциклопірахлор та його солі та естери, амінопіралід та його солі та естери, клопіралід та його солі та естери, дикамба та його солі та естери, флуороксіпір-мептил, квінклорак і квінмерак;

б14) з групи інгібіторів транспортування ауксину: дифлуфензопіром і дифлуфензопір-натрій,

б15) з групи інших гербіцидів: димрон (= даймурон), інданофан, індазіфлам, оксазикломефон і триазифлам.

Крім того, може бути прийнятним застосовувати РРО-інгібуючі гербіциди в комбінації зі сполукою В, описаною вище, в поєднанні із захисними речовинами. Захисні речовини являють собою хімічні сполуки, які запобігають або зменшують пошкодження корисних рослин, не маючи істотного впливу на гербіцидну активність гербіцидів по відношенню до небажаних рослин. Вони можуть бути застосовані або до висівання (наприклад, шляхом обробки насіння, пагонів або саджанців) або нанесені до утворення паростків або після появи сходів корисної рослини.

Крім того, захисні речовини С, РРО-гербіциди, що інгібують та/або гербіциди В, можуть бути застосовані одночасно або послідовно.

Придатними захисними речовинами є, наприклад, (хінолін-8-окси)оцтові кислоти, 1-феніл-5-галогеналкіл-1Н-1,2,4-тріазол-3-карбонові кислоти, 1-феніл-4,5-дигідро-5-алкіл-1Н-піразол-3,5-дикарбонові кислоти, 4,5-дигідро-5,5-діарил-3-ізоксазол карбонові кислоти, дихлорацетаміди, альфа-оксимінофенілацетонітрили, ацетофеноноксими, 4,6-дігалоген-2-фенілпіримідини, N-[[4-(амінокарбоніл)феніл]сульфоніл]-2-бензойні амід, 1,8-нафталевий ангідрид, 2-галоген-4-(галоалкіл)-5-піридин карбонові кислоти, фосфортіолати і N-алкіл-О- фенілкарбамати та їх сільськогосподарсько прийнятні солі і їх сільськогосподарсько прийнятні похідні, такі як амід, естери, тіоестери і за умови, що вони містять кислотну групу. Прикладами бажаних захисних речовин С є беноксакор, клохінтоцет, ціометриніл, ципросульфамід, дихлормід, дициклонон, діетолат, фенхлоразол, фенклорім, флуразол, флуксофенім, фурілазол, ізоксадифен, мефенпір, мефенат, 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).

Переважними захисними речовинами С є беноксакор, клохінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорім, флуразол, флуксофенім, фурілазол, ізоксадифен, мефенпір, нафталевої 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).

Переважними захисними речовинами С є беноксакор, клохінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорім, фурілазол, ізоксацифен, мефенпір, нафталевий ангідрид, 4-(дихлорацетил)-1-4-окса-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3), і 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідін (R-29148, CAS 52836-31-4).

5 Також переважними захисними речовинами С є беноксакор, клохінтоцет, ципросульфамід, дихлормід, фенхлоразол, фенклорім, фурілазол, ізоксацифен, мефенпір, 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) і 2,2,5-триметил-3-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідін (R-29148, CAS 52836-31-4).

10 Переважними захисними речовинами С, які, як компонент С, є складовим композиції за даним винаходом, є захисні речовини С, як визначено вище; зокрема, захисні речовини С.1-С.12, наведені нижче в таблиці С:

Таблиця С

	Захисна речовина С
	С.1 беноксакор
	С.2 клохінтоцет
	С.3 ципросульфамід
	С.4 дихлормід
	С.5 фенхлоразол
	С.6 фенклорім
	С.7 фурілазол
	С.8 ізоксацифен
	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-оксазолідін (R-29148, CAS 52836-31-4)

15 РРО-інгібуючі гербіциди та активні сполуки В груп b1) - b15) і активні сполуки С являють собою відомі 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-(дихлорацетил)-1,3-оксазолідін [CAS No. 52836-31 4] також згадується як R-29148. 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан [CAS No. 71526-07-3] також згадується як A0-67 і MON 4660.

20 Призначення активних сполук для відповідних механізмів дії засноване на сучасних знаннях. Якщо декілька механізмів дії відносяться до однієї активної сполуки, цій речовині призначають один механізм дії.

25 Активні сполуки В і С, що містять карбоксильну групу, можуть бути використані у формі кислоти, у формі прийнятної у сільському господарстві солі, як згадувалося вище, або у вигляді прийнятного у сільському господарстві похідної в композиціях за даним винаходом. У випадку дикамба, прийнятні солі включають ті, в яких протион є сільськогосподарсько прийнятним катіоном. Наприклад, відповідні солі дикамба є дикамба-натрій, дикамба-калій, дикамба-метиламоній, дикамба-діметиламоній, дикамба-ізопропіламоній, дикамба-диглікольамін, дикамба-оламін, дикамба-діоламін, дикамба-троламін, дикамба-N, N-біс(3-амінопропіл)метиламін і дикамба-диетилентриамін.

35 Прикладами прийнятих естерів є дикамба-метил та дикамба-бутоліл. Прийнятними солями 2,4-D є 2,4-D-амоній, 2,4-D-диметиламоній, 2,4-D-диетиламоній, 2,4-D-диетаноламоній (2,4-D-діоламін), 2,4-D-триетаноламоній, 2,4-D-ізопропіламоній, 2,4-D-триізопропаноламоній, 2,4-D-гептиламоній, 2,4-D-додециламоній, 2,4-D-тетрадециламоній, 2,4-D-триетиламоній, 2,4-D-трис(2-гідроксипропіл)амоній, 2,4-D-трис(ізопропіл)амоній, 2,4-D-троламін, 2,4-D-літій, 2,4-D-натрій. Приклади прийнятих естерів 2,4-D являють собою 2,4-D-бутоліл, 2,4-D-2-бутоксипропіл, 2,4-D-3-бутоксипропіл, 2,4-D-бутил, 2,4-D-етил, 2,4-D-етилгексил, 2,4-D-ізобутил, 2,4-D-ізооктил, 2,4-D-ізопропіл, 2,4-D-метил, 2,4-D-метил, 2,4-D-октил, 2,4-D-пентил, 2,4-D-пропіл, 2,4-D-теруфіл та клацифос.

40 Прийнятними солями 2,4-DB є, наприклад, 2,4-DB-натрій, 2,4-DB-калій та 2,4-DB-диметил-амоній. Прийнятними естерами 2,4-DB є, наприклад, 2,4-DB-бутил та 2,4-DB-ізооктил. 45 Прийнятними солями дихлопропу є, наприклад, дихлопроп-натрій, дихлопроп-калій та

дихлопроп-диметиламоній. Приклади прийятних естерів дихлопропу являють собою дихлопроп-бутоліл та дихлопроп-ізооктил.

5 Прийнятні солі та естери МСРА включають МСРА-бутоліл, МСРА-бутил, МСРА-диметиламоній, МСРА-діоламін, МСРА-етил, МСРА-тіоетил, МСРА-2-етилгексил, МСРА-ізобутил, МСРА-ізооктил, МСРА-ізопропіл, МСРА-ізопропіламоній, МСРА-метил, МСРА-оламін, МСРАкалій, МСРА-натрій та МСРА-троламін.

10 Прийнятною сіллю МСРВ є МСРВ натрій. Прийнятним естером МСРВ є МСРВ-етил. Прийнятними солями клопіраліду є клопіралід-калій, клопіралід-оламін та клопіралід-трис-(2-гідроксипропіл)амоній. Прикладом прийятних естерів клопіраліду є клопіралід-метил. Прикладом прийятних естерів флуороксіпіру є флуороксіпір-метил та флуороксіпір-2-бутоксип-1-метилетил, де флуороксіпір-метил є переважним.

Прийнятними солями піклораму є піклорам-диметиламоній, піклорам-калій, піклорам-триізопропаноламоній, піклорам-триізопропіламоній та піклорам-троламін. Прийнятним естером піклораму є піклорам-ізооктил.

15 Прийнятною сіллю триклопіру є триклопір-тріетиламоній. Прийнятними естерами триклопіру є, наприклад, триклопір-етил та триклопір-бутоліл.

20 Прийнятні солі та естери хлорамбену включають хлорамбен-амоній, хлорамбен-діоламін, хлорамбен-метил, хлорамбен-метиламоній та хлорамбен-натрій. Прийнятні солі та естери 2,3,6-ТВА включають 2,3,6-ТВА-диметиламоній, 2,3,6-ТВА-літій, 2,3,6-ТВА-калій та 2,3,6-ТВА-натрій.

Прийнятні солі та естери амінопіраліду включають амінопіралід-калій та амінопіралід-трис-(2-гідроксипропіл)амоній.

25 Прийнятними солями гліфосату є, наприклад, гліфосат-амоній, гліфосат-діамоній, гліфосат-диметиламоній, гліфосат-ізопропіламоній, гліфосат-калій, гліфосат-натрій, гліфосат-тримезіум, а також етаноламінові та діетаноламінові солі, переважно гліфосат-діамоній, гліфосат-ізопропіламоній та гліфосат-тримезіум (сульфосат).

Прийнятною сіллю глуфозінату є, наприклад, глуфозінат-амоній.

Прийнятною сіллю глуфозінату-Р є, наприклад, глуфозінат-Р-амоній.

30 Прийнятними солями та естерами бромоксинілу є, наприклад, бромоксиніл-бутират, бромоксинілгептаноат, бромоксиніл-октаноат, бромоксиніл-калій та бромоксиніл-натрій. Прийнятними солями та естерами іоксонілу є, наприклад, іоксоніл-октаноат, іоксоніл-калій та іоксоніл-натрій.

35 Прийнятні солі та естери мекопроп включають мекопроп-бутоліл, мекопроп-диметиламоній, мекопроп-діоламін, мекопроп-етадил, мекопроп-2-етилгексил, мекопроп-ізооктил, мекопроп-метил, мекопроп-калій, мекопроп-натрій та мекопроп-троламін.

Прийнятними солями мекопропу-Р є, наприклад, мекопроп-Р-бутоліл, мекопроп-Р-диметиламоній, мекопроп-Р-2-етилгексил, мекопроп-Р-ізобутил, мекопроп-Р-калій та мекопроп-Р-натрій.

40 Прийнятною сіллю дифлуфензопіру є, наприклад, дифлуфензопір-натрій.

Прийнятною сіллю напталаму є, наприклад, напталам-натрій.

Прийнятними солями та естерами аміноциклопірахлор є, наприклад, аміноциклопірахлор-диметиламоній, аміноциклопірахлор-метил, аміноциклопірахлор-триізопропаноламоній, аміноциклопірахлор-натрій та аміноциклопірахлор-калій.

45 Прийнятною сіллю квінклораку є, наприклад, квінклорак-диметиламоній. Прийнятною сіллю квінмераку є, наприклад, квінмерак-диметиламоній. Прийнятною сіллю імазамоксу є, наприклад, імазамокс-амоній. Прийнятними солями імазапіку є, наприклад, імазапик-амоній та імазапик-ізопропіламоній. Прийнятними солями імазапіру є, наприклад, імазапир-амоній та імазапир-ізопропіламоній. Прийнятною сіллю імазаквіну є, наприклад, імазаквін-амоній. Прийнятними солями імазетапіру є, наприклад, імазетапир-амоній та імазетапир-ізопропіламоній. Прийнятною сіллю топрамезону є, наприклад, топрамезон-натрій. Переважні варіанти здійснення даного винаходу, наведені у цій заявці, мають бути визнані як переважні незалежно один від одного або у комбінації один з іншим.

Відповідно до переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить як компонент В щонайменше один, найточніше, один гербіцид В.

55 Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить щонайменше два, найточніше, два, гербіциди В, що відрізняються один від одного.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить щонайменше три, найточніше, три, гербіциди В, що відрізняються один від одного.

60 Відповідно до переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен,

ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідол-етил, карфентразон-етил, флумоксазин, флутіацет-метил, фомезафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100; 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та як компонент В щонайменше один, найточніше, один, гербіцид В.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідол-етил, карфентразон-етил, флумоксазин, флутіацет-метил, фомезафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше два, найточніше, два, гербіциди В, що відрізняються один від одного.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить як компонент А щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідол-етил, карфентразон-етил, флумоксазин, флутіацет-метил, фомезафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) та щонайменше три, найточніше, три, гербіциди В, що відрізняються один від одного.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить, додатково до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідол-етил, карфентразон-етил, флумоксазин, флутіацет-метил, фомезафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше одну та, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b1), зокрема вибрану з групи, що складається з клетодиму, клодинафопу, пропаргілу, циклоксидіму, цигалофоп-бутилу, феноксапроп-Р-етилу, флуазіфопу, піноксадену, профоксидиму, квізалофопу, сетоксидиму, тепралоксидиму, тралоксидиму, еспрокарбу, просульфокарбу, тіобенкарбу та триалату.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить, додатково до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідол-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомезан, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше одну та, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b2), зокрема вибрану з групи, що складається з бенсульфурун-метилу, біспірібакнатрію, клорансулам-метилу, циклосульфамурону, диклосуламу, флуметсуламу, флупірссульфурун-метил-натрію, формасульфурону, галосульфурон-метилу, імазамоксу, імазапіку, імізапіру, імазаквіну, імазетапіру, імазосульфурону, іодосульфурону, іодосульфурон-метил-натрію, мезосульфурон-метилу, метазосульфурону, нікосульфурону, пенокксуламу, пропоксикарбазон-натрію, піразосульфурон-етилу, пиритіобак-натрію, пірокксуламу, римсульфуруну, сульфосульфуруну,

тієнкарбазон-метилу, тієнсульфурон-метилу, трифлорисульфурону та тритосульфурону.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить, додатково до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомезан, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше одну та, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b3), зокрема вибрану з групи, що складається з аметрину, атразину, бентазону, бромоксинілу, діурону, флуометурону, гексазінону, ізопротурону, лінуруну, метрибузину, параквату, паракват-дихлориду, прометрину, пропанілу, тербутрину та тербутрилазіну.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить, додатково до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомезан, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше одну та, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b4), зокрема вибрану з групи, що складається з ацифлуорфену, ацифлуорфеннатрій, азафенідіну, бенкарбазону, бензфендізону, біфеноксу, бутафенацилу, карфентразону, карфентразон-етилу, хлоретоксифену, цинідон-етилу, флуазолату, флуфенпіру, флуфенпір-етилу, флуміклораку, флуміклорак-пентилу, флуміоксазину, фтороглікофену, фтороглікофен-етилу, флутіацету, флутіацет-метилу, фомезафену, галосафену, лактофену, оксадіаргілу, оксадіазону, оксифторфену, пентоксазону, профлуазолу, піраклонілу, пірафлуфену, пірафлуфен-етилу, сафлуфенацилу, сульфентразону, тіадіаземіну, тіафенацилу, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетату (CAS 353292-31-6; S-3100), N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксаміду (CAS 452098-92-9), N-тетрагідрофурфуріл-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксаміду (CAS 915396-43-9), N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксаміду (CAS 452099-05-7), N-тетрагідрофурфуріл-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксаміду (CAS 452100-03-7), 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]триазінан-2,4-діон, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діону, 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діону, метил(Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторометокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-єноату [CAS 948893-00-3], 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діону (CAS 212754-02-4).

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу, композиція містить, додатково РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомезан, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6; S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше одну та, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b5), зокрема вибрану з групи, що складається з кломазону, дифлуфенікану, флуорохлорідону, ізоксафлутолу, мезотріону, піколінафену, сулькотріону, тефурилтріону, темботріону, топрамезону, біциклопірону, амітролу та флуометурону.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, як компонент А щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно, ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карнефразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше, одну та, точніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b6), зокрема, яку вибирають з групи, що складається з гліфосату, ізопропіламоній гліфосату і гліфосату-тримезіум (сульфосат).

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, як компонент А, щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл) фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4] оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b7), яку, зокрема, вибирають з групи, що складається з глүфосинату, глүфосинату-Р і глүфосинату-амонію.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, як компонент А, щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4) переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b9), яку, зокрема, вибирають з групи, що складається з пендиметаліну і трифтораіміну.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, як компонент А, щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4] оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), особливо переважно, сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b10), яку, зокрема, вибирають з групи, що складається з ацетохлору, кафенстрола, діметенаміда-Р, фентразаміду, флуфенацету, мефенацету, метазахлору, метолахлору, S-метолахлору, феноксасульфону і піроксасульфона. Додатково, перевага віддається композиціям, що містять як компонент А, щонайменше один, найточніше, один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше, одна і, найточніше, одна гербіцидно активна сполука групи b10), яку, зокрема, вибирають з групи, що складається з ізоксазолінових сполук формул 11.1, 11.2, 11.3, 11.4, 11.5, 11.6, 11.7, 11.8 і 11.9, як визначено вище.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, як компонент А, щонайменше один РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразол-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважно сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), та щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b13), яку зокрема, вибирають з групи, що складається з 2,4-D та його солі і естеру, аміноциклопірахлору та його солей і естерів, амінопіраліду та його солей, таких як амінопіракап-трис(2-гідроксипропіл)амоній і його естери, клопіраліду та його солей і естерів, дикамба та його солей і естерів, флуороксипіриментилу, квінклораку і квінмераку.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, на додаток до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карнефразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси] ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b14), зокрема, вибрану з групи, що складається з дифлуфензопіру і дифлуфензопір-натрію.

Відповідно до іншого переважного варіанту здійснення даного винаходу композиція містить, на додачу до РРО А, переважно ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрій, бутафенацил, цинідон-етил, карфентразон-етил, флуміоксазин, флутіацет-метил, фомесафен, лактофен, оксадіаргіл, оксифторфен, сафлуфенацил, сульфентразон, етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100), 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), переважними є сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4), щонайменше, одну і, найточніше, одну гербіцидно активну сполуку з групи b 15), яку, зокрема, вибирають з групи, що складається з димрону (=діамурон), індановану, індазіфламу, оксазікломефону і триазіфламу.

У цій заявці нижче, термін "бінарні композиції" включає композиції, що містять одну або декілька, наприклад, 1, 2 або 3, активних сполук А РРО та один або більше, наприклад, 1, 2 або 3, гербіцидів В. У бінарній композиції, що містить щонайменше один РРО А як компонент А і, щонайменше, один гербіцид В, масове співвідношення активних сполук А: В, як правило, знаходиться в діапазоні від 1:1000 до 1000:1, переважно в діапазоні від 1:500 до 500:1, зокрема, в діапазоні від 1:250 до 250:1 і особливо переважно в діапазоні від 1:75 до 75:1. Переважними гербіцидами В є гербіциди В, як визначено вище; зокрема гербіциди В.1-В.229, перераховані нижче в таблиці В:

Таблиця В:

	Гербіцид В
В.1	клетодим
В.2	клодінафоп-пропаргіл
В.3	циклоксидім
В.4	цигалофоп-бутил
В.5	феноксапроп-етил
В.6	феноксапроп-Р-етил
В.7	флуазифоп
В.8	метаміфоп
В.9	піноксаден
В.10	профоксидим
В.11	квізалофоп
В.12	сетоксидим

	Гербіцид В
В.31	форамсульфурон
В.32	галосулфурон-метил
В.33	імазамокс
В.34	імазамокс амонію
В.35	імазапик
В.36	імазапик амонію
В.37	імазапик-ізопропіламонію
В.38	імазапир
В.39	імазапир амонію
В.40	імазапир-ізопропіламонію
В.41	імазаквін
В.42	імазахін-амонію

B.13	тепралоксидим
B.14	тралкоксидим
B.15	еспрокарб
B.16	етофумезат
B.17	молінат
B.18	просульфокарб
B.19	тіобенкарб
B.20	тріаллат
B.21	бенсульфурон-метил
B.22	біспірибак натрій
B.23	клорансулам-метил
B.24	хлорсульфурон
B.25	клорімурон
B.26	циклосульфамурон
B.27	діклосулам
B.28	флорасулам
B.29	флуметсулам
B.30	флупірсульфурон-метил-натрій

B.43	імазетапір
B.44	імазетапір амонію
B.45	імазетапір-ізопропіламонію
B.46	імазосульфурон
B.47	йодосульфурон-метил-натрій
B.48	іофенсульфурон
B.49	іофенсульфурон натрій
B.50	мезосульфурон-метил
B.51	метазосульфурон
B.52	метсульфурон-метил
B.53	метосулам
B.54	нікосульфурон
B.55	пенокксулам
B.56	пропоксикарбазон натрій
B.57	піразосульфурон-етил
B.58	пірібензоксим
B.59	піріфталід
B.60	піритіобак натрій

	Гербіцид В
B.61	піроксисулам
B.62	пропірісульфурон
B.63	римсульфурон
B.64	сульфосульфурон
B.65	тієнкарбазон-метил
B.66	тіфенсульфурон-метил
B.67	трибенурон-метил
B.68	тріфлорисульфурон
B.69	трітосульфурон
B.70	тріафамон
B.71	аметрин
B.72	атразин
B.73	бентазон
B.74	бромоксиніл
B.75	бромоксиніл-октаноат
B.76	бромоксиніл-гептаноат
B.77	бромоксиніл калію
B.78	діурон
B.79	флуометурон
B.80	гексазінон
B.81	ізопротурон
B.82	лінурон
B.83	метамітрон
B.84	метрибузин
B.85	прометрин
B.86	пропаном
B.87	сімазин
B.88	тербутилазін
B.89	тербутрін
B.90	паракват-дихлорид
B.91	ацифлуорфен
B.92	ацифлуорфен натрій

	Гербіцид В
B.101	цинідон-етил
B.102	флуазолат
B.103	флуфенпір
B.104	флуфенпір-етил
B.105	флуміклолак
B.106	флуміклолак-пентил
B.107	флуміоксазин
B.108	фтороглікофен
B.109	фтороглікофен-етил
B.110	флутіацет
B.111	флутіацет-метил
B.112	фомесафен
B.113	галосафен
B.114	лактофен
B.115	оксадіаргіл
B.116	оксадіазон
B.117	оксифторфен
B.118	пентоксазен
B.119	профлуазол
B.120	піраконіл
B.121	пірафлуфен
B.122	пірафлуфен-етил
B.123	сафлуфенацил
B.124	сульфентразон
B.125	тіадіазімін
B.126	тіафенацил
B.127	етил[3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-ди-оксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокси]-2-піридилокси]ацетат (CAS 353292-31-6)

B.93	азафенидін
B.94	бенкарбазон
B.95	бензфендізон
B.96	біфенокс
B.97	бутафенацил
B.98	карфентразон
B.99	карфентразон-етил
B.100	хлометоксифен

B.128	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]-оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4)
B.129	N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1 карбоксамід (CAS 452098-92)

	Гербіцид В
B.130	N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5- метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9)
B.131	N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5- метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7)
B.132	N-тетрагідрофурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметил метилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7)
B.133	3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо-[1,3,5]триазінан-2,4-діон
B.134	2- (2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндол-1,3-діон
B.135	1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н- піримідин-2,4-діон

	Гербіцид В
B.136	метил(Е)-4-[2-хлор-5-[4- метилхлор-5-(дифторметокси)-1Н-піразол-3-іл]-4-фтор- фенокси]-3-метокси-бут-2-єноат [CAS 948893-00-3]
B.137	3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н- бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4)
B.138	бензобіциклон
B.139	кломазон
B.140	дифлуфенікан
B.141	флуорохлорідон
B.142	Ізоксафлутол
B.143	мезотріон
B.144	ноर्फлуразон
B.145	піколінафен
B.146	сулкотріон
B.147	тефурилтіон
B.148	темботріон
B.149	топрамезон
B.150	топрамезон-натрій
B.151	біциклопірон
B.152	амітрол
B.153	Флуометурон
B.154	Гліфосатініл
B.155	бензогліфосат-амоній

	Гербіцид В
B.156	гліфосат-діметиламоній
B.157	гліфосат-ізопропіламоній
B.158	гліфосат-тримезіум (сульфосат)
B.159	гліфосат калію
B.160	глюфозінат
B.161	глюфозінат амонію
B.162	глюфозінат-Р
B.163	глюфозінат-Р-амонію
B.164	пендиметалін
B.165	трифлуралін
B.166	ацетохлор
B.167	бутахлорметил
B.168	кафенстрол
B.169	діметенамід-Р
B.170	фентразамід
B.171	флуфенацет
B.172	мефенацет
B.173	метазахлор

	Гербіцид В
B.193	дикамба-дигліколь амін
B.194	дикамба-диметиламоній
B.195	дикамба-діоламін
B.196	дикамба-ізопропіламоній
B.197	дикамба калій
B.198	дикамба натрій
B.199	дикамба-троламін
B.200	дикамба-N,N-біс(3- амінопропіл) метиламін
B.201	дикамба-діетилентріамін
B.202	флуороксибір
B.203	флуороксибір-мептил
B.204	МСРА
B.205	МСРА-2-етилгексил
B.206	МСРА-диметиламоній
B.207	квінклорак
B.208	квінклорак-діметиламоній
B.209	квінмерак

B.174	метолахлор
B.175	S-метолахлор
B.176	претілахлор
B.177	феноксасульфен
B.178	ізоксабен
B.179	іпфенкарбазон
B.180	піроксасульфен
B.181	2,4-D
B.182	2,4-D-ізобутіл
B.183	2,4-D-діметиламоній
B.184	2,4-DN, N, N триметилетаноламоній
B.185	амінопіралід
B.186	амінопіралід-метил
B.187	амінопіралід-трис(2-гідроксипропіл) амонію
B.188	клопіралід
B.189	клопіралід-метил
B.190	клопіралід-оламін
B.191	дикамба
B.192	дикамба-бутоліл

B.210	квінмерак-діметиламоній
B.211	аміноциклопірахлор
B.212	аміноциклопірахлор калій
B.213	аміноциклопірахлор-метил
B.214	дифлуфензопір
B.215	дифлуфензопір натрій
B.216	димрон
B.217	інданофан
B.218	індазіфлам
B.219	оксазікломефон
B.220	триазіфлам
B.221	II.1
B.222	II.2
B.223	II.3
B.224	II.4
B.225	II.5
B.226	II.6
B.227	II.7
B.228	II.8
B.229	II.9

Переважними є композиції від 1.1 до 1.229, що містять ацифлуорфен і речовину(и), як визначено у відповідному рядку таблиці В-1.

Таблиця В-1

(композиції від 1.1 до 1.229):

комп №	гербіцид В
1,1	8,1
1,2	8,2
1,3	8,3
1,4	8,4
1,5	8,5
1,6	8,6
1,7	8,7
1,8	8,8
1,9	8,9
1,10	8,10
1,11	8,11
1,12	8,12
1,13	8,13
1,14	8,14
1,15	8,15
1,16	8,16
1,17	8,17
1,18	8,18
1,19	8,19
1,20	8,20
1,21	8,21
1,22	8,22
1,23	8,23
1,24	8,24
1,25	8,25
1,26	8,26
1,27	8,27
1,28	8,28

комп №	гербіцид В
1.116	B.116
1.117	B.117
1.118	B.118
1.119	B.119
1.120	B.120
1.121	B.121
1.122	B.122
1.123	B.123
1.124	B.124
1.125	B.125
1.126	B.126
1.127	B.127
1.128	B.128
1.129	B.129
1.130	B.130
1.131	B.131
1.132	B.132
1.133	B.133
1.134	B.134
1.135	B.135
1.136	B.136
1.137	B.137
1.138	B.138
1.139	B.139
1.140	B.140
1.141	B.141
1.142	B.142
1.143	B.143

(композиції від 1.1 до 1.229):

1,29	8,29
1,30	8,30
1,31	8,31
1,32	8,32
1,33	8,33
1,34	8,34
1,35	8,35
1,36	8,36
1,37	8,37
1,38	8,38
1,39	8,39
1,40	8,40
1,41	8,41
1,42	8,42
1,43	8,43
1,44	8,44
1,45	8,45
1,46	8,46
1,47	8,47
1,48	8,48
1,49	8,49
1,50	8,50
1,51	8,51
1,52	8,52
1,53	8,53
1,54	8,54
1,55	8,55
1,56	8,56
1,57	8,57
1,58	8,58,
1,59	8,59
1,60	8,60
1,61	8,61
1,62	8,62
1,63	8,63
1,64	8,64
1,65	8,65
1,66	8,66
1,67	8,67
1,68	8,68
1,69	8,69
1,70	8,70
1,71	8,71
1,72	8,72
1,73	8,73
1,74	8,74
1,75	8,75
1,76	8,76
1,77	8,77
1,78	8,78
1,79	8,79
1,80	8,80
1,81	8,81
1,82	8,82

1.144	B.144
1.145	B.145
1.146	B.146
1.147	B.147
1.148	B.148
1.149	B.149
1.150	B.150
1.151	B.151
1.152	B.152
1.153	B.153
1.154	B.154
1.155	B.155
1.156	B.156
1.157	B.157
1.158	B.158
1.159	B.159
1.160	B.160
1.161	B.161
1.162	B.162
1.163	B.163
1.164	B.164
1.165	B.165
1.166	B.166
1.167	B.167
1.168	B.168
1.169	B.169
1.170	B.170
1.171	B.171
1.172	B.172
1.173	B.173
1.174	B.174
1.175	B.175
1.176	B.176
1.177	B.177
1.178	B.178
1.179	B.179
1.180	B.180
1.181	B.181
1.182	B.182
1.183	B.183
1.184	B.184
1.185	B.185
1.186	B.186
1.187	B.187
1.188	B.188
1.189	B.189
1.190	B.190
1.191	B.191
1.192	B.192
1.193	B.193
1.194	B.194
1.195	B.195
1.196	B.196
1.197	B.197

(композиції від 1.1 до 1.229):

1,83	8,83	1.198	B.198
1,84	8,84	1.199	B.199
1,85	8,85	1.200	B.200
1,86	8,86	1.201	B.201
1,87	8,87	1.202	B.202
1,88	8,88	1.203	B.203
1,89	8,89	1.204	B.204
1,90	8,90	1.205	B.205
1,91	8,91	1.206	B.206
1,92	8,92	1.207	B.207
1,93	8,93	1.208	B.208
1,94	8,94	1.209	B.209
1,95	8,95	1.210	B.210
1,96	8,96	1.211	B.211
1,97	8,97	1.212	B.212
1,98	8,98	1.213	B.213
1,99	8,99	1.214	B.214
1,100	8,100	1.215	B.215
1,101	8,101	1.216	B.216
1,102	8,102	1.217	B.217
1,103	8,103	1.218	B.218
1,104	8,104	1.219	B.219
1,105	8,105	1.220	B.220
1.106	B.106	1.221	B.221
1.107	B.107	1.222	B.222
1.108	B.108	1.223	B.223
1.109	B.109	1.224	B.224
1.110	B.110	1.225	B.225
1.111	B.111	1.226	B.226
1.112	B.112	1.227	B.227
1.113	B.113	1.228	B.228
1.114	B.114	1.229	B.229
1.115	B.115		

Також переважними є композиції від 2.1. до 2.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А ацифлуорфен-натрій.

5 Також переважними є композиції від 3.1. до 3.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А азафенідін.

Також переважними є композиції від 4.1. до 4.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А бенкарбазон.

Також переважними є композиції від 5.1. до 5.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А бензфендізон.

10 Також переважними є композиції від 6.1. до 6.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А біфенокс.

Також переважними є композиції від 7.1. до 7.229, які відрізняються від відповідних композицій від 1.1 до 1.227 тільки тим, що вони містять як компонент А бутафенацил.

15 Також переважними є композиції від 8.1. до 8.229, які відрізняються від відповідних композицій від 1.1 до 1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А карфентразон.

Також переважними є композиції від 9.1. до 9.229, які відрізняються від відповідних композицій від 1.1 до 1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А карфентразон-етил.

Також переважними є композиції від 10.1. до 10.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А хлومتоксифен.

20 Також переважними є композиції від 11.1. до 11.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-10.229 тільки тим, що вони містять як компонент А цинідон-етил.

Також переважними є композиції від 12.1. до 12.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуазолат.

Також переважними є композиції від 13.1. до 13.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуфенпір.

5 Також переважними є композиції від 14.1. до 14.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуфенпір-етил.

Також переважними є композиції від 15.1. до 15.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуміклорак.

10 Також переважними є композиції від 16.1. до 16.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуміклорак-пентил.

Також переважними є композиції від 17.1. до 17.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флуміоксаметал.

Також переважними є композиції від 18.1. до 18.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А фторглікофен.

15 Також переважними є композиції від 19.1. до 19.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А фторглікофен-етил.

Також переважними є композиції від 20.1. до 20.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флутіацет.

20 Також переважними є композиції від 21.1. до 21.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А флутіацет-метил.

Також переважними є композиції від 22.1. до 22.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А фомесафен.

Також переважними є композиції від 23.1. до 23.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А галосафен.

25 Також переважними є композиції від 24.1. до 24.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А лактофен.

Також переважними є композиції від 25.1. до 25.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А оксадиаргіл.

30 Також переважними є композиції від 26.1. до 26.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А оксадіазон.

Також переважними є композиції від 27.1. до 27.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А оксифторфен.

Також переважними є композиції від 28.1. до 28.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А пентоксазен.

35 Також переважними є композиції 29.1. в 29.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А профлуазол.

Також переважними є композиції від 30.1. до 30.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А піраклоніл.

40 Також переважними є композиції від 31.1. до 31.229, які відрізняються від відповідних композицій 10.1-10.229 тільки тим, що вони містять як компонент А пірафлуфен.

Також переважними є композиції від 32.1. до 32.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А пірафлуфен-етил.

Також переважними є композиції від 33.1. до 33.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А сафлуфенацил.

45 Також переважними є композиції від 34.1. до 34.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А сульфентразон.

Також переважними є композиції від 35.1. до 35.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А тіадіазимін.

50 Також переважними є композиції від 36.1. до 36.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А тіафенацил.

Також переважними є композиції від 37.1. до 37.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А етил [3-[2-хлор-4-фтор-5-(1-метил-6-трифторметил-2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідропіримідин-3-іл)фенокс]-2-піриділокси]ацетат (CAS 353292-31-6, S-3100).

55 Також переважними є композиції від 38.1. до 38.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-тріазинан-2,4-діон (CAS 1258836-72-4).

Також переважними є композиції від 39.1. до 39.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-етил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452098-92-9).

5 Також переважними є композиції від 40.1. до 40.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-тетрагідрофурил-3-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 915396-43-9).

Також переважними є композиції від 41.1. до 41.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-етил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452099-05-7).

10 Також переважними є композиції від 42.1. до 42.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А N-тетрагідрофурил-3-(2-хлор-6-фтор-4-трифторметилфенокси)-5-метил-1Н-піразол-1-карбоксамід (CAS 452100-03-7).

Також переважними є композиції від 43.1. до 43.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А 3-[7-фтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл]-1,5-диметил-6-тіоксо[1,3,5] триазінан-2,4-діон.

15 Також переважними є композиції від 44.1. до 44.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А метил (Е)-4-[2-хлор-5-[4-хлор-5-(дифторметокси)-1Н-метил-піразол-3-іл]-4-фтор-фенокси]-3-метокси-бут-2-єнові кислоти (CAS 948893-00-3).

20 Також переважними є композиції від 45.1. до 45.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А 3-[7-хлор-5-фтор-2-(трифторметил)-1Н-бензімідазол-4-іл]-1-метил-6-(трифторметил)-1Н-піримідин-2,4-діон (CAS 212754-02-4).

25 Також переважними є композиції від 46.1. до 46.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А 2-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-4,5,6,7-тетрагідро-ізоіндолів-1,3-діон.

Також переважними є композиції від 47.1. до 47.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони містять як компонент А 1-метил-6-трифторметил-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-проп-2-ініл-3,4-дигідро-2Н-бензо[1,4]оксазин-6-іл)-1Н-піримідин-2,4-діон.

30 Також переважними є композиції від 48.1. до 48.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-10.229 тільки тим, що вони додатково містять беноксакор як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 49.1. до 49.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-10.229 тільки тим, що вони додатково містять клохінтоцет як захисну сполуку С.

35 Також переважними є композиції від 50.1. до 50.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-10.229 тільки тим, що вони додатково містять ципросульфамід як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 51.1. до 51.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять дихлормід як захисну сполуку С.

40 Також переважними є композиції від 52.1. до 52.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять фенхлоразол як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 53.1. до 53.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять фенклорім як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 54.1. до 54.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять фурілазол як захисну сполуку С.

45 Також переважними є композиції від 55.1. до 55.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять ізоксадифен як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 56.1. до 56.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять мефенпір як захисну сполуку С.

50 Також переважними є композиції від 57.1. до 57.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-10.229 тільки тим, що вони додатково містять 4-(дихлорацетил)-1-окса-4-азаспіро[4,5]декан (MON4660, CAS 71526-07-3) як захисну сполуку С.

Також переважними є композиції від 58.1. до 58.229, які відрізняються від відповідних композицій 1.1-1.229 тільки тим, що вони додатково містять 2,2,5-триметил-3- (дихлорацетил)-1,3-оксазолідин (R-29148, CAS 52836-31-4) як захисну сполуку С.

55 Як правило, переважно використовують сполуки за даним винаходом в комбінації з гербіцидами, які є селективними щодо культури, що підлягає обробці, і які доповнюють спектр бур'янів, контрольованих цими сполуками при використуванні норми витрати.

60 У цій заявці нижче зазвичай переважно застосовують сполуки за даним винаходом та інші додаткові гербіциди, одночасно, або у вигляді комбінованої лікарської форми або у вигляді резервуарної суміші.

Слід зазначити, що молекули полінуклеотидів і поліпептидів за даним винаходом включають молекули полінуклеотидів і поліпептидів, що містять нуклеотид або амінокислотну послідовність, в достатній мірі ідентичні нуклеотидним послідовностям, зазначених 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 амінокислотним послідовностям, зазначених 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 "в достатній мірі ідентичний" використовується у цій заявці для позначення першої амінокислотної або нуклеотидної послідовності, яка містить достатню або мінімальну кількість ідентичних або еквівалентних (наприклад, з аналогічним бічним ланцюгом) амінокислотних залишків або нуклеотидів до другої амінокислоти або нуклеотидної послідовності таким чином, що перша і друга амінокислотні послідовності нуклеотидів або мають загальний структурний домен та/або загальну функціональну активність.

Як правило, "ідентичність послідовності" відноситься до ступеня, в якому дві оптимально вирівняні ДНК або амінокислотні послідовності інваріантні для вікна вирівнювання компонентів, наприклад, нуклеотидів або амінокислот.

"Ідентичність фракції" для вирівняних сегментів тестової послідовності та еталонної послідовності являє собою кількість однакових компонентів, які є загальними для двох вирівняних послідовностей, поділену на загальне число компонентів в сегменті еталонної послідовності, тобто, вся еталонна послідовність або менше визначається частиною контрольної послідовності.

"Відсоток ідентичності" є ідентичність фракції, помножена на 100. Оптимальне вирівнювання послідовностей для вирівнювання вікна порівняння добре відомі фахівцям у даній галузі, і може бути проведене за допомогою інструментів, таких, як алгоритм локальної гомології Smith і Waterman, алгоритм вирівнювання гомології Needleman і Wunsch, пошук методом подоби Pearson і Lipman, і, переважно комп'ютерних втілень цих алгоритмів, таких як GAP, BESTFIT, FASTA і TFASTA доступні як частина GCG. Wisconsin Package. (Accelrys Inc. Burlington, Mass.)

Полінуклеотиди і олігонуклеотиди

Під "ізолюваним полінуклеотидом", у тому числі ДНК, РНК або їх комбінації, одно- або двохланцюговими, у сенсовій або антисенсовій орієнтації або поєднанням того й іншого, дсРНК чи інакше, мається на увазі полінуклеотид, який щонайменше частково відділений від полінуклеотидних послідовностей, з якими він пов'язаний, або зв'язаний в його нативному стані. Переважно, ізолюваний полінуклеотид щонайменше на 60 %, переважно, щонайменше, на 75 % не містить, і найбільш переважно, щонайменше, 90 % не містить інших компонентів, з якими він природно пов'язаний. Як буде відомо фахівцю у цій галузі, ізолюваний полінуклеотид може бути екзогенним полінуклеотидом, присутнім у, наприклад, трансгенному організмі, який, природно, не містить полінуклеотид. Додатково, терміни "полінуклеотид(и)", "послідовність нуклеїнової кислоти(кислот)", "нуклеотидна послідовність(и)", "нуклеїнова кислота(и)", "молекула нуклеїнової кислоти" використовуються у цій заявці як взаємозамінні і відносяться до нуклеотидів, або рибонуклеотидів або дезоксирибонуклеотидів або їх комбінації, в полімерному нерозгалуженому вигляді будь-якої довжини.

Термін "mut-PPO нуклеїнова кислота" відноситься до нуклеїнової кислоти PPO, яка має послідовність, мутантну від PPO нуклеїнової кислоти дикого типу, що надає підвищену PPO-інгібуючу стійкість до гербіцидів рослині, в якій вона експресується. Додатково, термін "мутантна протопорфіриноген-оксидаза (mut-PPO)" відноситься до заміщення амінокислоти в первинних послідовностях дикого типу 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 варіанту, похідної, гомолога, ортолога або паралога, іншої амінокислоти. Вираз "мутована амінокислота" буде використовуватися нижче для позначення амінокислоти, яка замінена іншою амінокислотою, таким чином, що позначає місце мутації в первинній послідовності білка.

У кращому варіанті здійснення, PPO нуклеотидна послідовність містить послідовність SEQ ID NO: 1, 25, 37 або 39 або її варіант, або її похідну. Додатково, фахівцю в даній галузі буде зрозуміло, що PPO нуклеотидні послідовності охоплюють гомологи, паралоги і ортологи і SEQ ID NO: 1, 25, 37 або 39, як визначено нижче. Термін "варіант" по відношенню до послідовності (наприклад, поліпептидної або послідовності нуклеїнової кислоти, такої як - наприклад, - транскрипція регулююча нуклеотидна послідовність за даним винаходом) означає, по суті, аналогічні послідовності. Для нуклеотидних послідовностей, що містять відкриту рамку читування, її варіанти включають ті послідовності, які, через виродженість генетичного коду, кодуєть ідентичну амінокислотну послідовність нативного білка. Природні алельні варіанти є такими, які можуть бути ідентифіковані з використанням відомих методів молекулярної біології, як, наприклад, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та методи гібридизації. Варіантні

нуклеотидні послідовності також включають синтетично отримані нуклеотидні послідовності, такі які генеруються, наприклад, за допомогою сайт-спрямованого мутагенезу і відкритих рамок зчитування, кодують нативний білок, а також ті, які кодують поліпептид, що має амінокислотні заміщення порівняно з нативним білком. Як правило, варіанти нуклеотидної послідовності за даним винаходом матимуть, щонайменше, 30, 40, 50, 60, 70 %, наприклад, переважно 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, до 79 %, зазвичай щонайменше 80 %, наприклад, 81 % - 84 %, щонайменше, 85 %, наприклад, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % і 99 % нуклеотидної "ідентичності послідовності" до нуклеотидної 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 % ідентичності з полінуклеотидом визначається аналізом GAP (Needleman and Wunsch, 1970) (GCG програма) зі штрафом за створення гепу = 5, і розширенням гепу = 0,3. Якщо не вказано інше, запит послідовності, щонайменше 45 нуклеотидів в довжину, і аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 45 нуклеотидів. Переважно, запит послідовності, щонайменше 150 нуклеотидів в довжину, і аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 150 нуклеотидів. Більш переважно, запит послідовності, щонайменше 300 нуклеотидів в довжину, і аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 300 нуклеотидів. Ще більш переважно, аналіз GAP вирівнює дві послідовності по всій їх довжині.

Поліпептиди

"По суті очищений поліпептид" або "очищений" поліпептид означає, що він був відокремлений від одного або більше ліпідів, нуклеїнових кислот, інших поліпептидів або інших забруднюючих молекул, з якими він пов'язаний в нативному стані. Переважно, щоб, по суті, очищений поліпептид був щонайменше на 60 %, більш переважно щонайменше на 75 % вільний, і більш переважно, щонайменше, на 90 % вільний від інших компонентів, з якими він, природно, пов'язаний. Як буде зрозуміло фахівцю у цій галузі, очищений поліпептид, може бути рекомбінантним поліпептидом. Терміни "поліпептид" і "білок", як правило, використовуються як взаємозамінні і відносяться до одного поліпептидного ланцюга, що може або не може бути змінений шляхом додавання групи не-амінокислот. Повинно бути зрозуміло, що такі поліпептидні ланцюги можуть об'єднуватися з іншими поліпептидами або білками або іншими молекулами, такими як ко-фактори. Терміни "білки" і "поліпептиди", використовувані у цій заявці, також включають варіанти, мутанти, модифікації, аналоги і/або похідні поліпептидів за даним винаходом, як описано у цій заявці.

% ідентичності з поліпептидом визначається аналізом GAP (Needleman and Wunsch, 1970) (GCG програма) з штрафом за створення гепу = 5, і штрафом за розширення гепу = 0,3. Запит послідовності щонайменше, 25 амінокислот у довжину, і аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 25 амінокислот. Більш переважно, запит послідовності, щонайменше 50 амінокислот у довжину, і аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 50 амінокислот. Більш переважно, запит послідовності, щонайменше 100 амінокислот у довжину та аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 100 амінокислот. Ще більш переважно, запит послідовності, щонайменше 250 амінокислот у довжину та аналіз GAP вирівнює дві послідовності у ділянці, щонайменше 250 амінокислот. Ще більш переважно, аналіз GAP вирівнює дві послідовності по всій їх довжині.

Що стосується визначеного поліпептиду, слід мати на увазі, що % ідентичності, що наводить цифри вищі, ніж ті, що передбачені вище, буде включати кращі здійснення. Таким чином, якщо застосовно, у світлі мінімальних цифр % ідентичності, переважно, щоб РРО поліпептид за даним винаходом містив амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 40 %, більш переважно щонайменше на 45 %, більш переважно щонайменше на 50 %, більш переважно щонайменше на 55 %, більш переважно щонайменше на 60 %, більш переважно щонайменше на 65 %, більш переважно щонайменше на 70 %, більш переважно щонайменше на 75 %, більш переважно щонайменше на 80 %, більш переважно щонайменше на 85 %, більш переважно, щонайменше на 90 %, більш переважно щонайменше на 91 %, більш переважно щонайменше на 92 %, більш переважно щонайменше на 93 %, більш переважно щонайменше на 94 %, більш переважно щонайменше на 95 %, більш переважно щонайменше на 96 %, більш переважно щонайменше на 97 %, більш переважно щонайменше на 98 %, більш переважно щонайменше на 99 %, більш переважно щонайменше на 99,1 %, більш переважно щонайменше на 99,2 %, більш переважно щонайменше на 99,3 %, більш переважно щонайменше на 99,4 %, більш переважно щонайменше на 99,5 %, більш переважно щонайменше на 99,6 %, більш переважно щонайменше на 99,7 %, більш переважно щонайменше на 99,8 %, та ще більш переважно, щонайменше, на 99,9 % ідентична послідовності 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.

Під "варіантним" поліпептидом мають на увазі 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, 46 або делецією (так зване усічення) або додаванням однієї або більше амінокислот в N-кінець і/або С-кінець нативного білка; видалення або додавання одного або декількох амінокислот в одному або декількох місцях в нативному білку; або заміщення однієї або декількох амінокислот в одному або декількох місцях в нативному білку.

Такі варіанти можуть бути результатом, наприклад, генетичного поліморфізму або людських маніпуляцій. Способи таких маніпуляцій, як правило, відомі в даній галузі.

"Похідні" білка охоплюють пептиди, олігопептиди, поліпептиди, білки і ферменти, що мають амінокислотні заміщення, делеції і/або інсерції порівняно з немодифікованим білком, що розглядають, і має аналогічну біологічну і функціональну активність, як у немодифікованого білка, з якого вони отримані.

"Гомологи" білка охоплюють пептиди, олігопептиди, поліпептиди, білки і ферменти, що мають амінокислотні заміщення, делеції і/або інсерції порівняно з немодифікованим білком, що розглядається, і має аналогічну біологічну і функціональну активність, як у немодифікованого білка, з якого вони отримані.

Делеція відноситься до видалення однієї або більше амінокислот з білка.

Інсерція відноситься до одного або більше амінокислотних залишків, що вводять в заданому місці в білку. Інсерції можуть містити N-кінцеві та/або С-кінцеві гібриди, а також інсерції всередині послідовності одиничних або декількох амінокислот. Як правило, інсерції всередині амінокислотної послідовності будуть менше, ніж N- або С-кінцеві гібриди, порядку близько від 1 до 10 залишків. Приклади N- або С-кінцевих злитих білків або пептидів включають зв'язуючий домен або домен активації активатора транскрипції, використовуваний в дріжджовій двогибридній системі, фагові оболонки білків, (гістидин)-6-tag, глутатіон S-трансфераза-tag, білок А, мальтоза-зв'язуючий білок, дигідрофолатредуктазу, Tag•100 епітоп, с-тус епітоп, FLAG®-епітоп, LacZ, CMP (калмодулін-зв'язуючий пептид), HA епітоп, білок С епітоп і VSV епітоп.

Заміщення відноситься до заміни амінокислот білка з іншими амінокислотами, що мають аналогічні властивості (наприклад, подібні гідрофобності, гідрофільності, антигенності, схильність до утворення перерви α -спіральної структури або β -аркушевої структури). Амінокислотні заміщення, як правило, відносяться до окремих залишків, але можуть бути згруповані залежно від функціональних обмежень, що накладаються на поліпептид і можуть знаходитися в діапазоні від 1 до 10 амінокислот; інсерції, як правило, мають порядок приблизно від 1 до 10 амінокислотних залишків. Амінокислотні заміщення переважно являють собою консервативні амінокислотні заміщення. Таблиці консервативних заміщень добре відомі в цій галузі (див., наприклад, Creighton (1984) Proteins.W.H. Freeman and Company (Eds)).

Таблиця 2:

Приклади консервативних амінокислотних заміщень

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 заміщення, делеції і/або інсерції можуть бути легко зроблені з використанням пептидних синтетичних способів, добре відомих в даній галузі, таких як твердофазний пептидний синтез тощо, або за допомогою рекомбінантних ДНК маніпуляцій. Способи обробки ДНК-послідовностей, щоб отримати заміщення, інсерції або делеції варіантів білка, добре відомі в даній галузі. Наприклад, способи отримання заміщення мутацій у заздалегідь визначених місцях в ДНК добре відомі фахівцям у даній галузі і включають M13 мутагенез, T7-Gen in vitro

мутагенез (USB, Cleveland, OH), Quick-Change сайт-спрямований мутагенез (Stratagene, San Diego, CA), ПЛР-опосередкований сайт-спрямований мутагенез або інші протоколи сайт-спрямованого мутагенезу.

"Похідні" додатково включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які можуть, у порівнянні з амінокислотною послідовністю природної форми білка, такого як білок, який розглядають, містити заміщення амінокислот на неприродні амінокислотні залишки, або доповнення амінокислотних залишків, які не зустрічаються в природі. "Похідні" білка також включають пептиди, олігопептиди, поліпептиди, які включають природні змінні (глікозилізовані, ацильовані, пренільовані, фосфорильовані, мирістоільовані, сульфатовані та ін.) або змінні залишки амінокислот, які не зустрічаються у природі, є порівняно з амінокислотною послідовністю природної форми поліпептиду. Похідна може також містити один або декілька замісників і доповнень амінокислот порівняно з амінокислотною послідовністю, з якої вона отримана, наприклад, репортерну молекулу або інший ліганд, ковалентно або нековалентно зв'язаний з амінокислотною послідовністю, такою як репортерна молекула, яка зв'язана, щоб полегшити його виявлення, та таких, що не зустрічаються в природі, амінокислотних залишків по відношенню до амінокислотної послідовності в природному білку. Додатково, "похідні" також включають гібриди природної форми білка з міченими пептидами, такими як FLAG, HIS6 або тіоредоксин (для огляду мічених пептидів, див. Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523-533, 2003).

"Ортологи" і "паралоги" охоплюють еволюційні концепції, використовувані для опису відносин предків генів. Паралоги являють собою гени усередині одного виду, які ініціюються дублюванням предків гена; ортологи являють собою гени з різних організмів, які походять через видоутворення, а також отриманих від загального предкового гена. Необмежувачий перелік прикладів таких ортологів наведено в таблиці 1.

Це добре відомо в даній галузі, що паралоги і ортологи можуть мати різні домени, що мають залишки придатних амінокислот в заданих місцях, таких як зв'язуючі кишені для конкретних субстратів або зв'язуючі фрагменти для взаємодії з іншими білками.

Термін "домен" відноситься до набору консервативних амінокислот в конкретних положеннях уздовж вирівнювання послідовностей еволюційно-споріднених білків. У той час як амінокислоти в інших позиціях можуть варіюватися між гомологами, амінокислоти, які високо консервативні в певних положеннях, вказують амінокислоти, які є можливо незамінними по структурі, стабільності або функції білка. Ідентифікують за їх високим ступенем консерватизму в вирівняних послідовностях сімейства білкових гомологів, вони можуть бути використані як ідентифікатори, щоб визначити, чи будь-який поліпептид, що розглядається, відноситься до раніше ідентифікованого поліпептидного сімейства.

Термін "фрагмент" або "консенсусна послідовність" відноситься до короткої консервативної ділянки в послідовності еволюційно-споріднених білків. Фрагменти часто охоплюють високо консервативні частини ділянок, але також можуть включати тільки частину домену, або бути розташовані за межами консервативного домену (якщо всі амінокислоти фрагмента виходять за межі певного домену).

Існують спеціалізовані бази даних для ідентифікації доменів, наприклад, SMART (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 синтаксис профілю для фрагментів біомолекулярних послідовностей і його функції в автоматичній інтерпретації послідовності. (B) ISMB-94; Proceedings of 2nd International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Altman R., Brutlag O., Karp P., Lathrop R., Searls O., Eds., pp53-61, AAAI Press, Menlo Park; Hula et al., Nucl. Acids. Res. 32:0134-0137, (2004)), або Pfam (Bate man et al., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)). Набір інструментів для аналізу в кремнеземі білкових послідовностей доступний на сервері протеоміки ExPASy (Swiss Institute of Bioinformatics (Gasteiger et al., ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis, Nucleic Acids Res. 31:3784-3788(2003)). Домени чи фрагменти можуть бути також визначені за допомогою рутинних методів, наприклад, шляхом вирівнювання послідовностей.

Методи вирівнювання послідовностей для порівняння добре відомі в даній галузі, такі методи включають GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA і TFASTA. GAP використовує алгоритм Needleman і Wunsch ((1970) J Mol Biol 48: 443-453), щоб знайти глобальне (тобто таке, що охоплює повні послідовності) вирівнювання двох послідовностей, що максимізує кількість збігів і зводить до мінімуму кількість гепів. Алгоритм BLAST (Altschul et al. (1990) J Mol Biol 215: 403-10) обчислює відсоток ідентичності послідовності і виконує статистичний аналіз подібності між двома послідовностями. Програмне забезпечення для проведення аналізу BLAST є

загальнодоступним через Національний центр біотехнологічної інформації (NCBI). Гомологи можуть бути легко ідентифіковані з використанням, наприклад, алгоритму вирівнювання множини послідовностей ClustalW (версія 1.83), з параметрами попарного вирівнювання за умовчанням, і способу підрахунку балів у відсотках. Глобальні відсотки подібності та ідентичності також можуть бути визначені за допомогою одного з методів, доступних в програмному пакеті MatGAT (Campanella et al., BMC Bioinformatics. 2003 Jul 10;4:29. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences.).

Незначне коригування вручну може бути здійснено для оптимізації вирівнювання між консервативними фрагментами, як буде очевидно фахівцю у цій галузі. Додатково, замість використання повнорозмірних послідовностей для ідентифікації гомологів, можуть також бути використані конкретні домени. Значення ідентичності послідовностей може бути визначено для усієї послідовності нуклеїнової кислоти або амінокислоти, або для обраних доменів або консервативного фрагменту(ів) з використанням програм, зазначених вище з використанням параметрів за замовчуванням. Для місцевих вирівнювань, особливо корисним є алгоритм Smith-Waterman (Smith TF, Waterman MS (1981) J. Mol. Biol 147(1);195-7).

Винахідниками даного винаходу було виявлено, що шляхом заміщення одного чи декількох ключових залишків амінокислот толерантність або стійкість гербіциду можуть бути значно підвищені порівняно із активністю PPO ферментів дикого типу 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. Переважними заміщеннями mut-PPO є такі, що підвищують толерантність до гербіциду у рослини, але зберігають біологічну активність оксидазної активності суттєво незмінною.

Відповідно, в іншому об'єкті даного винаходу залишки ключових амінокислот PPO ферменту, її варіанту, похідної, ортолога, або гомолога, заміщені будь-якою іншою амінокислотою.

У переважному варіанті здійснення, залишки ключових амінокислот PPO ферменту, її варіант, похідна, ортолог або гомолог, заміщені консервативною амінокислотою, як показано у Таблиці 2.

Фахівець у цій галузі зрозуміє, що амінокислоти, розташовані близько до положень амінокислот, зазначених вище, можуть також бути заміщені. Таким чином, в іншому 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, її варіант, похідна, ортолог, або гомолог, містить mut-PPO, де амінокислота ± 3 , ± 2 або ± 1 амінокислотні положення від ключової амінокислоти заміщені будь-якою іншою амінокислотою.

Виходячи з методів, добре відомих у цій галузі, може бути розроблений високо характеристичний зразок амінокислоти, за допомогою якого можуть бути знайдені додаткові mut-PPO кандидати з бажаною активністю.

Пошук додаткових mut-PPO кандидатів з використанням придатного зразка послідовності може також входити до даного винаходу. Фахівець у цій галузі зрозуміє, що даний зразок послідовності не обмежений точними відстанями між двома прилеглими амінокислотними залишками зазначеного зразка. Кожна з відстаней між двома сусідами у зазначених вище зразках може, наприклад, варіюватися незалежно одна від іншої до ± 10 , ± 5 , ± 3 , ± 2 або ± 1 амінокислотних положень без суттєвого впливу на бажану активність.

Додатково, шляхом застосування способу сайт-направленого мутагенезу, винахідники даного винаходу ідентифікували конкретні комбінації мутацій, де комбінація відноситься до заміщення фенілаланінового залишку у положенні 420 у SEQ ID NO:2 або 4, у комбінації з другим заміщенням лейцину у положенні 397 у SEQ ID NO:2 або 4.

Таким чином, в найкращому здійсненні її варіант чи похідна mut-PPO у SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 вибирають з комбінації таких амінокислотних заміщень:

Таблиця 3а.

Таблиця 3а:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO:4 (комбіновані амінокислотні заміщення, отримані сайт-направленим мутагенезом.)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
1	2 або 4	Leu397	Gly
		Phe420	Met
2	2 або 4	Leu397	Ala
		Phe420	Met

Таблиця 3а:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO:4 (комбіновані амінокислотні заміщення,
отримані сайт-направленим мутагенезом.)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
3	2 або 4	Leu397	Ser
		Phe420	Met
4	2 або 4	Leu397	Thr
		Phe420	Met
5	2 або 4	Leu397	Cys
		Phe420	Met
6	2 або 4	Leu397	Val
		Phe420	Met
7	2 або 4	Leu397	Ile
		Phe420	Met
8	2 або 4	Leu397	Met
		Phe420	Met
9	2 або 4	Leu397	Pro
		Phe420	Met
10	2 або 4	Leu397	Phe
		Phe420	Met
11	2 або 4	Leu397	Tyr
		Phe420	Met
12	2 або 4	Leu397	Trp
		Phe420	Met
13	2 або 4	Leu397	Asp
		Phe420	Met
14	2 або 4	Leu397	Glu
		Phe420	Met
15	2 або 4	Leu397	Asn
		Phe420	Met
16	2 або 4	Leu397	Gln
		Phe420	Met
17	2 або 4	Leu397	His
		Phe420	Met
18	2 або 4	Leu397	Lys
		Phe420	Met
19	2 або 4	Leu397	Arg
		Phe420	Met
20	2 або 4	Leu397	Gly
		Phe420	Val
21	2 або 4	Leu397	Ala
		Phe420	Val
22	2 або 4	Leu397	Ser
		Phe420	Val
23	2 або 4	Leu397	Thr
		Phe420	Val
24	2 або 4	Leu397	Cys
		Phe420	Val
25	2 або 4	Leu397	Val
		Phe420	Val
26	2 або 4	Leu397	Ile
		Phe420	Val
27	2 або 4	Leu397	Met
		Phe420	Val
28	2 або 4	Leu397	Pro

Таблиця 3а:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO:4 (комбіновані амінокислотні заміщення,
отримані сайт-направленим мутагенезом.)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
		Phe420	Val
29	2 або 4	Leu397	Phe
		Phe420	Val
30	2 або 4	Leu397	Tyr
		Phe420	Val
31	2 або 4	Leu397	Trp
		Phe420	Val
32	2 або 4	Leu397	Asp
		Phe420	Val
33	2 або 4	Leu397	Glu
		Phe420	Val
34	2 або 4	Leu397	Asn
		Phe420	Val
35	2 або 4	Leu397	Gln
		Phe420	Val
36	2 або 4	Leu397	His
		Phe420	Val
37	2 або 4	Leu397	Lys
		Phe420	Val
38	2 або 4	Leu397	Arg
		Phe420	Val

У ще одному переважному здійсненні варіант або похідна mut-PPO в SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 вибирають з комбінованих амінокислотних заміщень в наступній таблиці 3b.

Таблиця 3b:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 (комбіновані амінокислотні заміщення)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
39	2 або 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
40	2 або 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
41	2 або 4	Phe204	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
42	2 або 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
43	2 або 4	Leu400	Ala
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
44	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
45	2 або 4	Thr208	Ser
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
46	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
47	2 або 4	Phe204	Ile
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
48	2 або 4	Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu

Таблиця 3b:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 (комбіновані амінокислотні заміщення)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
49	2 або 4	Phe204	Ile
		Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu
50	2 або 4	Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
51	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
52	2 або 4	Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
53	2 або 4	Phe204	Ile
		The208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
54	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
55	2 або 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
56	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
57	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
58	2 або 4	Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
59	2 або 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
60	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
61	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
62	2 або 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
63	2 або 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
64	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
65	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
66	2 або 4	Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
67	2 або 4	Phe204	Ile

Таблиця 3b:

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 (комбіновані амінокислотні заміщення)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважне заміщення
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
68	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
69	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
70	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
71	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
72	2 або 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
73	2 або 4	Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
74	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
75	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
76	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
77	2 або 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
78	2 або 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
79	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
80	2 або 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
81	2 або 4	Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val

SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 (комбіновані амінокислотні заміщення)

Номер комбінації	SEQ ID NO:	Комбінація положень ключових амінокислот	Переважає заміщення
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val

Слід розуміти, що будь-яка амінокислота, крім зазначених у наведених вище таблицях 3 може бути використана як замісник. Аналізи для перевірки функціональних можливостей таких мутантів легко доступні в даній галузі, і, відповідно, описані в розділі прикладів здійснення даного винаходу.

У переважному варіанті здійснення, амінокислотна послідовність відрізняється від амінокислотної послідовності в PPO з SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 в одному або декількох з наступних положень: 128, 204, 208, 397, 400, 420 457.

Приклади відмінностей у цих положеннях амінокислот включають, але не обмежуються наведеним, один або декілька з наступних:

амінокислота в положенні 128 є іншою, ніж аргінін;

амінокислота в положенні 204 є іншою, ніж фенілаланін;

амінокислота в положенні 208 є іншою, ніж треонін;

амінокислота в положенні 397 є іншим, ніж лейцин,

амінокислота в положенні 400 є іншою, ніж лейцин,

амінокислота в положенні 420 є іншою, ніж фенілаланін,

амінокислота в положенні 457 є іншою, ніж фенілаланін.

У деяких варіантах здійснення, mut-PPO фермент SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, містить одне або більше з наступного:

амінокислота в положенні 128 являє собою Leu, Ala, Val, або Ile;

амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val;

амінокислота в положенні 208 являє собою Ser;

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, або Gln;

амінокислота в положенні 400 являє собою Ala, Ile, Val або Met;

амінокислота в положенні 420 являє собою Val, Met, Ala, Ile або Leu;

амінокислота в положенні 457 являє собою: Ala, Leu, Ile, Val;

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Tyr, Trp, Asp, Glu, Asn, Gln, His, Lys, або Arg, амінокислота в положенні 420 являє собою Met, Ala, Leu, Ile, або Val.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly,

амінокислота в положенні 420 являє собою Met.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly,

амінокислота в положенні 420 являє собою Ala.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 є Gly, амінокислота в положенні 420 являє собою Leu.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly,

амінокислота в положенні 420 являє собою Ile.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gly, амінокислота в положенні 420 являє собою Val.

В іншому переважному варіанті здійснення, mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 392 являє собою Leu.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Ser,

5 амінокислота в положенні 392 являє собою Ile.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Ser,

амінокислота в положенні 392 являє собою Val.

10 В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Thr,

амінокислота в положенні 392 являє собою Met.

В іншому переважному варіанті здійснення mut

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Thr,
амінокислота в положенні 392 являє собою Ala.

В іншому переважному варіанті здійснення mut

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Thr,
амінокислота в положенні 392 являє собою Leu.

В іншому переважному варіанті здійснення mut

варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Thr,
амінокислота в положенні 392 являє собою Ile.

В іншому переважному варіанті здійснення mut

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Thr,

амінокислота в положенні 392 являє собою Val.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Cys

амінокислота в подопозначенні 392 являє собою Met

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог. де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Cys

амінокислота в положенні 333 являє собою Glu ,
амінокислота в положенні 392 являє собою Ala

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант похідну ортолог паралога або гомолог де:

амінокислота в пошкодженні 369 являє собою Cys

амінокислота в положенні 392 являє собою Leu

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант похідну ортолог паралогу або гомологу де:

амінокислота в подопозенні 369 являє собою Cys

амінокислота в положенні 303 являє собою Суз
амінокислота в положенні 302 являє собою Ile

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PRO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її

В іншому переважному варіанті здійснення піат
ріант, дохідну, ортопос, паравос або бомовос, до:

амінокислоти в добожковій збалансованій дієті. Сума

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PRO містить послідовність SEQ ID NO: 40, в якій амінокислота в положенні 369 являє собою Cys, амінокислота в положенні 392 являє собою Val.

В іншому переважному варіанті здійснення піт

мані, похідну, ортологі, паралогі або гомологі, де.
змішаності в дотриманні: 360 днів зібрав Val

амінокислота в положенні 369 являє собою val, амінокислота в положенні 392 являє собою Met. В іншому порівняльному варіанті здійснюють пів РРР містить послідовності SEQ ID NO: 40, у

55. варіант дохідну ортодог дозодогсбс дозоодогс до:

амінокислота в положенні 392 являє собою Leu.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Arg,

5 амінокислота в положенні 392 являє собою Ile.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 40, її варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 369 являє собою Arg,

амінокислота в положенні 392 являє собою Val.

10 В найпереважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2 або 4, її

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Glu,

амінокислота в положенні 420 являє собою Val.

В найпереважному варіанті здійснення mut-PPC

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Glu, амінокислота в положенні 420 являє собою Met.

В найпереважному варіанті здійснення mut-PPC

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gln,
амінокислота в положенні 420 являє собою Val.

В найпереважному варіанті здійснення mut-PPC

варіант, похідну, ортолог, парапог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Gln,
амінокислота в положенні 420 являє собою Met.

В найпереважному варіанті здійснення mut-PRO

ріант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 397 являє собою Asp, амінокислота в положенні 420 являє собою Val.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-

Q ID NO: 4 варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 208 являє собою Ser.

амінокислота в положенні 397 являє собою Asn, Asp, Glu, або Gln,
амінокислота в положенні 457 являє собою Met, Ala, Leu, Ile або Val.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PRO містить по

Q ID NO: 4 варіант. похідну, ортолог, паралог або

амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val.

амінокислота в положенні 208 являє собою Ser,
амінокислота в положенні 397 являє собою Asn, Asp, Glu, або Gln.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PRO містить по

Q ID NO: 4 варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val.

амінокислота в положенні 397 являє собою Asn, Asp, Glu, або Gln,
амінокислота в положенні 457 являє собою Met, Ala, Leu, Ile, або Val.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-

Q ID NO: 4 варіант. похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 208 являє собою Ser.

амінокислота в положенні 400 являє собою Ala, Ile, Val, або Met,
амінокислота в положенні 457 являє собою Met, Ala, Leu, Ile або Val.

В іншому переважному варіанті здійснення put-PRO містить по

Q ID NO: 4 варіант похідну ортолог парапог або

амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val

амінокислота в положенні 208 являє собою Ala, Leu, Ile або Val;
амінокислота в положенні 208 являє собою Ser;
амінокислота в положенні 400 являє собою Ala, Ile, Val, або Met.

В іншому переважному варіанті здійснення mt-PRO містить по

Q ID NO: 4 варіант. похідну, ортолог, паралог або гомолог. де:

амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val.

амінокислота в положенні 420 являє собою Val, Met, Ala, Ile або Leu,
амінокислота в положенні 457 являє собою Met, Ala, Leu, Ile або Val.

В іншому переважному варіанті здійснення mut-PPO містить послідовність SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 варіант, похідну, ортолог, паралог або гомолог, де:

амінокислота в положенні 128 являє собою Leu, Ala, Val, або Ile,
амінокислота в положенні 204 являє собою Ala, Leu, Ile або Val,
амінокислота в положенні 400 являє собою Ala, Ile, Val, Met або амінокислота в положенні 420 являє собою Val, Met, Ala, Ile або Leu,
амінокислота в положенні 457 являє собою Met, Ala, Leu, Ile або Val.

В межах компетенції фахівця в даній галузі, буде визначення консервативних ділянок і фрагментів, спільних між гомологами, ортологами і паралогами кодованих 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, наприклад, як показано в таблиці 1.

Визначивши такі консервативні галузі, які можуть представляти відповідні зв'язувальні фрагменти, амінокислоти, відповідні амінокислотам, перерахованим у таблицях 3a і 3b, можуть бути вибрані, щоб бути заміщеними будь-якою іншою амінокислотою, переважно за допомогою консервативних амінокислот, як показано в таблиці 2, і більш переважно амінокислотами, показаними у таблицях 3a і 3b.

Додатково, даний винахід відноситься до способу ідентифікації PPO-інгібуючих гербіцидів за допомогою mut-PPO кодової нуклеїнової кислоти, що містить нуклеотидну послідовність 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 варіант, або похідну.

Зазначений спосіб включає стадії:

а) отримання трансгенної рослини або клітини, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO, де mut-PPO експресується;

б) нанесення PPO-інгібуючого гербіциду на трансгенну клітину або трансгенну рослину згідно з а) та контрольну клітину або рослину того ж сорту;

с) визначення зростання або життєздатності трансгенної клітини або трансгенної рослини та контрольної клітини або рослини після нанесення зазначеного PPO-інгібуючого гербіциду і

д) вибір "PPO-інгібуючих гербіцидів", які надають зниження зростання контрольній клітині або рослині порівняно з ростом трансгенної клітини або рослини.

Під "контрольною клітиною" або "подібною, дикого типу, рослиною, рослинною тканиною, рослинною клітиною або клітиною-господарем" мають на увазі рослину, рослинну тканину, рослинну клітину або клітину-господаря, відповідно, в яких відсутні характеристики стійкості до гербіцидів та/або конкретний полінуклеотид за даним винаходом, розкритий в даному описі. Отже, використання терміну "дикого типу", не означає, що рослина, рослинна тканина, рослинна клітина або клітина-господар не мають рекомбінантної ДНК в геномі, та/або не мають характеристик стійкості до гербіциду, що відрізняються від описаних у цій заявці.

Інший об'єкт відноситься до способу ідентифікації нуклеотидної послідовності, що кодує mut-PPO, який стійкий чи толерантний до PPO-інгібуючих гербіцидів, де зазначений спосіб включає:

а) генерування бібліотеки mut-PPO-кодуєчих нуклеїнових кислот,

б) скринінг популяції отриманих в результаті mut-PPO-кодуєчих нуклеїнових кислот шляхом експресії кожної із зазначених нуклеїнових кислот в клітині або рослині та обробку зазначеної клітини або рослини PPO-інгібуючим гербіцидом,

с) порівняння рівня толерантності до PPO-інгібуючих гербіцидів, що надаються зазначеною популяцією mut-PPO-кодуєчих нуклеїнових кислот, з рівнем толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду, що надаються контрольною PPO-кодуєчою нуклеїновою кислотою,

д) вибір щонайменше однієї mut-PPO-кодуєчої нуклеїнової кислоти, що забезпечує значно підвищений рівень толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рівнем, що забезпечує контрольна PPO-кодуєча нуклеїнова кислота.

У переважному варіанті здійснення, mut-PPO-кодуєча нуклеїнова кислота, яку вибирають на стадії d) забезпечує, щонайменше, в 2 рази більшу стійкість або толерантність клітини або рослини до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рівнем, що забезпечує контрольна PPO-кодуєча нуклеїнова кислота.

У ще одному переважному варіанті здійснення, mut-PPO-кодуєча нуклеїнова кислота, вибрана на стадії d) забезпечує, щонайменше, в 2 рази, щонайменше, в 5 разів, щонайменше, в 10 разів, щонайменше, в 20 разів, щонайменше, в 50 разів, щонайменше, в 100 разів, щонайменше, в 500 разів, більше стійкості або толерантності клітини або рослини до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з рівнем, що забезпечує контрольна PPO-кодуєча нуклеїнова кислота. Стійкість або толерантність може бути визначена шляхом створення трансгенної

рослини або клітини-господаря, переважно рослинної клітини, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, з бібліотеки стадії а), і порівняння трансгенної рослини з контрольною рослиною або клітиною-господарем, переважно рослинною клітиною.

Інший об'єкт відноситься до способу ідентифікації рослини або водорості, що містять нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує дикого типу або *mut-PPO*, стійкий чи толерантний до *PPO*-інгібуючого гербіциду, де зазначений спосіб включає:

а) ідентифікацію ефективної кількості *PPO*-інгібуючого гербіциду в культурі клітин рослин або зеленій водорості, що призводить до загибелі зазначених клітин.

б) обробку зазначених клітин рослин або зелених водоростей мутагенуючим агентом,

с) контактування зазначеної популяції мутагенуючих клітин з ефективною кількістю *PPO*-інгібуючого гербіциду, які були визначені в а),

д) вибір щонайменше однієї клітини, що пережила ці умови випробувань,

е) ПЛР-ампліфікацію і секвенування генів *PPO* з клітин, обраних в д) і порівняння таких послідовностей з послідовностями дикого типу гену *PPO*, відповідно.

У переважному варіанті здійснення даного винаходу, зазначений мутагенуючий агент являє собою етилметансульфонат (EMS). Багато методів, добре відомі фахівцям в даній галузі, доступні для отримання відповідних кандидатів нуклеїнових кислот для ідентифікації нуклеотидної послідовності, що кодує *mut-PPO*, з безлічі різних можливих вихідних організмів, включаючи мікроби, рослини, гриби, водорості, змішані культури та ін., а також джерела навколишнього середовища ДНК, такі як ґрунт. Ці методи включають, зокрема отримання кДНК або геномних бібліотек ДНК, використання відповідних вироджених олігонуклеотидних праймерів, використання зондів на основі відомих послідовностей і комплементарні аналізи (наприклад, для зростання в умовах тирозину), а також з використанням мутагенезу і тасування, з тим щоб забезпечити рекомбіновані або тасовані *mut-PPO*-кодуєчі послідовності.

Нуклеїнові кислоти, що містять кандидатні і контрольні *PPO*-кодуєчі послідовності, можуть бути експресовані в дріжджах, в бактеріальному штамі-господарі, у водорості або у вищих рослинах, таких як тютюн або *Arabidopsis* і відносні рівні власної толерантності *PPO*-кодуєчих послідовностей піддають скринінгу відповідно до видимого індикаторного фенотипу трансформованого штаму або рослини в присутності різних концентрацій вибраного *PPO*-інгібуючого гербіциду. Відповіді на дози і відносні зсуви у відповідях доз, пов'язані з цими індикаторними фенотипами (утворення бурого кольору, інгібування росту, гербіцидний ефект тощо) зручно виразити в термінах, наприклад, GR50 (концентрація 50 % зниження зростання) або MIC (мінімальна інгібуюча концентрація), де збільшення величин відповідають збільшенням власної толерантності експресованого *PPO*. Наприклад, в порівняно швидкій системі аналізу на основі трансформації бактерії, такої як *E.coli*, кожна послідовність, що кодує *mut-PPO*, може бути експресована, наприклад, у вигляді послідовності ДНК під контролем експресії контрольованого промотору, такого як промотор *LacZ*, і беручи до уваги відповідний підрахунок, наприклад, шляхом використання синтетичної ДНК, таких, як використання кодонів для отримання настільки порівнянного рівня експресії, наскільки це можливо для різних послідовностей *PPO*. Такі штами, які експресують нуклеїнові кислоти, що містять альтернативні кандидатні *PPO* послідовності, можуть бути покриті при різних концентраціях вибраних *PPO*-інгібуючих гербіцидів у, необов'язково, тирозин доповненому середовищі і відносні рівні власної толерантності експресованих *PPO* ферментів оцінюють на основі поширення і MIC для інгібування утворення бурого охронотичного пігменту.

В іншому варіанті здійснення кандидатні нуклеїнові кислоти перетворюються на рослинний матеріал для створення трансгенної рослини, регенерують в морфологічно нормальні фертильні рослини, які потім вимірюють на предмет диференційної толерантності до обраних *PPO*-інгібуючих гербіцидів. Багато придатних для трансформації методів з використанням відповідних маркерів селекції, таких як канаміцин, бінарні вектори, такі як *Agro bacterium* і регенерація рослин, як, наприклад, від дисків листя тютюну, добре відомі в даній галузі. Необов'язково, контрольну популяцію рослин аналогічно трансформують нуклеїновою кислотою, що експресує контрольну *PPO*. Додатково, нетрансформована дводольна рослина, така як *Arabidopsis* чи тютюн, може бути використана як контроль, оскільки, в будь-якому випадку, експресує своє власне ендегенне *PPO*. Середнє значення і розподіл, рівні толерантності до гербіцидів діапазону випадків первинної трансформації рослин або їх потомства в *PPO*-інгібуючих гербіцидах, описаних вище, оцінюють в звичайному порядку на основі пошкодження рослини, меристематичних симптомів відбілювання тощо, в діапазоні різних концентрацій гербіцидів. Ці дані можуть бути виражені в термінах, наприклад, значення GR50, отриманих з кривих доза/відповідь, що мають "дозу", нанесену на осі x, і "процентний вміст знищення", "гербіцидний ефект", "кількість пророслих зелених рослин" тощо, нанесені на

осі у, де підвищені значення GR50 відповідають підвищеним рівням власної толерантності експресованого PPO. Гербіциди можуть бути нанесені придатним чином до появи сходів або після появи сходів.

Інший об'єкт відноситься до виділеної нуклеїнової кислоти, що кодує mut-PPO, де нуклеїнову кислоту можна визначити за методом, як визначено вище. В іншому варіанті здійснення, даний винахід відноситься до рослинної клітини дикого типу, трансформованої або mut-PPO нуклеїновою кислотою або рослинної клітини, яка була мутована, щоб отримати рослину, що експресує дикого типу або mut-PPO нуклеїнову кислоту, де експресія нуклеїнової кислоти в рослинній клітині призводить до підвищеної стійкості або толерантності до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з сортом рослинної клітини дикого типу. Термін "експресія/експресування" або "експресія гена" означає транскрипцію конкретного гена або конкретних генів або конкретної генетичної конструкції. Термін "експресія" або "експресія гена" зокрема означає транскрипцію гена або генів або генетичної конструкції в структурній РНК (рРНК, тРНК) і мРНК з або без подальшої трансляції останньої в білок. Спосіб включає транскрипцію ДНК і обробку отриманого продукту мРНК.

Щоб отримати бажаний ефект, тобто рослини, які стійкі або толерантні до PPO-інгібуючих гербіцидів похідного гербіциду за даним винаходом, має бути зрозуміло, що, щонайменше, одна нуклеїнова кислота "надлишково експресується" методами і засобами, як відомо фахівцю в даній галузі.

Термін "підвищена експресія" або "надлишкова експресія", використовуваний у цій заявці, означає будь-яку форму експресії, на додаток до вихідного рівня експресії дикого типу. Способи посилення експресії генів або генних продуктів добре задокументовані в даній галузі і включають, наприклад, надлишкову експресію, ініційовану відповідними промоторами, використання енхансерів транскрипції або енхансерів трансляції. Ізольовані нуклеїнові кислоти, які слугують як промоторні або енхансерні елементи, можуть бути введені у відповідному положенні (як правило, вище по потоку), яка не є гетерологічною формою полінуклеотиду таким чином, щоб контрольна експресія нуклеїнової кислоти кодувала поліпептид, що розглядається. Наприклад, ендогенні промотори можуть бути змінені *in vivo* шляхом мутації, делеції і/або заміщення (див., Kmiec, US 5,565,350; Zarling et al., W09322443), або виділені промотори можуть бути введені в клітину рослини в правильній орієнтації, і відстані від гена за даним винаходом таким чином, щоб контролювати експресію гена.

Якщо експресія поліпептида бажана, в загальному випадку бажано включати ділянку поліаденілювання на 3'-кінці ділянки, що кодує полінуклеотид. Ділянка поліаденілювання може бути отримана з природного гена, з безлічі інших рослинних генів, або з Т-ДНК. З 'кінець послідовності, що буде додано, може бути отримано з, наприклад, нопалінсинтазного або октопінсинтазного генів, або альтернативно з іншого рослинного гену, або менш переважно, від будь-якого іншого еукаріотичного гену.

Інтронна послідовність також може бути додана до 5 'нетрансльованої ділянки (UTR) або кодуєчої послідовності часткової послідовності, що кодує, щоб збільшити кількість зрілого повідомлення, що накопичується в цитозолі. Включення інтрона, що розщеплюється, у транскрипційну одиницю в рослинних і тваринних конструктах експресії, як було показано, збільшує експресію гена на рівні мРНК і білка до 1000-кратного (Buchman and Berg (1988) Mol. Cell biol. 8: 4395-4405; Callis et al. (1987) Genes Dev 1:1183-1200)). Таке посилення інтронної експресії гена, як правило, найбільше, коли розміщується поряд з 5'-кінцем від транскрипційної одиниці. Використання кукурудзяних інтронів Adh1-S інтрон 1, 2 і 6, бронза-1 інтрону відомі в даній галузі. Для отримання загальної інформації див. The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994)).

Термін "введення" або "трансформація" в контексті даного винаходу включає передачу екзогенного полінуклеотиду в клітину-господаря, незалежно від методу, використовуваного для передачі. Рослинні тканини, здатні до подальшого клонального розмноження, а саме органогенезу або ембріогенезу, можуть бути трансформованими генетичними конструкціями за даним винаходом і в цілому рослині регенерують з них. Конкретні тканини, які вибирають, будуть змінюватись в залежності від клональних систем, доступних для поширення, і, найбільш придатних для конкретних видів, які трансформуються. Ілюстративні приклади тканин включають листові пластинки, пилки, зародки, сім'ядолі, гіпокотілі, мегагаметофіти, калусні тканини, існуючі меристематичні тканини (наприклад, апікальні меристеми, пазухи нирок і кореневі меристеми) і індуковані меридіаном стовбурові тканини (наприклад, сім'ядольні меристеми і гіпокотильні меристеми). Полінуклеотид може бути тимчасово або стабільно введений в клітину-господар і може бути збережений без інтеграції, наприклад, як плазміда. Альтернативно, він може бути інтегрований в геном господаря. Отримана трансформована

рослинна клітина може бути потім використана для регенерації трансформованої рослини способом, відомим фахівцям у даній галузі.

Передача чужорідних генів у геном рослини називається трансформацією. Трансформація видів рослин на даний час є досить звичайним методом. Переважно, будь-який з декількох методів трансформації може бути використаний для введення розглядуваного гена в придатну клітину-предок. Способи, описані для трансформації і регенерації рослин з рослинних тканин або рослинних клітин, можуть бути використані для перехідної або стабільної трансформації. Методи трансформації включають застосування ліпосом, електропорацію, хімікати, що підвищують поглинання вільної ДНК, ін'єкцію ДНК безпосередньо в рослину, бомбардування з генної гармати, трансформації з використанням вірусів або пилку і мікропроеціювання. Способи можуть бути вибрані зі способів для кальцію/поліетилєнглїколю для протопластів (Krens, F.A. et al., (1982) Nature 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) Plant Mol Biol 8: 363-373); електропорації протопластів (Shillito РД et al. (1985) Bio/Technol 3, 1099-1 102); мікроін'єкції в рослинний матеріал (Crossway et al., (1986) Mol. Gen Genet 202: 179-185); ДНК або РНК покриттям бомбардування частинками (Klein T.M. et al, (1987) Nature 327:70), інфікування (не інтегруюче) вірусів тощо. Трансгенні рослини, в тому числі трансгенні культурні рослини, переважно отримують за допомогою агробактерії- опосередкованої трансформації. Методом корисної трансформації є трансформація у планту. З цією метою можна, наприклад, дозволити агробактеріям діяти на насіння рослин або інокулювати рослинні меристеми агробактеріями. Це виявилось особливо доцільно відповідно до даного винаходу, щоб забезпечити дію суспензії трансформованих агробактерій на інтактні рослини або, щонайменше, на квіткові зачатки. Рослину потім вирощують, доки насіння оброблених рослин не буде отримане (Clough and Bent, Plant J. (1998) 16, 735-743). Методи агробактерії- опосередкованої трансформації рису включають добре відомі методи трансформації рису, такі як описані в будь-якому з наступних: Європейська патентна заявка EP 1198985 A1, Aldemita and Hodges (Planta 199: 612-617, 1996); Chan et al. (Plant Mol Biol 22 (3): 491-506, 1993), Hiei et al. (Plant J 6 (2): 271-282, 1994), описи яких включені у цю заявку як посилання, таким чином, ніби повністю викладені. У разі трансформації кукурудзи, найкращим методом є описаний в будь-якому з Ishida et al. (Nat. Biotechnol 14(6): 745-50, 1996) або Frame et al. (Plant Physiol 129(1): 13-22, 2002), описи яких включені у цю заявку як посилання, таким чином, ніби повністю викладені. Зазначені способи описані у цій заявці нижче як приклад в B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung та R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 та в Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Malec. Biol. 42 (1991) 205-225). Нуклеїнові кислоти або конструктор для експресії переважно клонують у вектор, який придатний для трансформації *Agrobacterium tumefaciens*, наприклад, pBin19 (Bevan et al., Nucl.Acids Res.12 (1984) 871 1). Агробактерія, трансформована таким вектором, може бути використана відомим способом для трансформації рослин, таких як рослини, використовувані як моделі, як *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* знаходиться в межах обсягу за даним винаходом та не розглядається як культурна рослина), або культурні рослини, такі, як, наприклад, рослини тютюну, наприклад, зануренням подрібненого листа або нарізаного листа в агробактеріальний розчин, а потім культивуванням їх у відповідному середовищі. Трансформація рослин за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* описана, наприклад, Hofgen and Willmitzer in Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 or is known inter alia from 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.

На додаток до трансформації соматичних клітин, які потім повинні бути регенеровані в цілі рослини, також можна перетворити в клітини рослинні меристеми і, зокрема, ті клітини, які розвиваються в гамети. У цьому випадку трансформовані гамети йдуть за розвитком рослин природно, що призводить до трансгенних рослин. Так, наприклад, насіння *Arabidopsis* обробляють агробактеріями і насіння отримують з рослин, що розвиваються, 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. World Scientific, Singapore, pp. 274-289]. Альтернативні методи засновані на повторному видаленні суцвіть і інкубації вирізаної ділянки в центрі розетки 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). Тим не менш, особливо ефективним методом є метод вакуумної інфільтрації з його модифікаціями, такими як метод "квіткового занурення". У разі вакуумної інфільтрації *Arabidopsis*, інтактні рослини при зниженому тиску обробляють агробактеріальною суспензією [Bechthold, N (1993). C R Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1194-1199], у той час як у

випадку методу "квіткового занурення" квіткові тканини, що розвиваються, швидко інкубували з поверхнево-обробленою агробактеріальною суспензією [Clough, SJ and Bent AF (1998) *The Plant J.* 16, 735-743]. Певну частку трансгенного насіння збирають в обох випадках, і це насіння можна відрізнити від нетрансгенного насіння шляхом вирощування у вищеписаних селективних умовах. Додатково стабільна трансформація пластидів корисна, тому що пластиди успадковані по-материнськи є та є культурою, що найбільше зменшує або усуває ризик витоку трансгенів через пилок. Трансформація хлоропластного геному, як правило, досягається за допомогою способу, який був схематично зображений в Klaus et al., 2004 [*Nature Biotechnology* 22 (2), 225-229]. Стисло, послідовності повинні бути трансформовані та їх клонують разом з селективним маркерним геном між фланкуючими послідовностями, гомологічними хлоропластному геному. Ці гомологічні фланкуючі послідовності направляють сайт-специфічну інтеграцію в пластоми. Пластидальні перетворення було описано для різних видів рослин, і огляд наведено в 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. Додатковий біотехнологічний прогрес, як було нещодавно повідомлено, існує у вигляді маркерів вільних пластидних трансформантів, які можуть бути отримані за допомогою перехідного спільно інтегрованого маркерного гена (Klaus et al., 2004, *Nature Biotechnology* 22(2), 225-229). Генетично модифіковані рослинні клітини можна регенерувати за допомогою всіх методів, з якими знайомий фахівець у цій галузі. Відповідні способи можна знайти у вищевказаних публікаціях S.D. Kung and R. Wu, Potrykus or Hofgen and Willmitzer.

Зазвичай після трансформації, рослинні клітини або клітинні угруповання вибирають на наявність одного або більше маркерів, які кодуються рослинними експресованими генами спільно трансформованими з розглядуваним геном, після чого трансформований матеріал регенерують в цілу рослину. Щоб обрати трансформовані рослини, рослинні матеріали, отримані при трансформації, як правило, піддають дії селективних умов так, що трансформовані рослини можуть бути відокремлені від нетрансформованих рослин. Наприклад, насіння, отримане як описано вище, може бути висаджено після початкового періоду зростання, піддане відповідній селекції обприскуванням. Ще одна можливість полягає у вирощуванні насіння, за необхідності, після стерилізації, на планшетах з агаром за допомогою відповідного агента селекції таким чином, що тільки трансформоване насіння може вирости в рослини. Альтернативно, трансформовані рослини піддають скринінгу на присутність селективного маркера, так як описано вище.

Після перенесення і регенерації ДНК, ймовірно трансформовані рослини можуть бути оцінені, наприклад, за допомогою Саузерн-блоттинг аналізу, на наявність розглядуваного гена, кількості копій і/або геномної організації. Альтернативно або додатково, рівні експресії знову введеної ДНК можна контролювати за допомогою Саузерн і/або Вестерн-блоттинг аналізу, обидві методи добре відомі фахівцям у цій галузі.

Генеровані трансформовані рослини можуть розмножатися різними шляхами, наприклад, клональним розмноженням або класичними методами схрещування. Наприклад, перше покоління (або T1) трансформованої рослини може бути одно квітковим гомозиготним другим поколінням (або T2) обраними трансформантами, та T2 рослини можуть бути потім додатково розмножені класичними методами схрещування. Генеровані трансформовані організми можуть мати багато форм. Наприклад, вони можуть бути химерами трансформованих клітин та нетрансформованих клітин; клонованими трансформованими (наприклад, усі клітини трансформовані, щоб містити касету експресії); прищеплення трансформованих та нетрансформованих тканин (наприклад, у рослинах, трансформоване кореневище щеплене на нетрансформований черешок).

Переважно, нуклеїнова кислота дикого типу чи mut-PPO містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з:

- a) полінуклеотиду, як показано на 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, його варіанта чи похідної;
- b) полінуклеотиду, що кодує поліпептид, як показано на 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, його варіанта чи похідної;
- c) полінуклеотиду, що містить щонайменше 60 послідовних нуклеотидів за будь-яким з п. a) або b);
- та d) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду за будь-яким з a) - c).

Описані у цій заявці рослини можуть бути трансгенними культурними рослинами або не трансгенними рослинами.

Для цілей даного винаходу, "трансгенний", "трансген" або "рекомбінантний" означає

стосовно, наприклад, послідовності нуклеїнових кислот, касети експресії, генного конструкта або вектор, що містить послідовності нуклеїнових кислот або організм, трансформований послідовностями нуклеїнових кислот, касет експресії або векторів за даним винаходом, усі ці конструкції, отримані рекомбінантними методами, в яких будь-які з

5 а) послідовності нуклеїнових кислот, що кодують білки, корисні в способах даного винаходу, або

(b) послідовностей генетичного контролю, функціонально зв'язані з послідовністю нуклеїнових кислот за даним винаходом, наприклад, промотор, або

(c) а) та b)

10 не розташовані у чи не знаходяться в своєму природному генетичному оточенні або були змінені за допомогою рекомбінантних методів, причому модифікація набуває форми, наприклад, заміщення, додавання, делеції, інсерції або інверсії одного або декількох нуклеотидних залишків. Під природним генетичним оточенням розуміють природний геномний або хромосомний локус у вихідній рослині або наявність в геномній бібліотеці. У разі геномної бібліотеки, природне генетичне середовище послідовності нуклеїнової кислоти, переважно зберігається, щонайменше частково.

Середовище фланкує послідовність нуклеїнової кислоти, щонайменше, на одній стороні, і має довжину послідовності, рівну щонайменше 50 bp, переважно щонайменше 500 bp, особливо переважно щонайменше 1000 bp, більш переважно, щонайменше 5000 bp. Природна касета експресії - наприклад, природне поєднання природного промотора послідовностей нуклеїнових кислот з відповідною послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид, застосовні в способах за даним винаходом, як визначено вище, - стає трансгенною касетою експресії, при цьому касета експресії модифікується неприродними, синтетичними ("штучними") способами, такими як, наприклад, мутагенна обробка. Відповідні способи описані, наприклад, в патенті США 5,565,350 або в WO 00/15815.

25 Трансгенну рослину для цілей даного винаходу, таким чином, розуміють у значенні, як зазначено вище, що нуклеїнові кислоти, використовувані в способі за даним винаходом, не розташовані в їх природному локусі в геномі зазначеної рослини, причому нуклеїнові кислоти мають бути експресовані гомологічно або гетерологічно. Проте, як уже згадувалося, трансгенний також означає, що, в той час як нуклеїнові кислоти за даним винаходом або використовувані в способі за даним винаходом, знаходяться в їх природному положенні в геномі рослини, послідовність була модифікована з урахуванням природної послідовності, та/або, регуляторних послідовностей природних послідовностей, що були змінені. Трансгенний переважно розуміють як експресію нуклеїнових кислот за даним винаходом в неприродному локусі в геномі, тобто гомологічну або, переважно, гетерологічну експресію нуклеїнових кислот. Переважні трансгенні рослини згадуються в цій заявці. Додатково, термін "трансгенний" відноситься до будь-якої рослини, рослинної клітини, каллуса, рослинної тканини або частини рослини, яка містить всі або частину щонайменше одного рекомбінантного полінуклеотида. У багатьох випадках, весь або частина рекомбінантного полінуклеотида стабільно інтегровані в хромосому або стабільний позахромосомний елемент, так що він передається на наступних поколіннях. Для цілей за даним винаходом термін "рекомбінантний полінуклеотид" відноситься до полінуклеотиду, який був змінений, перебудований або модифікований за допомогою генної інженерії. Приклади включають будь-який клонований полінуклеотид або полінуклеотиди, який пов'язаний або з'єднаний в гетерологічні послідовності. Термін "рекомбінантний" не відноситься до змін полінуклеотидів, які є результатом природних подій, таких, як мимовільні мутації, або неспонтанного мутагенезу з подальшим селективним розведенням.

45 Рослини, що містять мутації, що виникають через не-спонтанний мутагенез та селекцію, згадуються у цій заявці як нетрансгенні рослини і включені в даний винахід. У варіантах здійснення, де рослина є трансгенною і включає безліч mut-PPO нуклеїнових кислот, нуклеїнові кислоти можуть бути отримані з різних геномів або з того ж генома.

50 Альтернативно, у варіантах здійснення, в яких рослина нетрансгенна і містить безліч mut-PPO нуклеїнових кислот, нуклеїнові кислоти розташовані на різних геномах або на одному і тому ж геномі. У деяких варіантах здійснення, даний винахід включає гербіцид-стійкі рослини, які отримані за допомогою мутаційної селекції. Такі рослини включають полінуклеотид, що кодує mut-PPO і стійкі до одного або декількох PPO-інгібуючих гербіцидів. Такі способи можуть включати, наприклад, піддавання рослини або насіння дії мутагену, зокрема хімічного мутагену, такого як, наприклад, етил метансульфонат (EMS) і селекцію рослин, які мають підвищену толерантність, щонайменше, до одного або більше PPO-інгібуючого гербіциду.

60 Проте, даний винахід не обмежується толерантними до гербіцидів рослинами, які виробляються за допомогою методу мутагенезу за участю хімічного мутагену EMS. Будь-який

метод мутагенезу відомий в даній галузі, може бути використаний для отримання гербіцид-
стійких рослин за даним винаходом. Такі методи мутагенезу можуть включати, наприклад,
використання будь-якого одного або більше з наступних: мутагенів випромінювання, таких як
5 рентгенівські промені, гамма-промені (наприклад, кобальт або цезій 60137), нейтрони
(наприклад, продукт ядерного ділення ураном 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
аналогів основ (наприклад, 5-бром-урацил), споріднені сполуки (наприклад, 8-етокси кофеїн),
антибіотики (наприклад, стрептонігрин), алкілюючі агенти (наприклад, сірчистий іприт, азотистий
10 іприт, епоксиди, етиленаміни, сульфати, сульфонати, сульфони, лактони), азид, гідроксиламін,
азотиста кислота або акридины. Резистентні до гербіцидів рослини також можуть бути отримані
за допомогою методів культивування тканин, щоб вибрати рослинні клітини, що містять мутації
стійкості до гербіцидів, а потім регенерації стійких до гербіцидів рослин з нього. Див.,
наприклад, патенти США №№ 5,773,702 і 5,859,348, обидва з яких включені в даний опис у всій
15 своїй повноті як посилання. Більш детальна інформація про мутаційну селекцію може бути
знайдена в "Principals of Cultivar Development" Fehr, 1993 Macmillan Publishing Company,
розкриття якої включено у цю заявку як посилання.

На додаток до визначення, наведеного вище, термін "рослина" охоплює культурні рослини
на будь-якому етапі зрілості або розвитку, а також будь-які тканини або органи (частини
20 рослини) взяті або отримані з будь-якої такої рослини, якщо інше явно не зазначено у контексті.
Частини рослини, включає, але не обмежується наведеним, стебла, коріння, квіти, яйцеклітини,
тичинки, листя, ембріони, меристематичні ділянки, калусні тканини, культури пильовика,
гаметофіт, спорофіти, пилок, мікроспори, протопласти, тощо.

Рослина за даним винаходом містить, щонайменше, одну mut-PPO нуклеїнову кислоту або
25 надлишково експресовану нуклеїнову кислоту PPO дикого типу, і має збільшену толерантність
до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з сортом рослини дикого типу. Можливо для рослини за
даним винаходом мати декілька нуклеїнових кислот дикого типу або mut-PPO з різних геномів,
оскільки ці рослини можуть містити більше одного генома. Наприклад, рослина містить два
геноми, які, як правило, називають геномами А і В. Оскільки PPO є обов'язковим метаболічним
30 ферментом, передбачається, що кожен геном має щонайменше один ген, що кодує фермент
PPO (тобто щонайменше один ген PPO). Як використовується у цій заявці, термін "генний PPO
локус" відноситься до положення гена PPO на геномі, і терміни "ген PPO" і "PPO нуклеїнових
кислот" відносяться до нуклеїнової кислоти, що кодує фермент PPO. PPO нуклеїнова кислота
на кожному геномі відрізняється за нуклеотидною послідовністю від нуклеїнової кислоти PPO на
35 іншому геномі. Фахівець у цій галузі може визначити геном походження кожної PPO нуклеїнової
кислоти за допомогою генетичного схрещування і/або будь-якого методу секвенування або
екзонуклеазної дигестії, відомих фахівцям у даній галузі.

Даний винахід включає рослини, що містять один, два, три або більше mut-PPO алелей, в
якому рослина має підвищену толерантність до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно із сортом
40 рослини дикого типу. mut-PPO алелі можуть містити нуклеотидну послідовність, вибрану з
групи, що складається з полінуклеотиду, як 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 варіант, або похідна, полінуклеотиду,
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 варіанту, або похідної, гомолога, ортолога, паралога,
45 полінуклеотиду, що включає, щонайменше 60 послідовних нуклеотидів будь-якого з
вищевказаних полінуклеотидів; і полінуклеотиду, комплементарного будь-якому з
вищезазначених полінуклеотидів.

"Алелі" або "алельні варіанти" являють собою альтернативні форми даного гена,
розташовані в тому ж положенні хромосому. Алельні варіанти охоплюють одиничні нуклеотидні
50 поліморфізми (SNP), а також невеликі поліморфізми інсерції/видалення (INDEL). Розмір INDEL,
як правило, менше, ніж 100 bp... SNP і INDEL утворюють найбільший комплекс з варіантами
послідовності природних поліморфних штамів більшості організмів.

Термін "сорт" означає групу рослин у межах одного виду, визначену спільним загальним
набором характеристик або ознак, прийнятих фахівцями у даній галузі, як достатні, щоб
55 відрізнити один сорт або різні від іншого культивару або сорту. Не впливає, в будь-якому
термін, що всі рослини будь-якого даного культивару або сорту будуть генетично ідентичні на
обох геномах або молекулярному рівні або що будь-яка рослина буде гомозиготна у всіх
локусах. Культивар або сорт вважається "розведенням гомозигот" за конкретною ознакою,
якщо розведення гомозигот і культивар або сорт самозапилюються, все потомство містить
60 ознаку. Терміни "лінія розведення" або "лінія" відносяться до групи рослин в культиварі,

визначеному спільним загальним набором характеристик або ознак, прийнятих фахівцям у даній галузі, достатньому, щоб відрізнити одну лінію розведення або лінію від іншої селекції або лінії. Н впливає, в будь-якому терміні, що всі рослини будь-якої даної лінії розведення або лінії будуть генетично ідентичні на всьому геномі або молекулярному рівні або що будь-яка рослина

5 буде гомозиготна у всіх локусах. Лінія розведення або лінія вважається "розведенням гомозиготним" за конкретною ознакою, якщо при гомозиготному розведенні або лінії розведення самозапилюється, все потомство містить ознаку. У цьому винаході, ознака виникає з-за мутації в гені РРО рослини або насінні.

Стійкі до гербіцидів рослини за даним винаходом, які містять поліпептиди, що кодують

10 *mut*-РРО поліпептиди, також можуть знайти застосування в методах для збільшення стійкості до гербіцидів рослини за допомогою звичайної селекції рослин за участю статевого розмноження. Способи включають схрещування перших рослин, які стійкі до гербіцидів рослин за даним винаходом з другими рослинами, які можуть або не можуть бути стійкими до одного і того ж гербіциду або гербіцидів в якості першої рослини або можуть бути стійкішими до різних гербіцидів, ніж перша рослина. Друга рослина може бути будь-якою рослиною, яка здатна

15 продукувати життєздатне потомство рослин (тобто, насіння) при схрещуванні з першою рослиною. Як правило, але не обов'язково, перша і друга рослини відносяться до того ж самого виду. Способи можуть необов'язково включати вибір потомства рослин, які містять *mut*-РРО поліпептиди першої рослини і характеристики стійкості до гербіцидів другої рослини. Потомство

20 рослини, отримане цим способом за даним винаходом, має підвищену стійкість до гербіциду порівняно з першою або другою рослинами або обома. Коли перша і друга рослини стійкі до різних гербіцидів, потомство рослини має комбіновані характеристики толерантності до гербіцидів першої і другої рослин. Способи за даним винаходом можуть додатково включати одне або декілька поколінь зворотного схрещування потомства рослин першого схрещування з

25 рослинами в тій ж лінії або генотипі в якості першої або другої рослини. Альтернативно, потомство першого схрещування або будь-якого подальшого схрещування може бути схрещено з третьою рослиною, яка має іншу лінію або генотип, ніж будь-яка з першої або другої рослини.

Даний винахід також відноситься до рослин, органів і рослинних тканин, рослинних клітин, насіння і клітини-господаря, відмінних від людини, які трансформовані, щонайменше, однієї

30 поліпептидною молекулою, касетою експресії, або вектором трансформації за даним винаходом. Такі трансформовані рослини, рослинні органи, рослинні тканини, рослинні клітини, насіння і клітини-господарі, які не є людиною, мають підвищену толерантність або стійкість до щонайменше, одного гербіциду, при кількості гербіциду, які вбивають або пригнічують ріст в нетрансформованих рослин, рослинної тканини, рослинної клітини або не людської клітини-господаря, відповідно. Переважно, трансформовані рослини, рослинні тканини, рослинні

35 клітини, і насіння за даним винаходом являють собою *Arabidopsis thaliana* і культурні рослини.

Слід розуміти, що рослина за даним винаходом може містити РРО нуклеїнову кислоту дикого типу на додаток до *mut*-РРО нуклеїнової кислоти. Передбачається, що толерантні до РРО-інгібуючого гербіциду лінії можуть містити мутацію тільки в одному з декількох

40 ізоферментів РРО. Таким чином, даний винахід включає рослину, яка містить один або декілька *mut*-РРО нуклеїнових кислот на додаток до одного або декількох РРО нуклеїнових кислот дикого типу. В іншому варіанті здійснення, даний винахід відноситься до насіння, продукованого трансгенною рослиною, що містить рослинні клітини за даним винаходом, де насіння розмножують гомозиготно для отримання підвищеної стійкості до РРО-інгібуючого гербіциду

45 порівняно з сортом насіння дикого типу.

В іншому варіанті здійснення, даний винахід стосується способу отримання клітини трансгенної рослини з підвищеною стійкістю до РРО-інгібуючого гербіциду порівняно з сортом рослинної клітини дикого типу, що містить трансформації рослинної клітини касетою експресії, що містить *mut*-РРО нуклеїнову кислоту.

В іншому варіанті здійснення даний винахід стосується способу отримання трансгенної рослини, що містить (а) трансформацію рослинної клітини касетою експресії, що містить *mut*-РРО нуклеїнову кислоту, і (b) генерування рослини з підвищеною стійкістю до РРО-інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.

Отже, *mut*-РРО нуклеїнові кислоти за даним винаходом представлені в касетах експресії

55 для експресії в рослині, що розглядається. Касета буде включати регуляторні послідовності, функціонально пов'язані з послідовністю *mut*-РРО нуклеїнової кислоти за даним винаходом. Термін "регуляторний елемент", використовуваний в даному описі, відноситься до поліпептиду, який здатний регулювати транскрипцію функціонально зв'язаного поліпептиду. Це включає, але не обмежується наведеним, промотори, енансери, інтрони, 5' UTRs і 3' UTRs. Під "функціонально зв'язаним" мають на увазі функціональний зв'язок між

60

промотором і другою послідовністю, в якому послідовність промотора ініціює та опосередковує транскрипцію послідовності ДНК, що відповідає другій послідовності. Як правило, функціонально зв'язаний означає, що послідовності нуклеїнових кислот, які є суміжними і, якщо необхідно з'єднують кодуєчі ділянки двох білків, суміжні і в тій же рамці зчитування. Касета може додатково містити, щонайменше, один додатковий ген для ко-трансформування в організм. Альтернативно, додатковий ген(и) можуть бути, представленими на декількох касетах експресії.

Така касета експресії забезпечена множиною сайтів рестрикції для вставки mut- PPO послідовності нуклеїнової кислоти, щоб перебувати під транскрипційним контролем регуляторних ділянок. Касета експресії може додатково містити селективні маркерні гени. Касета експресії за даним винаходом включає в 5'-3' напрямку транскрипції, транскрипційну і трансляційну ділянки ініціації (тобто промотор), mut-PPO послідовності нуклеїнової кислоти за даним винаходом, і транскрипційну і трансляційну ділянки термінації (тобто, ділянку термінації), що функціонує в рослинах. Промотор може бути нативним або аналогічним чи зовнішнім або гетерологічним до рослини-господаря і/або до послідовності mut-PPO нуклеїнової кислоти за даним винаходом. Додатково, промотор може бути природною послідовністю або, альтернативно, синтетичною послідовністю. Якщо промотор є "зовнішнім" або "гетерологічним" до рослини-господаря, передбачається, що промотор зустрічається в нативній рослині, в яку вводять промотор. Якщо промотор є "зовнішнім" або "гетерологічним" в mut-PPO послідовності нуклеїнової кислоти за даним винаходом, передбачається, що промотор не є нативним або природним для промотора функціонально зв'язаної mut-PPO послідовності нуклеїнової кислоти за даним винаходом. Як використовується у цій заявці, химерний ген містить послідовність, що кодує, функціонально пов'язану з ініціацією транскрипції, яка гетерологічно кодує послідовності.

Хоча це може переважно експресувати mut-PPO нуклеїнових кислот за даним винаходом з використанням гетерологічних промоторів, можуть бути використані нативні послідовності промотора. Такі конструкції змінять рівні експресії білка mut-PPO в рослині або рослинній клітині. Таким чином, фенотип в рослині або рослинній клітині змінюється.

Ділянка термінації може бути нативною з ділянкою ініціації транскрипції, може бути нативною з функціонально зв'язаною mut-PPO розглядуваної послідовності, може бути нативною з рослиною-господарем, або може бути отримана з іншого джерела (наприклад, зовнішнього або гетерологічного промотора mut-PPO послідовності нуклеїнової кислоти, яку розглядають, рослини-господаря, або будь-якої їх комбінації). Зручні ділянки термінації доступні з Ti-плазмиди *A. tumefaciens*, такої як октопінсинтазні та нопалінсинтазні регіони термінації. Див. також Guerineau et al. (1991) *Mol. Gen. Genet.* 262: 141-144; Proudfoot (1991) *Cell* 64:671-674; Sanfacon et al. (1991) *Genes Dev.* 5: 141-149; Magen et al. (1990) *Plant Cell* 2: 1261-1272; Munroe et al. (1990) *Gene* 91: 151-158; Ballas et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:7891-7903; and Joshi et al. (1987) *Nucleic Acid Res.* 15:9627-9639. У разі необхідності, ген(и) можуть бути оптимізовані для збільшення експресії у трансформованій рослині. Тобто, гени можуть бути синтезовані з використанням рослинних бажаних кодонів для поліпшення експресії. Див., наприклад, Campbell and Gowri (1990) *Plant Physiol.* 92: 1-11 для обговорення господар-переважного використання кодонів. Методи доступні в даній галузі для синтезу рослино-переважних генів. Див., наприклад, патенти США №№ 5,380,831 і 5,436,391, и Murray et al... (1989) (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:477-498, які включений до цієї заявки як посилання.

Додаткові модифікації послідовності, як відомо, підвищують експресію гена в клітині-господарі. Вони включають усунення послідовностей, які кодують помилкові сигнали поліаденілювання екзон-інтронних сигналів сайтів сплайсингу, як транспозон-подібні повтори та інші добре охарактеризовані послідовності, які можуть бути шкідливими для експресії генів. Вміст G-C послідовності може бути відрегульований до рівнів середніх для даної клітини-господаря, як розраховано з урахуванням відомих генів, що експресуються в клітині-господарі. Коли це можливо, послідовність модифікована, щоб уникнути прогнозованих шпильок вторинної мРНК структури. Нуклеотидні послідовності для посилення експресії генів можуть бути також використані в векторах, експресованих рослинами. Вони включають інтрони кукурудзи ADHL, інтронний ген (Callis et al. *Genes and Development* 1: 1183-1200, 1987), і лідерні послідовності, (W-послідовності) від вірусу тютюнової мозаїки (TMV), вірусу хлоротичної мармуровості кукурудзи і вірусу мозаїки люцерни (Gallie et al. *Nucleic Acid Res.* 15:8693-8711, 1987 та Skuzeski et al. *Plant Mol. Biol.* 15:65-79, 1990). Перший інтрон з shrunken-1 локусу кукурудзи, як було показано, збільшує експресію генів у химерних генних конструкціях. У патентах США №№ 5,424,412 і 5,593,874 розкрито використання конкретних інтронів в експресії генних конструкцій, і Gallie et al (*Plant Physiology.* 106: 929-939, 1994) також показали, що інтрони можуть бути

використані для регуляції експресії генів на тканино-специфічній основі. Для подальшого підвищення або оптимізації експресії генів *mut-PPO*, вектори експресії рослин за даним винаходом також можуть містити послідовності ДНК, що містять ділянки приєднання матриць (MARS). Рослинні клітини, трансформовані такими модифікованими системами експресії, можливо, володіють підвищеною експресією або мають конститутивну експресію нуклеотидної послідовності за даним винаходом.

Касети експресії за даним винаходом можуть додатково містити 5' лідерні послідовності в конструкції касети експресії. Такі лідерні послідовності можуть діяти для підвищення трансляції. Трансляційні лідери відомі в даній галузі і включають: пікорнавірусні лідери, наприклад, лідер EMCV (Encephalomyocarditis 5' некодуючу ділянку) (Elroy-Stein et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6126-6130); Противірусні лідери, наприклад, лідер TEV (вірус гравірування тютюну) (Gallie et al. (1995) *Gene* 165 (2): 233-238), лідер MDMV (вірус мозаїки кукурудзи, що уповільнює зростання) (*Virology* 154:9-20), і людський зв'язуючий білок імуноглобуліну з важким ланцюгом (BiP) (Masejak та ін. (1991) *Nature* 353: 90-94); нетрансльований лідер з білка оболонки іРНК вірусу мозаїки люцерни (AMV RNA 4) (Jobling et al. (1987) *Nature* 325:622-625); лідер вірусу мозаїки тютюну (BTM) (Gallie et al. (1989) в *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 касет експресії різними фрагментами ДНК можна маніпулювати таким чином, щоб забезпечити послідовності ДНК в правильній орієнтації, і, в разі необхідності, в правильній рамці зчитування. З цією метою можуть бути використані адаптери або лінкери, щоб приєднати фрагменти ДНК, або можуть бути залучені інші маніпуляції, щоб забезпечити зручні сайти рестрикції, видалення надлишкової ДНК, видалення рестрикційних сайтів, або тому подібне. Для цього, можуть бути залучені *in vitro* мутагенез, праймерне коригування, рестрикція, гібридизація, повторні заміщення, наприклад, переходи і трансверсії.

Кількість промоторів можуть бути використані в практиці за даним винаходом. Промотори можуть бути вибрані на основі бажаного результату. Нуклеїнові кислоти можуть бути об'єднані з конститутивними, тканинно-переважними, або іншими промоторами для експресії в рослинах. Такі конститутивні промотори включають, наприклад, основний промотор промотора *Rsyn7* та інші конститутивні промотори, описані в WO 99/43838 і патенті США № 6,072,050; основні *CaMV* 35S промотори (Odell et al. (1985) *Nature* 313: 810-812); актин ризи (McElroy et al. (1990) *Plant Cell* 2: 163-171); убікитин (Christensen et al. (1989) *Plant Mol. Biol.* 12: 619-632, і Christensen et al. (1992) *Plant Mol. Biol.* 18:675-689); *pE-MU* (Last et al. (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81:581-588); *MAS* (Velten et al. (1984) *EMBO J.* 3:2723-2730); *ALS*-промотор (патент США № 5,659,026), і подібні. Інші конститутивні промотори включають, наприклад, патенти США № 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 6,177,611.

Тканинно-переважні промотори можуть бути використані для цільового підвищення експресії *mut-PPO* конкретної рослинної тканини. Такі переважні тканинно-промотори включають, але не обмежуються наведеним, листя-переважні промотори, коріння-переважні промотори, насіння-переважні промотори, і стеблина-переважні промотори. Тканинно-переважні промотори включають Yamamoto et al. (1997) *Plant J.* 12(2):255-265; Kawamata et al. (1997) *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen et al. (1997) *Mol. Gen. Genet.* 254(3):337-343; Russell et al. (1997) *Transgenic Res.* 6(2): 157-168; Rinehart et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(3): 1331-1341; Van Camp et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(2):525-535; Canevascini et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(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): 1129-1138; Matsuoka et al. (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590; та Guevara-Garcia et al. (1993) *Plant J.* 4(3):495-505. Такі промотори можуть бути модифіковані, якщо це необхідно, для слабкої експресії. В одному варіанті здійснення розглядувані нуклеїнові кислоти націлені на хлоропласт для експресії. Таким чином, коли розглядувана нуклеїнова кислота безпосередньо не вставлена в хлоропласт, експресійна касета додатково містить хлоропласт-орієнтовані послідовності, що містять нуклеотидну послідовність, що кодує перехідний пептид хлоропласта, щоб направляти розглядуваний генний продукт до хлоропластів. Такі перехідні пептиди відомі в даній галузі. По відношенню до орієнтації хлоропластної послідовності, "функціонально зв'язаний" означає, що послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує перехідний пептид (тобто, хлоропласт-орієнтовані послідовності) зв'язана з *mut-PPO* нуклеїнової кислоти за даним винаходом таким чином, 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; та Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481. У той час як mut-PPO білки за даним винаходом включають вбудований перехідний пептид хлоропласта, будь-які перехідні пептиди хлоропласта, відомі в даній галузі, можуть бути злиті з амінокислотною послідовністю зрілого mut-PPO білка за даним винаходом за допомогою функціонально зв'язаної послідовності хлоропласт-орієнтованої до 5'-кінців нуклеотидної послідовності, що кодує зрілий mut-PPO білок за даним винаходом. Хлоропластно-направлені послідовності відомі в даній галузі і включають хлоропластну малу субодиницю рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксилази (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) шикікат-3-фосфатсинтазу (EPSPS) (Archer et al. (1990) *J. Bioenerg. Biomemb.* 22(6):789-810); триптофан-синтазу (Zhao et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270(11):6081-6087); пластоціанін (Lawrence et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(33):20357-20363); хорізмат синтазу (Schmidt et al. (1993) *J. Biol. Chem.* 268 (36): 27447-27457); і хлорофіл, що утворюється на світлі, a/b - зв'язуючий білок (LHBP) (Lamppa et al. (1988) *J. Biol. Chem.* 263: 14996-14999). Див. також Von Heijne et al. (1991) *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.

Способи трансформації хлоропластів добре відомі 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 доставці гарматою ДНК, що містить селективний маркер і направлений на ДНК в геномі пластида за допомогою гомологічної рекомбінації. Додатково, трансформаційний пластид може бути одержаний шляхом трансактивації транс гену, що мовчить, шляхом тканинно- переважної експресії ядерно-кодованої і пластид-орієнтованої РНК-полімерази. Така система була повідомлена в McBride et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:7301-7305. Нуклеїнові кислоти, що розглядаються, спрямовані на хлоропласт, можуть бути оптимізовані для експресії в хлоропласт, щоб врахувати відмінності у використанні кодонів між ядром рослини і цією органелою. Таким чином, нуклеїнові кислоти, що розглядаються, можуть бути синтезовані з використанням хлоропласт-переважних кодонів. Див., наприклад, патент США № 5,380,831, який включений до цієї заявки як посилання.

У переважному варіанті здійснення mut-PPO нуклеїнова кислота 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 варіанті, або похідній; 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 варіанті, або похідній; с) полінуклеотиду, що містить, щонайменше, 60 послідовно розташованих нуклеотидів будь-якого з а) або с); і d) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду по кожному з а) до с).

Переважно, касета експресії за даним винаходом додатково містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції і регуляторну ділянку ініціації трансляції, які є функціональними в рослині.

У той час як полінуклеотиди за даним винаходом знаходять застосування як селективні маркери генів для трансформації рослин, касети експресії за даним винаходом можуть включати інший селективний маркерний ген для селекції трансформованих клітин. Селективні маркерні гени, у тому числі за даним винаходом, використовують для відбору трансформованих клітин або тканин. Гени-маркери включають, але не обмежуються наведеним, гени, що кодують стійкість до антибіотиків, такі як кодуючі неоміцинфосфотрансферазу 11 (NEO) і гігromіцин фосфотрансферазу (HCT), а також гени, що додають стійкості до гербіцидних сполук, таких як глюфозінат, бромоксініл, імідазоліон і 2,4 дихлорофеноксиацетат (2,4-D). Див. загалом, Yarranton (1992) *Curr. Opin. Biotech.* 3:506-511; Christophers on et al (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6314-6318; 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: 1094-1104; Bonin (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Gossen et al (1992) *Proc. Natl Acad. Sci USA* 89:5547-5551; Oliva et al (1992) *Anti microb. 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. Такі розкриття включено в даний опис як посилання. Наведений вище перелік селективних маркерних генів не призначений для обмеження. Будь-який селективний маркерний ген може бути використаний в цьому винаході.

Додатково, даний винахід забезпечує виділений рекомбінантний вектор експресії, що містить касету експресії, яка містить mut-PPO нуклеїнову кислоту, як описано вище, де експресія вектора в клітині-господарі призводить до підвищеної стійкості до PPO-інгібуючого гербіциду порівняно з сортом клітини-господаря дикого типу. Як використовується у цій заявці, термін "вектор" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, здатної транспортувати іншу нуклеїнову кислоту, з якою вона пов'язана. Один тип вектора є "плазмідом", який відноситься до кільцевої дволанцюгової петлі ДНК, в яку додаткові сегменти ДНК можуть бути ліговані. Іншим типом вектора є вірусний вектор, в якому додаткові сегменти ДНК можуть бути ліговані у вірусний геном. Деякі вектори здатні до автономної реплікації в клітині-господарі, в яку вони введені (наприклад, бактеріальні вектори, що мають бактеріальне походження реплікації і епісомні вектори ссавців). Інші вектори (наприклад, не-епісомні вектори ссавців) вбудовані в геном клітини-господаря при введенні в клітину-господаря, і тим самим реплікуються разом з геномом господаря. Додатково, деякі вектори здатні регулювати експресію генів, з якими вони функціонально пов'язані. Такі вектори називають у цій заявці "експресуючі вектори." В цілому, експресуючі вектори, використовувані в рекомбінантних ДНК, часто знаходяться у формі плазмід. В даному описі терміни "плазмід" і "вектор" можуть бути використані як взаємозамінні, оскільки плазмід є найбільш часто використовуваною формою вектора. Тим не менш, даний винахід призначений, щоб включати такі інші форми векторів експресії, таких як вірусні вектори (наприклад, дефектні реплікаційні ретровіруси, аденовіруси та адено-асоційовані віруси), які виконують еквівалентні функції.

Рекомбінантні вектори експресії за даним винаходом містять нуклеїнову кислоту за даним винаходом у формі, придатній для експресії нуклеїнової кислоти в клітині-господарі, що означає, що рекомбінантні вектори експресії одна або більше регуляторних послідовностей, вибраних на основі клітини-господаря, які будуть використовуватися для експресії, які функціонально пов'язані з послідовністю нуклеїнової кислоти, щоб бути експресованими. Регуляторні послідовності включають ті, які направляють конститутивну експресію нуклеотидної послідовності в багатьох типах клітин-господарів і ті, які направляють експресію нуклеотидної послідовності тільки в певних клітинах-господарях або за певних умов. Це буде зрозуміло фахівцям у даній галузі, що конструкція вектора експресії може залежати від таких факторів, як вибір клітини-господаря для трансформації, бажаний рівень експресії поліпептиду тощо. Вектори експресії за даним винаходом можуть бути введені в клітини-господарі, щоб таким чином отримати поліпептиди або пептиди, в тому числі злиті поліпептиди або пептиди, кодовані нуклеїновими кислотами, описаними у цій заявці (наприклад, mut-PPO поліпептиди, злиті поліпептиди тощо).

У переважному варіанті здійснення даного винаходу, mut-PPO поліпептиди експресуються в рослині і рослинних клітинах, таких як одноклітинні рослинні клітини (наприклад, водорості) (див. Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology 1(3):239-251 і посилання, наведені там) і рослинні клітини з вищих рослин (наприклад, сперматофіти, такі як культурні рослини). mut-PPO поліпептид може бути "введений" в рослинну клітину за допомогою інших засобів, у тому числі трансфекції, трансформації або трансдукції, електропорації, бомбардування частинками, агроінфекції, біолистики, тощо.

Відповідні способи трансформації або трансфекції клітин-господарів, включаючи рослинні клітини, можуть бути знайдені в Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) та інших лабораторних посібниках, таких, як Methods in Molecular Biology, 1995, Vol. 44, Agrobacterium protocols, ed: Gartland and Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. Оскільки підвищена толерантність до PPO-гербіцидів, що інгібують, є спільною ознакою, яку бажано успадкувати в найрізноманітніших рослинах, таких як кукурудза, пшениця, жито, овес, тритикале, рис, ячмінь, соя, арахіс, бавовна, рапс і ріпак, маніок, перець, соняшник і чорнобривці, пасльонових, таких як картопля, тютюн, баклажан і помідор, видах Vicia, горох, люцерна, чагарникові рослини (кава, какао, чай), видах Salix, дерева (пальмові, кокосові), багаторічні трави, і кормові культур, ці культурні рослини також є кращими цільовими рослинами для генної інженерії, як одне інше здійснення даного винаходу. У переважному варіанті здійснення даного винаходу, рослина є культурною рослиною. Кормові культури включають, але не обмежуються наведеним, пирій, канаркова трава, костер, волосенець, мятлик, ежу збірну, люцерну, сальфойн, лядвенець трилисний, гібридну конюшину, червону конюшину, і буркуну.

В одному варіанті здійснення, даного винаходу, трансфекція *mut-PPO* полінуклеотиду в рослину досягається шляхом опосередкованого *Agrobacterium* перенесення генів. Одним зі способів трансформації, відомим фахівцям у даній галузі, є занурення квітучої рослини в розчин агробактерій, в якому агробактерії містять *mut-PPO* нуклеїнову кислоту, а потім селекцію трансформованих гамет. *Agrobacterium*-опосередкована трансформація рослини може бути виконана з використанням, наприклад, GV3101 (pMP90) (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204:383-396) або LBA4404 (Clontech) штаму *Agrobacterium tumefaciens*. Трансформація може бути виконана за допомогою стандартних методів трансформації та регенерації (Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids. Res. 13:4777-4788; Gelvin, Stan ton B. and Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2nd Ed. - Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 1995. - in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-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, насіння рапсу можуть бути трансформовані за допомогою трансформації 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 селекція рослин залежать від бінарного вектора і штаму *Agrobacterium*, які використовували для трансформації. Вибір насіння рапсу зазвичай виконується з використанням канаміцину, як селективного маркера рослин. *Agrobacterium*-опосередкована генна трансформація льону може бути виконана з використанням, наприклад, методики, описаної Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13:282-285. Додатково, трансформація сої може бути виконана з використанням, наприклад, методики, описаної в Європейському патенті № 0424047, патенті США № 5,322,783, Європейському патенті № 0397 687, патенті США № 5,376,543, або в патенті США № 5,169,770. Трансформація кукурудзи може бути досягнута шляхом бомбардування частинками, поліетиленгліколь-опосередкованого поглинання ДНК, або за допомогою методу волокна карбиду кремнію. (Див., наприклад, Freeling and Walbot "The maize handbook" Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Конкретний приклад трансформації кукурудзи наведено в патенті США № 5,990,387, а конкретний приклад трансформації пшениці можна знайти в заявці РСТ WO 93/07256.

За даним винаходом, введений *mut-PPO* полінуклеотид може бути збережений в рослинній клітині, стабільно, якщо включений в не-хромосомний автономний реплікон або інтегрований в хромосоми рослин. Альтернативно, введений *mut-PPO* полінуклеотид може бути присутній на додатковому хромосомному векторі, що не-реплікує і буде тимчасово експресуватися або тимчасово активним. 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 делеції, інсерції або заміщення вводять, щоб таким чином змінювати, наприклад, функціонально руйнувати, ендегенний ген *PPO* і створювати ген *mut-PPO*. Щоб створити точкову мутацію за допомогою гомологічної рекомбінації ДНК-РНК гібриди можуть бути використані в технології, відомої як хімеропластика (Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27(5):1323-1330 and Kmiec, 1999, Gene therapy American Scientist 87(3):240-247). Інші гомологічні рекомбінаційні процедури видів *Triticum* також відомі в даній галузі і розглядаються для використання в цьому винаході.

У гомологічному рекомбінаційному векторі, ген *mut-PPO* може бути фланкований на його 5' і 3' кінці додатковою молекулою нуклеїнової кислоти гена *PPO* для забезпечення гомологічної рекомбінації, що відбувається між екзогенним геном *mut-PPO*, який міститься у векторі, і ендегенним геном *PPO*, в мікроорганізмі або рослині. Додаткова фланкуюча *PPO* молекула нуклеїнової кислоти має достатню довжину для успішної гомологічної рекомбінації з ендегенним геном. Як правило, від декілька сотень пар основ до тисяч пар нуклеотидів фланкуючої ДНК (як на 5', так і на 3' кінцях) включають у вектор (див., наприклад, Thomas, K. R., and Caracci, M. R., 1987, Cell 51:503 для опису векторів гомологічної рекомбінації або Strepp et al., 1998, PNAS, 95(8):4368-4373 для кДНК на основі рекомбінації в *Physcomitrella patens*). Однак, оскільки ген *mut-PPO* зазвичай відрізняється від гена *PPO* в дуже небагатьох амінокислот, фланкуючі послідовності не завжди необхідні. Вектор гомологічної рекомбінації вводять в мікроорганізм або рослинну клітину (наприклад, за допомогою поліетиленгліколь-опосередкованої ДНК), і клітини, в яких введений ген *mut-PPO* гомологічно рекомбінований з ендегенним геном *PPO*, вибирають за допомогою методів, відомих в даній галузі.

В іншому варіанті здійснення, можуть бути отримані рекомбінантні мікроорганізми, які містять вибрані системи, які дозволяють регульовану експресію введеного гена. Наприклад, включення *mut*-гена *PPO* на векторі розміщує його під контроль *lac* оперона та дозволяє експресію *mut-PPO* гена тільки в присутності IPTG. Такі регуляторні системи добре відомі в даній галузі.

Інший аспект даного винаходу стосується клітин-господарів, де рекомбінантний вектор експресії за даним винаходом було введено. Терміни "клітина-господар" і "рекомбінантна клітина-господар" використовуються у цій заявці як взаємозамінні. Зрозуміло, що такі терміни відносяться не тільки до конкретної клітини, що розглядається, але вони також застосовні і до

5 потомства або потенційного потомства такої клітини. Оскільки деякі модифікації можуть відбуватися в наступних поколіннях внаслідок мутації або впливів навколишнього середовища, таке потомство може насправді не бути ідентичним батьківській клітині, але як і раніше включено в обсяг терміна, як використано в даному описі. Клітина-господар може бути будь-якою прокаріотичною або еукаріотичною клітиною. Наприклад, mut-PPO полінуклеотид може

10 бути експресований в бактеріальних клітинах, таких як *S. glutamicum*, клітинах комах, клітинах грибів або клітинах ссавців (наприклад, клітинах яєчника китайського хом'ячка (CHO) або клітинах COS), водоростях, інфузорій, рослинних клітинах, грибах або інших мікроорганізмах, таких як *S. glutamicum*. Інші відповідні клітини-хазяї відомі фахівцям у даній галузі.

Клітина-господарі за даним винаходом, наприклад, в прокаріотичній або еукаріотичній клітині-господарі в культурі, може бути використана для отримання (тобто експресії) mut-PPO полінуклеотиду. Відповідно, даний винахід додатково забезпечує способи отримання mut-PPO поліпептидів з використанням клітин-господарів за даним винаходом. В одному варіанті здійснення даного винаходу, спосіб включає культивування клітини-господаря за даним винаходом (де рекомбінантний вектор експресії, що кодує mut-PPO поліпептид, був введений,

20 або в геном якого був введений ген, що кодує дикого типу або mut-PPO поліпептид) в придатному середовищі до одержання mut-PPO поліпептиду. В іншому варіанті здійснення, спосіб додатково включає виділення mut-PPO поліпептидів із середовища або клітини-господаря. Інший аспект за даним винаходом стосується ізолюваного mut-PPO поліпептиду, і його біологічно активних ділянок. "Ізолюваний" або "очищений" поліпептид або його біологічно активна частина не містять жодного клітинного матеріалу, коли їх отримують рекомбінантними

25 ДНК способами або з хімічних попередників або інших хімічних речовин, при хімічному синтезі. Вираз "по суті не містить клітинного матеріалу" включає препарати mut-PPO поліпептиду, в яких поліпептид відділений від деяких клітинних компонентів клітин, в яких він природним шляхом або рекомбінантно отриманий. В одному варіанті здійснення, вираз "по суті не містить клітинного матеріалу" включає препарати mut-PPO поліпептиду, що мають менш ніж приблизно 30 % (по сухій масі) не mut-PPO матеріалу (також названого у цій заявці як "забруднюючий поліпептид"), більш переважно менш ніж приблизно 20 % не mut-PPO матеріалу, ще більш переважно менш ніж приблизно 10 %, не mut-PPO матеріалу, і найбільш переважно менш ніж приблизно 5 % не mut-PPO матеріалу.

Коли mut-PPO поліпептид або його біологічно активна частина, отримані рекомбінантним шляхом, вони також переважно по суті не містять культурального середовища, тобто, культуральне середовище становить менш ніж приблизно 20 %, більш переважно менш ніж приблизно 10 %, і найбільш переважно менше ніж приблизно 5 % від об'єму поліпептидного

40 препарату. Вираз "по суті не містить хімічних попередників або інших хімічних речовин" включає препарати mut-PPO поліпептиду, де поліпептид відділений від хімічних попередників або інших хімічних речовин, які беруть участь у синтезі поліпептиду. В одному варіанті здійснення, вираз "по суті не містить хімічних попередників або інших хімічних речовин" включає препарати mut-PPO поліпептиду, що містять менш ніж приблизно 30 % (по сухій масі) хімічних попередників або не-mut-PPO хімічних речовин, більш переважно менш ніж приблизно 20 % хімічних попередників або не-mut-PPO хімічних речовин, ще більш переважно менш ніж приблизно 10 % хімічних попередників або не-mut-PPO хімічних речовин, і найбільш переважно менше ніж приблизно 5 % хімічних попередників або не-mut-PPO хімічних речовин. У переважних варіантах здійснення, виділені поліпептиди або їх біологічно активні частини не мають забруднюючих поліпептидів з того ж самого організму, з якого отриманий поліпептид mut-PPO. Як правило, такі

50 поліпептиди отримують шляхом рекомбінантної експресії, наприклад, mut-PPO поліпептиду в інших рослинах, або в мікроорганізмах, таких як *S. glutamicum*, інфузорії, водорості, чи гриби.

Як описано вище, у даному винаході описано композиції та способи для підвищення PPO-інгібуючої толерантності рослин сільськогосподарських культур або насіння порівняно з сортом рослин дикого типу з рослин або насіння. У переважному варіанті здійснення, PPO-інгібуюча толерантність насіння культурних рослин збільшується таким чином, що рослина або насіння можуть витримувати PPO-інгібуючі гербіциди, переважно приблизно від 1-1000 г а.і. га⁻¹, більш переважно 1-200 г а.і. га⁻¹, ще більш переважно 5-150 г а.і. га⁻¹, та найбільш переважно 10-100 г а.і. га⁻¹. Як використовується у цій заявці, "витримати" застосування PPO-інгібуючих гербіцидів означає, що рослина не знищена чи лише помірно поранена таким застосуванням. Це буде зрозуміло фахівцю в даній галузі, що норми витрат можуть змінюватися залежно від умов

навколишнього середовища, таких як температура або вологість, залежно від обраного виду гербіциду (активного інгредієнта ai).

Додатково, даний винахід відноситься до способів, які включають використання щонайменше, одного РРО-інгібуючого гербіциду, необов'язково в поєднанні з одним або декількома гербіцидними сполуками В, і, необов'язково, антидотом С, як детально описано вище.

У цих способах РРО-інгібуючі гербіциди можуть бути застосовані будь-яким способом, відомим в даній галузі, включаючи, але не обмежуючись цим, обробку насіння, обробку ґрунту та обробку листя. Перед нанесенням РРО-інгібуючі гербіциди можуть бути перетворені в звичайні композиції, наприклад, розчини, емульсії, суспензії, тонкодисперсні порошки, порошки, пасти і гранули. Використовувана форма залежить від мети застосування; в кожному випадку, вона повинна забезпечувати тонкодисперсний і рівномірний розподіл сполуки за даним винаходом.

Надаючи рослинам збільшення толерантності до РРО-інгібуючого гербіциду, широке розмаїття композицій може бути використано для захисту рослин від бур'янів, з тим щоб підвищити ріст рослин і зменшити конкуренцію за поживні речовини. РРО-інгібуючий гербіцид може бути використаний сам по собі для боротьби з бур'янами перед пророщуванням та після пророщування, перед посадкою, і після посадки на ділянках, що оточують культурні рослини, як описано у цій заявці, або композиція РРО-інгібуючого гербіциду може бути використана, що містить інші добавки. РРО-інгібуючий гербіцид також може бути використаний для обробки насіння. Добавки в композиціях РРО-інгібуючих гербіцидів включають інші гербіциди, детергенти, ад'юванти, ліофілізуючі агенти, агенти липкості, стабілізуючі агенти або тому подібне. Композиція РРО-інгібуючого гербіциду може бути вологим або сухим препаратом і може включати, але не обмежується наведеним, текучі порошки, концентрати, що емульгуються, і рідкі концентрати. РРО-інгібуючий гербіцид і композиції гербіцидів можуть бути застосовані звичайними способами, наприклад, шляхом обприскування, поливу, обприскування або тому подібне.

Відповідні композиції докладно описані в РСТ/ЕР2009/063387 і РСТ/ЕР2009/063386, які включені у цю заявку як посилання. Слід також розуміти, що вищенаведене відноситься до переважних варіантів втілення даного винаходу і що численні зміни можуть бути зроблені в ньому без відступу від сутності та обсягу даного винаходу. Даний винахід проілюстровано нижче наступними прикладами, які не повинні бути витлумачені жодним чином як обмеження обсягу даного винаходу.

Навпаки, слід чітко розуміти, що даний винахід може мати різні інші втілення, модифікації та їх еквіваленти, які після прочитання опису в цій заявці, можуть бути запропоновані фахівцям у даній галузі, не відступаючи від суті даного винаходу та/або обсягу формули винаходу, що додається.

Приклади

Приклад 1: Сайт-спрямований мутагенез *Amaranthus* РРО
Клонування *Amaranthus* РРО

Amaranthus tuberculatus кодує послідовність для РРО-сприйнятливих і резистентних ізоформ, і всі мутантні комбінації і множинні мутації, (SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7), були синтезовані і клоновані в Geneart (Geneart AG, Regensburg, Germany). Плазмиди виділяли з *E.coli* TOP10 шляхом мініпрепарування плазмід і підтверджували секвенуванням ДНК.

Експресія та очистка рекомбінантного дикого типу та мутантного РРО

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 перетворені на BL21 (DE3)-pLysS штам *E.coli*. Клітини вирощували в 250 мл LB з 100 мг/мл карбеніциліну, струшували протягом ночі при 37 °С. Культури розводили в 1 л LB з антибіотиком і вирощували при 37 °С струшування протягом 2 годин, індукованих 1 мМ IPTG і вирощували при 25 °С і струшували протягом більше 5 годин. Клітини збирали центрифугуванням при 1600хг, промивали 0,09 % NaCl і зберігали при -80 °С.

Клітини піддавали лізису з використанням Френч-пресу при 140 МПа, в 50 мМ фосфату натрію, pH 7,5, 1 М NaCl, 5 мМ імідазолу, 5 % гліцерину і 1 мг/мл лейпептину. Після лізису було додано 0,5 од. бензонази (No-Vagen, EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ) і PMSF (кінцева концентрація 1 мМ). Залишки клітин видаляли центрифугуванням при 3000 г. His-мічені РРО білки очищали на нікель активованій колонці Hitrap Chelating HP (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ), врівноваженою 20 мМ фосфату натрію, pH 8,0, 50 мМ NaCl, 5 мМ імідазолу, 5 мМ MgCl₂, 0,1 мМ ЕДТА і 17 % гліцерину.

PPO елюювали 250 мМ імідазолу. Активний білок знесолювали на PD-10 колонці (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ), врівноважений 20 мМ натрій-фосфатного буфера, pH 7,5, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ EDTA і 17 % гліцерину. Кожен літр культури надавав приблизно 10 мг чистого PPO, який зберігали при -20 °C до використання в аналізах.

5 Аналіз активності PPO

PPO ферментний аналіз (не рекомбінантний).

10 PPO білок (ЄС 1.3.3.4) екстрагували з колеоптилів або пагонів (150 г свіжої маси) вирощеної у темряві кукурудзи, пасльону чорного, іпомеї, і канатника Теофраста, як описано раніше (Grossmann et al. 2010). Перед збиранням, саджанці залишали ставати зеленим протягом 2 годин на світлі, для досягнення максимальної питомої активності ферментів в тілакоїдних фракціях при низьких концентраціях хлорофілу. При високій концентрації хлорофілу значне гасіння флуоресценції відбувається, що обмежує кількість зелених тілакоїдів, які можуть бути використані в тесті.

15 Рослинні матеріали гомогенізували на холоді блендером Braun з використанням співвідношення свіжої маси до об'єму 1:4. Буфер для гомогенізації складався з трис (гідроксиметил)амін етану (Тріс)-HCl (50 мМ, pH 7,3), сахарози (0,5 М), хлориду магнію (1 мМ), етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) (1 мМ) і бичачого сироваткового альбуміну (2 г л⁻¹). Після фільтрації через чотири шари Miracloth, неочищені пластидні препарати були отримані після центрифугування при 10000 x g протягом 5 хв. і ресуспендування в буфері для гомогенізації перед центрифугуванням при 150 x g протягом 2 хв. для видалення залишків неочищених клітин. Супернатант центрифугували при 4000 x g протягом 15 хв. і фракцію осаду ресуспендували в 1 мл буфера, що містив Тріс-HCl (50 мМ, pH 7,3), EDTA (2 мМ), лейпептин (2 мкМ), пепстатин (2 мкМ) і гліцерин (200 мл л⁻¹) і зберігали при -80 °C до використання. Білок визначали в екстракті ферменту за допомогою бичачого сироваткового альбуміну як стандарт.

25 PPO активність визначали флуорометрично шляхом моніторингу швидкості утворення прото з хімічно відновленого протопорфіриногену IX відповідно до початкових умов швидкості. Тестова суміш складалася з Тріс-HCl (100 мМ, pH 7,3), EDTA (1 мМ дітіотреїтолу), (5 мМ), Tween 80 (0,085 %), протопорфіриногену IX (2 мкМ) і 40 мкг екстрагованого білка в загальному об'ємі 200 мкл. Реакцію ініціювали додаванням субстрату протопорфіриногену IX при 22 °C, сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-інілу)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону, флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону, а також інгібітора фотосинтезу діурону, який був використаний як негативний контроль, готували в розчині диметилсульфоксиду (ДМСО) (0,1 мМ концентрація ДМСО в аналізі) і додавали до суміші для аналізу в концентрації від 0,005 мкМ до 5 мкМ перед інкубацією. Флуоресценцію контролювали безпосередньо з аналізу суміші за допомогою Polarstar Optima/Galaxy (BMG) зі збудженням при 405 нм та емісією моніторили при 630 нм. Неферментативна активність в присутності інактивованого нагрівання екстракту була незначна. Інгібування ферментативної активності, індукованої гербіцидом, було виражено як відсоток інгібування по відношенню до необробленого контролю. Молярні концентрації сполук, необхідних для 50 % інгібування ферменту (значення IC₅₀) були розраховані шляхом підгонки значень в рівнянні доза-відповідь, використовуючи нелінійний регресійний аналіз.

PPO ферментний аналіз (рекомбінантний).

45 Прото був придбаний у Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI). Protogen отримували відповідно до Jacobs і Jacobs (NJ Jacobs, JM Jacobs, Assay for enzymatic protoporphyrinogen oxidation, a late step in heme synthesis, Enzyme 28 (1982) 206-219). Аналізи були проведені в 100 мМ фосфаті натрію, pH 7,4, 0,1 мМ EDTA, 0,1 % Tween 20, 5 мкМ FAD і 500 мМ імідазолу. Криві доза-відповідь PPO інгібіторів сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-інілу)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону, флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону, а також фотосинтезу інгібітора діурону, який був використаний як негативний контроль, і MC-15608 був отриманий в присутності 150 мкМ Protogen. Смуги збудження і випромінювання були встановлені на 1 0,5 і 30 нм, відповідно. Всі аналізи були зроблені у двох примірниках або трьох примірниках і вимірювали за допомогою Polarstar Optima/Galaxy (BMG) при 405 нм та моніторингу емісії при 630 нм. Молярні концентрації сполук, необхідні для 50 % інгібування ферменту (значення IC₅₀) розраховані шляхом установки значень в рівнянні доза-відповідь, використовуючи нелінійний регресійний аналіз.

60 Значення доза-відповідь (IC₅₀) для заміщених PPO ферментів більше, ніж значення IC₅₀ для дикого типу (незаміщеного) PPO ферменту (таблиця 4а). Це вказує на те, що ці заміщені PPO ферменти мають притаманну стійкість до тестованих PPO-гербіцидів, що інгібують. Заміщені

- 5 PPO ферменти dG210 і R128L відомі як заміщені PPO ферменти, знайдені в *Amaranthus tuberculatus* і *Ambrosia artemisiifolia*, відповідно, і показано, що відповідають за in planta стійкість PPO до різних PPO гербіцидів (Dayan et al., 2010, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804:1548). Це вказує на те, що інші заміщені PPO ферменти в списку з більш високим значенням IC_{50} , ніж dG210 або R128L, також заміщені PPO ферменти, які відповідають за стійкість in planta проти різних гербіцидів PPO (Таблиця 4a). Всі заміщені PPO ферменти показують порівнянну активність ферменту, зміну флуоресцентних одиниць за хвилину (ф.о./хв.) порівняно з PPO ферментом дикого типу (Таблиця 4a). Додатково, всі значення активності для заміщених PPO ферментів більше, ніж для заміщених PPO ферментів dG210 або R128L. Заміщені PPO ферменти dG210 і R128L достатньо активні для функції in planta, як уже показано. Це означає, що всі інші зазначені заміщені PPO ферменти також досить активні для функції in planta.

Таблиця 4:

IC_{50} (M) значення для дикого типу та амінокислота-заміщеного PPO ферменту, для інгібіторів сафлуфенацилу і 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діону

Заміщення амінокислоти	SEQ. ID NO.	Відносна ферментна активність (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2'7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазинан-2,4-діон
				IC_{50} (M)
PPO гербіцид-чутливий PP02 WC	2	1000	1,86E-09	5, 17E-10
PPO гербіцид-чутливий PP02 AC	4	800	1,78E-10	5,96E-11
dG210	6 та 8	80	1,60E-06	2, 12E-09
R128L	2 та 4	700	2,22E-07	7,73E-10
R128A, L397D	2 та 4	100	1,00E-05	5,90E-09
R128L, L397D	2 та 4	ND	ND	
F204I, T208S	2 та 4	745	5,89E-11	1,29E-10
F204I, L397D	2 та 4	ND	ND	
F204I, L400A	2 та 4	150		4,57E-11
F204I, F420V	2 та 4	265		4,69E-09
F204I, F457M	2 та 4	200	1,89E-11	7,52E-11
T208S, L397D	2 та 4	150	4,08E-07	1,25E-10
T208S, L400A	2 та 4	ND	ND	
T208S, F420V	2 та 4	520	8,48E-07	2,34E-09
T208S, F457M	2 та 4	550	1,02E-10	1,95E-10
L397D, L400A	2 та 4	ND	ND	
L397R, F420M	2 та 4	ND	ND	
L397N, F420M	2 та 4	90		1,63E-08
L397D, F420M	2 та 4	120	>0,00001	2,95E-08
L397A, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397R, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397N, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397Q, F420V	2 та 4	90	>0,00001	1,01E-07
L397K, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397F, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397P, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397W, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397V, F420V	2 та 4	150		1,21E-08
L397H, F420V	2 та 4	ND	ND	
L397I, F420M	2 та 4	410		1,98E-10
L397M, F420K	2 та 4	ND	ND	
L397M, F420M	2 та 4	250		2,32E-10

Таблиця 4:

IC₅₀ (M) значення для дикого типу та амінокислота-заміщеного PPO ферменту, для інгібіторів сафлуфенацилу і 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4- (проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону

Заміщення амінокислоти	SEQ. ID NO.	Відносна ферментна активність (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2'7-трифтор-3-оксо-4- (проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
L397F, F420M	2 та 4	ND		ND
L397S, F420M	2 та 4	210		3,33E-09
L397W, F420M	2 та 4	ND		ND
L397Y, F420M	2 та 4	ND		ND
L3971, F420V	2 та 4	100		4,09E-09
L397A, F420M	2 та 4	150		4,53E-09
L397C, F420M	2 та 4	370		1,79E-09
L397D, F420V	2 та 4	60	>0,00001	1,16E-06
L397C, F420V	2 та 4	150		5,54E-08
L397E, F420V	2 та 4	105	>0,00001	1,41E-07
L397G, F420V	2 та 4	ND		ND
L397H, F420V	2 та 4	ND		ND
L397M, F420V	2 та 4	140		8,79E-09
L397S, F420V	2 та 4	110		4,26E-08
L397T, F420V	2 та 4	150		1,31E-08
L397Q, F420M	2 та 4	110	1,00E-06	5,41 E-09
L397E, F420M	2 та 4	340	1,00E-06	6,03E-09
L397G, F420M	2 та 4	80		6,06E-08
L397P, F420M	2 та 4	ND		ND
L397T, F420M	2 та 4	ND		ND
L397V, F420M	2 та 4	400		1,05E-09
L397D, F457M	2 та 4	ND		ND
L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
L400A, F457M	2 та 4	160		1,35E-11
F420V, F457M	2 та 4	105		1,02E-09
R128A, F2041, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, F420V	2 та 4	200	>0,00001	1,25E-08
R128A, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
F2041, T208S, L397D	2 та 4	100		5,52E-11
F2041, T208S, L400A	2 та 4	105		2,64E-11
F2041, T208S, F420V	2 та 4	80		3,87E-09
F2041, T208S, F457M	2 та 4	200		4,21E-11
F2041, T208S, F457M	2 та 4	470	5,11E-11	1,70E-10
F2041, L397D, L400A	2 та 4	ND		ND
F2041, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
F2041, L397D, F457M	2 та 4	ND		ND
F2041, L400A, F420V	2 та 4	100		8,23E-08
F2041, L400A, F457M	2 та 4	ND		ND
F2041, F420V, F457M	2 та 4	80		2, 10E-09
T208S, L397D, L400A	2 та 4	ND		ND
T208S, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
T208S, L397D, F457M	2 та 4	ND		ND
T208S, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND

Таблиця 4:

IC₅₀ (M) значення для дикого типу та амінокислота-заміщеного PPO ферменту, для інгібіторів сафлуфенацилу і 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4- (проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону

Заміщення амінокислоти	SEQ. ID NO.	Відносна ферментна активність (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2'7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
T208S, L400A, F457M	2 та 4	60		9,68E-12
T208S, F420V, F457M	2 та 4	90		3,41 E-09
L397D, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
L397D, L400A, F457M	2 та 4	ND		ND
L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, T208S, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, F420V, F457M	2 та 4	80		4,63E-08
R128A, F204I, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L397D, L400A	2 та 4	80		2,38E-09
F204I, T208S, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L397D, F457M	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L400A, F457M	2 та 4	100		2,88E-11
F204I, T208S, F420V, F457M	2 та 4	200		4,72E-09
F204I, L397D, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
F204I, L397D, L400A, F457M	2 та 4	ND		ND
F204I, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
F204I, L400A, F420A, F457M	2 та 4	60		3,69E-08
T208S, L397D, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
T208S, L397D, L400A, F457M	2 та 4	ND		ND
T208S, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
T208S, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
L397D, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, T208S, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, T208S, L397D, F420V	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, T208S, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, F204I, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
R128A, T208S, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L397D, L400A, F420V	2 та 4	ND		ND
F204I, T208S, L397D, L400A, F457M	2 та 4	ND		ND

Таблиця 4:

IC₅₀ (M) значення для дикого типу та амінокислота-заміщеного PPO ферменту, для інгібіторів сафлуфенацилу і 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону

Заміщення амінокислоти	SEQ. ID NO.	Відносна ферментна активність (FU/хв.)	Сафлуфенацил	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2'7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон
				IC ₅₀ (M)
F204I, T208S, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	
F204I, T208S, L400A, F420V, F457M	2 та 4	60		9,24E-08
F204I, L397D, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	
T208S, L397D, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	
R128A, F204I, L400A, F420V, F457M	2 та 4	50		4,05E-07
R128A, F204I, T208S, L397D, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	
R128A, F204I, T208S, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	
F204I, T208S, L397D, L400A, F420V, F457M	2 та 4	ND	ND	

Приклад 2. Розробка рослин, толерантних до PPO-інгібуючих гербіцидів з диким типом або мутованими послідовностями PPO.

- PPO-похідні до гербіцидів сої (*Glycine max*) або кукурудзи (*Zea Mays*) рослини отримують у спосіб, як описано Olhoft et al. (Патент США 2009/0049567). Для трансформації сої або *Arabidopsis thaliana*, дикого типу або мутантні PPO послідовності клонують за допомогою стандартних методів клонування, як описано в Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) в бінарний вектор, що містить касету генного маркера стійкості (AHAS) і мутантну послідовність PPO (позначену як GOI) між промотором убіквітину (PcUbi) і термінатором нопалінсинтазної (NOS) послідовності. Для трансформації кукурудзи, дикого типу або мутантну PPO послідовності клонують за допомогою стандартних методів клонування, як описано в Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) в бінарний вектор, що містить касету генного маркера стійкості (AHAS) і мутантну послідовність PPO (позначену як GOI) між кукурудзяним промотором убіквітину (ZmUbi) і термінатором нопалінсинтазної (NOS) послідовності. Бінарні плазмідні конструкції вводять в *Agrobacterium tumefaciens* для трансформації рослин. Плазмідні конструкції вводять в меристеми сої в середовище введення коренів за допомогою агробактеріальної трансформації. Після інокуляції та спільного культивування з *Agrobacterium*, експлантати переносили в середовище індукування коренів без відбору протягом одного тижня. Експлантати згодом переносили в середовище індукування коренів з 1-3 мкМ імазапіру (Arsenal) протягом 3 тижнів, щоб вибрати трансформовані клітини. Експлантати зі здоровими підшвами каллусу/коренів на первинному вузлі потім переносили в середовище пагонів, що містило 1-3 мкМ імазапіру до подовження коренів або смерті експлантатів. Трансгенні проростки вкорінювали, піддавали аналізу TaqMan на присутність трансгенів, переносили в ґрунт і вирощували до зрілості в теплиці. Трансформація рослин кукурудзи зроблена способом, описаному в McElver і Singh (WO 2008/124495). Конструкції вектору трансформації рослин, що містять мутовані послідовності PPO, вводили в незрілі зародки кукурудзи за допомогою агробактеріальної трансформації.

- Трансформовані клітини були відібрані у селекційні середовищі з додаванням 0,5-1,5 мкМ імазетапіру протягом 3-4 тижнів. Трансгенні пагони були регенеровані у середовищі регенерації рослин та вкорінені після цього. Трансгенні проростки піддавали TaqMan аналізу на присутність трансгенів, перш ніж пересаджували в суміші для висаджування і вирощували до зрілості в

теплиці. *Arabidopsis thaliana* трансформували дикого типу або мутантними PPO послідовностями методом квіткового занурення, як описано в McElver і Singh (WO 2008/124495). Трансгенні рослини *Arabidopsis* піддавали аналізу TaqMan для аналізу кількості інтеграції локусів. Трансформацію *Oryza Sativa* (рис) виконували шляхом трансформації протопластів, як це описано вище Peng et al. (US 6653529) або T1 трансгенної рослини сої, кукурудзи та рису, що містили мутовані послідовності PPO перевіряли на підвищену толерантність до PPO-похідних гербіцидів парникових досліджень та дослідження з мімін-гарфіками з наступними PPO-інгібуючими гербіцидами: сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон, флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лктофен, біфенокс, сульфентразон, а також інгібітор фотосинтезу діурон, який був використаний як негативний контроль.

Трансгенні рослини *Arabidopsis thaliana* аналізували на підвищену толерантність до сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону, флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону, а також інгібітору фотосинтезу діурону, який був використаний як негативний контроль, в 48-лункових планшетах. Таким чином, насіння T2 поверхнево стерилізували при перемішуванні протягом 5 хв. в етанолі + вода (70+30 за об'ємом), промивали однократно етанолом + вода (70+30 за об'ємом) і два рази стерильною деіонізованою водою. Насіння суспендували в 0,1 % агару, розчиненому у воді (м/о) чотири-п'ять насінин на лунку висівали на твердому живильному середовищі, що складалося з половинного поживного розчину Murashige Skoog, pH 5,8 (Murashige and Skoog (1962) *Physiologia Plantarum* 15: 473-497). Сполуки розчиняли в диметилсульфоксиді (ДМСО) і додавали у середовище перед затвердінням (кінцева концентрація ДМСО 0,1 %). Мульти-лункові планшети інкубували в ростовій камері при 22 °C, 75 % відносної вологості і 110 мкмоль Phot м⁻² * с⁻¹ з 14: 10 годин фотоперіодом світло: темрява.

Інгібування росту оцінювали від семи до десяти днів після посіву порівняно з рослинами дикого типу. Додатково, трансгенні рослини *Arabidopsis* T1 були випробувані для поліпшення толерантності до PPO-гербіцидів, що інгібують, в тепличних дослідженнях з наступними PPO-інгібуючими гербіцидами: сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон, флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, лактофен, біфенокс, сульфентразон, а також інгібітор фотосинтезу діурон, який був використаний як негативний контроль. Отримані результати наведені в таблиці 5.

Таблиця 5

Лінія	Призначення DAT (DAT = днів після обробки)	SEQ_ID	Заміщення	Рейтинг пошкодження 0-100 %		
				(0 = пошкодження відсутнє, 100 = загальний контроль)		
				300	150	75
				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінін-2,4-діон г/На + 1 %MSO		
1	7	2 та 4	L397D, F420V	100	30	98
1	19	2 та 4	L397D, F420V	98	65	95
2	7	2 та 4	L397D, F420V	30	98	100
2	19	2 та 4	L397D, F420V	60	100	100
3	7	2 та 4	L397D, F420V	35	98	80
3	19	2 та 4	L397D, F420V	80	100	95

Приклад 3. Умови культивування тканин

Аналіз *in vitro* мутагенезу тканинної культури був розроблений, щоб виділити і охарактеризувати рослинні тканини (наприклад, тканини кукурудзи, рису), толерантні до протопорфіриноген оксидаза (PPO) інгібуючих гербіцидів (наприклад, сафлуфенацил, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2H-бензо[b][1,4] оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон, флуміоксазин, бутафенацил, ацифлуорфен, LAC-tofen, біфенокс, сульфентразон). Аналіз використовує соматоклональний варіант, який знаходиться в *in vitro* тканинній культурі. Спонтанні мутації, отримані з соматоклональної варіації, можуть бути

підвищені за рахунок хімічного мутагенезу і подальшого відбору постадійно, при збільшенні концентрації гербіциду. Даний винахід забезпечує умови культивування тканин для заохочення зростання регенованого пухкого ембріонального каллуса кукурудзи або рису. Каллуси ініціювали з 4-х різних сортів кукурудзи або рису, що охоплюють Zea Mays і Japonica а (Taipei 309, Nipponbare, Koshihikari) і Indica (Indica 1) сорту, відповідно. Насіння поверхнево стерилізували в 70 % етанолі протягом приблизно 1 хв., а потім 20 % комерційного відбілювача Слогох протягом 20 хвилин. Насіння промивали стерильною водою і висівали на середовище для індукції калусу. Різні калусні індукційні середовища були протестовані. Переліки інгредієнтів випробуваних середовищ представлені в таблиці 6.

Таблиця 6

Інгредієнт	Поста-чальник	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	4,0г/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
Казамінокислоти	BO	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
Нікотинова кислота	Sigma						0,5 мг/л
Піридоксин HCl	Sigma						0,5 мг/л
Тіамін HCl	Sigma						1,0 мг/л
Міо-інозитол	Sigma						100 мг/л
Інгредієнт	Supplier	R001M	R025M	R026M	R327M	R008M	MS711R
MES	Sigma	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л	500 мг/л
Мальтоза	VWR	30 г/л	30 г/л	30 г/л	30 г/л		
Сорбіт	Duchefa			30 г/л			
Сахароза	VWR					10 г/л	30 г/л
NAA	Duchefa					50 µг/л	
2,4-D	Sigma	2,0 мг/л					1,0 мг/л
MgCb·6H ₂ O	VWR					750 мг/л	
-+pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,7
Gelrite	Duchefa	4,0 г/л				2,5 г/л	
Агароза Type1	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				
Кефотаксим	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 калусу було вибране після тестування численних варіацій. Культури витримували в темряві при 30 °C. Ембріогенний каллус пересівали на свіже середовище через 10-14 днів.

Приклад 4. Вибір гербіцид-толерантних калусів.

Після того, як умови культивування тканин були визначені, подальше створення умов відбору було встановлено на основі аналізу виживання тканин на кривих з сафлуфенацилом, 1,5-диметил-6-тіоксогрупу-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діоном, флуміоксазином, бутафенацилом, ацифлуорфеном, лактофеном, біфеноксом, сульфентразоном, а також інгібітором фотосинтезу діуроном, який був використаний як негативний контроль. Проводили ретельний розгляд накопичення гербіциду в тканині, а також її стійкості і стабільності в клітинах і культуральному середовищі. За допомогою цих експериментів, сублетальна доза була створена для початкового вибору мутантного матеріалу. Після встановлення початкової дози

сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діону, флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону, а також інгібітора фотосинтезу діурону, які було використано як негативний контроль, в селективному середовищі, тканини були вибрані поетапно шляхом збільшення концентрації інгібітора РРО з кожного перенесення, поки клітини, які росли енергійно в присутності токсичних доз, не будуть повторно покриті. Отриманий в результаті каллус у цій заявці нижче субкультивували кожні 3-4 тижні до R001 М з селективного агента. Більш ніж 26 000 каллусів було піддано селекції для 4-5 субкультур, поки селекційний тиск не був вище токсичних рівнів, як визначено кривими вбивання і спостережень продовженої культури.

Альтернативно, рідкі культури ініційовані каллусами в MS711 R з повільним струшуванням і щотижневими субкультурами. Після того, як рідкі культури були створені, селективний агент був доданий безпосередньо в колбу на кожній субкультурі. Після 2-4 циклів відбору рідини, культури перенесли на фільтри на твердих середовищах R001 М для подальшого зростання.

Приклад 5. Регенерація рослин.

Толерантну тканину регенерували і охарактеризували на молекулярному рівні на предмет мутацій послідовності гена РРО та/або біохімічно на предмет зміненої РРО активності в присутності селективного агента. Додатково, гени, що беруть участь безпосередньо та/або опосередковано в тетрапірольному біосинтезі та/або метаболізму шляхів також секвенують, щоб охарактеризувати мутації. Остаточо, ферменти, які змінюють долю (наприклад, метаболізм, транслокація, транспортування) також були послідовностями для характеризованих мутацій. Після вибору гербіциду каллуси були регенеровані за допомогою режиму R025M середовища протягом 10-14 днів, R026M протягом приблизно 2 тижнів, R327M, поки не були вкорінені і сформовані пагони, і R008S поки пагони міцно не вкоренилися для передачі в теплиці. Регенерацію було проведено на світлі. Агент селекції не був включений під час регенерації.

Після того, як сильні корені були створені, МО регенеранти пересаджували в теплицю в квадратних або круглих горщиках. Транспланти зберігали в прозорій пластиковій чашці, поки вони не були адаптовані до умов теплиці. Теплицю було встановлено на денний/нічний цикл 27 °C/21 °C (80 °F/70 °F) при 600 Вт високого тиску натрієвому світлі, що доповнює світло для підтримки 14-годинного світлового дня. Рослини поливають залежно від потреб, залежно від погоди і запліднюють щодня.

Приклад 6. Аналіз послідовності.

Тканина листя була зібрана з клональних рослин, розділених для трансплантування і проаналізована окремо. Геномну ДНК екстрагували за допомогою набору Wizard® 96 Magnetic DNA Plant System (Promega, в патентах США №№ 6,027,945 та 6,368,800) відповідно до інструкцій виробника. Виділену ДНК ампліфікували за допомогою ПЛР з використанням відповідного прямого і зворотного праймера. ПЛР-ампліфікацію проводили з використанням Hotstar Taq ДНК-полімерази (Qiagen) з використанням програми приземлення термоциклуювання таким чином: 96 °C протягом 15 хв., а потім 35 циклів (96 °C, 30 сек.; 58 °C – 0,2 °C за один цикл, 30 сек; 72 °C, 3 хв. і 30 сек.), 10 хв. при 72 °C. ПЛР-продукти були перевірені на предмет концентрації і розмір фрагмента за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Дефосфорильовані ПЛР-продукти аналізували за допомогою прямої послідовності з використанням ПЛР-праймерів (ДНК орієнтирів, або Entelechon). Файли трасування хроматограм (.scf) були проаналізовані на мутації по відношенню до гену дикого типу з використанням Vector NTI Advance 10™ (Invitrogen). На підставі інформації про послідовності, мутації були виявлені в декількох осіб. Аналіз послідовності проводили на репрезентативних хроматограмах і відповідними вирівнюваннями AlignX з налаштуваннями за умовчуванням і вони були відредаговані так, щоб викликати вторинні піки.

Приклад 7. Демонстрація толерантності до гербіцидів.

Вибрані мутанти і пагони були перенесені в невеликі горщики. Культивари дикого типу пророщували з насіння, щоб слугувати як контрольні. Через приблизно 3 тижня після трансплантації, МО регенеранти обприскували за допомогою пульверизатора сафлуфенацилом, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діоном, флуміоксазином, бутафенацилом, ацифлуорфеном, лактофеном, біфеноксом, сульфентразоном (плюс діурон) з додаванням 0,1 % метилованої олії насіння. Після рослини були пристосовані до тепличних умов, підмножину обприскували додатково сафлуфенацилом або 1,5 диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діоном. Після обприскування рослини зберігали у сухих умовах протягом 24 годин перед

- поливом і запліднювали знову. Рослини після обприскування були сфотографовані і оцінені на пошкодження гербіцидів через 1 і 3 тижні після обробки. Відсутній або низький рівень пошкодження спостерігається на підприємствах, що містять гетерозиготні мутації, в той час як контрольні рослини і культурі тканини зникають (регенеровані рослини негативні для секвенованих мутацій) та були сильно пошкоджені після обробки.
- 5 Оцінки толерантності кукурудзи та сої показані в таблицях 7.

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
відсутнє	відсутнє	1	0	*	*	*	*
		2	3	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	*	*	7	*	*
		9	*	*	7	*	*
		10	*	*	*	7	*
		11	*	*	*	7	*
		12	*	*	*	8	*
		13	*	*	*	7	*
		14	*	*	*	8	*
		15	*	*	*	*	6
		16	*	*	*	*	7
		17	*	*	*	*	6
		18	*	*	*	*	6
		19	*	*	*	*	7
		20	*	*	*	*	6
відсутнє	40	1	*	7	*	*	*
		2	*	7	*	*	*
		3	*	*	*	*	*
		4	*	8	*	*	*
		5	*	7	*	*	*
		6	*	*	8	*	*
		7	*	*	8	*	*
		8	*	*	7	*	*
		9	*	*	8	*	*
		1	*	*	8	*	*
		2	*	*	8	*	*
		3	*	*	*	7	*
		4	*	*	*	8	*
		5	*	*	*	8	*
		6	*	*	*	8	*
		7	*	*	*	8	*
		8	*	7	*	*	*
		9	*	7	*	*	*
		10	*	7	*	*	*
		11	*	4	*	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	
							50
		12	*	5	*	*	*
		13	*	4	*	*	*
		14	*	7	*	*	*
		15	*	*	7	*	*
		16	*	*	7	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	6	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*
		21	*	*	7	*	*
		22	*	*	7	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	7	*	*
		25	*	*	6	*	*
		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	*	7	*
		29	*	*	*	7	*
		30	*	*	*	6	*
		31	*	*	*	6	*
		32	*	*	*	7	*
		33	*	*	*	8	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	7	*
		36	*	*	*	6	*
		37	*	*	*	8	*
		38	*	*	*	7	*
L369D, F392V	40	1	*	7	*	*	*
		2	*	4	*	*	*
		3	*	6	*	*	*
		4	*	6	*	*	*
		5	*	7	*	*	*
		6	*	6	*	*	*
		7	*	7	*	*	*
		8	*	*	7	*	*
		9	*	*	6	*	*
		10	*	*	7	*	*
		11	*	*	6	*	*
		12	*	*	8	*	*
		13	*	*	7	*	*
		14	*	*	7	*	*
		15	*	*	8	*	*
		16	*	*	6	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	7	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		21	*	*	8	*	*
		22	*	*	9	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	4	*	*
		25	*	*	6	*	*
		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	8	*	*
		29	*	*	5	*	*
		30	*	*	*	8	*
		31	*	*	*	8	*
		32	*	*	*	7	*
		33	*	*	*	7	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	8	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	6	*
		38	*	*	*	7	*
		39	*	*	*	7	*
		40	*	*	*	8	*
		41	*	*	*	8	*
		42	*	*	*	8	*
		43	*	*	*	7	*
		44	*	*	*	8	*
		45	*	*	*	7	*
		46	*	*	*	7	*
		47	*	*	*	8	*
відсутнє	2	1	*	7	*	*	*
		2	*	7	*	*	*
		3	*	8	*	*	*
		4	*	6	*	*	*
		5	*	6	*	*	*
		6	*	7	*	*	*
		7	*	7	*	*	*
		8	*	7	*	*	*
		9	*	7	*	*	*
		10	*	6	*	*	*
		11	*	*	6	*	*
		12	*	*	6	*	*
		13	*	*	7	*	*
		14	*	*	8	*	*
		15	*	*	7	*	*
		16	*	*	6	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	6	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		21	*	*	8	*	*
		22	*	*	8	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	8	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	8	*	*
		27	*	*	*	8	*
		28	*	*	*	7	*
		29	*	*	*	8	*
		30	*	*	*	7	*
		31	*	*	*	7	*
		32	*	*	*	8	*
		33	*	*	*	8	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	8	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	7	*
		38	*	*	*	8	*
		39	*	*	*	6	*
		40	*	*	*	7	*
		41	*	*	*	8	*
		42	*	*	*	7	*
F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	*	6	*	*	*
		4	*	7	*	*	*
		5	*	6	*	*	*
		6	*	7	*	*	*
		7	*	6	*	*	*
		8	*	4	*	*	*
		9	*	6	*	*	*
		10	*	6	*	*	*
		11	*	6	*	*	*
		12	*	7	*	*	*
		13	*	7	*	*	*
		14	*	7	*	*	*
		15	*	*	7	*	*
		16	*	*	8	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	7	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*
		21	*	*	7	*	*
		22	*	*	7	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	6	*	*
		25	*	*	7	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		26	*	*	8	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	6	*	*
		29	*	*	7	*	*
		30	*	*	7	*	*
		31	*	*	7	*	*
		32	*	*	7	*	*
		33	*	*	*	7	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	7	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	7	*
		38	*	*	*	7	*
		39	*	*	*	7	*
		40	*	*	*	8	*
		41	*	*	*	7	*
		42	*	*	*	8	*
		43	*	*	*	7	*
		44	*	*	*	7	*
		45	*	*	*	9	*
		46	*	*	*	8	*
		47	*	*	*	7	*
		48	*	*	*	7	*
		49	*	*	*	8	*
		50	*	*	*	7	*
		51	*	*	*	7	*
L397D	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	0	*	*	*	*
		13	1	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	0	*	*	*	*
		17	0	*	*	*	*
		18	0	*	*	*	*
		19	0	*	*	*	*
		20	0	*	*	*	*
		21	0	*	*	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	
		22	0	*	*	*	50
		23	0	*	*	*	*
		24	0	*	*	*	*
		25	0	*	*	*	*
		26	0	*	*	*	*
		27	0	*	*	*	*
		28	0	*	*	*	*
		29	0	*	*	*	*
		30	0	*	*	*	*
		31	0	*	*	*	*
		32	0	*	*	*	*
		33	0	*	*	*	*
		34	0	*	*	*	*
		35	1	*	*	*	*
		36	0	*	*	*	*
		37	*	6	*	*	*
		38	*	6	*	*	*
		39	*	6	*	*	*
		40	*	6	*	*	*
		41	*	6	*	*	*
		42	*	7	*	*	*
		43	*	6	*	*	*
		44	*	5	*	*	*
		45	*	6	*	*	*
		46	*	8	*	*	*
		47	*	7	*	*	*
		48	*	7	*	*	*
		49	*	6	*	*	*
		50	*	4	*	*	*
		51	*	7	*	*	*
		52	*	4	*	*	*
		53	*	4	*	*	*
		54	*	*	6	*	*
		55	*	*	6	*	*
		56	*	*	6	*	*
		57	*	*	6	*	*
		58	*	*	6	*	*
		59	*	*	7	*	*
		60	*	*	6	*	*
		61	*	*	6	*	*
		62	*	*	4	*	*
		63	*	*	7	*	*
		64	*	*	7	*	*
		65	*	*	7	*	*
		66	*	*	7	*	*
		67	*	*	6	*	*
		68	*	*	6	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	
		69	*	*	5	*	*
		70	*	*	4	*	*
		71	*	*	7	*	*
		72	*	*	7	*	*
		73	*	*	6	*	*
		74	*	*	7	*	*
		75	*	*	6	*	*
		76	*	*	7	*	*
		77	*	*	7	*	*
		78	*	*	7	*	*
		79	*	*	7	*	*
		80	*	*	7	*	*
		81	*	*	5	*	*
		81	*	*	5	*	*
L397D, F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	0	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	0	*	*	*	*
		17	0	*	*	*	*
		18	0	*	*	*	*
		19	0	*	*	*	*
		20	0	*	*	*	*
		21	0	*	*	*	*
		22	0	*	*	*	*
		23	0	*	*	*	*
		24	0	*	*	*	*
		25	0	*	*	*	*
		26	*	6	*	*	*
		27	*	5	*	*	*
		28	*	6	*	*	*
		29	*	7	*	*	*
		30	*	7	*	*	*
		31	*	6	*	*	*
		32	*	6	*	*	*
		33	*	*	4	*	*
		34	*	*	6	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		35	*	*	6	*	*
		36	*	*	6	*	*
		37	*	*	6	*	*
		38	*	*	6	*	*
		39	*	*	7	*	*
		40	*	*	6	*	*
		41	*	*	7	*	*
		42	*	*	6	*	*
		43	*	*	7	*	*
		44	*	*	7	*	*
		45	*	*	7	*	*
		46	*	*	7	*	*
		47	*	*	7	*	*
		48	*	*	7	*	*
		49	*	*	7	*	*
		50	*	*	6	*	*
F420L	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	*	6	*	*	*
		6	*	7	*	*	*
		7	*	6	*	*	*
		8	*	7	*	*	*
		9	*	7	*	*	*
		10	*	6	*	*	*
		11	*	7	*	*	*
		12	*	6	*	*	*
		13	*	7	*	*	*
		14	*	7	*	*	*
		15	*	6	*	*	*
		16	*	7	*	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	8	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*
		21	*	*	7	*	*
		22	*	*	7	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	7	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	7	*	*
		29	*	*	8	*	*
		30	*	*	7	*	*
		31	*	*	6	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		32	*	*	7	*	*
		33	*	*	7	*	*
		34	*	*	7	*	*
		35	*	*	6	*	*
		36	*	*	7	*	*
		37	*	*	7	*	*
		38	*	*	7	*	*
		39	*	*	7	*	*
		40	*	*	*	8	*
		41	*	*	*	7	*
		42	*	*	*	7	*
		43	*	*	*	7	*
		44	*	*	*	7	*
		45	*	*	*	7	*
		46	*	*	*	7	*
		47	*	*	*	7	*
		48	*	*	*	7	*
		49	*	*	*	7	*
		50	*	*	*	7	*
		51	*	*	*	7	*
		52	*	*	*	7	*
		53	*	*	*	7	*
		54	*	*	*	7	*
		55	*	*	*	6	*
		56	*	*	*	8	*
		57	*	*	*	7	*
		58	*	*	*	8	*
		59	*	*	*	7	*
		60	*	*	*	7	*
F420M	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	1	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	0	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	*	4	*	*	*
		17	*	6	*	*	*
		18	*	8	*	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		19	*	7	*	*	*
		20	*	7	*	*	*
		21	*	5	*	*	*
		22	*	5	*	*	*
		23	*	6	*	*	*
		24	*	8	*	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	6	*	*
		28	*	*	8	*	*
		29	*	*	8	*	*
		30	*	*	7	*	*
		31	*	*	7	*	*
		32	*	*	7	*	*
		33	*	*	7	*	*
		34	*	*	7	*	*
		35	*	*	8	*	*
		36	*	*	8	*	*
		37	*	*	8	*	*
		38	*	*	7	*	*
		39	*	*	7	*	*
L397E, F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	1	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	2	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	1	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	0	*	*	*	*
		17	0	*	*	*	*
		18	2	*	*	*	*
		19	1	*	*	*	*
		20	0	*	*	*	*
		21	1	*	*	*	*
		22	2	*	*	*	*
		23	1	*	*	*	*
		24	2	*	*	*	*
		25	2	*	*	*	*
		26	1	*	*	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	
		27	2	*	*	*	50
		28	1	*	*	*	*
		29	*	1	*	*	*
		30	*	0	*	*	*
		31	*	0	*	*	*
		32	*	3	*	*	*
		33	*	1	*	*	*
		34	*	0	*	*	*
		35	*	1	*	*	*
		36	*	*	1	*	*
		37	*	*	1	*	*
		38	*	*	0	*	*
		39	*	*	2	*	*
		40	*	*	0	*	*
		41	*	*	1	*	*
		42	*	*	3	*	*
		43	*	*	2	*	*
		44	*	*	0	*	*
		45	*	*	2	*	*
		46	*	*	1	*	*
		47	*	*	2	*	*
		48	*	*	2	*	*
		49	*	*	3	*	*
		50	*	*	2	*	*
		51	*	*	*	0	*
		52	*	*	*	0	*
		53	*	*	*	1	*
		54	*	*	*	3	*
		55	*	*	*	2	*
		56	*	*	*	2	*
		57	*	*	*	2	*
		58	*	*	*	1	*
		59	*	*	*	1	*
		60	*	*	*	*	3
		61	*	*	*	*	1
		62	*	*	*	*	2
		63	*	*	*	*	2
		64	*	*	*	*	3
L397Q, F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	1	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		10	*	*	*	4	*
		11	*	*	*	2	*
		12	*	*	*	3	*
		13	*	*	*	2	*
		14	*	*	*	7	*
		15	*	*	*	3	*
		16	*	*	*	3	*
		17	*	*	*	3	*
		18	*	*	*	5	*
		19	*	*	*	*	3
		20	*	*	*	*	2
		21	*	*	*	*	3
		22	*	*	*	*	3
		23	*	*	*	*	2
L397E, F420M	2	1	1	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	*	*	*	1	*
		10	*	*	*	0	*
		11	*	*	*	1	*
		12	*	*	*	0	*
		13	*	*	*	7	*
		14	*	*	*	1	*
		15	*	*	*	0	*
		16	*	*	*	1	*
		17	*	*	*	*	0
		18	*	*	*	*	1
L397Q, F420M	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	1	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	1	*	*	*	*
		10	*	*	*	0	*
		11	*	*	*	0	*
		12	*	*	*	1	*
		13	*	*	*	1	*
		14	*	*	*	1	*
		15	*	*	*	1	*

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[<i>b</i>][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
L397D, F420M	2	16	*	*	*	1	*
		17	*	*	*	*	3
		18	*	*	*	*	3
		1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	1	*	*	*	*
		12	1	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	2	*	*	*	*
		16	1	*	*	*	*
		17	1	*	*	*	*
		18	1	*	*	*	*
		19	0	*	*	*	*
		20	1	*	*	*	*
		21	*	2	*	*	*
		22	*	2	*	*	*
		23	*	2	*	*	*
		24	*	3	*	*	*
		25	*	1	*	*	*
		26	*	3	*	*	*
		27	*	3	*	*	*
		28	*	3	*	*	*
		29	*	3	*	*	*
		30	*	3	*	*	*
		31	*	3	*	*	*
		32	*	*	1	*	*
		33	*	*	1	*	*
		34	*	*	2	*	*
		35	*	*	1	*	*
		36	*	*	1	*	*
		37	*	*	3	*	*
		38	*	*	3	*	*
		39	*	*	2	*	*
		40	*	*	0	*	*
		41	*	*	3	*	*
		42	*	*	3	*	*
		43	*	*	2	*	*
		44	*	*	1	*	*

Таблиця 7 а)

Кукурудза

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Подія	Сафлуфенацил (г ai/га)				1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)
			0	25	50	100	50
		45	*	*	2	*	*
		46	*	*	2	*	*
		47	*	*	*	7	*
		48	*	*	*	3	*
		49	*	*	*	3	*
		50	*	*	*	3	*
		51	*	*	*	*	3
L397Q	2	1	0	*	*	*	*
		2	1	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	1	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	*	*	*	4	*
		8	*	*	*	4	*
		9	*	*	*	4	*
		10	*	*	*	4	*
		11	*	*	*	4	*
		12	*	*	*	5	*
		13	*	*	*	5	*
		14	*	*	*	5	*
		15	*	*	*	*	6
		16	*	*	*	*	6
		17	*	*	*	*	5
		18	*	*	*	*	7
		19	*	*	*	*	6

Таблиця 7 б)

Соя

Амінокислотне заміщення	SEQ ID NO	Сафлуфенацил (г ai/га)						1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон (г ai/га)			
		0	12,5	25	50	100	200	12,5	25	50	75
відсутнє відсутнє	відсутнє 40	0	9	9	9	9	9	7	8	9	9
		1	8	9	8	*	*	8	8	*	*
		1	9	9	*	*	*	8	9	*	*
		0	3	6	9	*	*	6	6	*	*
		2	4	6	8	*	*	6	7	*	*
		1	9	9	9	*	*	7	7	*	*
		0	9	9	9	*	*	8	8	*	*
		0	8	9	8	*	*	8	*	*	*
		0	8	9	9	*	*	7	9	*	*
		0	7	9	9	*	*	8	9	*	*
		0	9	9	9	*	*	8	9	*	*

L369D, F392V		0	9	9	9	*	*	9	9	*	*
		0	8	9	8	*	*	7	8	*	*
		0	9	9	9	*	*	8	9	*	*
	40	0	9	9	9	*	*	8	9	*	*
		0	7	9	9	*	*	8	8	*	*
		0	4	5	6	*	*	5	6	*	*
		0	5	6	7	*	*	8	8	*	*
		0	9	9	9	*	*	7	9	*	*
		0	6	7	7	*	*	8	7	*	*
		0	4	4	5	*	*	5	4	*	*
		2	5	6	6	*	*	6	7	*	*
		*	4	5	6	*	*	4	6	*	*
		0	5	6	6	*	*	5	7	*	*
		0	4	5	5	*	*	4	6	*	*
		0	*	6	9	9	*	*	8	8	*
		*	*	5	6	6	*	*	6	7	*
відсутнє	2	0	2	4	7	*	*	3	5	*	*
		0	4	3	7	*	*	7	7	*	*
		0	4	7	8	*	*	6	6	*	*
		0	7	9	9	*	*	6	8	*	*
		1	7	8	9	*	*	7	8	*	*
		0	8	7	9	*	*	5	6	*	*
		0	5	8	9	*	*	7	*	*	*
		5	7	8	9	*	*	7	*	*	*
		0	5	7	6	*	*	6	7	*	*
L397D	2	2	*	7	9	9	*	*	8	9	*
		1	*	2	4	4	*	*	4	5	*
		1	*	9	9	9	*	*	8	8	*
		1	*	2	3	4	*	*	4	4	*
		0	*	5	6	6	*	*	5	5	*
		0	*	3	5	5	*	*	4	5	*
		*	*	2	4	6	*	*	5	6	*
L397E	2	0	5	3	3	*	*	5	5	*	*
		1	4	6	6	*	*	7	8	*	*
		0	4	4	4	*	*	6	8	*	*
		*	4	5	6	*	*	4	6	*	*
		0	4	6	6	*	*	6	7	*	*
		1	4	6	6	*	*	6	8	*	*
		0	0	1	3	*	*	8	6	*	*
		0	5	4	4	*	*	5	8	*	*
		0	3	6	7	*	*	6	8	*	*
L397Q	2	0	4	3	8	*	*	7	9	*	*
F420L	2	1	*	9	9	9	*	*	9	*	*
		0	1	0	0	*	*	2	1	*	*
		1	0	2	2	*	*	*	3	*	*
		1	3	1	1	*	*	1	*	*	*
		0	*	2	3	4	*	*	4	6	*
		0	*	2	5	6	*	*	5	6	*
		0	*	2	3	5	*	*	5	6	*
F420M	2	1	*	0	3	3	*	*	4	*	*
		0	*	4	6	5	*	*	*	3	*
		0	*	0	2	3	*	*	1	4	*
		0	*	4	3	3	*	*	4	*	*
		0	*	0	3	2	*	*	*	2	*
		0	*	0	3	3	*	*	1	2	*
		2	*	5	6	6	*	*	5	5	*
		0	*		9	9	9	*	8	9	*
L397D, F420V	2	0	*	3	6	6	*	*	5	4	*

		1	1	1	2	*	*	2	*	*	*
		1	0	0	1	*	*	3	1	*	*
		2	*	4	6	6	*	*	6	6	*
		0	*	6	7	7	*	*	6	6	*
		0	*	5	4	5	*	*	5	5	*
		0	*	5	4	4	*	*	6	*	*
		0	*	5	5	5	*	*	6	*	*
		*	*	8	9	9	*	*	6	7	*
L397D, F420M	2	0	*	*	*	6	*	*	0	3	*
		*	*	*	9	9	*	*	*	9	8
		3	*	*	3	2	*	*	1	2	3
L397E, F420V	2	1	*	*	0	0	*	*	1	2	2
		0	*	*	8	8	*	*	7	8	8
		2	*	*	6	6	*	*	6	7	7
L397Q, F420V	2	0	*	*	3	5	*	*	5	4	6
		0	*	*	1	*	*	*	0	1	3
		0	*	*	6	7	*	*	7	7	7
		0	*	*	8	9	*	*	9	8	9
		2	*	*	2	2	*	*	5	4	7
		*	*	*	3	3	*	*	4	4	4
		1	*	*	9	9	*	*	8	8	9
		0	*	*	0	2	*	*	0	1	1
		0	*	*	0	3	*	*	2	4	5
		0	*	*	0	0	*	*	4	5	5
		0	*	*	7	7	*	*	6	7	7
L397E, F420M	2	0	*	*	1	2	*	*	2	2	2
		0	*	*	0	0	*	*	1	1	3
		0	*	*	2	1	*	*	0	1	1
L397Q, F420M	2	0	*	*	0	0	*	*	3	2	3
		1	*	*	6	7	*	*	7	7	7
		1	*	*	6	7	*	*	7	7	8
		1	*	*	1	3	*	*	2	3	4
		0	*	*	0	3	*	*	0	4	5
		0	*	*	0	0	*	*	2	4	4
		*	*	*	5	6	*	*	6	6	6
		2	*	*	4	6	*	*	6	6	*
		3	*	*	0	0	*	*	3	5	5
		1	*	*	0	1	*	*	2	1	2
		0	*	*	1	2	*	*	2	3	4

Таблиця 7 с)

Толерантність сої до PPO інгібіторних сполук:
дикого типу і трансгенні сегрегуючі T1 елементи від 2 незалежних подій

Аміно-кислотне заміщення	SEQ ID NO		Сафлу-фенацил	1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифлоро-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-6-ініл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон	Фоме-зафен	Флуміо-ксазин	Сульфен-тазон	Сульфен-тазон	Окси-фторфен	Окси-фторфен
		Нерозпи-лений	150 г ai/га	100 г ai/га	600 г ai/га	150 г ai/га	350 г ai/га	700 г ai/га	600 г ai/га	1200 г ai/га
відсутнє	відсутнє	0	9	9	5	9	9	9	8	9
		0	9	9	5	9	9	9	7	9
		0	9	9	4	9	7	9	8	9
		0	9	9	4	9	7	9	9	9
		0	9	9	4	9	8	9	7	8
		1	9	8	5	9	9	9	8	9
		*	9	9	4	9	9	9	9	9
		*	9	9	5	9	9	9	7	8
L397D_F420V Подія А	2	0	3	9	1	9	9	2	4	5
		0	5	4	2	6	*	3	4	5
		0	3	4	0	6	6	7	5	4
		0	4	4	0	5	3	7	6	4
		0	6	4	1	5	5	4	6	3
		0	4	9	0	4	3	4	9	4
		*	3	4	2	4	5	6	4	4
		*	5	4	4	6	6	4	4	5
L397D_F420V Подія В	2	1	3	4	2	5	4	4	6	5
		0	2	3	4	6	4	5	4	5
		0	3	3	1	6	4	5	8	4
		0	3	3	3	5	5	4	4	5
		0	4	4	2	6	5	5	4	4
		0	4	3	1	4	4	6	5	6
		*	3	4	3	5	6	6	4	5
		*	4	4	3	4	4	5	6	5

Нижче наведено ідентифікацію балів пошкодження, виміряних вище:

Оцінка

5 Опис пошкодження

0 відсутнє

1 Мінімальне пошкодження, всього в декількох ділянках листя, ушкодження або хлороз.

2 Мінімальне пошкодження з дещо сильнішим хлорозом. Усі точки росту залишаються неушкодженими.

10 3 Дещо сильніше пошкодження на вторинній тканині листя, але основне листя і точки росту все ще неушкоджені.

4 Загальна морфологія рослин трохи відрізняється, певний хлороз і некроз в середніх точках росту і тканині листя. Стебла недоторкані, регенерація досить ймовірна протягом 1 тижня.

15 5 Загальна морфологія рослин, безумовно, відрізняється, певний хлороз і некроз на декількох листках і точках росту, але основна точка росту не пошкоджена. Тканина стебла ще зелена. Регенерація дуже ймовірна, протягом 1 тижня.

6 Сильну травму можна побачити на новому зростаючому листі. Рослина має високу ймовірність вижити тільки шляхом відростання у різних точках росту. Більшість листя хлоротична/некротична, але тканина стеблини ще зелена. Може мати відростання, але з помітним потерпілим зовнішнім виглядом.

5 7 Більшість активних точок росту некротичні. Може бути одна точка росту, що може вижити і може бути частково хлоротична або зелена і частково некротична. Два листа можуть залишатися хлоротичними та дещо зеленими; інша частина рослини, включаючи стеблини, некротична.

10 8 Рослина, швидше за все, помре, і всі точки росту некротичні. Один лист може все ще бути хлоротичним та дещо зеленим. Інша частина рослини некротична.

9 Рослина мертва.

* Не перевірено

Приклад 8

Вибір гербіциду з використанням тканинної культури.

15 Середовище обрано для використання і криві вбивства розроблені, як зазначено вище. Для селекції, були використані різні методи. Застосовували або ступінчасту селекцію, або рівень негайної смертності гербіциду. У будь-якому випадку, всі з калусів були передані для кожного нового раунду селекції. Селекція становила 4-5 циклів культури по 3-5 тижнів для кожного циклу. Калуси були розміщені на нейлонних мембранах для полегшення передачі (200 мікрон

20 аркуші з порами, Biodesign, Saco, Maine). Мембрани були розрізані, щоб відповідати 100 × 20 мм чашкам Петрі і витримані в автоклаві перед використанням 25-35 калусів (середня маса/калус становили 22 мг), були використані в кожному планшеті. Додатково, один набір калусів піддавали селекції в рідкому культуральному середовищі з щотижневими субкультурами з наступною додатковою селекцією на напівтвердих середовищах. Мутантні лінії були обрані за

25 допомогою сафлуфенацилу, 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон флуміоксазину, бутафенацилу, ацифлуорфену, лактофену, біфеноксу, сульфентразону.

Ефективність отримання мутантів була високою або на основі відсотка від калусів, що призвело до регенованої, мутантної лінії або кількості ліній, як визначено використовуваною

30 грам тканиною.

Приклад 9

Скринінг мутагенізованих клітин водоростей, щоб ідентифікувати толерантні до гербіцидів клони і причинні мутації PPO генів

Для створення мутації в PPO генах, що надають стійкість до "PPO-інгібуючих гербіцидів", скринінг з хімічною або УФ мутагенізованою популяцією клітин може бути використаний. Особливо одноклітинні організми, такі як *Chlamydomonas reinhardtii* корисні для ідентифікації домінантних мутацій, що надають стійкість до гербіцидів (Kataoka M, et al.; 1990; J. of Pest. Sci. 15: 449-451; Oshio H, et al.; 1993; Zeitschrift fUr Naturforschung 48: 339-344). Клітини водоростей *Chlamydomonas reinhardtii* штамів CC-503 і CC-1691 (Duke University, Durham, USA) були розмножені у TAP середовищі (Gorman and Levine; 1965; PNAS 54: 1665-1669) з постійним струшуванням при 100 об. на хвилину, 22 °C і 30 мкмоль Phot * м⁻² * с⁻² світловому освітленні. Скринінг сполук проводили при 450 мкмоль Phot * м⁻² * с⁻² освітленні. Чутливі штами *Chlamydomonas reinhardtii* мутагенізували 0.14 M етилметансульфонатом (EMS) протягом 1 години, як описано Loppes (1969, Mol Gen Genet 104: 172-177). Толерантні штами ідентифікували шляхом скринінгу мутагенізованих клітин на середовищі пластин твердої речовини TAP, що містять "PPO-інгібуючий гербіцид", такий як сафлуфенацил або 1,5-диметил-6-тіоксо-3-(2,2,7-трифтор-3-оксо-4-(проп-2-ініл)-3,4-дигідро-2Н-бензо[*b*][1,4]оксазин-6-іл)-1,3,5-триазінан-2,4-діон при дикого типу смертельній концентрації залежно від активності сполуки в CC-503 або CC-1691 штамі. Стандартні методи були використані для виділення РНК та синтезу кДНК, як описано Sambrock et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press). Ампліфікація PPO генів дикого типу та резистентних *Chlamydomonas reinhardtii* з геномної ДНК або ДНК-копії як матриця були виконані за допомогою стандартних методик ПЛР з ДНК-олігонуклеотидів, які перераховані в таблиці 5. Отримані молекули ДНК були клоновані у стандартний вектор секвенування (pJET1), і їх секвенували за стандартними методиками секвенування. Мутації були виявлені шляхом порівняння дикого типу і мутантних послідовностей PPO за допомогою засобу для вирівнювання послідовностей Align X (Vector NTI Advance Software Version 10.3, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

55

Таблиця 8:

ПЛР-праймер для ампліфікації CrPPO

Назва праймера	Праймерна послідовність (5' - 3')
Cr_PP01_Fw	ATGATGTTGACCCAGACTCCTGGGAC
Cr_PP01_Rv	TTAGGCCTTGACTGCGGCCTTGGAC

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> BASF SE
 <120> РОСЛИНИ З ПІДВИЩЕНОЮ ТОЛЕРАНТНІСТЮ ДО ГЕРБИЦИДІВ
 <130> PF73943
 <150> US 61/661364
 <151> 2012-06-19
 <150> EP12172557.6
 <151> 2012-06-19
 <160> 46
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 1605
 <212> ДНК
 <213> *Amaranthus tuberculatus*
 <400> 1
 atggtaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
 gtttcaacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc 120
 acttctgcta aaaggggttg tgttggttgg gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
 aagctaaaat cccatgggtt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc 240
 aaacttaaaa ctgttaaaaa agatgggttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
 gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
 ttgccaatTT cacaataaa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
 tcaaatcccc ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt 480
 atgttggaac catttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatgtt 540
 caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga cattttggga aagagtttgt tgattatgtt 600
 atcgaccctt ttgttgcggg tacatgtggg ggagatcctc aatcgctttc catgcaccat 660
 acatttcag aagtatggaa tattgaaaaa aggtttggct ctgtgtttgc tggactaatt 720
 caatcaacat tgttatctaa gaaggaaaag ggtggagaaa atgcttctat taagaagcct 780
 cgtgtacgtg gttcattttc atttcaaggg ggaatgcaga cacttggtga cacaatgtgc 840
 aaacagcttg gtgaagatga actcaaaactc cagtgtgagg tgctgtcctt gtcataaac 900
 cagaagggga tccctcatt aggggaattgg tcagtctctt ctatgtcaaa taataccagt 960
 gaagatcaat cttatgatgc tgtggttgtc actgctcaa ttcgcaatgt caaagaaatg 1020
 aagattatga aatttgga aa tccattttca cttgacttta ttccagaggg gacgtacgta 1080
 cccctttccg ttatgattac tgcattcaaa aaggataaag tgaagagacc tcttgagggc 1140
 ttcggagttc ttatcccctc taaagagcaa cataatggac tgaagactct tggactttta 1200
 ttttcctcca tgatgtttcc tgatcgtgct ccatctgaca tgtgtctctt tactacattt 1260
 gtcggaggaa gcagaaatag aaaacttgca aacgcttcaa cggatgaatt gaagcaaata 1320
 gtttcttctg accttcagca gctgttgggc actgaggacg aaccttcatt tgtcaatcat 1380

ctcttttggg gcaacgcatt cccattgtat ggacacaatt acgattctgt tttgagagcc 1440
 atagacaaga tggaaaagga tcttcctgga tttttttatg caggtaacca taagggtgga 1500
 ctttcagtgg gaaaagcgat ggcctccgga tgcaaggctg cggaacttgt aatatcctat 1560
 ctggactctc atatatacgt gaagatggat gagaagaccg cgtaa 1605

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

<400> 2

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

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 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

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

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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
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		
<210>	3		
<211>	1605		
<212>	ДНК		
<213>	Amaranthus tuberculatus		
<400>	3		
atggtaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca			60
gtttcaacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc			120
acttctgcta aaaggggttg tggtgttggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat			180
aagctaaaat cccatggttt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc			240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca			300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag			360
ttgccaatth cacaaaataa aagatacata gctagagccg gtcttcctgt gctactacct			420
tcaaatcccg ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt			480
atgttggaac catttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatgtt			540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga catthttggga aagagthttgt tgattatgtt			600
attgaccctt ttgttgcggtg tacatgtggt ggagatcctc aatcgctthc catgcaccat			660
acattthcag aagtatggaa tattgaaaaa aggtthtggt ctgtgtthtg cggactaatt			720
caatcaacat tgthtatctaa gaaggaaaag ggtggagaaa atgctthctat taagaagcct			780
cgtgtacgtg gthcatthth atttcaagggt ggaatgcaga cacttgthga cacaatgtgc			840
aaacagcttg gtgaagatga actcaaaactc cagtgtgagg tgctgtcctt gtcatataac			900
cagaagggga tccccctact agggaattgg tcagtctctt ctatgtcaaa taataccagt			960
gaagatcaat cttatgatgc tgtggttggt actgtcctaa thcgcaatgt caaagaaatg			1020
aagattatga aatttggaat tccattthca cthgacttht thccagaggt gacgtacgta			1080
cccctthccg thtatgattac tgcattcaaa aaggataaag tgaagagacc thttgagggc			1140
thcgaggttc thtatccccctc taaagagcaa cataatggac tgaagactct tggthacttht			1200
thttctctca tgatgtthth tgatcgtgct ccatctgaca tgtgtctctt tactacattt			1260
gtcggaggaa gcagaaatag aaaacttgca aacgctthca cggtatgaatt gaagcaaata			1320
gtthctthctg acctthcagca gctgttgggc actgaggacg aacctthcatt tgtcaatcat			1380
ctctthttgga gcaacgcatt cccattgtat ggacacaatt acgattctgt thtgagagcc			1440

atagacaaga tggaaaagga tcttcctgga tttttttatg caggtaacca taagggtgga 1500
ctttcagtgg gaaaagcgat ggcctccgga tgcaaggctg cggaacttgt aatatactat 1560
ctggactctc atatatacgt gaagatggat gagaagaccg cgtaa 1605

<210> 4
<211> 534
<212> PRT
<213> *Amaranthus tuberculatum*

<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

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 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

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

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

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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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

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

<400> 5
atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttccacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg agaagaaccc 120
acttctgcta aaagggttgc tgttggttgg gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
aagctaaaat cccatggttt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc 240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatgggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaatTT cacaaaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaatcccg ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaaatcaa gctgcaaatt 480
atgttggaac ctttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatggt 540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga cttttggga aagagtgtgt tgattatggt 600
attgaccctt ttgttgcggt tacatgtgga gatcctcaat cgctttccat gcaccataca 660
tttccagaag tatggaatat tgaaaaaagg tttggctctg tgtttgctgg actaattcaa 720
tcaacattgt tatctaagaa ggaaaagggt ggagaaaatg cttctattaa gaagcctcgt 780
gtacgtgggt cttttcatt 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 attttcaatt gactttattc cagaggtgac gtacgtaccc 1080
ctttccgtta tgattactgc attcaaaaag gataaagtga agagacctct tgagggcttc 1140
ggagttctta tcccccttaa agagcaacat aatggactga agactcttgg tactttattt 1200
tcctccatga tgtttcctga tcgtgctcca tctgacatgt gtctctttac tacatttgct 1260
ggaggaagca gaaatagaaa acttgcaaac gcttcaacgg atgaattgaa gcaaatagtt 1320
tcttctgacc ttcagcagct gttgggcact gaggacgaac cttcatttgt caatcatctc 1380
ttttggagca acgcattccc attgtatgga cacaattacg attgtgtttt gagagccata 1440
gacaagatgg aaaaggatct tcctggattt ttttatgcag gtaaccataa ggggtggactt 1500
tcagtgggaa aagcgatggc ctccgatgc aaggctgcgg aacttgtaat atcctatctg 1560

gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgcgt aa

1602

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

<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
 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
 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
 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
 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
 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
 Trp Asn Ile Glu Lys Arg Phe Gly Ser Val Phe Ala Gly Leu Ile Gln
 225 230 235 240

Ser Thr Leu Leu Ser₂₄₅ Lys Lys Glu Lys Gly₂₅₀ Gly Glu Asn Ala Ser₂₅₅ Ile
 Lys Lys Pro Arg₂₆₀ Val Arg Gly Ser Phe₂₆₅ Ser Phe Gln Gly₂₇₀ Gly Met Gln
 Thr Leu Val₂₇₅ Asp Thr Met Cys Lys₂₈₀ Gln Leu Gly Glu₂₈₅ Asp Glu Leu Lys
 Leu Gln Cys Glu Val Leu Ser₂₉₅ Leu Ser Tyr Asn Gln₃₀₀ Lys Gly Ile Pro
 Ser₃₀₅ Leu Gly Asn Trp Ser₃₁₀ Val Ser Ser Met Ser₃₁₅ Asn Asn Thr Ser Glu₃₂₀
 Asp Gln Ser Tyr Asp₃₂₅ Ala Val Val Val Thr₃₃₀ Ala Pro Ile Arg Asn₃₃₅ Val
 Lys Glu Met Lys₃₄₀ Ile Met Lys Phe Gly₃₄₅ Asn Pro Phe Ser Leu₃₅₀ Asp Phe
 Ile Pro Glu₃₅₅ Val Thr Tyr Val Pro₃₆₀ Leu Ser Val Met Ile₃₆₅ Thr Ala Phe
 Lys Lys₃₇₀ Asp Lys Val Lys Arg₃₇₅ Pro Leu Glu Gly Phe₃₈₀ Gly Val Leu Ile
 Pro Ser Lys Glu Gln His₃₉₀ Asn Gly Leu Lys Thr₃₉₅ Leu Gly Thr Leu Phe₄₀₀
 Ser Ser Met Met Phe₄₀₅ Pro Asp Arg Ala Pro₄₁₀ Ser Asp Met Cys Leu₄₁₅ Phe
 Thr Thr Phe Val₄₂₀ Gly Gly Ser Arg Asn₄₂₅ Arg Lys Leu Ala Asn₄₃₀ Ala Ser
 Thr Asp Glu₄₃₅ Leu Lys Gln Ile Val₄₄₀ Ser Ser Asp Leu Gln₄₄₅ Gln Leu Leu
 Gly Thr₄₅₀ Glu Asp Glu Pro Ser₄₅₅ Phe Val Asn His Leu₄₆₀ Phe Trp Ser Asn
 Ala Phe Pro Leu Tyr Gly₄₇₀ His Asn Tyr Asp Cys₄₇₅ Val Leu Arg Ala Ile₄₈₀
 Asp Lys Met Glu Lys₄₈₅ Asp Leu Pro Gly Phe₄₉₀ Phe Tyr Ala Gly Asn₄₉₅ His
 Lys Gly Gly Leu₅₀₀ Ser Val Gly Lys Ala₅₀₅ Met Ala Ser Gly Cys₅₁₀ Lys Ala

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

<210> 7
<211> 1602
<212> ДНК
<213> *Amaranthus tuberculatus*

<400> 7
atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttccacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc 120
acttctgcta aaaggggttc tgttgttggg gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
aagctaaaat cccatggttt gagtgtgaca ttgtttgaag ctaattctag agctggaggc 240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaatth caaaaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaatcccg ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaaatcaa gctgcaaatt 480
atgttggaac cttttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatggt 540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga cttttggga aagagtttgt tgattatggt 600
attgaccctt ttgttgcggg tacatgtgga gatcctcaat cgctttccat gtaccataca 660
tttccagaag tatggaatat tgaaaaaagg tttggctctg tgtttgctgg actaattcaa 720
tcaacattgt tatctaagaa ggaaaagggt ggagaaaatg cttctattaa gaagcctcgt 780
gtacgtgggt cattttcatt tcaagggtga atgcagacac ttgttgacac aatgtgcaaa 840
cagcttggtg aagatgaact caaactccag tgtgaggtgc tgtccttgtc 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
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
ttttggagca acgcattccc attgtatgga cacaattacg attctgtttt gagagccata 1440
gacaagatgg aaaaggatct tcctggattt ttttatgcag gtaaccataa ggggtggactt 1500
tcagtgggaa aagcgatggc ctccgatgac aaggctgcgg aacttgtaat atcctatctg 1560
gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgcgt aa 1602

<210> 8
 <211> 533
 <212> PRT
 <213> *Amaranthus tuberculatus*

<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

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

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

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

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

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

Asp Glu Lys Thr Ala
530

<210> 9
<211> 1644
<212> ДНК
<213> Arabidopsis thaliana

<400> 9
atgggcctga ttaaaaacgg taccctttat tgtcgttttg ggataagctg gaattttgcc 60
gctgtgtttt tttctactta tttccgtcac tgctttcgac tggtcagaga ttttgactct 120
gaattgtttg agatagcaat ggcgtctgga gcagtagcag atcatcaaat tgaagcggtt 180
tcaggaaaaa gagtcgcagt cgtagggtgca ggtgtaagtg gacttgcggc ggcttacaag 240
ttgaaatcga ggggtttgaa tgtgactgtg tttgaagctg atggaagagt aggtgggaag 300
ttgagaagtg ttatgcaaaa tggtttgatt tgggatgaag gagcaaacac catgactgag 360
gctgagccag aagttgggag tttacttgat gatcttgggc ttcgtgagaa acaacaattt 420
ccaatttcac agaaaaagcg gtatattgtg cggaatggtg tacctgtgat gctacctacc 480
aatcccatag agctggtcac aagtagtgtg ctctctaccc aatctaagtt tcaaattctg 540
ttggaaccat ttttatggaa gaaaaagtcc tcaaaagtct cagatgcata tgctgaagaa 600
agtgtgaagc agttctttca acgccatttt ggacaagagg ttgttgacta tctcatcgac 660
ccttttgttg gtggaacaag tgctgcggac cctgattccc tttcaatgaa gcattctttc 720
ccagatctct ggaatagttt tggctctatt atagtcggtg caatcagaac aaagtttgct 780
gctaaagggt gtaaaagtag agacacaaag agttctcctg gcacaaaaaa gggttcgcgt 840
gggtcattct cttttaaggg ggggaatgcag attcttcctg atacgttgtg caaaagtctc 900
tcacatgatg agatcaattt agactccaag gtactctctt tgtcttaca ttctggatca 960
agacaggaga actggtcatt atcttgtgtt tcgcataatg aaacgcagag acaaaacccc 1020
cattatgatg ctgctcctct gtgcaatgtg aaggagatga aggttatgaa aggaggacaa 1080
ccctttcagc taaactttct ccccagatt aattacatgc ccctctcggg tttaatcacc 1140
acattcacia aggagaaagt aaagagacct cttgaaggct ttgggggtact cattccatct 1200
aaggagcaaa agcatggttt caaaactcta ggtacacttt tttcatcaat gatgtttcca 1260
gatcgttccc ctagtgacgt tcatctatat acaactttta ttggtgggag taggaaccag 1320
gaactagcca aagcttcac tgacgaatta aaacaagttg tgacttctga ctttcagcga 1380
ctgttggggg ttgaagggtg acccgtgtct gtcaaccatt actattggag gaaagcattc 1440
ccgttgtatg acagcagcta tgactcagtc atggaagcaa ttgacaagat ggagaatgat 1500
ctacctgggt tcttctatgc aggtaatcat cgaggggggc tctctgttgg gaaatcaata 1560
gcatcagggt gcaaagcagc tgacctgtg atctcatacc tggagtcttg ctcaaagac 1620
aagaaacca atgacagctt ataa 1644

```

<210> 10
<211> 547
<212> PRT
<213> Arabidopsis thaliana
<400> 10
Met Gly Leu Ile Lys Asn Gly Thr Leu Tyr Cys Arg Phe Gly Ile Ser
1      5      10
Trp Asn Phe Ala Ala Val Phe Phe Ser Thr Tyr Phe Arg His Cys Phe
20     25     30
Arg Leu Val Arg Asp Phe Asp Ser Glu Leu Leu Gln Ile Ala Met Ala
35     40     45
Ser Gly Ala Val Ala Asp His Gln Ile Glu Ala Val Ser Gly Lys Arg
50     55     60
Val Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys
65     70     75     80
Leu Lys Ser Arg Gly Leu Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Asp Gly Arg
85     90     95
Val Gly Gly Lys Leu Arg Ser Val Met Gln Asn Gly Leu Ile Trp Asp
100    105    110
Glu Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ala Glu Pro Glu Val Gly Ser Leu
115    120    125
Leu Asp Asp Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Phe Pro Ile Ser Gln
130    135    140
Lys Lys Arg Tyr Ile Val Arg Asn Gly Val Pro Val Met Leu Pro Thr
145    150    155    160
Asn Pro Ile Glu Leu Val Thr Ser Ser Val Leu Ser Thr Gln Ser Lys
165    170    175
Phe Gln Ile Leu Leu Glu Pro Phe Leu Trp Lys Lys Lys Ser Ser Lys
180    185    190
Val Ser Asp Ala Ser Ala Glu Glu Ser Val Ser Glu Phe Phe Gln Arg
195    200    205
His Phe Gly Gln Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Gly
210    215    220
Gly Thr Ser Ala Ala Asp Pro Asp Ser Leu Ser Met Lys His Ser Phe
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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
545

<210> 11
<211> 1647
<212> ДНК
<213> Nicotiana tabacum

<400> 11
atgacaacaa ctcccatcgc caatcatcct aatattttca ctcaccagtc gtcgtcatcg 60
ccattggcat tcttaaaccg tacgagtttc atccctttct cttcaatctc caagcgcaat 120
agtgtcaatt gcaatggctg gagaacacga tgctccggtg ccaaagatta cacagttcct 180
tcctcagcgg tcgacggcgg acccgccgcg gagctggact gtgttatagt tggagcagga 240
attagtggcc tctgcattgc gcaggtgatg tccgctaatt accccaattt gatggtaacc 300
gaggcgagag atcgtgccgg tggcaacata acgactgtgg aaagagacgg ctatttgtgg 360
gaagaaggtc ccaacagttt ccagccgtcc gatcctatgt tgactatggc agtagattgt 420
ggattgaagg atgatttggg gttgggagat cctaattgcgc cccgtttcgt tttgtggaag 480
ggtaaattaa ggcccgtccc ctcaaaactc actgatcttc ctttttttga tttgatgagc 540
attcctggca agttgagagc tggttttggg gccattggcc tccgcccttc acctccaggt 600
catgaggaat cagttgagca gttcgtgcgt cgtaatcttg gtggcgaagt ctttgaacgc 660
ttgatagaac cattttgttc tgggttttat gctggtgatc cctcaaaact gagtatgaaa 720
gcagcatttg ggaaagtttg gaagttggaa gaaactgggt gtagcattat tggaggaacc 780
tttaaagcaa taaaggagag atccagtaca cctaaagcgc cccgcgatcc gcgtttacct 840
aaacaaaaag gacagacagt tggatcattc aggaaggggtc tcagaatgct gccggatgca 900
atcagtgcaa gattgggaag caaattaaaa ctatcatgga agctttctag cattactaag 960
tcagaaaaag gaggatatca cttgacatac gagacaccag aaggagtagt ttctcttcaa 1020
agtcgaagca ttgtcatgac tgtgccatcc tatgtagcaa gcaacatatt acgtcctctt 1080
tcggttgccg cagcagatgc actttcaaat ttctactatc ccccagttgg agcagtcaca 1140
atttcatatc ctcaagaagc tattcgtgat gagcgtctgg ttgatggtga actaaagggg 1200
tttgggcagt tgcattccacg tacacaggga gtggaaacac taggaacgat atatagttca 1260
tcactcttcc ctaaccgtgc cccaaaagggt cgggtgctac tcttgaacta cattggagga 1320
gcaaaaaatc ctgaaatttt gtctaagacg gagagccaac ttgtggaagt agttgatcgt 1380
gacctcagaa aaatgcttat aaaacccaaa gctcaagatc ctcttgttgt ggggtgtcga 1440
gtatggccac aagctatccc acagtttttg gttggtcatc tggatacgct aagtactgca 1500
aaagctgcta tgaatgataa tgggcttgaa gggctgtttc ttgggggtaa ttatgtgtca 1560
ggtgtagcat tggggagggt tgttgaagggt gcttatgaag ttgcatccga ggtaacagga 1620

tttctgtctc ggatgcata caaatga

1647

<210> 12
 <211> 548
 <212> PRT
 <213> Nicotiana tabacum

<400> 12

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

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
 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

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
 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

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
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

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

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

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
385 390 395 400

Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Thr Gln Gly Val Glu Thr Leu Gly Thr
405 410 415

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

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
465 470 475 480

Val Trp Pro Gln Ala Ile Pro Gln Phe Leu Val Gly His Leu Asp Thr
485 490 495

Leu Ser Thr Ala Lys Ala Ala Met Asn Asp Asn Gly Leu Glu Gly Leu
500 505 510

Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly Val Ala Leu Gly Arg Cys Val
 515 520

Glu Gly Ala Tyr Glu Val Ala Ser Glu Val Thr Gly Phe Leu Ser Arg
 530 535 540

Tyr Ala Tyr Lys
 545

<210> 13
 <211> 1668
 <212> ДНК
 <213> Cichorium intybus

<400> 13
 atgacatctc tcacagacgt ttgttccctc aactggtgcc gtagctggtc ttcccttccg 60
 ccaccggttt ctggtgggtc gttgacgtca aagaatccta ggtacctaata cacgtatagt 120
 ccggcgcgcatc gcaaatgcaa taggtggagg ttccgctgct ctatagccaa ggattcccca 180
 attactcctc ccatttcaaa tgagttcaac tctcagccat tgttggactg tgtcattgtg 240
 ggcgcgggca ttagcggcct ttgcattgct caggccctag cgactaaaca cgcctccgtc 300
 tctccggatg tgatcgtcac cgaggcacga gacagagtcg ggggtaatat atcaacgggt 360
 gaaagggatg gctatctctg ggaagaaggt cctaacagct tccagccatc tgatgccatg 420
 ctcaccatgg tgggtggatg tgggttgaag gatgatttgg tgtaggtga cccaacagca 480
 ccccgctttg tattatgggg aggtgatttg aaaccgggtc cttccaaacc ggctgacctc 540
 ctttctttg acctcatgag ctttcttggg aaactcagag ccggttttgg tgctcttggg 600
 ttccgtcctt cacctccaga tcgcgaagaa tcggttgagg agtttgtag acgtaatctt 660
 ggagatgaag ttttcgaacg cttgatagaa ctttttgct cagggtgtta tgctggtgat 720
 ccatcaaaac ttagtatgaa agcagcattt gggaaggctt ggaatctgga gcaaaatggt 780
 ggtagcattg ttggtggagc cttcaaggct attcaggaca gaaagaatag tcaaaagcct 840
 ccacgggacc cgaggttacc gaaaccaaag ggccaaactg ttggatcttt taggaaagga 900
 caagcgatgt tgcctaattg aatctcaacg aggttaggta gcagagtga attgtgttgg 960
 aagctcacga gtatttcaaa attggagaat agagggtata atttgacata tgaaacacca 1020
 caaggatttg aaagtctgca gactaaaact atcgtgatga ctgttccatc ctacgtggcg 1080
 agtgacttgt tgcgtccgct ttcgttgggt gcagcagatg cattgtcaaa attttattat 1140
 cctccggttg cagctgtatc aatttcatat ccaaagacg 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 cgggtggaccg ggacctacgg acgatgctga taaggcgtga tgcggaagat 1440
 ccattgacgt tgggggtgct ggtgtggcct cgagcaatcc cgcagtttct gatcgggtcat 1500
 tatgacattc tagattctgc aaaagctgct ctgagtagcg gtggattcca aggtatgttt 1560

cttggtggca actatgtgtc tgggtgtggct ttaggtaaatt gtgtcgaggc tgcttatgat 1620
gttgccgctg aggtaatgaa ctttttgtcg caaggggtgt acaagtga 1668

<210> 14
<211> 555
<212> PRT
<213> Cichorium

<400> 14

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

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
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

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
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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 Arg Ala Pro Pro Gly Arg Val Leu 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
 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
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

<210> 15
 <211> 1689
 <212> ДНК
 <213> Spinacia oleracea

<400> 15
 atgagcgcta tggcggttatc gaggataatg gccctttcgt tgccgcaatc ttctatgtca 60
 ttatcccatt gtaggcacaa ccgtatcacc attttgattc catcttcgtc gcttcgaaga 120
 cgaggaggaa gctctatccg ctgctctaca atctcaacct ctaattccgc ggctgcagcc 180
 aattaccaga acaaaaacat aggcacaaac ggagttgacg gcggcggagg cggaggaggt 240
 gtgttagact gtgtgattgt aggaggtgga atcagtggaac ttgcatgtgc acaggctcta 300
 tctactaaat actccaacct ctccacgaat ttcattgtca ccgaggctaa ggatcgagtt 360
 ggccgggaaca tcaactaccat ggaagctgat ggggtatttat gggaagaggg tcctaatagc 420
 ttccagccat ctgatgcagt gctcaccatg gctgttgaca gtggtttgaa agaggaattg 480
 gtgctgggag atcccaattc gcctcgcttt gtgctgtgga atggcaaatt aaggcctgta 540
 ccttccaagc tcaactgacct ccctttcttt gatctcatga gcttccctgg aaagattagg 600
 gctggtcttg gtgctcttg cttacgacca tctcctccgg ctcatgagga atccgttgaa 660
 caatttgtcc gtcgtaattt tggtagatgag gtctttgaac gcttgatcga acctttttgt 720
 tcaggtgtgt atgctggtga tccttccaag ttgagtatga aagctgcttt tggcagggtt 780
 tgggtctttg agcaaaaggg tggtagtatc attggtggca ccctcaaac aatccaggaa 840
 agaaaggata atcctaagcc acctcgagac ccgcgcctcc ccaaaccaaa gggccagaca 900
 gttggatcct tcaggaaagg actgagtatg ttgccaaccg ccatttctga aaggcttggc 960
 aacaaagtga aagtatcatg gaccctttct ggtattgcta agtcgtcgaa cggagagtat 1020
 aatctgactt atgaaacacc agatggactg gtttccgtta ggacaaaag tgttgtgatg 1080
 actgtcccgat catatgttgc aagtagcctc cttcgtccac ttccagatgt cgcgcagaa 1140
 tctctttcaa aatttcatta tccaccagtt gcagctgtgt cactttccta tcctaaagaa 1200
 gcaattagat cagagtgtt gattgacggt gaacttaaag gattcgggca attacattcc 1260
 cgcagtcaag gtgtggaaac cttgggaaca atttatagtt catctctttt ccctgggcca 1320
 gcaccacctg gtaggacctt gattttgaac tacattggag gtgatactaa ccctggcata 1380
 ttagacaaga cgaaagatga actagctgaa gcagttgaca gggatttgag aagaattctc 1440

ataaaccta atgcaaaagc tccccgggtt ttgggtgtga gagtatggcc acaagcaatt 1500
 cccaatttt taattggcca ctttgatctg ctcgatgcag caaaagctgc tttgactgat 1560
 ggtggacaca aaggattggt tcttggtgga aactatgtat caggtgttgc tttgggccga 1620
 tgtatagagg gtgcttatga atctgcagcc gaggtttag attttctgtc acagtactcg 1680
 gataaatag 1689

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

<400> 16

Met Ser Ala Met Ala Leu Ser Ser Thr Met Ala Leu Ser Leu Pro Gln
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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

Ala Tyr Glu Ser Ala Ala Glu Val Val Asp Phe Leu Ser Gln Tyr Ser
545 550 555 560

Asp Lys

<210> 17
<211> 1596
<212> ДНК
<213> Spinacia oleracea

<400> 17
atggttaatac taccggtttc ccagctatca actaatctgg gtttatcgct ggtttcaccc 60
accaagaaca acccagttat gggcaacggt tctgagcgaa atcaagtcaa tcaaccatt 120
tctgctaaaaa gggttgctgt tgttggtgct ggtgttagtg gacttgctgc ggcgtataag 180
ctaaaatcga atggcttgaa tgtgacattg tttgaagctg atagtagagc tgggtgggaaa 240
ctcaaaactg ttgtaaagga tggtttgatt tgggatgaag gggcaaatac catgacagag 300
agcgatgagg aggtcacgag tttgtttgat gatctcggga ttcgtgagaa gctacagcta 360
ccaatttcac aaaacaaaag atacattgcc agagatgggtc ttcctgtgct gttaccttca 420
aatccagttg cgctcctgaa gagcaatata ctttcagcaa aatctaagct acaaattatg 480
ttggaacctt ttctttggaa aaaacacaat ggtgctaagg tttctgacga gaatgcccaa 540
gaaagtgtgg ctgagttttt tgagcggcat tttgggaaag agtttggtga ttatttaatt 600
gatccttttg tcgcgggtac aagtgggtgga gatcctcaat ctctttctat gcgtcatgca 660
tttccagaat tatggaatat tgagaacagg tttggttcag tgatttctgg attcattcag 720
tctaaactgt catccaagaa ggaaaagggt ggagaaaagc aatcttctaa taagaagcca 780
cgtgtacgtg gttcgttttc ttttcagggt ggaatgcaga cactagttga cactatatgc 840
aaagagtttg gtgaagatga actcaaactc cagtctgagg ttctttcatt gtcatacagc 900
cataatggaa gccttacatc agagaattgg tcagtgtctt ctatgtcaaa cagcaccatc 960
caagatcaac catatgatgc tgtcgtttgt accgccccaa tcaataatgt caaagaactg 1020
aagattatga aagtggaaaa cccattttct cttgacttca ttccagaggt gagctgtcta 1080
cccctctctg ttattattac tacattcaag aagaccaatg tgaagagacc tcttgagggg 1140
tttggtgttc ttgtaccctc taatgagcaa cataatgggc tgaagactct tgggtactttg 1200

ttttcctcaa tgatgtttcc tgatcgtgct ccctctgatg tgtatctata cactaccttt 1260
 gttggaggta gcagaaatag agaacttgca aaagcttcaa cggatgaact gaagcaaata 1320
 gttttcttctg acctccagca gctgttgggc accgagggcg aacctacttt tgtgaatcat 1380
 ttttactgga gcaaagcatt ccctctttat ggacgcaatt acgactcagt tcttagagca 1440
 atagagaaga tggaaaggga ctttcctgga cttttttacg caggtaacca taagggtgga 1500
 ctgtctgtgg gaaagtcaat agcctctgga tacaaagctg ccgagcttgc gatatcctat 1560
 ctcgagtcta acaagatgac cgaggagact atataa 1596

<210> 18
 <211> 531
 <212> PRT
 <213> Spinacia

<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

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

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

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

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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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

Ala Ala Glu Leu Ala Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Asn Lys Met Thr Glu
515 520 525

Glu Thr Ile
530

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

<400> 19
atgacaacaa cggccgtcgc caaccatcct agcattttca ctcaccggtc gccgctgccg 60
tcgccgtcgt cctcctcctc atcgccgtca tttttatttt taaaccgtac gaatttcatt 120
ccttactttt ccacctccaa gcgcaatagt gtcaattgca atggctggag aacacgatgt 180
tccgttgcca aggattatac agttcctccc tcggaagtcg acggtaatca gttcccgagg 240
ctggattgtg tggtagttgg agcaggaatt agtggactct gcattgctaa ggtgatttcg 300
gctaattatc ccaatttgat ggtgacggag gcgagggatc gtgccggtgg aaacataacg 360
acggtggaaa gagatggata cttatgggaa gaaggtccta acagtttcca gccttcggat 420
cctatgttga caatggctgt agattgtgga ttgaaggatg atttggtgtt gggagatcct 480
gatgcgctc gctttgtctt gtggaaggat aaactaaggc ctgttcccgg caagctcact 540
gatcttccct tctttgattt gatgagtatc cctggcaagc tcagagctgg ttttggtgcc 600
attggccttc gcccttcacc tccaggttat gaggaatcag ttgagcagtt cgtgctcgt 660
aatcttggtg cagaagtctt tgaacgtttg attgaacat tttgttctgg tgtttacgcc 720
ggtgaccctt caaaattgat tatgaaagca gcatttgga aagtgtggaa gctagaacaa 780
actggtggtg gcattattgg gggaaccttt aaagcaatta aggagagatc cagtaaccct 840
aaaccgcctc gtgatccgcg ttaccaaca ccaaaaggac aaactgttgg atcatttagg 900
aagggctctg gaatgctgcc ggatgcaatt tgtgaaagac tgggaagcaa agtaaaacta 960
tcatggaagc tttctagcat tacaaagtca gaaaaaggag gatattctctt gacatacgag 1020
acaccagaag gagtagtttc tctgcgaagt cgaagcattg tcatgactgt tccatcctat 1080
gtagcaagca acatattacg ccctctttcg gtcgctgcag cagatgcact ttcaagtttc 1140
tactatcccc cagtagcagc agtgacaatt tcatatcctc aagaggctat tcgtgatgag 1200
cgtctggttg atggtgaact aaagggattt gggcagttgc atccacgttc acagggagtg 1260

gaaacactag gaacaatata tagttcatca ctctttccta accgtgctcc aaatggccgg 1320
 gtgctactct tgaactacat tggaggagca acaaatactg aaattgtgtc taagacggag 1380
 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

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

<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 Pro Ser Phe Leu
 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

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

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

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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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

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

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

<400> 21
atggtcgccg ccacagccac cgccatggcc accgctgcat cgccgctact caacgggacc 60
cgaataacctg cgcggtccg ccatcgagga ctacgctgc gctgcgctgc tgtggcgggc 120
ggcgcgccg aggcaccggc atccaccggc gcgcggctgt ccgcggactg cgtcgtggtg 180
ggcggaggca tcagtggcct ctgcaccgcg caggcgctgg ccacgcggca cggcgtcggg 240
gacgtgcttg tcacggaggc ccgcgcccgc cccggcgga acattaccac cgtcgcgcgc 300
cccgaggaag ggtacctctg ggaggagggt cccaacagct tccagccctc cgaccccggt 360
ctcaccatgg ccgtggacag cggactgaag gatgacttgg tttttgggga cccaaacgcg 420
ccgcgtttcg tgctgtggga ggggaagctg aggcccgtgc catccaagcc cgccgacctc 480
ccgttcttcg atctcatgag catcccaggg aagctcaggg ccggtctagg cgcgcttggc 540
atccgcccgc ctctccagg ccgcgaagag tcagtggagg agttcgtgcg ccgcaacctc 600
ggtgctgagg tctttgagcg cctcattgag cttttctgct cagggtgtcta tgctggtgat 660
ccttctaagc tcagcatgaa ggctgcattt gggaagggtt ggcggttga agaaactgga 720
ggtagtatta ttggtggaac catcaagaca attcaggaga ggagcaagaa tccaaaacca 780
ccgaggggatg cccgccttcc gaagccaaaa ggcagacag ttgcatcttt caggaagggg 840
cttgccatgc ttccaaatgc cattacatcc agcttgggta gtaaagtcaa actatcatgg 900
aaactcacga gcattacaaa atcagatgac aagggatatg ttttgagta tgaaacgcca 960
gaaggggttg tttcggtgca ggctaaaagt gttatcatga ctattccatc atatgttgct 1020
agcaacattt tgcgtccact ttcaagcgat gctgcagatg ctctatcaag attctattat 1080
ccaccggttg ctgctgtaac tgtttcgtat ccaaaggaag caattagaaa agaatgctta 1140
attgatgggg aactccaggg ctttgccag ttgcatccac gtagtcaagg agttgagaca 1200

ttaggaacaa tatacagttc ctcactcttt ccaaatcgtg ctcctgacgg taggggtgta	1260
cttctaaact acataggagg tgctacaaac acaggaattg tttccaagac tgaaagtgag	1320
ctggtcgaag cagttgaccg tgacctccga aaaatgctta taaattctac agcagtggac	1380
ccttttagtcc ttgggtgttcg agtttggtcca caagccatac ctcagttcct ggtaggacat	1440
cttgatcttc tggaagccgc aaaagctgcc ctggaccgag gtggctacga tgggctgttc	1500
ctaggagggg actatgttgc aggagttgcc ctgggcagat gcgttgaggg cgcgtatgaa	1560
agtgcctcgc aaatatctga cttcttgacc aagtatgcct acaagtga	1608

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

<400> 22

Met Val Ala Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Ala Ala Ser Pro Leu
 1 5 10 15

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

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
 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

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 Gly Arg Glu Glu Ser Val
 180 185 190

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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

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

<210> 23
<211> 1635
<212> ДНК
<213> Zea mays

<400> 23
atgctcgctt tgactgcctc agcctcatcc gcttcgtccc atccttatcg ccacgcctcc 60
gcgcacactc gtcgcccccg cctacgtgcg gtcctcgca tggcgggctc cgacgacccc 120
cgtgcagcgc ccgccagatc ggtcgccgctc gtcggcgccg gggtcagcgg gctcgcggcg 180
gcgtacaggc tcagacagag cggcgtgaac gtaacggtgt tcgaagcggc cgacagggcg 240
ggaggaaaga tacggacca ttccgagggc gggtttgtct gggatgaagg agctaacacc 300
atgacagaag gtgaatggga ggccagtaga ctgattgatg atcttggctc acaagacaaa 360
cagcagtatc ctaactccca acacaagcgt tacattgtca aagatggagc accagcactg 420
attccttcgg atccatttc gctaataaaa agcagtgttc ttctgacaaa atcaaagatt 480
gcgttatattt ttgaaccatt tctctacaag aaagctaaca caagaaactc tggaaaagtg 540
tctgaggagc acttgagtga gagtggtggg agcttctgtg aacgccactt tggaagagaa 600
gttggtgact attttggtga tccatttgta gctggaacaa gtgcaggaga tccagagtca 660
ctatctattc gtcattgcat cccagcattg tggaaatttg aaagaaagta tggttcagtt 720
attgttggtg ccatcttgct taagctagca gctaaagggtg atccagtaaa gacaagacat 780
gattcatcag ggaaaagaag gaatagacga gtgtcgtttt catttcatgg tggaatgcag 840
tcactaataa atgcatttca caatgaagtt ggagatgata atgtgaagct tggtagagaa 900
gtgttgctat tggcatgtac atttgatgga gttcctgcac taggcagggtg gtcaatttct 960
gttgattcga aggatagcgg tgacaaggac cttgctagta accaaacctt tgatgctggt 1020
ataatgacag ctccattgtc aaatgtccgg aggatgaagt tcaccaaagg tggagctccg 1080
gttgttcttg actttcttcc taagatggat tatctaccac tatctctcat ggtgactgct 1140
tttaagaagg atgatgtcaa gaaacctctg gaaggatttg gggctttaat accttacaag 1200
gaacagcaaa aacatggtct gaaaacctt gggactctct tttcctcaat gatgttccca 1260

gatcgagctc ctgatgacca atatttatat acaacatttg ttgggggtag ccacaataga 1320
 gatcttgctg gagctccaac gtctattctg aaacaacttg tgacctctga ccttaaaaaa 1380
 ctcttgggcg tagaggggca accaactttt gtcaagcatg tatactgggg aaatgctttt 1440
 cctttgtatg gccatgatta tagttctgta ttggaagcta tagaaaagat ggagaaaaac 1500
 cttccagggt tcttctacgc aggaaatagc aaggatgggc ttgctgttgg aagtgttata 1560
 gcttcaggaa gcaaggctgc tgaccttgca atctcatatc ttgaatctca caccaagcat 1620
 aataattcac attga 1635

<210> 24
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> Zea mays

<400> 24

Met Leu Ala Leu Thr Ala Ser Ala Ser Ser Ala Ser Ser His Pro Tyr
 1 5 10 15
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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 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
 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
 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
 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

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

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

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

<400> 25
atgatgttga cccagactcc tgggaccgcc acggcttcta gccggcggtc gcagatccgc 60
tcggctgcgc acgtctccgc caaggtcgcg cctcggccca cgccattctc ggtcgcgagc 120
cccgcgaccg ctgcgagccc cgcgaccgcg gcggcccgcc gcacactcca ccgcactgct 180
gcggcggcca ctggtgctcc cacggcgtcc ggagccggcg tcgccaagac gctcgacaat 240
gtgtatgacg tgatcgtggt cggtggaggt ctctcgggcc tggtgaccgg ccaggccctg 300
gcggctcagc acaaaattca gaacttcctt gttacggagg ctgcgagcg cgtcggcggc 360
aacattacgt ccatgtcggg cgatggctac gtgtgggagg agggcccgaa cagcttcag 420
cccaacgata gcatgctgca gattgcggtg gactctggct gcgagaagga ccttggttcc 480
ggtgacccca cggctccccg cttcgtgtgg tgggagggca agctgcgccc cgtgccctcg 540
ggcctggacg ccttcacctt cgacctcatg tccatccccg gcaagatccg cgccgggctg 600
ggcgccatcg gcctcatcaa cggagccatg ccctccttcg aggagagtgt ggagcagttc 660
atccgccgca acctgggcga tgaggtgttc ttccgcctga tcgagccctt ctgctccggc 720
gtgtacgcgg gcgaccctc caagctgtcc atgaaggcgg ccttcaacag gatctggatt 780
ctggagaaga acggcggcag cctggtggga ggtgccatca agctgttcca ggaacgccag 840
tccaaccggg ccccgccgcg ggaccgcgc ctgccgcca agcccaaggg ccagacgggtg 900
ggctcgttcc gcaagggcct gaagatgctg ccggacgcca ttgagcgcaa catccccgac 960
aagatccgcg tgaactggaa gctggtgtct ctgggccgcg aggcggacgg gcggtacggg 1020
ctggtgtacg acacgcccga gggcgtgtc aagggtgtttg cccgcgccgt ggctctgacc 1080
gcgcccagct acgtggtggc ggacctggtc aaggagcagg cggccgcccgc cgccgaggcc 1140
ctgggctcct tcgactaccc gccggtgggc gccgtgacgc tgcgtaccc gctgagcgcc 1200
gtgcgggagg agcgcaaggc ctcggacggg tccgtgccgg gcttcggtca gctgcaccgc 1260
cgcacgcagg gcatcaccac tctgggcacc atctacagct ccagcctgtt ccccggccgc 1320

gcgcccagg gccacatgct gctgctcaac tacatcggcg gcaccaccaa ccgcggcac 1380
 gtcaaccaga ccaccgagca gctggtggag cagggtggaca aggacctgcg caacatggtc 1440
 atcaagcccc acgcgccccaa gccccgtgtg gtgggcgtgc gcgtgtggcc gcgcgccatc 1500
 ccgcagttca acctgggcca cctggagcag ctggacaagg cgcgcaaggc gctggacgcg 1560
 gcggggctgc agggcgtgca cctggggggc aactacgtca gcggtgtggc cctgggcaag 1620
 gtggtggagc acggctacga gtccgcagcc aacctggcca agagcgtgtc caaggccgca 1680
 gtcaaggcct aa 1692

<210> 26
 <211> 563
 <212> PRT
 <213> Chlamydomonas

<400> 26

Met Met Leu Thr Gln Thr Pro Gly Thr Ala Thr Ala Ser Ser Arg Arg
 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 40 45

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
 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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 Leu Val Lys Glu Gln Ala Pro Ala 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
 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
 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

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 Ala Gly Leu Gln Gly Val His Leu
 515 520 525

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

<210> 27
 <211> 1734
 <212> ДНК
 <213> Polytomella sp

<400> 27
 atgtcgagtt ccgcactaag gctattatgc gggcgaacaa gtttcttta tttatgccaa 60
 aaatatcctc cttcctttct gtcacaattg tcgaccttaa atttctcaac ccattcgcct 120
 ttcgatagca cttatgatgt cgtcgtcgtt ggtgccggaa tctctgggtt gtctactgcc 180
 caagcactta gcattcaaca taagatcgat aatgttcttg ttactgaagc tgatcatcgt 240
 gtaggcggta aaattacgac gaaaaggaat aaagatttcc tgtgggagga ggggccaaat 300
 agttgcctaa tgaacgacgc tttatatcgc gctgcccag atgccggcgt ggaatccaaa 360
 attctatcgg cggatccaaa attaccacgt tggattctgt ggggtcgtcg tttgctgtg 420
 gccccattg gaagctacgc tttaaaatcc gaccttttat ctaccaagg cctactccgt 480
 gccatccgag gagtcacagg ttttggtgtg tcaccggctc cacctaaggg tcaggaggag 540
 agcgtggagg gctttgttcg acggacctta ggagacgaga tttttgagcg actcgttgag 600
 cccttttgct ccgggggtta tgcgggggat cctagcaa atgtccatgcg tgctgctttc 660
 ggaaaacttg tggaaatcga agagacgggt gatggtagct tacttcgcgg cgtctttcgt 720
 tacgtaatga acaaacgacg cgaaagaagg acgggcgggg cgaaagacgg ggacacggtc 780
 cttttgaacg agacggccaa ggcacccaaa tcacctcttg gcccaacagt atcgtctttc 840
 gaggggggaa tcgagatcct gcccaaggcc attgcgcaaa agctgggtga tcgagttcgt 900
 cttggcctac gactcgtgcg catcgatccc acgcagctcg cggatggtac gacagcgtac 960
 cgtctgtcgt accgtcggat gagtcatcaa ggcgatgacg actcgagtcg tacggcaggt 1020

gctgtaccgc gtacggcggg gggggatgtc gcggcggggg acgaggacgc cgtggtggag 1080
 gtggtggcga agaaggtcgt gctgacgacg ccggcattcg acgccgcgga catcttgtcg 1140
 cgttccggct tgggtggcggc ggcgaacccg ttgaaggagg tggattaccc gccagtagcg 1200
 ttggtcgttc tttcgtacga cgtcgactcg atttccgcca tacaccgcgt gagtcacgtg 1260
 gctcatggcc tcagcggctt tggccaactc caccctcgcc cagaggggtct ccgtacatta 1320
 ggaaccattt acggcagtac attatttccc aaccgttccc ccgtagctcg tacgacgctt 1380
 ttaaatttcg ttggtggatc caccgaccgt gcagtggggg ccgcggtacc aatggctttg 1440
 gcgatggagg tggatctgga tctgaaaaag agcgggttga tccgagaggg agctgcgaag 1500
 ccagaagtcc tcggggtgaa agtatatcca aaggctattc ctcagtttga tattggtcat 1560
 ttggatcgag tggaaaaggc caaatgatg ttaaagaacg aaaggggggg tgcagattgg 1620
 agtgggggtca aattggcggg aaattatgtg tgcggcgctg cagtgggcag atgcatagaa 1680
 tttggattcg aaattgcgga gaacttggcg caggaattgg cgagaaaaaa atag 1734

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

<400> 28

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

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

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

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
Ala	Ile	Arg	Gly	Val ₁₆₅	Thr	Gly	Phe	Gly	Val ₁₇₀	Ser	Pro	Ala	Pro	Pro ₁₇₅ Lys
Gly	Gln	Glu	Glu ₁₈₀	Ser	Val	Glu	Gly	Phe ₁₈₅	Val	Arg	Arg	Thr	Leu ₁₉₀	Gly Asp
Glu	Ile	Phe ₁₉₅	Glu	Arg	Leu	Val	Glu ₂₀₀	Pro	Phe	Cys	Ser	Gly ₂₀₅	Val	Tyr Ala
Gly	Asp ₂₁₀	Pro	Ser	Lys	Leu	Ser ₂₁₅	Met	Arg	Ala	Ala	Phe ₂₂₀	Gly	Lys	Leu Val
Glu ₂₂₅	Phe	Glu	Glu	Thr	Gly ₂₃₀	Asp	Gly	Ser	Leu	Leu ₂₃₅	Arg	Gly	Val	Phe Arg ₂₄₀
Tyr	Val	Met	Asn	Lys ₂₄₅	Arg	Arg	Glu	Arg	Arg ₂₅₀	Thr	Gly	Gly	Ala	Lys ₂₅₅ Asp
Gly	Asp	Thr	Val ₂₆₀	Pro	Leu	Asn	Glu	Thr ₂₆₅	Ala	Lys	Ala	Pro	Lys ₂₇₀	Ser Ser
Ser	Gly	Pro ₂₇₅	Thr	Val	Ser	Ser	Phe ₂₈₀	Glu	Gly	Gly	Ile	Glu ₂₈₅	Ile	Leu Pro
Lys	Ala ₂₉₀	Ile	Ala	Gln	Lys	Leu ₂₉₅	Gly	Asp	Arg	Val	Arg ₃₀₀	Leu	Gly	Leu Arg
Leu ₃₀₅	Val	Arg	Ile	Asp	Pro ₃₁₀	Thr	Gln	Leu	Ala	Asp ₃₁₅	Gly	Thr	Thr	Ala Tyr ₃₂₀
Arg	Leu	Ser	Tyr	Arg ₃₂₅	Arg	Met	Ser	His	Gln ₃₃₀	Gly	Asp	Asp	Asp	Ser ₃₃₅ Ser
Arg	Thr	Ala	Gly ₃₄₀	Ala	Val	Pro	Arg	Thr ₃₄₅	Ala	Glu	Gly	Asp	Val ₃₅₀	Ala Ala
Gly	Asp	Glu ₃₅₅	Asp	Ala	Val	Val	Glu ₃₆₀	Val	Val	Ala	Lys	Lys ₃₆₅	Val	Val Leu
Thr	Thr ₃₇₀	Pro	Ala	Phe	Asp	Ala ₃₇₅	Ala	Asp	Ile	Leu	Ser ₃₈₀	Arg	Ser	Gly Leu
Val ₃₈₅	Ala	Ala	Ala	Asn	Pro ₃₉₀	Leu	Lys	Glu	Val	Asp ₃₉₅	Tyr	Pro	Pro	Val Ala ₄₀₀
Leu	Val	Val	Leu	Ser ₄₀₅	Tyr	Asp	Val	Asp	Ser ₄₁₀	Ile	Ser	Ala	Ile	His ₄₁₅ Arg
Val	Ser	His	Val ₄₂₀	Ala	His	Gly	Leu	Ser ₄₂₅	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu ₄₃₀	His Pro

Arg Pro Glu Gly Leu Arg Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Gly Ser Thr Leu
435 440 445

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

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

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

Phe Gly Phe Glu Ile Ala Glu Asn Leu Ala Gln Glu Leu Ala Arg Lys
565 570 575

Lys

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

<400> 29
atgctcgctc ggactgccac ggtctcctcc acttcgtccc actcccatcc ttatcgcccc 60
acctccgctc gcagtctccg cctacgtccg gtcttcgcga tggcgggctc cgacgactcc 120
cgcgagctc ccgccaggtc ggtcgccgtc gtcggcgccg gggtcagcgg gctcgtggcg 180
gcgtacaggc tcaggaagag cggcgtgaat gtgacggtgt tcgaggcggc cgacagggcg 240
ggaggaaaga tacggaccaa ttccgagggc gggtttctct gggatgaagg agcgaacacc 300
atgacagaag gtgaattgga ggccagtaga ctgatagatg atctcgttct acaagacaaa 360
cagcagtatc ctaactccca acacaagcgt tacattgtca aagatggagc accagcactg 420
attccttcgg atcccatctt gctgatgaaa agcagtgttc tttctacaaa atcaaagatt 480
gcgttatttt ttgaaccatt tctctacaag aaagctaaca caagaaacc tggaagagta 540
tctgatgagc atttgagtga gagtggtggg agcttctttg aacgccactt cggaagagaa 600
gttggtgact atcttattga tccatttgta gctggaacaa gtgcaggaga tccagagtca 660

ctatctatatt gtcattgatt cccagcactg tggaaatttg aaagaaaata tggttcagtt 720
gttggttggtg ccatcttggtc taagctaaca gctaaagggtg atccagtaaa gacaagacgt 780
gattcatcag cgaaaagaag gaatagacgc gtgtcgtttt catttcatgg tggaaatgcag 840
tcactaataa atgcacttca caatgaagtt ggagatgata atgtgaagct tggtagacagaa 900
gtgttggtcat tggcgtgtac attagatgga gcccctgcac caggcgggtg gtcaatttct 960
gatgattcga aggatgctag tggcaaggac cttgctaaaa accaaacctt tgatgctggt 1020
ataatgacag ctccattgtc aaatgtccag aggatgaagt tcacaaaagg tggagctcct 1080
tttggttctag actttcttcc taagggtggat tatctaccac tatctctcat ggtgactgct 1140
tttaagaagg aagatgtcaa gaaacctctg gaaggatttg gcgtcttaac accctacaag 1200
gaacagcaaa aacatggtct 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
cttccagggt tcttctacgc aggaaataac aaggatgggc ttgctgttgg gagtggtata 1560
gcttcaggaa gcaaggctgc tgaccttgca atctcgatc ttgaatctca caccaagcat 1620
aataatttac attga 1635

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

<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
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
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

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

<210> 31
 <211> 1017
 <212> ДНК
 <213> Chlorella sp

<400> 31
 atggcctcca cagcaacact gcacggcgcg ccctgctgct cggcgcggcc cgtgggcccgc 60
 cggcatattg cagcaccgag catccagcac aatgggcccgc gcctggcggc cagggtgcag 120
 cagcgggaagg gggcagggga gcggcgctcg gcaactgcgtg tgcaggccgt ccaggcccct 180
 cccgagaagg cgggggagcag cacagggagc gcagcagacg acagcggcgt ttacgacgtt 240
 gtggtcgtgg gcgccggcat ctccggcctc accaccgccc aggcgctgac cagcagcac 300
 agcggcgtgg cgcggcggtt gctggtgacc gagggccgcg accgcgtggg cggcaacatc 360
 acctccgtgt ccaacaagga ggaggggctg ctgtgggagg aggggcccaa ctccttcag 420
 ccaaacgact ccatcctgca ggccgcggtg gacgccggcg tggcggacca gctggtactg 480
 ggcgacccca cggcgccgcg ttttgtgtac tgggacaaga agctgcgccc cagccctcc 540
 ggccccgacg cgctcacgtt cgacctgatg agcatcgtgg gcaagatccg ggcggggctg 600
 ggcgcgctgg gcttcaaggc gcccatgcca gactatgagg agagcgtgga gcagtatgtg 660

cggcgcgaacc tgggggcccga ggtgtttgag cgcctgatcg agcccttctg cagcggcgctg 720
 tacgccggcg accccaagaa gctgtccatg aaggcggcct ttggcaaggt gtacgacctg 780
 gagaagaagg gcggcagcat cgtgggcggc gtgatcaagc tgattcagga gcggcgcgcc 840
 aaccgcgcgc cgccgcgcag ccagcgcgtg ccgcccgaagc ccgcggggcca gacggtgggc 900
 tccttcgcgt ccggcctgcg cacgctgccg gatgccatgg cggcgcggtt gggagacgcg 960
 gtgcgcacca gctggcagct caaggagctc agcaaggaag gggaggccta caagtga 1017

<210> 32
 <211> 338
 <212> PRT
 <213> Chlorella

<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

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

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
 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

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

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
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		
	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		
	310	315 320
Val Arg Thr Ser Trp Gln Leu Lys Glu Leu Ser Lys Glu Gly Glu Ala		
	325	330 335

Tyr Lys

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

<400> 33	
atggccgccg ccgccgcagc catggccacc gccacctccg ccacggcagc gccgccgctc	60
cgcattcgcg acgccgcgag gaggacccgc cgacgcggcc acgttcgctg cgccgctgcg	120
agcggcgcg ccgagggcgcc cgcggcgccc ggggcgcggg tgtcggcgga ctgcgtcg	180
gtgggcggcg gcatcagcgg gctctgcacc gcgcaggcgc tggccacaaa gcacggcgct	240
ggcgacgtgc tcgtcacgga ggcccgcgcc cgccccggcg gcaacatcac caccgccgag	300
cgcgccggcg agggctacct ctgggaggag gggcccaaca gcttcagcc ttccgacccc	360
gtcctcacca tggccgtgga cagcgggctc aaggacgatc tcgtgttcgg ggaccccaac	420
gcgccgcggt tcgtgctgtg ggaggggaag ctaaggccgg tgccgtcaa gcccggcgac	480
ctgccgttct tcgacctcat gagcatcccc ggcaagctca gggccggcct tggcgcgctc	540
ggcgttcgag cgccacctcc agggcgtag gagtcgggtg aggacttcgt gcggcgcaac	600
ctcggcgcg aggtctttga ggcctcatt gagcctttct gctcaggtgt gtatgctggt	660
gaccttcaa agctcagtat gaaggctgca tttgggaagg tgtggaggct ggaggatact	720

```

ggaggttagca ttattggtgg aaccatcaaa acaatccagg agaggggggaa aaaccccaaa 780
ccgccgaggg atccccgcct tccaacgcca aaggggcaga cagttgcatc ttccaggaag 840
ggtctgacta tgctcccga tgctattaca tctagggttg gtagcaaagt caaactttca 900
tggaagttga caagcattac aaagtcagac aacaaaggat atgcattagt gtatgaaaca 960
ccagaagggg tggctctcgg gcaagctaaa actgttgctca tgaccatccc atcatatggt 1020
gctagtata tcttgcgcc actttcaagt gatgcagcag atgctctgtc aatattctat 1080
tatccaccag ttgctgctgt aactgtttca tatccaaaag aagcaattag aaaagaatgc 1140
ttaattgacg gagagctcca gggtttcggc cagctgcatc cgcgtagtca gggagttgag 1200
actttaggaa caatatatag ctcatcactc tttccaaatc gtgctccagc tggaaggggtg 1260
ttactttctga actacatagg aggttctaca aatacagggg ttgtttccaa gactgaaagt 1320
gagctggtag aagcagttga ccgtgacctc aggaagatgc tgataaatcc taaagcagtg 1380
gacccttttg tccttggcgt cggggtatgg ccacaagcca taccacagtt cctcattggc 1440
catcttgatc atcttgaggc tgcaaaatct gccctgggca aaggtggtta tgatggattg 1500
ttcctcgag ggaactatgt tgcaggagtt gccctgggcc gatgcgttga aggtgcatat 1560
gagagtgcct cacaatatc tgactacttg accaagtacg cctacaagtg a 1611

```

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

<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 Ala Arg Arg Thr Arg Arg Arg
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

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
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
 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 Pro Gly Arg Glu Glu Ser
 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
 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
 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
 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
 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
 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
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
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
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

<210> 35
<211> 1518
<212> ДНК
<213> *Amaranthus tuberculatus*

<400> 35
atgggcaaca tttctgagcg ggatgaaccc acttctgcta aaagggttgc tgttggtggt 60
gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat aagctaaaat cccatggttt gaatgtgaca 120
ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt 180
atctgggatg agggggcaaa tactatgaca gaaagtgagg cagaagtctc gagtttgatc 240
gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag ttgccaattt cacaaaataa aagatacata 300
gctagagatg gtcttcctgt gctactacct tcaaatcccg ctgcactgct cacgagcaat 360
atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt atgttggaac catttttctg gagaaaacac 420
aatgctactg agctttctga tgagcatgtt caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga 480
cattttggga aagagtttgt tgattatgtt attgaccctt ttgttgctggg tacatgtggt 540
ggagatcctc aatcgctttc tatgcaccat acatttccag aagtatggaa tattgaaaaa 600
aggtttggtc ctgtgtttgc tggactaatt caatcaacat tggtatctaa gaaggaaaag 660
gggtggaggag gaaatgcttc tatcaagaag cctcgtgtac gtggttcatt ttcattccat 720
gggtggaatgc agacacttgt tgacacaata tgcaaacagc ttggtgaaga tgaactcaaa 780
ctccagtgtg aggtgctgtc cttgtcatac aaccagaagg ggatcccttc attagggaaat 840

```

tggtcagtct cttctatgtc aaataataacc agtgaagatc aatcttatga tgctgtggtt      900
gtcactgctc caattcgcaa tgtcaaagaa atgaagatta tgaaattcgg aaatccattt      960
tcacttgact ttattccaga ggtgagttac gtacccctct ctgttatgat tactgcattc     1020
aagaaggata aagtgaagag accactcgag ggctttggag ttcttatccc ctctaaagag     1080
caacataatg gactgaagac tcttggtact ttattttcct ccatgatgtt tcccgatcgt     1140
gctccatctg acatgtgtct ctttactaca tttgtcggag gaagcagaaa tagaaaactt     1200
gcaaacgctt caacggatga attgaagcaa atagtttctt ctgaccttca gcagctgttg     1260
ggcactgagg acgaaccttc atttgtcaat catctctttt ggagcaacgc attcccgttg     1320
tatggacaca attacgattc tgttttgaga gccatagaca agatggaaaa ggatcttcct     1380
ggatTTTTTT atgcaggtaa ccataagggg ggactttcag tgggaaaagc gatggcctcc     1440
ggatgcaagg ctgcggaact tgtaatatcc tatctggact ctcatatata tgtgaagatg     1500
gatgagaaga ccgcgtaa                                           1518

```

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

<400> 36

Met Gly Asn Ile Ser Glu Arg Asp Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val
 1 5 10 15

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

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

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

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
 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
 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
 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
 Asn Thr Ser Glu Asp Gln Ser Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro
 290 295 300
 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
 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
 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
 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
 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
 500 505

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

<400> 37
 atggagttat ctcttctccg tccgacgact caatcgcttc ttccgtcgtt ttcgaagccc 60
 aatctccgat taaatgttta taagcctctt agactccggt gttcagtggc cgggtggacca 120
 accgtcggat cttcaaaaat cgaaggcggg ggaggcacca ccatcacgac ggattgtgtg 180
 attgtcggcg gaggtattag tggctcttgc atcgctcagg cgcttgctac taagcatcct 240
 gatgctgctc cgaatttaat tgtgaccgag gctaaggatc gtgttggagg caacattatc 300
 actcgtgaag agaatggttt tctctgggaa gaagggtcca atagttttca accgtctgat 360
 cctatgctca ctatggtggt agatagtggg ttgaaggatg atttggtgtt gggagatcct 420
 actgcgcaa ggtttgtgtt gtggaatggg aaattgaggc cggttccatc gaagctaaca 480
 gacttaccgt tctttgattt gatgagtatt ggtgggaaga ttagagctgg ttttgggtgca 540
 cttggcattc gaccgtcacc tccaggctcg gaagaatctg tggaggagt tgtacggcgt 600
 aacctcggtg atgaggtttt tgagcgcctg attgaaccgt tttgttcagg tgtttatgct 660
 ggtgatcctt caaaactgag catgaaagca gcgtttggga aggtttggaa actagagcaa 720
 aatggtggaa gcataatagg tggtagcttt aaggcaattc aggagaggaa aaacgctccc 780
 aaggcagaac gagaccgcg cctgcaaaa ccacagggcc aaacagttgg ttctttcagg 840
 aagggacttc gaatgttgcc agaagcaata tctgcaagat taggtagcaa agttaagttg 900
 tcttggaagc tctcaggtat cactaagctg gagagcggag gatacaactt aacatatgag 960
 actccagatg gtttagtttc cgtgcagagc aaaagtgttg taatgacggt gccatctcat 1020
 gttgcaagtg gtctcttgcg ccctctttct gaatctgctg caaatgcact ctcaaaacta 1080
 tattaccac cagttgcagc agtatctatc tcgtaccgga aagaagcaat ccgaacagaa 1140
 tgtttgatag atggtgaact aaagggtttt gggcaattgc atccacgcac gcaaggagtt 1200

gaaacattag gaactatcta cagctcctca ctctttccaa atcgcgacc gcccggaaga 1260
 attttgctgt tgaactacat tggcgggtct acaaacaccg gaattctgtc caagtctgaa 1320
 ggtgagttag tggaagcatt tctagttggt cactttgata tccttgacac ggctaaatca 1380
 tctctaacgt cttcgggcta cgaagggcta tttttgggtg gcaattacgt cgctgggtgta 1440
 gccttaggcc ggtgtgtaga aggcgcataat gaaaccgcga ttgagggtcaa caacttcatg 1500
 tcacggtacg cttacaagta a 1521

<210> 38
 <211> 506
 <212> PRT
 <213> Arabidopsis
 <400> 38

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

Ala Leu Gly Arg Cys Val Glu Gly Ala Tyr Glu Thr Ala Ile Glu Val
485 490 495

Asn Asn Phe Met Ser Arg Tyr Ala Tyr Lys
500 505

<210> 39
<211> 1515
<212> ДНК
<213> Nicotiana tabacum

<400> 39
atggctcctt ctgccggaga agataaacac agttctgcga agagagtcgc agtcattgggt 60
gcaggcgtca gtgggcttgc tgcagcatatc 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 tcaaattcaa ttgatctgat caaaagcaat 360
tttctttcca ctggatcaaa gcttcagatg cttctggaac caatattatg gaagaataaa 420
aagctctccc aggtgtctga ctcacatgaa agtgtcagtg gattcttcca gcgtcatttt 480
ggaaaggagg ttgttgacta tctaattgac ctttttgttg ctggaacgtg tgggtggtgat 540
cctgactcgc tttcaatgca ccattcattt ccagagttgt ggaatttaga gaaaagggtt 600
ggctcagtca tacttggagc tattcgatct aagttatccc ctaaaaatga aaagaagcaa 660
gggccacca aaacttcagc aaataagaag cgccagcggg gatctttttc ctttttgggc 720
ggaatgcaaa cacttactga tgcaatatgc aaagatctca gagaagatga acttagacta 780
aactctagag ttctggaatt atctttagc tgtactgagg actctgcgat agatagctgg 840
tcaattatth ctgcctctcc acacaaaagg caatcagaag aagaatcatt tgatgctgta 900
attatgacgg cccactctg tgatgttaag agtatgaaga ttgctaagag aggaaatcca 960
tttctactca actttattcc tgaggttgat tatgtaccgc tatctgttgt tataaccaca 1020
tttaagaggg aaaacgtaaa gtatcccctt gaggggtttg gggttcttgt accttccaag 1080
gagcaacaac atgggtctca gacactaggc accctcttct cttctatgat gtttccagat 1140
cgggcaccaa acaatgttta tctctatact acttttgttg gtggaagccg aaatagagaa 1200
cttgcaaaag cctcaaggac tgagctgaaa gagatagtaa cttctgacct taagcagctg 1260
ttgggtgctg agggagagcc aacatatgtg aatcatctat actggagtaa agcatttcca 1320
ttgtacgggc ataactatga ttcagtccta gatgcaattg acaaaatgga gaaaaatctt 1380
cctggattat tctatgcagg taaccacagg gggggattgt cagttggcaa agcattatct 1440
tctggatgca atgcagctga tcttgttata tcatatcttg aatccgtctc aactgactcc 1500
aaaagacatt gctga 1515

<210> 40
 <211> 504
 <212> PRT
 <213> Nicotiana

<400> 40

```

Met Ala Pro Ser Ala Gly Glu Asp Lys His Ser Ser Ala Lys Arg Val
1      5      10      15

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

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

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
      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

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

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
    
```

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
 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
 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
 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
 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
 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
 Ser Thr Asp Ser Lys Arg His Cys
 500

<210> 41
 <211> 1509
 <212> ДНК

<213> Glycine max

<400> 41

```

atggcttcct ctgcaacaga cgataaccca agatctgtaa aaagagtagc tgttggtggt      60
gctggggtaa gtgggcttgc tgcggcttac aaattgaaat cacatggtct ggatgtcact      120
gtatattgaag ctgaggggaag agctggaggg aggttgagaa gtgtttctca ggatggtcta      180
atattgggatg agggagctaa tacaatgact gaaagtgaat ttgagggtta aggtttgatt      240
gatgctcttg gacttcaaga aaagcagcag tttccaatat cacagcataa gcgctatatt      300
gtgaaaaatg gggcaccact tctggtaccc acaaatcctg ctgcactact gaagagtaaa      360
ctgctttctg cacaatcaaa gatccatctc atttttgaac catttatgtg gaaaagaagt      420
gaccttctta atgtgtgtga tgaaaattct gtggaaagtg taggcagggt ctttgaacgt      480
cattttggaa aagagggtgt ggactatctg attgatcctt ttgttggggg cactagtgc      540
gcagatcctg aatctctctc tatgcgccat tctttcccag agctatggaa tttggagaaa      600
aggtttggct ccattatagc cggggcattg caatctaagt tattcgccaa aagggaaaaa      660
actggagaaa ataggactgc actaagaaaa aacaaacaca agcgtggttc gttttctttc      720
cagggtggga tgcagacact gacagatata ttgtgcaaag agcttgcaa agacgacctt      780
aaattaaatg aaaagggttt gacattagct tatgggtcatg atggaagttc ctcttcacaa      840
aactggtcta ttactagtgc ttctaaccaa agtacacaag atgttgatgc agtaatcatg      900
acggctcctc tatataatgt caaggacatc aagatcacia aaaggggaac tccctttcca      960
cttaattttc ttcccagagt aagctacgtg ccaatctcag tcatgattac taccttcaaa     1020
aaggagaatg taaagagacc tttggaggga tttggagttc ttgttccttc taaagagcaa     1080
aaaaatggtt taaaaaccct tggtagactt ttttctctta tgatgttccc agatcgtgca     1140
cctagtgatt tatatctcta taccaccttc attggcggaa ctcaaaacag ggaacttgct     1200
caagcttcaa ctgacgagct taggaaaatt gttacttctg acctgagaaa gttgttgagg     1260
gcagaggggg aaccaacatt tgtaaacat ttctattgga gtaaaggctt tcctttgtat     1320
ggacgtaact atgggtcagt tcttcaagca attgataaga tagaaaaaga tcttcccggg     1380
tttttctttg caggtaacta caaagggtga ctctcagttg gcaaagcaat agcctcaggc     1440
tgcaaagcag ctgatcttgt gatatcctac ctcaactctg cttcagacaa cacagtgcct     1500
gataaatga                                     1509

```

<210> 42

<211> 502

<212> PRT

<213> Glycine

<400> 42

Met Ala Ser Ser Ala Thr Asp Asp Asn Pro Arg Ser Val Lys Arg Val
1 5 10 15

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
 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
 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
 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
 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
 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
 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

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
 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
 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
 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
 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

<210> 43
 <211> 1205
 <212> ДНК
 <213> Cucumis sativus

<400> 43
 agcttccaac cttccgatcc tattctcacc atggtggtgg atagtggctt aaaagatgat 60
 ttagttcttg gagaccaga tgcacctga tttgtattgt ggaatggaaa gctcagacca 120
 gtgcctgcga aacctaata tctaccttc tttgacctga tgagcattgg tggaaaaatc 180
 agagcaggct ttggtgccct gggcattcgc cctcctcctc caggctcgaga ggaatcagtt 240
 gaagaatttg tccgtcggaa ccttggaat gaagtttttg aacgtttgat agagccattt 300


```

tggtctggtg tatacgctgg tgacccttca aagctaagca tgaaagcagc ttttggttaag 360
gtttggaggc tagagcaaaa tggtagtagt attattggtg ggactttcaa agcacttcaa 420
gaaaggaata aaactaccaa accaccaaga gatccgcgtc taccaaagcc taagggccaa 480
actgttggat cttttcggaa aggacttacc atgttgccaa atgctatttc tacttgtttg 540
gggagtaaag taaaagtatc ttggaagcta tctagtatca gtaaagtgga tgacggagggt 600
tatagtttga catacgaaac accagaagga ctagtctcca tactaagcag aagtgtcatc 660
atgacggttc cttcttatat tgctggcact ctgttgcgtc caatctcggg gaaagctgca 720
gatgcacttt caaaatttta ttatccacca gttgcatcag tgaccatatc atatccaaaa 780
ggagcaatta ggaagaatg cttgattgat ggtgaactaa aggggtttgg tcaattgcac 840
cctcgtagcc agggggtgac tactttggga actatataca gctcatcact ttttccta 900
cgagcgccag atggaagggg attgctcttg aactacattg gaggggctac taatactgga 960
attctttctc agacagagag cgagctcata gaagtagttg atcgggattt aagaaaaatc 1020
ctcataaacc caaacgcaga ggatcctcta ccattgagcg tgagggtgtg gccacaagcc 1080
attccacagt tcttgattgg ccattctgat gttctagaca ccgccaaggc cggactgaga 1140
gaggctggaa tggaggggct attttaggt ggaaactatg tatgcggtgt ggccttgggg 1200
agatg 1205

```

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

<400> 44

Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Ile Leu Thr Met Val Val Asp Ser Gly
 1 5 10 15

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

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
 100 105 110

Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Arg Leu Glu Gln Asn Gly

```

tggtctggtg tatacgctgg tgacccttca aagctaagca tgaaagcagc ttttggttaag 360
gtttggaggc tagagcaaaa tgggtggtagt attattggtg ggactttcaa agcacttcaa 420
gaaaggaata aaactaccaa accaccaaga gatccgcgtc taccaaagcc taagggccaa 480
actgttggat cttttcggaaggacttacc atgttgccaa atgctatttc tacttggttg 540
gggagtaaag taaaagtatc ttggaagcta tctagtatca gtaaagtgga tgacggagggt 600
tatagtttga catacgaaac accagaagga ctagtctcca tactaagcag aagtgtcatc 660
atgacgggttc cttcttatat tgctggcact ctgttgcgtc caatctcggg gaaagctgca 720
gatgcacttt caaaatttta ttatccacca gttgcatcag tgaccatata atatccaaaa 780
ggagcaatta ggaaagaatg cttgattgat ggtgaactaa aggggttttg tcaattgcac 840
cctcgtagcc agggggtgac tactttggga actatataca gtcatacact ttttcctaata 900
cgagcgccag atggaaggggt attgctcttg aactacattg gaggggctac taatactgga 960
attctttctc agacagagag cgagctcata gaagtagttg atcgggattt aagaaaaatc 1020
ctcataaacc caaacgcaga ggatcctcta ccattgagcg tgagggtgtg gccacaagcc 1080
attccacagt tcttgattgg ccattctgat gttctagaca ccgccaaggc cggactgaga 1140
gaggctggaa tggaggggct atttttaggt ggaaactatg tatgcggtgt ggccttgggg 1200
agatg 1205

```

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

<400> 44

```

Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Ile Leu Thr Met Val Val Asp Ser Gly
1          5          10          15

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

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
          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				
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
			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				
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
			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				
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
			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					
Glu	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Cys	Gly	Val	Ala	Leu	Gly
385					390					395					400

Arg

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

<400> 45
atggccgcct cgcacgaccc ccgcggcggg aggtccgctc cgcgcgctcg cgccggcgctc 60
agtgggctcg cggcggcgta caggctgagg aagcgcggcg tgcaggtgac ggtgttcgag 120
gcggccgaca gggcgggttg gaagatacgg accaactccg agggcgggtt catctgggac 180
gaaggggcca acaccatgac agagagtga ttggaggcaa gcaggcttat tgacgatctt 240
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
gatcctgagt cattatcaat tcgtcatgca tttccagcat tatggaattt ggagaataag 600
tatggctctg tcattgctgg tgccatcttg tccaaactat ccactaaggg tgattcagtg 660
aagacaggag gtgcttcgcc agggaaagga aggaataaac gtgtgtcatt ttcatttcat 720
ggtggaatgc agtcactaat agatgcactt cacaatgaag ttggagatgg taacgtgaag 780
cttggtacag aagtgttgct attggcatgt tgctgtgatg gagtctcttc ttctgggtgt 840
tggtcaattt ctgttgattc aaaagatgct aaagggaaag atctcagaaa gaaccaatct 900
ttcgaatgct ttataatgac tgctccattg tctaattgtc agaggatgaa gtttacaaaa 960
ggtggagtgc cttttgtgct agactttctt cctaaggctc attatctacc actatctctc 1020
atggtaacag cttttaagaa ggaagatgtc aaaaaacat tgggaaggatt tgggtgccttg 1080
ataccctata aggaacagca aaagcatggt ctcaaaaccc ttgggaccct cttctcctcg 1140
atgatgtttc cagatcgagc tcctaattgat caatatctat atacatcttt cattgggggg 1200
agccataata gagacctcgc tggggctcca acggctattc tgaaacaact tgtgacctct 1260
gacctaagaa agctcttggtg tgttgaggga caacctactt ttgtgaagca tgtacattgg 1320
agaaatgctt ttcctttata tggccagaat tatgatctgg tactggaagc tatagcaaaa 1380
atggagaaca atcttccagg gttcttttac gcaggaaata acaaggatgg gttggctgtt 1440
ggaaatgtta tagcttcagg aagcaaggct gctgaccttg tgatctctta tcttgaatct 1500
tgacacagatc aggacaatta g 1521

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

<400> 46

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 Tyr Arg Leu Arg Lys Arg
20 25 30

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
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

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
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

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

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

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

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

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

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 Leu Gly Val Glu Gly Gln Pro
420 425 430

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

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

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Спосіб підвищення росту культурних рослин за допомогою контролю небажаної рослинності, що оточує ці культурні рослини в місці вирощування рослини, де спосіб включає стадії:
 - а) забезпечення на зазначеному місці, рослини, що містить щонайменше одну нуклеїнову кислоту, яка містить нуклеотидну послідовність, що кодує мутовану протопорфіриногенаоксидазу (mut-PPO), стійку чи толерантну до "PPO інгібуючого гербіциду", та
- 10 б) нанесення на зазначене місце ефективної кількості зазначеного гербіциду, де зазначена ефективна кількість зазначеного гербіциду не знищує або інгібує зростання стійких до гербіциду рослин а); та де нуклеотидна послідовність а) містить послідовність SEQ ID NO: 1 або 3, та де mut-PPO SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4 містить наступне:
 - а) амінокислота у положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr,

Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu або Gln; та

b) амінокислота у положенні 420 являє собою Val або Met,

та де зазначена ефективна кількість зазначеного гербіциду не знищує або інгібує зростання стійких до гербіциду рослин а).

5 2. Спосіб за п. 1, в якому PPO інгібуючий гербіцид наносять у сполученні з одним чи більше додатковими гербіцидами.

3. Виділена нуклеїнова кислота, що кодує mut-PPO поліпептид, де нуклеїнова кислота містить нуклеотидну послідовність SEQ ID NO: 1 або 3, та де кодований mut-PPO являє собою варіант SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, що містить амінокислоту у положенні 397, яка являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, або Gln, та амінокислоту у положенні 420, яка являє собою Val або Met.

4. Поліпептид mut-PPO, що містить послідовність SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, де амінокислота у положенні 420 являє собою Met або Val, та амінокислота у положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu або Gln, де зазначений mut-PPO поліпептид надає підвищену стійкість або толерантність рослини до PPO інгібуючого гербіциду порівняно з рослиною дикого типу.

5. Клітина трансгенної рослини, трансформована нуклеїновою кислотою, кодуючою mut-PPO поліпептид, який містить послідовність SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, де експресія нуклеїнової кислоти у рослинній клітині призводить до підвищеної стійкості чи толерантності до PPO інгібуючого гербіциду порівняно з рослинною клітиною дикого типу, де кодований mut-PPO є варіантом SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, що містить амінокислоту у положенні Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu або Gln та амінокислоту у положенні 420, яка являє собою Met або Val.

6. Клітина трансгенної рослини за п. 5, де mut-PPO поліпептид, що кодує нуклеїнову кислоту, містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з: а) полінуклеотиду, як показано у SEQ ID NO: 1 або 3, b) полінуклеотиду, що кодує поліпептид, як показано у SEQ ID NO: 2 або 4, та c) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду за будь-яким з від а) до b).

7. Трансгенна рослина, що містить рослинну клітину, як визначено у п. 5 або 6, де експресія mut-PPO поліпептиду, що кодує нуклеїнову кислоту, у рослині, призводить до підвищеної стійкості рослини до PPO інгібуючого гербіциду порівняно із рослиною дикого типу.

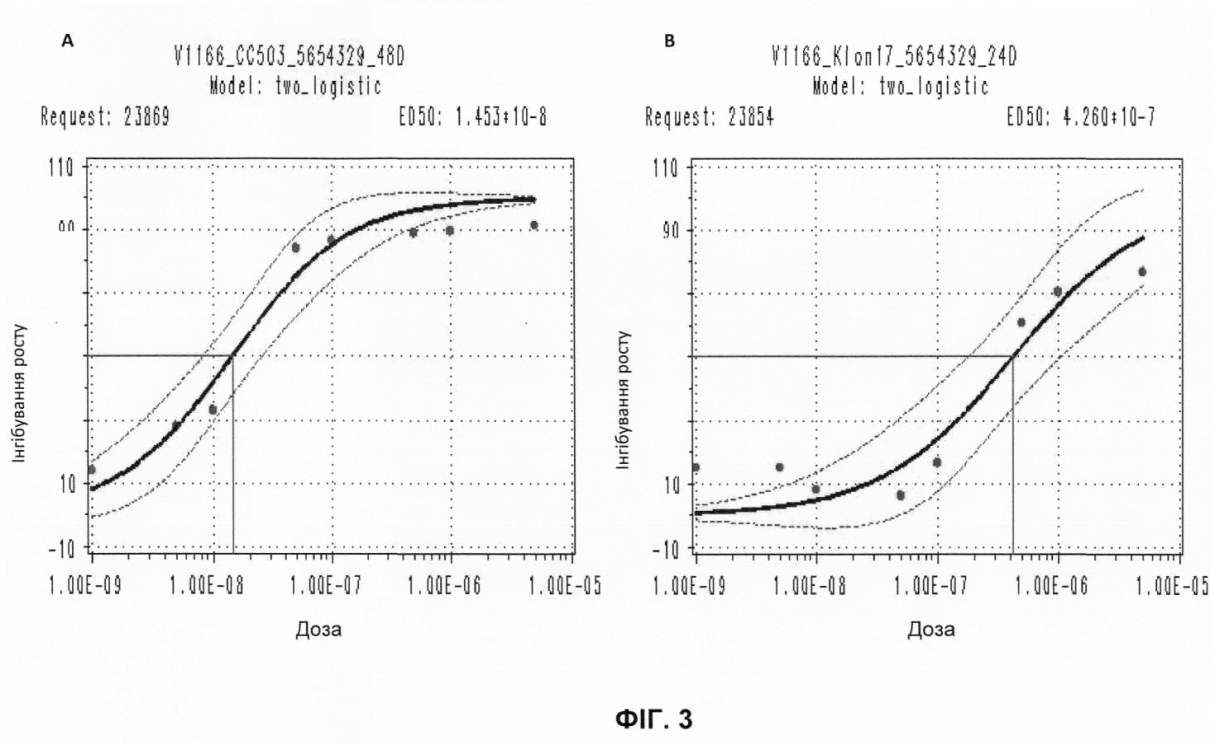
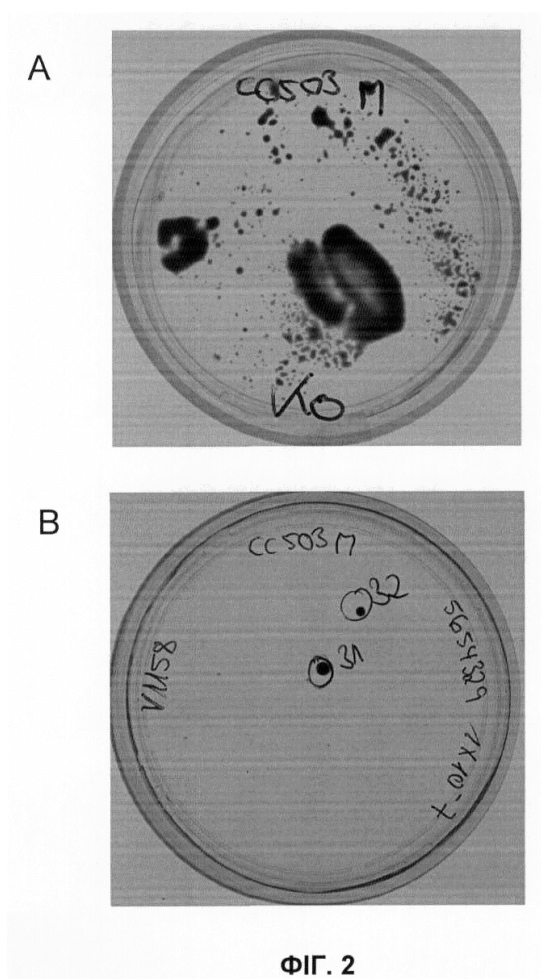
8. Рослина, що експресує мутагенізований або рекомбінантний mut-PPO поліпептид, що містить послідовність, як показано у SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, де амінокислота у положенні 420 являє собою Met або Val, і амінокислота у положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, або Gln, та де зазначений mut-PPO надає рослині підвищену толерантність до гербіциду порівняно із відповідною рослиною дикого типу, коли експресується в ній.

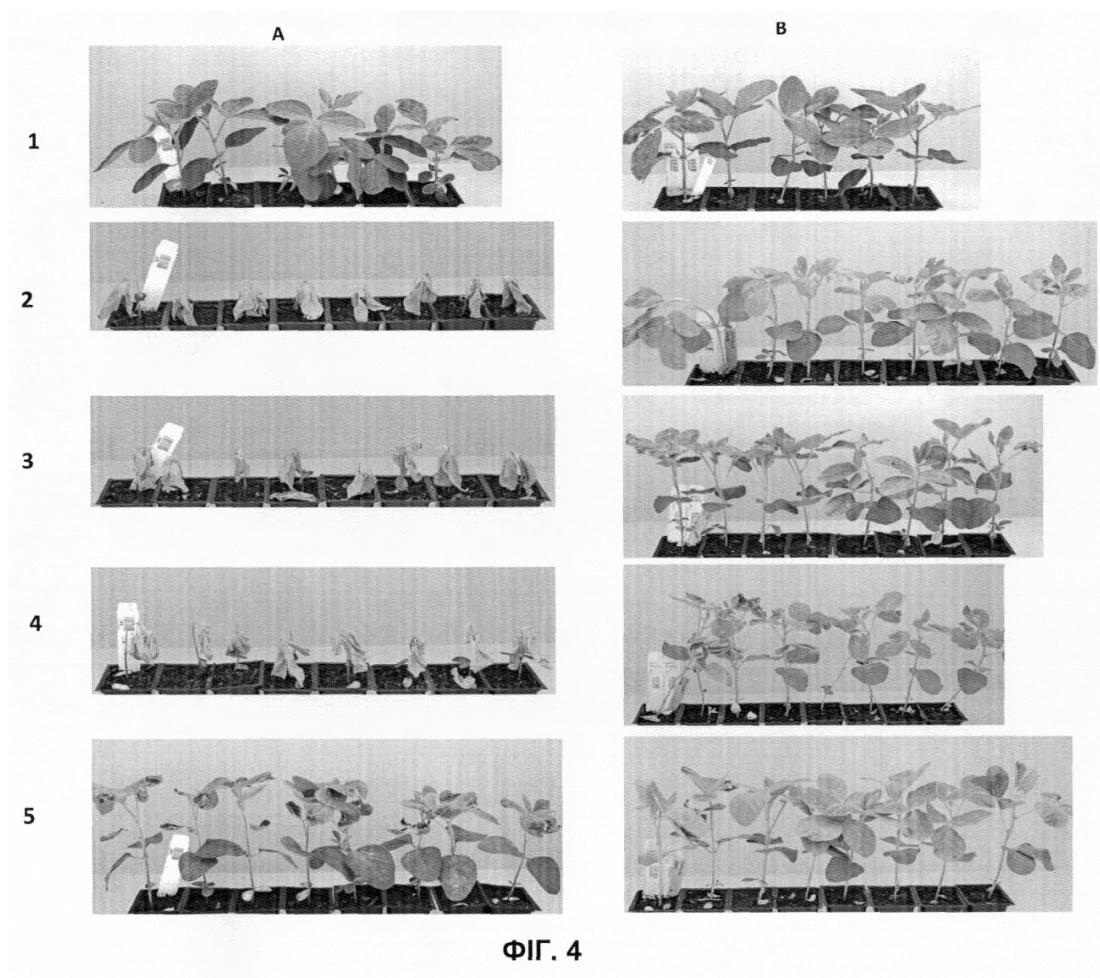
9. Спосіб одержання трансгенної рослини, що включає (а) трансформацію рослинної клітини касетою експресії, яка містить нуклеїнову кислоту, що кодує mut-PPO поліпептид, що включає послідовність, як показано у SEQ ID NO: 2 або SEQ ID NO: 4, у якій амінокислота у положенні 420 являє собою Val або Met, та амінокислота у положенні 397 являє собою Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, або Gln та (b) одержання рослини з підвищеною стійкістю до PPO інгібуючого гербіциду з рослинної клітини.

10. Спосіб за п. 9, в якому mut-PPO нуклеїнова кислота містить полінуклеотидну послідовність, вибрану з групи, що складається з: а) полінуклеотиду, як показано у SEQ ID NO: 1, 3, та b) полінуклеотиду, що кодує поліпептид, як показано у SEQ ID NO: 2 або 4, та c) полінуклеотиду, комплементарного полінуклеотиду за будь-яким з а)-b).

11. Спосіб за будь-яким з пп. 9-10, в якому касета експресії додатково містить регуляторну ділянку ініціації транскрипції та регуляторну ділянку ініціації трансляції, які є функціональними у рослині.

		20	40	60	80	100	
A.tubercularatus		-----	-----	-----	-----	-----	50
A.tubercularatus_R		-----	-----	-----	-----	-----	50
A.thaliana_2		-----	-----	-----	-----	-----	59
S.oleracea_2		-----	-----	-----	-----	-----	29
N.tabacum_2		-----	-----	-----	-----	-----	49
Glycine_max		-----	-----	-----	-----	-----	20
A.thaliana_1		-----	-----	-----	-----	-----	63
N.tabacum_1		-----	-----	-----	-----	-----	78
C.reinhardtii_1		-----	-----	-----	-----	-----	88
Z.mays		-----	-----	-----	-----	-----	62
O.sativa_1		-----	-----	-----	-----	-----	63
S.tuberosum		-----	-----	-----	-----	-----	82
C.sativus		-----	-----	-----	-----	-----	81
C.intybus_1		-----	-----	-----	-----	-----	81
S.oleracea_1		-----	-----	-----	-----	-----	88
Polytomella		-----	-----	-----	-----	-----	51
							g
		120	140	160	180	200	
A.tubercularatus		-----	-----	-----	-----	-----	144
A.tubercularatus_R		-----	-----	-----	-----	-----	144
A.thaliana_2		-----	-----	-----	-----	-----	163
S.oleracea_2		-----	-----	-----	-----	-----	143
N.tabacum_2		-----	-----	-----	-----	-----	163
Glycine_max		-----	-----	-----	-----	-----	114
A.thaliana_1		-----	-----	-----	-----	-----	164
N.tabacum_1		-----	-----	-----	-----	-----	171
C.reinhardtii_1		-----	-----	-----	-----	-----	182
Z.mays		-----	-----	-----	-----	-----	160
O.sativa_1		-----	-----	-----	-----	-----	159
S.tuberosum		-----	-----	-----	-----	-----	180
C.sativus		-----	-----	-----	-----	-----	186
C.intybus_1		-----	-----	-----	-----	-----	178
S.oleracea_1		-----	-----	-----	-----	-----	185
Polytomella		-----	-----	-----	-----	-----	145
		g sgl a	ea gg	g u eq n 3	s 6 d G	R56 g P	
		220	240	260	280	300	
A.tubercularatus		-----	-----	-----	-----	-----	243
A.tubercularatus_R		-----	-----	-----	-----	-----	243
A.thaliana_2		-----	-----	-----	-----	-----	258
S.oleracea_2		-----	-----	-----	-----	-----	242
N.tabacum_2		-----	-----	-----	-----	-----	211
Glycine_max		-----	-----	-----	-----	-----	213
A.thaliana_1		-----	-----	-----	-----	-----	213
N.tabacum_1		-----	-----	-----	-----	-----	276
C.reinhardtii_1		-----	-----	-----	-----	-----	264
Z.mays		-----	-----	-----	-----	-----	253
O.sativa_1		-----	-----	-----	-----	-----	252
S.tuberosum		-----	-----	-----	-----	-----	253
C.sativus		-----	-----	-----	-----	-----	139
C.intybus_1		-----	-----	-----	-----	-----	278
S.oleracea_1		-----	-----	-----	-----	-----	271
Polytomella		-----	-----	-----	-----	-----	242
		1 6S k	ESV F R G E	66 PF G	gDP LsH	F 6w e G56 G	
		320	340	360	380	400	
A.tubercularatus		-----	-----	-----	-----	-----	318
A.tubercularatus_R		-----	-----	-----	-----	-----	317
A.thaliana_2		-----	-----	-----	-----	-----	333
S.oleracea_2		-----	-----	-----	-----	-----	318
N.tabacum_2		-----	-----	-----	-----	-----	289
Glycine_max		-----	-----	-----	-----	-----	290
A.thaliana_1		-----	-----	-----	-----	-----	322
N.tabacum_1		-----	-----	-----	-----	-----	322
C.reinhardtii_1		-----	-----	-----	-----	-----	346
Z.mays		-----	-----	-----	-----	-----	322
O.sativa_1		-----	-----	-----	-----	-----	321
S.tuberosum		-----	-----	-----	-----	-----	342
C.sativus		-----	-----	-----	-----	-----	208
C.intybus_1		-----	-----	-----	-----	-----	347
S.oleracea_1		-----	-----	-----	-----	-----	340
Polytomella		-----	-----	-----	-----	-----	340





Комп'ютерна верстка М. Шамоніна

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