



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121014** (13) **C2**  
(51) МПК (2020.01)**C12N 15/82** (2006.01)**C12N 5/14** (2006.01)**A01H 1/04** (2006.01)**A01H 5/10** (2018.01)**A01H 6/82** (2018.01)**A01P 3/00**МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2015 01119</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Шталь Дітмар Юрген (DE), Темме Нора (DE)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>06.08.2013</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>КВС СААТ АГ, Grimsehlstrasse 31, 37555 Einbeck, Germany (DE)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.03.2020</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Шляховецький Ілля Олександрович, реєстр. №190</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>10 2012 016 009.7</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2006/047495 A2, 04.05.2006 WO 2009/112270 A2, 17.09.2009 US 2011/167514 A1, 07.07.2011 Sequence 12097 from patent US 8299318, GenBank, Database accession № GZ562039.1, 15.11.2012
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>08.08.2012</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>DE</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.06.2015, Бюл.№ 11</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.03.2020, Бюл.№ 6</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>РСТ/DE2013/000446, 06.08.2013</b>	

**(54) ТРАНСГЕННА РОСЛИНА ВИДУ SOLANUM TUBEROSUM ЗІ СТІЙКІСТЮ ДО PHYTOPHTHORA****(57) Реферат:**

Винахід стосується трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum* зі стійкістю проти ооміцету *Phytophthora infestans*, в геном якої стабільно інтегровані дволанцюгова перша ДНК, яка відповідає послідовності SEQ ID NO: 1 або її фрагмент із щонайменше 21 послідовного нуклеотиду, і дволанцюгова друга ДНК, причому вказані перша і друга ДНК є повністю або частково зворотно-комплементарними відносно одна до іншої; способу одержання вказаної трансгенної рослини, композиції для зовнішнього застосування на рослинах, яка містить вказані першу і другу ДНК.

UA 121014 C2



Цей винахід має відношення до трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum* зі стійкістю до ооміцетів роду *Phytophthora*, трансгенних частин рослини цього типу, способу її одержання, а також композиції для зовнішнього застосування на рослинах.

Навіть зараз фітофтороз пасльонових, спричинюваний *Phytophthora infestans*, залишається найбільш поширеним і найбільш економічно важливим захворюванням картоплі.

По всьому світу згаданий патоген спричинює втрату частини врожаю, яка становить більше 20 %. Це означає необхідність застосування дорогих хімічних засобів захисту рослин, тому що природні механізми захисту картоплі, які протидіють *P. infestans*, або які сповільнюють й обмежують поширення цього патогену, є недостатніми або не постійними.

Відомо, що природні механізми захисту рослин, такі як реакція гіперчутливості на місці інфекції, лігніфікація клітинної стінки, продукування PR-білків (патогенез-зв'язаних білків) і синтез фітоалексинів, сприяють посиленню стійкості, але їх завжди супроводжує втрата енергії і, отже, зниження продуктивності уражених рослин.

Природні механізми захисту рослин також включають експресію так званих генів стійкості (R-генів), генні продукти яких взаємодіють з мікробними генами авірулентності (Avr-гени) (гіпотеза "ген-на-ген") і, отже, індують специфічну реакцію захисту. Проте, якщо патоген, такий як *P. infestans*, може уникнути синтезу Avr-гена і розпізнавання патогену, ця стійкість може бути порушена і, отже, подальша специфічна захисна реакція в рослині-хазяїні не відбувається.

Fire et al. (1998) довели, що дволанцюгова РНК (dsRNA) може спричинювати сіквенс-специфічну деградацію гомологічної РНК. Виходячи з цих результатів, були створені трансгенні рослини, які, внаслідок РНК-інтерференції (RNAi) за рахунок індукованого рослиною-хазяїном глушіння консервативних і основних (незамінних) генів, наприклад, від нематод видів *Lepidoptera* та *Coloptera*, можуть мати стійкість до цих комах-шкідників як *in vitro*, так і *in vivo*.

Крім того, взаємодія рослини-хазяїна та фітопатогенних грибів може являти собою застосування теорії індукованого хазяїном глушіння гену (HIGS) для індукування стійкості (EP 1 716 238).

Для здійснення функціональних досліджень *Phytophthora* Van West et al. (1999) застосовують метод глушіння генів на цих ооміцет-специфічних генах.

Вперше застосування РНК-інтерференції для контролю грибкових патогенів на основі контакту dsRNA з грибковими клітинами поза грибковою клітиною було описано у WO 2006/070227. У цій заявці запропонований спосіб одержання стійкої до патогену рослини. Отже, РНК-інтерференція може бути спрямованою як проти одного або більше гену(-ів) патогену, так і проти декількох патогенів. І *Phytophthora infestans* зазначений як можливий грибковий патоген, а картопля як можлива рослина-хазяїн.

Попередні дослідження дозволили висунути гіпотезу, яка полягає в тому, що індуковане рослиною-хазяїном глушіння генів не діє для кожного гену, і для функціонального глушіння важливе значення має вибір гену-мішені. Так, наприклад, PnMA1 до H<sup>+</sup>-АТФази цитоплазматичної мембрани *Phytophthora parasitica* не може бути зменшений індукованим рослиною-хазяїном глушінням гену настільки, щоб забезпечити ефективний захист від певного патогену (Zhang et al., 2011). Отже, вибір генів-мішеней також є важливим для ефективного захисту проти патогенів (Yin et al., 2011).

З метою створення рослин, стійких до патогенів, нещодавно була запропонована система скринінгу (US 2010/0257634), призначена для полегшення вибору прийнятних паразитарних генів для генно-інженерних конструкцій для глушіння. Автори також запропонували ідентифікацію відповідних експериментальних генно-інженерних конструкцій для індукування фітостійкості у картоплі. Для цього гени-мішені визначали на основі результатів біоінформаційних аналізів геномних послідовностей або на основі гомології послідовностей між основними генами або факторами вірулентності відомих модельних організмів. Згаданий документ не містить жодних ознак описаних у цьому винаході генів, які зумовлюють стійкість до ооміцетів роду *Phytophthora*.

У WO 2009/112270 описаний спосіб одержання трансгенних рослин зі стійкістю проти численних грибів. За одним з прикладів застосування способу за цим винаходом згадана стійкість спрямована проти *Uncinula necator*, *Plasmopora viticola*, *Uromyces spec.*, *Phakopsora pachyrhizi*, *Erysiphe sp.*, а також *P. infestans*.

Крім того, у WO 2006/047495 описане створення стійких до *Phytophthora infestans* рослин картоплі за рахунок RNAi-індукованого глушіння. Були створені рослини, що несуть послідовності гену рРНК *Phytophthora infestans* для РНК-інтерференції. Описана в WO 2006/047495 генно-інженерна конструкція для глушіння, спрямована проти гену рРНК *Phytophthora infestans*, включає пари нуклеотидів 1-600 (номер депонування AJ854293), а разом з ними 32 п.н. кодувальної ділянки 18S рРНК, а також повну кодувальну ділянку 5,8 S рРНК гена

патогену фітофторозу. При виборі генів-мішеней для стратегій HIGS для застосування важливо, щоб вони мали максимально короткі або не мали жодних гомологій довжиною більше ніж 17 послідовних пар нуклеотидів з послідовностями генів нецільових організмів, або ж, у разі їх присутності, щоб експресія генів нецільових організмів при споживанні трансгенної рослини або її зібраного врожаю могла бути знищеною ("позацільовий" ефект). Проте послідовність, описана у WO 2006/047495, містить 32 п.н. 18S рРНК *P. infestans*, яка має 100 % ідентичність з гомологічною послідовністю 18S рРНК гену людини (*Homo sapiens*), свиней (*Sus scrofa*) і великої рогатої худоби (*Bos taurus*). Споживання картоплі населенням Азії в 2005 р. становило 26 кг на людину, населенням Північної Америки - 58 кг на людину, населенням Європи - 96 кг на людину (статистика Продовольчої і сільськогосподарської організації (FAO) ООН - FAOSTAT). Виходячи з високого рівня споживання картоплі людиною і тваринами, послідовності рРНК *Phytophthora infestans*, описані у WO 2006/047495 як гени-мішені HIGS, є непридатним для споживачів з міркувань безпеки.

З іншого боку, за WO 2006/047495 були створені рослини, які несуть послідовності гену катеписину *B. Myzus persicae* і гену еліситину *P. infestans* INF1 для РНК-інтерференції і, отже, мають стійкість до двох патогенів рослин. Ген-мішень INF1, використаний в згаданих рослинах, кодує еліситор. Стійкість, заснована на еліситорі як факторі патогенності, не є бажаною, оскільки ген еліситину INF1 не завжди є необхідною умовою для інфікування картоплі *Phytophthora infestans* (Kamoun et al., 1998).

Отже, метою цього винаходу є створення трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*, яка є стійкою до патогенного мікроорганізму, ооміцету роду *Phytophthora*, і, крім того, є придатною для споживання.

У цьому винаході зазначену мету досягають за рахунок того, що дволанцюгова перша і друга ДНК стабільно інтегруються в трансгенну рослину, причому згадана перша ДНК містить (а) нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовностям SEQ ID NO: 1-43; або (b) фрагмент з щонайменше 15 послідовних нуклеотидів нуклеотидної послідовності, що відповідає послідовностям SEQ ID NO: 1-43; або (c) нуклеотидну послідовність, яка є комплементарною одній з нуклеотидних послідовностей (а) або (b); або (d) нуклеотидну послідовність, яка за жорстких умов гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (а), (b) або (c).

Встановлено, що перша ДНК цього типу є особливо придатною для надання рослинам картоплі стійкості до патогену індукованого хазяїном глушіння гену.

Перша і друга ДНК стабільно інтегруються в геном трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*. За варіантом, якому віддають перевагу, згадані ДНК стабільно інтегруються в хромосому рослини. Проте, вони також можуть бути інтегровані в екстрахромосомний елемент. Перевага стабільної інтеграції полягає в тому, що ДНК може передаватись наступним поколінням трансгенної рослини.

Дволанцюгова ДНК складається з кодувального і некодувального ланцюгів.

Крім того, нуклеотидна послідовність кодувального ланцюга другої ДНК є зворотним комплементом нуклеотидної послідовності кодувального ланцюга першої ДНК. Термін "зворотний комплемент" відносно нуклеотидної послідовності в 5'-3' напрямку означає нуклеотидну послідовність в 3'-5' напрямку, в якій, відповідно до правил спарювання основ, основи відповідають основам першої ДНК і мають зворотну/віддзеркалену послідовність. Якщо нуклеотидною послідовністю кодувального ланцюга першої ДНК є, наприклад, atgggttc, то зворотною комплементарною нуклеотидною послідовністю кодувального ланцюга другої ДНК є gaaccat. Це також відомо як смислова і відповідна їй антисмислова (зворотнокомплементарна) орієнтація нуклеотидних послідовностей.

Зокрема, нуклеотидна послідовність кодувального ланцюга другої ДНК може бути зворотним комплементом нуклеотидної послідовності кодувального ланцюга першої ДНК по всій довжині послідовності. Проте, вона також може бути лише частково зворотнокомплементарною, тобто зворотнокомплементарною на обмеженій довжині. Нуклеотидна послідовність кодувального ланцюга другої ДНК також може бути зворотнокомплементарною нуклеотидній послідовності кодувального ланцюга першої ДНК на більш ніж одній ділянці, наприклад, на двох або трьох ділянках своєї нуклеотидної послідовності.

Починаючи з повністю або частково зворотних комплементарних нуклеотидних послідовностей для кодувального ланцюга першої і другої ДНК, одержують дволанцюгову РНК. Дволанцюгова структура РНК виникає внаслідок утворення місткових водневих зв'язків між комплементарними нуклеотидами. Дволанцюгові ділянки РНК можуть бути сформовані на одному нуклеїновокислотному ланцюгу, який є частково комплементарним самому собі, або на двох різних несущільних комплементарних нуклеїновокислотних ланцюгах. Отже, утонення місткових водневих зв'язків може бути як внутрішньомолекулярним, так і міжмолекулярним.

За цим винаходом перша ДНК містить нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовностям SEQ ID NO: 1-43, при цьому ці послідовності являють собою нуклеотидні послідовності вибраних генів-мішеней *Phytophthora infestans*. Група, утворена цими генами-мішенями, містить основні гени первинного метаболізму, а також синтезу амінокислот, зокрема біосинтезу аліфатичних амінокислот (валін, лейцин, ізолейцин), а також біосинтезу глутамату, гени регуляції клітинного циклу і сигнальної трансдукції, а також регуляції окисно-відновлювального потенціалу, передачі сигналу кальцієм, передачі сигналу G-білками, передачі сигналу за участю MAP-кіназ та транскрипційних факторів, а також гени компонентів системи трансляції, гени з функціями процесингу РНК, гени, які кодують білки з функцією контролю розвитку і диференціювання білків, наприклад, з функціями утворення клітинної стінки, а також гени, які кодують білки-транспортери, каналотвірні білки і мембранні білки. Узагальнення цих генів-мішеней *Phytophthora*, які використовуються для розробки індукованого хазяїном глушіння гену, наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1

№ з/п	Позначення гену-мішені	Функція	Категорія	Позначення
1	PITG_03410	ацетолактатсинтаза	біосинтез амінокислот	A
2	PITG_00375	гаусторія-специфічний мембранний білок (Pihmp1)	розвиток/диференціація	D
3	PITG_13490	урокиназа	біосинтез глутамату	C
4	PITG_00146	глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа	первинний метаболізм	C
5	PITG_00561	убіхінон – біосинтез білка COQ9	первинний метаболізм	B
6	PITG_06732	ацил-CoA-дегідрогеназа	первинний метаболізм	B
7	PITG_07405	піруваткіназа	первинний метаболізм	B
8	PITG_12228	NADH-цитохром B5 редуктаза	первинний метаболізм	B
9	PITG_15476	малатдегідрогеназа	первинний метаболізм	B
10	PITG_18076	фосфогліцератмутаза	первинний метаболізм	B
11	PITG_19736	алкогольдегідрогеназа	первинний метаболізм	B
12	PITG_20129/	ацил-CoA-дегідрогеназа	первинний метаболізм	B
13	PITG_00221	триптофансинтаза	біосинтез амінокислот	A
14	PITG_05318	N-(5'-фосфорибозил)антранілат-ізомераза	біосинтез амінокислот	C
15	PITG_13139	треонінсинтаза	біосинтез амінокислот	C
16	PITG_00578	імідазолонпропіоназа	біосинтез глутамату	C
17	PITG_15100	гістидин-аміак-ліаза	біосинтез глутамату	A
18	PITG_11044	протеїнфосфатаза	сигнальна трансдукція	B
19	PITG_21987	протеїнфосфатаза 2C	сигнальна трансдукція	B
20	PITG_01957	кальціневринподібна каталітична субодиниця A	передача сигналу кальцієм	C
21	PITG_02011	кальціневрин-субодиниця B	передача сигналу кальцієм	C
22	PITG_16326	кальціневринподібна каталітична субодиниця A	передача сигналу кальцієм	C
23	PITG_00708	тіоредоксин	регуляція окисно-відновлювального потенціалу	C
24	PITG_00715	тіоредоксин	регуляція окисно-відновлювального потенціалу	C
25	PITG_00716	тіоредоксин	регуляція окисно-відновлювального потенціалу	C
26	PITG_09348	глутаредоксин	регуляція окисно-відновлювального потенціалу	C
27	PITG_08393	PsGPR11 рецептор, сполучений з G-білком	передача сигналу g-білками	D
28	PITG_10447	гомолог SAPK (стрес-активовані	передача сигналу з участю	D

		протеїнкінази)	map-кіназ	
29	PITG_06748	Муб-подібний ДНК-зв'язувальний білок	фактор транскрипції	A
30	PITG_19177	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> -фактор транскрипції (PsCZF1-гомолог)	фактор транскрипції	D
31	PITG_06873	аспартил-тРНК-синтетаза	трансляція	B
32	PITG_09442	40S рибосомний білок S21	трансляція	B
33	PITG_16015	рибонуклеаза	процесинг рнк	B
34	PITG_09306	PnMas2-гомолог	розвиток/ диференціація	D
35	PITG_03335	калозосинтаза (Fks1/2-гомолог)	утворення клітинної стінки	D
36	PITG_05079	глікозилтрансфераза (Fks1/2-гомолог)	утворення клітинної стінки	D
37	PITG_18356	білок, асоційований із синтезом бета-глюкана (KRE6-гомолог)	утворення клітинної стінки	D
38	PITG_09193	аквапорин	утворення каналів	B
39	PITG_00562	носій мітохондріального трикарбоксилату	транспорт	B
40	PITG_08314	білок суперродина ABC	транспорт	B
41	PITG_12289	H- або Na- транслокуюча АТФаза типу F	транспорт	B
42	PITG_12999	транспорт суперродина MFS	транспорт	B
43	PITG_16478	ацил-СоА-дегідрогеназа	первинний метаболізм	B

Термін "глушіння генів" або "глушіння" описує процеси відключення генів. Глушіння може бути, наприклад, транскрипційним або посттранскрипційним. Глушіння генів також включає антисмислову технологію, RNAi або dsRNA.

- 5 Експресія нуклеотидної послідовності гена-мішені в *Phytophthora infestans* селективно інгібується глушінням гену. У цьому випадку нуклеотидною послідовністю-мішенню може також бути молекула непродукованої РНК, послідовність мРНК або рибосомної РНК.

- 10 Гени-мішені були визначені (i) загальнодоступними дослідженнями експресії, такими як дані мікрочіпів щодо, наприклад, процесів диференціації або інфекції ооміцетів, і загальнодоступними даними по дослідженню метаболічних процесів під час диференціації або інфекції ооміцетів (Grenville-Briggs et al., 2005, Judelson et al., 2009a, Judelson et al., 2009b) (A), (ii) порівняльними біоінформатичними дослідженнями в поєднанні з доскональним аналізом (біоінформаційна мережа BioMax) (B), (iii) аналізом метаболічних шляхів у поєднанні з доскональним аналізом (C), а також (iv) оцінками публічно доступних даних стосовно визначення характеристик гомологічних генів еукаріотичних організмів (Roemer et al., 1994, Inoue et al., 1995, Mazur et al., 1995, Lesage et al., 2004, Avrova et al., 2008, Wang et al., 2009, Li et al., 2010, Wang et al., 2010) (D).

- 20 Щоб виключити небажане глушіння генів рослин і людини, при виборі генів-мішеней необхідно слідувати, щоб нуклеотидна послідовність цих генів була специфічною для *P. infestans*. Для цього вибрані гени-мішені порівнюють за їх білками (програма BlastX) з протеомом *Solanum tuberosum* і *Solanum lycopersicum*. Разом з цим, послідовності генів-мішеней порівнюють за їх нуклеотидами (програма BlastN) з геномом *Solanum tuberosum*, *Solanum lycopersicum* і загальною програмою BlastN (критерії: програма BlastN; бази даних: геноміка людини+транскрипт; оптимізація до: дещо подібних послідовностей (програма blastn)).
- 25 Гени-мішені вважають прийнятними у разі відсутності у них нуклеотидних гомологій з *Solanum tuberosum* і *Solanum lycopersicum* і якщо вони не мають або мають лише часткові гомології в загальній програмі BlastN лише на коротких ділянках послідовності (<17 нуклеотидів), завдяки чому взаємодія з ендегенними нуклеотидними послідовностями рослин інгібується або не відбувається.

- 30 Призначені до використання за цим винаходом нуклеотидні послідовності можуть мати різну довжину. Так, нуклеотидні послідовності однієї з послідовностей SEQ ID NO: 1-43 можуть мати довжину від 501 нуклеотида до 735 нуклеотидів.

- 35 Призначені до використання нуклеотидні послідовності можуть також бути одним або більше фрагментом(-ами) однієї або більше нуклеотидної(-их) послідовності(-ей) з-посеред послідовностей SEQ ID NO: 1-43. Тому, фрагменти містять щонайменше 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200 або 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400 або 2500 послідовних нуклеотидів однієї або більше нуклеотидної(-

их) послідовності(-ей) з-посеред послідовностей SEQ ID NO: 1-43. Особливо прийнятним фрагментом є фрагмент нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 1 з 290 нуклеотидів.

У певному варіанті здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, використовують комбінації двох, трьох, чотирьох, п'яти, шести, семи, восьми, дев'яти, десяти або більше фрагментів однієї і тієї ж нуклеотидної послідовності, наприклад, послідовності SEQ ID NO: 1, або різних нуклеотидних послідовностей, наприклад, послідовностей SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 або 43. Перевагу віддають комбінації, яка містить фрагменти нуклеотидних послідовностей SEQ ID NO: 4, 23, 27 і 28, гени яких беруть участь у сигнальній трансдукції. Перевагу також віддають комбінації, яка містить фрагменти нуклеотидних послідовностей SEQ ID NO: 3, 16 і 17; це гени біосинтезу глутамату *P. infestans*. Крім того, певні переваги забезпечують комбінації, які включають нуклеотидні послідовності або фрагменти нуклеотидних послідовностей генів для формування клітинної стінки (послідовності SEQ ID NO: 25, 36, 37), передачі сигналу кальцієм (послідовності SEQ ID NO: 20, 21, 22), генів первинного метаболізму (послідовності SEQ ID NO: 5, 6, 7), генів регуляції окисно-відновлювального потенціалу (послідовності SEQ ID NO: 24, 25, 26), або які містять декілька нуклеотидних послідовностей або фрагментів нуклеотидних послідовностей генів транспортерів з послідовностей SEQ ID NO: 39, 40, 41, 42. Перевагу також віддають комбінаціям, які включають нуклеотидні послідовності або фрагменти нуклеотидних послідовностей різних груп генів-мішеней, наприклад, генів передачі сигналу G-білками, передачі сигналу за участю MAP-кіназ, первинного метаболізму та регуляції окисно-відновлювального потенціалу (послідовності SEQ ID NOS: 27, 28, 4, 23).

Комбінування декількох генів-мішеней означає уникнення ймовірності того, що стійкість трансгенної рослини може бути зруйнованою природною мутацією ооміцетів.

Перша дволанцюгова ДНК за цим винаходом, введена в рослину картоплі, може містити нуклеотидну послідовність, яка гібридизується за жорстких умов з однією із таких нуклеотидних послідовностей: (а) нуклеотидною послідовністю, що відповідає одній з послідовностей SEQ ID NO: 1-43, або (b) фрагментом із щонайменше 15 послідовних нуклеотидів в нуклеотидній послідовності, що відповідає одній з послідовностей SEQ ID NO: 1-43, або (c) нуклеотидною послідовністю, яка є комплементарною одній з нуклеотидних послідовностей (а) або (b), або (c). Приклади жорстких умов: гібридизація в 4×SSC (NaCl+цитрат натрію) при температурі 65 °C з подальшим кількаретовим промиванням в 0,1×SSC при температурі 65 °C протягом приблизно 1 год. Термін "жорсткі умови гібридизації", вжитий у цьому описі, також може означати гібридизацію при температурі 68 °C в 0,25 М розчині фосфату натрію, pH 7,2, 7 % SDS (додецилсульфат натрію), 1 мМ розчині EDTA (етилендіамінтетраоцтова кислота) і 1 % BSA (бичачий сироватковий альбумін) протягом 16 год. з подальшим дворетовим промиванням 2×SSC і 0,1 % SDS при температурі 68 °C.

Цей винахід також включає фрагменти нуклеотидних послідовностей, які мають декілька, наприклад, 1 нуклеотид або 2 нуклеотиди, що не є комплементарними послідовностями гена-мішені *Phytophthora infestans*. Варіації послідовностей (наприклад, варіації, які відбуваються в ооміцетах), засновані на певній генетичній мутації, наприклад, додаванні, делеції, заміні або поліморфізмі в штамі *Phytophthora infestans*, і які призводять до хибного парування на ділянці з 1, 2 або більше нуклеотидів, можуть бути допущені за умови, що РНК, утворена трансгенною рослиною картоплі, все ще може впливати на РНК гену-мішені, яка утворена ооміцетом.

За цим винаходом трансгенна рослина виду *Solanum tuberosum* має патогеностійкість до ооміцету роду *Phytophthora*. Для визначення стійкості трансгенну рослину картоплі порівнюють з контрольною рослиною, яка в ідеалі має однаковий генотип з трансгенною рослиною і була вирощена в ідентичних умовах, але яка не містить ДНК, яка була введена в трансгенну рослину. Стійкість може бути визначена за шкалою в оптичних балах, за якою надаються бали від 0 (не сприйнятлива) до 100 (дуже сприйнятлива). За варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, трансгенні рослини за цим винаходом мають стійкість, яка, в порівнянні з контрольною рослиною, призводить до зниження розповсюдження інфекції по поверхні рослин на щонайменше 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 відсотків (дивись умови "визначення стійкості трансгенних рослин картоплі за умов на відкритому повітрі").

Під *Phytophthora* включає різні види, наприклад, види *alni*, *sactorum*, *capsici*, *cinnamomi*, *citrophthora*, *clandestina*, *fragariae*, *hedraiondra*, *idaei*, *infestans*, *ipomoeae*, *iranica*, *kernoviae*, *mirabilis*, *megakarya*, *nicotianae*, *palmivora*, *parasitica*, *phaseoli*, *ramorum*, *pseudotsugae*, *quercina*, *sojae* або *tentaculata*.

У варіанті здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, трансгенна рослина

картоплі має стійкість до *Phytophthora infestans*.

Інгібування біосинтезу аліфатичних амінокислот валіну, лейцину та ізолейцину за рахунок генно-інженерної конструкції, спрямованої проти ацетолактатсинтази *P. infestans*, призводить до істотного зниження зараження фітофторозом і різкого збільшення стійкості листя за лабораторних і польових умов. Об'єднання кількох генів-мішеней (наприклад, генів передачі сигналу G-білками, передачі сигналу за участю MAP-кіназ, первинного метаболізму, біосинтезу амінокислот і регуляції окисно-відновлювального потенціалу) в одній генно-інженерній конструкції спричинює подальше збільшення стійкості, оскільки патоген інгібується множинною дією комбінованої генно-інженерної конструкції на використання альтернативних шляхів передачі сигналів і метаболізму.

Встановлено, що захисна сила рослин картоплі за цим винаходом проти ізолятів *P. infestans* різної агресивності змінюється так, що з'являється стійкість, яка ефективно і постійно захищає рослини проти цього найважливішого з патогенів.

Також було виявлено, що стійкість не супроводжується значним зниженням енергетичної цінності або негативними змінами агрономічних властивостей рослини картоплі. Випробування з вирощування в умовах, наближених до польових, не справило жодного негативного впливу на якість рослин. Ретельний відбір генів-мішеней *P. infestans*, що виключає будь-яку гомологію, що охоплює більш 17 послідовних пар нуклеотидів, з генами нецільових організмів (картоплі, людини, свиней, великої рогатої худоби) означає, що не існує жодних обмежень щодо використання рослин як корму або продукту харчування і жодних обмежень щодо посіву, вирощування, збирання або обробки цієї сільськогосподарської культури. Згадані рослини можна вільно використовувати як сільськогосподарські, харчові або кормові рослини.

За варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, згадана дволанцюгова РНК являє собою miRNA або siRNA.

Термін "miRNA" описує малу інтерферуючу РНК і включає природно продуковані miRNA і синтетичні miRNA, які, наприклад, можуть бути одержані засобами рекомбінантного або хімічного синтезу або процесингом первинної miRNA.

Термін "siRNA" описує малу інтерферуючу РНК і включає природно продуковані siRNA і синтетичні siRNA, які, наприклад, можуть бути одержані засобами рекомбінантного або хімічного синтезу або процесингом dsRNA.

Трансгенна рослина продукує dsRNA з введеної дволанцюгової ДНК, яка зазнає процесингу за рахунок інтерференції ендогенної РНК або механізмів глушіння з формуванням siRNA та miRNA.

Для одержання dsRNA можуть бути використані перша дволанцюгова ДНК з нуклеотидною послідовністю, яка відповідає одній з послідовностей SEQ ID NO: 1-43 або її фрагменту в смисловій орієнтації, та друга дволанцюгова ДНК в антисмисловій орієнтації, що відокремлені інтроном, який не має подібності зі згаданими генами-мішенями. Наприклад, ДНК може бути орієнтована з нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 1 проти гену ацетолактатсинтази *Phytophthora infestans*. При експресії в рослинній клітині утворюється РНК-транскрипт, який, завдяки гомології між смисловими і антисмисловими ділянками послідовності, може зливатися з утворенням dsRNA. Унаслідок відсутності пар нуклеотидів на ділянці інтрону dsRNA утворює шпільчну структуру. Дволанцюгову РНК зі шпільчною структурою можна також одержати за допомогою однієї дволанцюгової ДНК з нуклеотидною послідовністю, що відповідає одній з послідовностей SEQ ID NO: 1-43 в смисловій орієнтації, і другої в антисмисловій орієнтації різної довжини. Тому, нуклеотидна послідовність у смисловій орієнтації може бути приблизно на 190 нуклеотидів довшою за нуклеотидну послідовність в антисмисловій орієнтації, або навпаки.

Певні ділянки послідовності вибраних нуклеотидних послідовностей генів-мішеней ампліфікуються внаслідок ПЛР та клонуються як в смислового, так і в антисмислового напрямку в вектор, придатний для синтезу шпільчної структури. Тому, декілька фрагментів з ділянками послідовності різних генів-мішеней можуть бути клоновані у вектор для побудови комбінованої шпільчної генно-інженерної конструкції. Ці вектори можуть бути введені в клітину рослини методами трансформації, відомими в галузі біотехнології рослин. Фахівцям в цій галузі буде зрозуміло, що, наприклад, вибрана нуклеотидна послідовність гена-мішені також може бути клонована в один вектор в смисловій орієнтації і нуклеотидна послідовність гена-мішені може бути клонована в другий вектор в антисмисловій орієнтації з подальшим введенням в клітину рослини, наприклад, котрансформацією.

Механізм глушіння виникає з dsRNA, наприклад, з шпільчних генно-інженерних структур РНК або з генних дуплексів. Дволанцюгові РНК під впливом dsRNA-специфічної ендонуклеази (дайсер (dicer)) продукують малі dsRNA, які процесуються під впливом довших нуклеотидних послідовностей в невеликій dsRNA переважно з 21-25 пар нуклеотидів. Процес є аналогічним як



для структури типу "стовбур-петля" (первинна miRNA), так і для попередників довгої комплементарної dsRNA. Білки Argonaut, як центральні компоненти комплексів РНК-індукованого глушіння (RISC), зв'язують і розплітають siRNA і miRNA так, що випереджаючий ланцюг дуплексу специфічно зв'язується паруванням нуклеотидів з мРНК і спричинює її

5 деградацію. За допомогою miRNA, RNAi спричинює порівняно аналогічний процес, з тією різницею, що продукована miRNA також містить часткові ділянки, які не є ідентичними генам-мішеням.

Після зараження рослини-хазяїна *Phytophthora infestans* між цією рослиною-хазяїном і ооміцетами може відбутись обмін РНК, утвореними в рослині, які є спрямованими проти однієї або більше *Phytophthora*-специфічної(-их) цільової(-их) послідовності(-ей). В ооміцетів ці РНК можуть призвести до сіквенс-специфічного глушіння одного або декількох генів-мішеней. У цьому процесі можуть брати участь білки та білкові комплекси, такі як дайсери, RISC (комплекс РНК-індукованого глушіння), а також РНК-залежна РНК-полімераза (RdRP).

Відомо, що ефект siRNA продовжується в рослинах, коли RdRP синтезує нові siRNA з деградованих фрагментів мРНК. Ця вторинна або транзитивна RNAi може посилювати глушіння, а також призвести до глушіння різних транскриптів, коли вони поділяють ці висококонсервативні послідовності.

У певному варіанті здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, згадані перша ДНК і друга ДНК є функціонально зв'язаними із щонайменше одним промотором.

20 "Промотор" являє собою нетрансльовану послідовність ДНК, зазвичай розташовану вище від кодувальної ділянки, яка містить сайт зв'язування для РНК-полімерази та ініціює транскрипцію ДНК. Цей промотор містить спеціальні елементи, які функціонують як регулятори експресії генів (наприклад, *cis*-регуляторні елементи). Термін "функціонально зв'язана" означає, що ДНК, яка містить інтегровану нуклеотидну послідовність, зв'язана з промотором так, що це

25 уможливорює експресію цієї нуклеотидної послідовності. Згадана інтегрована нуклеотидна послідовність може бути нижче зв'язана з термінатором сигналу як один з компонентів.

Промотор може бути рослинного, тваринного або мікробного походження або ж він може бути синтетичного походження і може, наприклад, бути вибраний з однієї з таких груп промоторів: конститутивні, індукцйбельні, розвитково-специфічні, клітиноспецифічні,

30 тканиноспецифічні або органоспецифічні. У той час як конститутивні промотори активні в більшості умов, індукцйбельні промотори виявляють експресію в результаті індукуючого сигналу, який, наприклад, може бути обумовлений біотичними стресорами, такими як патогени або абіотичними стресорами, такими як холод або сухість, або хімічні речовини.

До прикладів промоторів належать конститутивний промотор CaMV 35S (Benfey et al., 1990), а також промотор C1, який є активним в зеленій тканині (Stahl et al., 2004).

Згадані перша і друга ДНК також можуть бути функціонально зв'язаними з подвійним промотором, наприклад, двонаправленим активним промотором TR1' та TR2' (Saito et al., 1991).

Крім того, кожна з першої та другої ДНК може бути функціонально зв'язана з промотором.

Використання двох промоторів, кожен з яких фланкує 3'-кінець і 5'-кінець молекули нуклеїнової кислоти, забезпечує експресію відповідного окремого ланцюга ДНК з утворенням двох комплементарних РНК, які гібридизуються, і утворюють dsRNA. Крім того, два промотори можуть бути розташовані так, що один промотор спрямований у напрямку транскрипції певної нуклеотидної послідовності, а другий промотор спрямований у напрямку транскрипції нуклеотидної послідовності, яка є комплементарною першій нуклеотидній послідовності.

45 Утворення dsRNA відбувається протягом транскрибування обох нуклеотидних послідовностей.

Крім того, двонаправлений промотор може бути розміщений так, щоб забезпечувати експресію двох нуклеотидних послідовностей у двох напрямках, при цьому одна нуклеотидна послідовність зчитується в 3'-напрямку, а друга нуклеотидна послідовність зчитується в 5'-напрямку. Дволанцюгова РНК може утворюватись, поки обидві нуклеотидні послідовності є

50 комплементарними одна іншій.

Цей винахід також має відношення до частин трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*.

Термін "частини" трансгенної рослини, вжитий у цьому описі, зокрема, означає насіння, коріння, листя, квіти, а також клітини рослини за цим винаходом. Тому термін "клітина" слід розуміти як такий, що означає, наприклад, ізольовані клітини з клітинною стінкою або їх агрегати, або протопласти. Термін "трансгенні частини" трансгенної рослини також означає ті частини, які можуть бути зібрані у вигляді врожаю, наприклад, бульби картоплі.

Крім того, цей винахід має відношення до способу одержання трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*, яка проявляє стійкість до ооміцетів роду *Phytophthora*.

Певні способи трансформації рослинних клітин є відомими в галузі біотехнології рослин.

60 Кожен з цих способів може бути застосований для введення вибраної нуклеїнової кислоти, за

варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, у векторі, в рослинну клітину з метою одержання трансгенної рослини за цим винаходом. Способи трансформації можуть включати прямі або непрямі способи трансформації і можуть застосовуватись до дводольних рослин і, насамперед, для однодольних рослин. Відповідні прямі способи трансформації

включають ПЕГ-індуковане поглинання ДНК, трансформацію, індуковану ліпосомами, біолістичні методи, які включають бомбардування мікрочастинками, електропорацію або мікроін'єкції. До прикладів непрямих способів належать метод *Agrobacterium*-індукованої трансформації або вірусної інфекції через вірусні вектори.

Перевагу віддають способу *Agrobacterium*-індукованого перенесення ДНК за участю

бінарних векторів. Після трансформації рослинних клітин, із застосуванням одного або більше маркера(-ів) вибирають клітини, які були трансформовані в рослині ДНК за цим винаходом, і які

включають гени, які переважно індукують стійкість до антибіотиків, такі, як ген неоміцинфосфотрансфери I NPTII, який індукує стійкість до канаміцину, або ген гігромацинфосфотрансфери II HPTII, який індукує стійкість до гігромацину.

Потім трансформовані клітини регенерують в цілі рослини. Після перенесення ДНК і

регенерації одержані рослини можуть бути перевірені, наприклад, із застосуванням кількісної ПЛР, на наявність ДНК за цим винаходом. Далі стійкість цих рослин до *Phytophthora infestans*

випробують *in vitro* і в теплиці. Стандартні додаткові фенотипові дослідження можуть проводитися персоналом, що має відповідну підготовку, в теплиці або на відкритому повітрі. Ці

досліджувані трансформовані рослини можуть вирощуватись безпосередньо.

За цим винаходом спосіб одержання трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*, яка виявляє стійкість до ооміцетів роду *Phytophthora*, включає такі стадії:

(i) одержання першої трансформованої батьківської рослини, що містить першу дволанцюгову ДНК, стабільно інтегровану в геном батьківської рослини, яка містить (а)

нуклеотидну послідовність, що відповідає певній послідовності з SEQ ID NO: 1-43; або (b)

фрагмент із щонайменше 15 послідовних нуклеотидів нуклеотидної послідовності, що відповідає певній послідовності з SEQ ID NO: 1-43; або (c) нуклеотидну послідовність,

комплементарну одній з нуклеотидних послідовностей (а) або (b); або (d) нуклеотидну послідовність, яка гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (а), (b) або (c) за

жорстких умов;

(ii) одержання другої трансформованої батьківської рослини, що містить другу дволанцюгову ДНК, стабільно інтегровану в геном батьківської рослини, при цьому нуклеотидні послідовності

кодують ланцюга першої та другої ДНК є частково або повністю зворотнокомплементарними одна відносно іншої;

(iii) схрещування першої батьківської рослини з другою батьківською рослиною;

(iv) вибір рослини, в геномі якої перша дволанцюгова ДНК і друга дволанцюгова ДНК є стабільно інтегрованими, для забезпечення патогеностійкості до ооміцетів роду *Phytophthora*, з метою одержання з цієї рослини дволанцюгової РНК.

За цим винаходом таким умовам відповідає нуклеотидна послідовність або фрагмент

нуклеотидної послідовності, що відповідає певній з послідовностей SEQ ID NO: 1-43 *Phytophthora infestans*.

У варіанті здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, згадану дволанцюгову РНК може бути miRNA або siRNA.

Цей винахід також має відношення до композиції для зовнішнього нанесення на рослини.

Цю композицію одержують для зовнішнього нанесення на рослини. Вона містить дволанцюгову РНК, у якій один ланцюг цієї РНК відповідає транскрипту дволанцюгової ДНК, що

включає (а) нуклеотидну послідовність, що відповідає певній послідовності з SEQ ID NO: 1-43; або (b) фрагмент із щонайменше 15 послідовних нуклеотидів нуклеотидної послідовності, що

відповідає певній послідовності з SEQ ID NO: 1-43; або (c) нуклеотидну послідовність, комплементарну одній з нуклеотидних послідовностей (а) або (b); або (d) нуклеотидну

послідовність, яка гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (а), (b) або (c) за жорстких умов.

Дволанцюгову РНК для одержання композиції за цим винаходом можна одержати *in vitro* способами, відомими фахівцям у цій галузі. Наприклад, дволанцюгова РНК може бути

синтезована формуванням РНК безпосередньо *in vitro*. Дволанцюгова РНК також може бути синтезована з дволанцюгової ДНК, наприклад, утворенням транскрипту мРНК, який потім утворює шпільчну структуру.

Композицію за цим винаходом можна застосовувати як фунгіцид для певної рослини або її насіння. Тому згадана композиція призначена до застосування для протидії росту патогенного мікроорганізму, для обмеження розповсюдження патогенного мікроорганізму або для обробки

уражених рослин. Наприклад, композицію можна використовувати як фунгіцид для обприскування у вигляді спрею або для нанесення в інший спосіб, відомий фахівцям в цій галузі для зовнішнього нанесення на рослинну тканину, або для розпилювання, або змішування з культивативним субстратом до того або після того, як рослини проросли.

Нижче в цьому описі композицію за цим винаходом використовують як засіб для попередньої обробки насіння. Тому цю композицію спочатку змішують з субстратом-носієм, і наносять на насіння в комбінації, яка включає дволанцюгову РНК і субстрат-носії, при цьому цей субстрат-носії має, наприклад, РНК-стабілізувальну дію. Отже, стабільність РНК і її дія на вибрані гени-мішені *Phytophthora infestans* можна посилити, наприклад, хімічними модифікаціями, такими як заміна рибози гексозою. Ліпосоми, які інкапсують молекули РНК, також можна використовувати як стабілізатор РНК.

Найприйнятнішими рослинами для обробки цією композицією є рослини виду *Solanum tuberosum*.

Наведений вище опис рослини і способу за цим винаходом також має відношення до цієї композиції.

Нижче цей винахід описаний з посиланням на фігури і послідовності:

Фіг. 1: Плазміда pRNAi як типовий представник вектора, який може бути використаний для формування шпичечних генно-інженерних конструкцій проти гена-мішені. Цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 2: Плазміда pRNAi\_PITG\_03410 як типовий представник вектора, який містить смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент для формування dsRNA проти гена-мішені (у цьому описі PITG\_03410). Крім того, цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 3: Плазміда pRNAi\_HIGS\_CoA як типовий представник вектора, який містить різні певні послідовності в смислового фрагменті-інтрон-антисмислового фрагменті, який має обумовити утворення dsRNA проти різних генів-мішеней. Крім того, цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 4: Плазміда pGBTV/EcoRI\_kan. Бінарна Ti-плазміда, яку використовують як вектор клонування.

Фіг. 5: Плазміда pGBTV/EcoRI\_kan\_PITG\_03410. Бінарна Ti-плазміда, яку використовують для *Agrobacterium*-індукованої трансформації.

Фіг. 6: Плазміда pAM, яку використовують як вектор клонування.

Фіг. 7: Плазміда pAM\_HIGS\_CoA як приклад плазмиди, яку використовують як вектор клонування.

Фіг. 8: Плазміда p95P-Nos. Бінарна Ti-плазміда, яку використовують як вектор клонування.

Фіг. 9: Плазміда p95N\_HIGS\_CoA. Бінарна Ti-плазміда, яку використовують для *Agrobacterium*-індукованої трансформації.

Фіг. 10: Плазміда p95N\_HIGS\_dPRNAi\_PITG\_03410 як зразковий представник бінарного вектора для утворення dsRNA проти гена-мішені (у цьому описі PITG\_03410) із використанням двох промоторів CaMV 35S, кожен з яких фланкує 3'- і 5'-кінець молекули нуклеїнової кислоти.

Фіг. 11: Паросток трансгенної картоплі в селективному середовищі після трансформації на стадії регенерації.

Фіг. 12: Діагностична ПЛР для перевірки трансгенності картоплі (PR-H4) після трансформації бінарним вектором pGBTV/EcoRI\_kan\_PITG\_03410.

Виявлення смислового фрагмента (370 п.н.) (праймер S334 5'-ATCCCACTATCCTTCGCAAG-3'×S1259 5'-TTGATATCGCGGAAGGCGAGAGACATCG-3') і антисмислового фрагмента (450 п.н.) (S329 5'-CTAAGGGTTTCTTATATGCTCAAC-3'×S1259 5'-TTGATATCGCGGAAGGCGAGAGACATCG-3'). Розчин: PCR-MasterMix, моніторинг ПЛР. Маркер: TrackIt™ 1 Kb DNA Ladder.

Фіг. 13: Виявлення siRNA в трансгенних рослинах картоплі після трансформації бінарним вектором pGBTV/EcoRI\_kan\_PITG\_03410 (А) і бінарним вектором p95N\_HIGS\_PITG\_00375 (В). Виявлення здійснюють засобами назерн-блот-гібридизації з радіоактивно міченим зондом dsRNA\_PITG03410 (А) або з радіоактивно міченим зондом dsRNA\_PITG00375 (В). А: багаторазове застосування різних зразків з ліній PR-H4\_T007 і T011. В: одноразове застосування зразків з ліній PR-H2\_T040, T045, T047 і T049.

Фіг. 14 А: Плазміда pABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_00375 як типовий представник вектора, що

містить гібридну генно-інженерну конструкцію, що складається з репортерного гена люциферази та фрагмента досліджуваного HIGS гена-мішені PITG\_00375. Крім того, вектор містить подвійний промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, кодувальну послідовність для luc-гена *Photinus pyralis*, яка кодує люциферазу, відокремлену з модифікованого інтрону PIV2 гена картоплі St-LS1 (Eckes et al. 1986, Vancanneyt et al. 1990), додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор Nos з гену нопалінсинтази *Agrobacterium tumefaciens*.

Фіг. 14 B: Плазмідна рABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_03410 як типовий представник вектора, що містить гібридну генно-інженерну конструкцію, що складається з репортерного гена люциферази та фрагмента досліджуваного HIGS гена-мішені PITG\_03410.

Фіг. 15 A: Відносна активність люциферази в трансгенних лініях картоплі генотипу Baltica зі стабільною інтеграцією генно-інженерної конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_03410 *P. infestans* після бомбардування вектором рABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_03410. B: Baltica (нетрансгенний контроль), T003, T005: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 15 B: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Baltica трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гена *P. infestans* PITG\_03410. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям, ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Baltica (середнє 4 біологічних повторень). B: Baltica (нетрансгенний контроль), T003, T005: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 16 A: Відносна активність люциферази в трансгенних лініях картоплі генотипу Hermes зі стабільною інтеграцією генно-інженерної конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_03410 *P. infestans* після бомбардування вектором рABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_03410. H: Hermes (нетрансгенний контроль), T004, T011: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 16 B: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Hermes були трансформовані RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гена *P. infestans* PITG\_03410. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям, ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Baltica (середнє 4 біологічних повторень). H: Hermes (нетрансгенний контроль), T004, T011: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 17 A: Відносна активність люциферази в трансгенних лініях картоплі генотипу Desiree зі стабільною інтеграцією генно-інженерної конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_03410 *P. infestans* після бомбардування вектором рABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_03410. D: Desiree (нетрансгенний контроль), T098: трансгенна HIGS-лінія картоплі.

Фіг. 17 B: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Desiree були трансформовані RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гена *P. infestans* PITG\_03410. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Baltica (середнє 4 біологічних повторень). D: Desiree (нетрансгенний контроль), T098: трансгенна HIGS-лінія картоплі.

Фіг. 18 A: Відносна активність люциферази в трансгенних лініях картоплі генотипу Desiree зі стабільною інтеграцією генно-інженерної конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_00375 *P. infestans* після бомбардування вектором рABM-70Sluci\_dsRNA.PITG\_00375. D: Desiree (нетрансгенний контроль), T042, T044, T047, T049: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 18 B: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Desiree були трансформовані RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гена *P. infestans* PITG\_00375. Після інфікування *P. infestans* у дослідженні з відокремленим листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Baltica (середнє 4 біологічних повторень). D: Desiree (нетрансгенний контроль), T042, T044, T047, T049: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 19 A: Рівень інфекції в трансгенних лініях картоплі генотипу Hermes зі стабільною інтеграцією конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_03410 *P. infestans* після зараження рослин *P. infestans* за умов, подібних до умов на відкритому повітрі. Сірі лінії з трикутниками: Baltica, Desiree і Russet Burbank (нетрансгенні контролю), чорні лінії з квадратами: рослини генотипу Hermes: суцільна лінія: Hermes (нетрансгенний контроль), пунктирна лінія: PR-H-4-7 і штрих-пунктирна лінія: PR-H-4-11: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 19 B: Фотографічне підтвердження ступеню зараження трансгенних ліній картоплі PR-H-4-7 і PR-H-4-11 генотипу Hermes зі стабільною інтеграцією конструкції HIGS\_RNAi проти гена PITG\_03410 *P. infestans* після зараження рослин *P. infestans* за умов, подібних до умов на відкритому повітрі, в порівнянні з нетрансгенними контрольними рослинами генотипу Hermes.

Фотографії зроблені через 32 дні після інфікування.

Фіг. 20: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гена *P. infestans* PITG\_03410. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим

5 листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-4-T084, H-4-T096: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 21: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Hermes були трансформовані RNAi-конструкцією для утворення dsRNA із застосуванням подвійної паромоторної генно-інженерної конструкції HIGS\_dPRNAi\_PITG\_03410

10 проти гена *P. infestans* PITG\_03410. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Hermes (середнє 3 біологічних повторень). Hermes (нетрансгенний контроль), H-23-T0003, H-23-T026, H-23-T038, H-23-T062, H-23-T063, H-23-T066: трансгенні

15 HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 22: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією HIGS\_CoA для утворення dsRNA проти генів *P. infestans* PITG\_00146, PITG\_08393, PITG\_10447 і PITG\_00708. Після інфікування *P. infestans* у дослідженні з відокремленим листям ці лінії виявляють знижене

20 продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-13-T050, H-13-T053, H-13-T036, H-13-T032: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 23: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_06748. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим

25 листям, ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-15-T008, H-15-T010: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 24: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_09306. Після інфікування *P. infestans* у дослідженні з відокремленим

30 листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв у порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-10-T111: трансгенна HIGS-лінія картоплі.

Фіг. 25: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_09193. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим

35 листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв у порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-12-T194, H-12-T195, H-12-T222, H-12-T239: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 26: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Desirée трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_09193. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям, ці

45 лінії виявляють знижене продукування спорангіїв у порівнянні з нетрансгенним сортом Desirée (середнє 3 біологічних повторень). Desirée (нетрансгенний контроль); H-12-T187, H-12-T216, H-12-T237, H-12-T245: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 27: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Russet Burbank трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_19177. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим

50 листям ці лінії виявляють знижене продукування спорангіїв у порівнянні з нетрансгенним сортом Russet Burbank (середнє 3 біологічних повторень). Russet Burbank (нетрансгенний контроль), H-9-T271, H-9-T305, H-9-T308: трансгенні HIGS-лінії картоплі.

Фіг. 28: Відносне продукування спорангіїв *P. infestans* на трансгенних HIGS-лініях. Лінії картоплі сорту Desirée трансформують RNAi-конструкцією для утворення dsRNA проти гену *P. infestans* PITG\_19177. Після інфікування *P. infestans* у випробуванні з відокремленим листям ці

55 лінії виявляють знижене продукування спорангіїв в порівнянні з нетрансгенним сортом Desirée (середнє 3 біологічних повторень). Desirée (нетрансгенний контроль); H-9-T280: трансгенна HIGS-лінія картоплі.

Фігура 29: Плазміда p95N\_RNAi PITG\_06748 як типовий представник вектора, який містить

60 смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент для утворення dsRNA проти гену-мішені

(у цьому описі PITG\_06748). Крім того, цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 30: Плазмідна р95N\_RNAi\_PITG\_09306 як типовий представник вектора, який містить смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент для утворення dsRNA проти гену-мішені (у даному випадку PITG\_09306). Крім того, цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 31: Плазмідна р95N\_RNAi\_PITG\_09193 як типовий представник вектора, який містить смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент для утворення dsRNA проти гену-мішені (у цьому описі PITG\_09193). Крім того, цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Фіг. 32: Плазмідна р95N\_RNAi\_PITG\_19177 як типовий представник вектора, який містить смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент для утворення dsRNA проти гену-мішені (у даному випадку PITG\_19177). Цей вектор додатково містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S.

Приклади варіантів здійснення цього винаходу

Одержання генно-інженерних конструкцій

Певні ділянки послідовності вибраних генів-мішеней ампліфікують під впливом ПЛР, і клонують як в смисловому, так і в антисмисловому напрямку в вектор pRNAi, який є придатним для системи шпільних структур (Фіг. 2). Так, декілька фрагментів з ділянками послідовності різних генів-мішеней можуть бути клоновані у вектор для одержання комбінованої шпільної генно-інженерної конструкції (Фіг. 3).

Розпочинаючи з геномної ДНК *Phytophthora infestans*, ділянку послідовності з 290 п.н. кодувальної ділянки гена PITG\_03410 ампліфікують під впливом ПЛР, розщеплюють рестриктазами XhoI та SmaI на сайтах розщеплення, вставлених із застосуванням праймерних послідовностей, і клонують у вектор pRNAi (праймер 1: cgctcgaggctggatctcgctgaggt, праймер 2: ttgatatcgcggaagcgagagacatcg). Цей вектор містить промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, інтрон з гену AtAAP6, який кодує пермеазу амінокислот у *Arabidopsis thaliana*, додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор CaMV 35S. Цей вектор розщеплюють рестриктазами XhoI та Ecl136II, і фракцію (4,098 т.п.н.) вектора відокремлюють електрофорезом у агарозному гелі, після чого виділяють. Лігувальний розчин трансформують в штам *E.coli* XL1-blue (компанія Stratagene, LaJolla, штат Каліфорнія). Після цього той самий фрагмент PITG\_03410 клонують в плазміді pRNAi\_PITG\_03410\_sense в антисмисловому напрямку. Для цього фрагмент знову ампліфікують з геномної ДНК *Phytophthora infestans* під впливом ПЛР, розщеплюють рестриктазами XhoI та SmaI на сайтах розщеплення, вставлених праймерними послідовностями, після чого лігують у вектор pRNAi\_PITG\_03410\_sense, який був розщеплений SmaI-Sall з подальшим переведенням у лінійну форму (Фіг. 1). Смисловий фрагмент-інтрон-антисмисловий фрагмент гену (RNAi-PITG\_03410) відщеплюють від вектора pRNAi, і клонують у вектор pGBTV/EcoRI\_kan (Фіг. 4). Для цього обидва pGBTV/EcoRI\_kan і pRNAi\_PITG\_03410 розщеплюють HindIII і лігують так, що утворюється плазмідна pGBTV/EcoRI\_kan\_PITG\_03410 (Фіг. 5). Альтернативно генно-інженерні конструкції HIGS-RNAi, такі як HIGS-CoA, спочатку клонують у вектор pAM (компанія DNA Cloning Service e.K., Гамбург) (Фіг. 6). Для цього як pAM, так і pRNAi\_PITG\_03410 розщеплюють HindIII, і лігують так, що утворюється плазмідна pAM\_HIGS-CoA (Фіг. 7). З вектору pAM фрагмент HIGS-CoA інтегрують у вектор p95P-Nos (компанія DNA Cloning Service e.K., Гамбург) шляхом гідролізу SfiI і лігування (Фіг. 8) так, що утворюється плазмідна р95N\_HIGS-CoA (Фіг. 9), яку використовують для трансформації картоплі.

Як альтернатива описаному вище вектору, який є придатним для синтезу шпільних генно-інженерних структур, експресію частини кодувальної ділянки гена-мішені рослини картоплі можна ініціювати двома протилежно (зворотно) орієнтованими промоторами (Фіг. 10). Крім того, може бути також передбачене глушіння генів штучними мікроРНК-конструкціями (amiRNA) з використанням протоколу Web microRNA Designers (WMD3). Штучні miRNA являють собою 21-членні однопанцюгові РНК, які можуть бути синтезовані для конкретної негативної регуляції бажаних генів у рослинах. Регуляція відбувається так само, як з siRNA, через розщеплення мРНК. Після цього згадані RNAi генно-інженерні конструкції клонують в бінарний вектор, і трансформують в картоплі внаслідок *Agrobacterium tumefaciens*-індукованої трансформації.

Трансформація та регенерація

Трансформацію картоплі здійснюють за модифікованим протоколом, розробленим Pel et al., (2009), із застосуванням канаміцину як антибіотика. Матеріал донора культивують у 80 мл середовища MS(D) (середовище Мурасіге і Скуга, модифіковане гормоном 2,4-Д (2,4-дихлорофеноксіоцтова кислота)) (25 °C; цикл 16 год. день/8 год. ніч; 2000 люкс) протягом 3-4 тижнів. Для трансформації (C1) міжвузля вирізають з донорського матеріалу у вигляді приблизно 0,5 см експлантів. Їх культивують у чашках Петрі з 10 мл MS(D) (15-20 експлантів на чашку) разом з 70 мкл культури *Agrobacterium tumefaciens*, яку перед тим культивують протягом ночі при температурі 28 °C, і яку раніше трансформують HIGS-RNAi генно-інженерною конструкцією як частиною бінарного вектору, такого, наприклад, як p95N, інкубований при температурі 25 °C протягом 2 днів в темряві. Далі, експлантати сушать на фільтрувальному папері, і поміщають в чашки Петрі на середовище MSW з селекційним антибіотиком (розчин тиментину (400 мг/л)+розчин канаміцину (75 мг/л)), які герметично закривають, і культивують протягом 2 тижнів (25 °C; цикл 16 год. день/8 год. ніч; 2000 люкс) (C2). Цю селекційну стадію повторюють кожні 2 тижні до регенерації паростків (з C3). Регеновані паростки (Фіг. 11) інкубують на середовищі MS (розчин сахарози (30 г/л)) разом з селекційним антибіотиком (розчин тиментину (250 мг/л)+розчин канаміцину (100 мг/л)) для утворення коренів, і перевіряють з використанням ПЛР на інтеграцію призначеної для трансформації генно-інженерної конструкції і, тим самим, на присутність нуклеїнових кислот за цим винаходом. Використання праймерів Bo2299 (5'-GTGGAGAGGCTATTCGGTA-3') і Bo2300 (5'-CCACCATGATATTCGGCAAG-3') обумовлює ампліфікацію фрагмента ДНК (553 п.н.) бактеріального гена NPTII, який кодує неоміцинфосфотрансферазу. Крім того, на підтвердження того, що генно-інженерна конструкція є повною, із застосуванням ПЛР виявляють смисловий та антисмисловий фрагменти (Фіг. 12). ПЛР здійснюють з використанням 10 нг геномної ДНК, при концентрації праймера 0,2 мкМ при температурі відпалу 55 °C в Multicycler PTC-200 (компанія MJ Research, Watertown, США). Розмноження паростків, які дають позитивний результат в ПЛР, здійснюють на середовищі MS+розчин сахарози (30 г/л)+розчин ампіциліну (400 мг/л).

#### Виявлення процесованої дволанцюгової РНК і siRNA

У трансформованих рослин експресовані шпільчні структури або дволанцюгові РНК процесуються природними рослинними RNAi-механізмами так, що ці молекули РНК деградує у дрібні одоланцюгові РНК. Ці siRNA відкладаються на мРНК відповідного гена-мішені в ооміцетів і, отже, спричиняють глушіння цього гену. І отже, рослини вимушені захищати самих себе від патогенів, що атакують. За цією технологією можуть бути одержані трансгенні рослини картоплі, які мають підвищену стійкість до *P. infestans*.

Трансформація рослин картоплі генно-інженерними конструкціями для експресії шпільчних структур або дволанцюгових РНК призводить до того, що одержані dsRNA процесуються до рівня siRNA, нехтуючи природними рослинними механізмами РНК-інтерференції. Для визначення фрагментації dsRNA сумарну РНК було виділено з трансгенних рослин з використанням тризолового методу (Chomczynski and Sacchi, 1987). Суміш сумарна РНК/зразок (15 мкг) доповнюють формамідом, денатурують, і відокремлюють засобами електрофорезу в 1 % агарозному гелі з 10 % формальдегіду в 1×MOPS буфері (0,2 М MOPS (натрієва сіль), 0,05 М NaOAc, 0,01 М EDTA в DEPC dH<sub>2</sub>O, pH 7,0 в присутності NaOH). Відокремлену РНК переносять з гелю на нейлонову мембрану (позитивно заряджену), використовуючи метод назерн-блотингу в 20×SSC буферу (фізіологічний розчин-натрійцитратний буфер). РНК гібридизують з радіоактивно міченим зондом, комплементарними послідовностями фрагмента гена-мішені, присутнього в смисловому або в антисмисловому напрямку в генно-інженерній конструкції, трансформованій у рослинах. Так само фрагменти РНК, комплементарні послідовності фрагмента dsRNA, мітять, і виявляють фосфовізуалізатором.

Трансформація рослин картоплі генно-інженерними конструкціями для експресії шпільчних структур або дволанцюгових РНК призводить до того, що одержані dsRNA процесуються до siRNA, нехтуючи природними рослинними механізмами РНК-інтерференції. Для визначення фрагментації dsRNA до siRNA сумарну РНК виділяють з трансгенних рослин тризоловим способом (Chomczynski and Sacchi, 1987). Суміш сумарна РНК/зразок (15 мкг) доповнюють формамідом, денатурують, і відокремлюють засобами електрофорезу в поліакриламідному гелі з 15 % трис-буферу/борної кислоти/EDTA (TBE) і сечової кислоти в 0,5×TBE. Відокремлену РНК переносять на нейлонову мембрану (нейтральну) з гелю, використовуючи Тапк-блотинг в 0,5×TBE. РНК гібридизують з радіоактивно міченим зондом, комплементарним послідовності фрагмента гена-мішені, присутнього в смисловому або в антисмисловому напрямку в генно-інженерній конструкції, трансформованій у рослинах. Так само siRNA, комплементарні ділянкам послідовності фрагмента dsRNA, мітять, і виявляють фосфовізуалізатором.

Такі siRNA можна виявити в різних трансгенних ліній картоплі, таких як лінії PR-H4 або лінії PR-H2siRNA (Фіг. 13 А, В). Це свідчить, що генно-інженерні конструкції, трансформовані в рослини, розпізнаються і процесуються рослинними RNAi-механізмами, завдяки чому можуть утворюватись siRNA проти HIGS генів-мішеней *P. infestans*, і ці генно-інженерні конструкції

5 мають здійснювати глушіння цього гену в патогені.

Визначення стійкості трансгенних рослин картоплі у випробуванні з відокремленим листям

Для випробування стійкості листків трансгенної картоплі трансгенні рослини вирощують з *in vitro* рослин у теплиці в 5 л горщиках. Через 6-8 тижнів відрізають по 2 листки з простоперистого листа кожної рослини картоплі, і вміщують їх в герметичний пластиковий ящик на вологий субстрат Grodan так, що стебло листка знаходиться у вологому субстраті Grodan. Це забезпечує високий рівень вологості. Ящики інкубують при температурі 18 °C за програмою чергування світла і темряви (сонячне світло, лютий-вересень). На листки з простоперистого листа картоплі наносять краплі суспензії зооспор *Phytophthora infestans* (10 мкл; 10<sup>4</sup> зооспор на мл). Через 24 год. кришку ящиків трохи відкривають для забезпечення легкої циркуляції повітря в ящиках. Через 6 днів здійснюють оптичну та кількісну оцінку зооспор. Оптична оцінка свідчить

10 про ступінь зараження і руйнування листків простоперистого листа картоплі патогеном *Phytophthora infestans*. Визначення кількості спорангіїв дозволяє зробити кількісну оцінку репродуктивної здатності збудника в рослині. Для цього раніше інфіковані листки простоперистого листа картоплі інкубують у 5 мл води в пробірках Falcon на шейкері протягом 2

15 год., що забезпечує струшування спорангій з листка. Після цього кількість спорангій визначають із застосуванням лічильної камери Тома під мікроскопом.

У різних лініях картоплі HIGS, одержаних трансформацією різних генотипів картоплі, після інфікування *P. infestans* реєструють зменшену кількість спорангіїв (6 точок на дюйм) (Фіг. 15 В-18 В). Це свідчить про зниження репродуктивної здатності патогену на трансгенних рослинах.

Ген PITG\_03410 випробовують як ген-мішень для HIGS на генетичному фоні картоплі сортів Baltica, Hermes і Desirée, а також сорту Russet Burbank, використовуючи вектор, показаний на Фіг. 5. Випробування з відокремленим листям, здійснюване на цих трансгенних рослинах сорту Russet Burbank, свідчить про обмеження репродуктивної здатності патогену на трансгенних

рослинах у порівнянні з нетрансгенними контрольними рослинами (Фіг. 20).

Альтернативно векторам, придатним для синтезу шпільчних структур, вектор, показаний на Фіг. 10, з геном-мішенню PITG\_03410 вводять в рослини картоплі сорту Hermes, і трансгенні лінії досліджують у ході випробування з відокремленим листям (Фіг. 21). І знову виявляють, що репродуктивна здатність *P. infestans* на трансгенних рослинах обмежена в порівнянні з нетрансгенними контрольними рослинами.

Рослини картоплі сорту Russet Burbank, трансформовані комбінованим вектором проти генів PITG\_00146, PITG\_00708, PITG\_10447 та PITG\_08363, як показано на Фіг. 3, також досліджують у випробуванні з відокремленим листям. Виявляють, що репродуктивна здатність *P. infestans* на цих трансгенних рослинах обмежена в порівнянні з нетрансгенними контрольними рослинами (Фіг. 22).

Так само випробування з відокремленим листям свідчить про обмеження репродуктивної здатності *P. infestans* на трансгенних рослинах сорту Russet Burbank при трансформації вектором відповідно до Фіг. 29, Фіг. 30, Фіг. 31 або Фіг. 32, спрямованим проти генів PITG\_06748 (Фіг. 23), PITG\_09306 (Фіг. 24), PITG\_09193 (Фіг. 25) або PITG\_19177 (Фіг. 27).

Навіть на трансгенних рослинах сорту Desirée, трансформованих вектором, як показано на Фіг. 31 або Фіг. 32, спрямованим проти гену PITG\_09193 (Фіг. 25) або PITG\_19177 (Фіг. 27), випробування з відокремленим листям свідчить про обмеження репродуктивної здатності *P. infestans* в порівнянні з нетрансгенними контрольними рослинами.

Транз'єнтна тест-система для RNAi-векторів у листях картоплі

Транз'єнтна тест-система відповідно до Birch et al., (2010) призначена для дослідження функціональності RNAi-векторів проти вибраних послідовностей генів-мішеней *P. infestans*. Завдяки співбомбардуванню, RNAi-вектор, цілеспрямовано доставлений до гену-мішені, транз'єнтно експресується в листках картоплі разом з гібридною генно-інженерною конструкцією, що складається з репортерного гена люциферази і фрагмента досліджуваної мішені. При процесуванні генно-інженерної конструкції dsRNA в RNAi-векторі має

50 забезпечуватись утворення dsRNA і кінцеве утворення siRNA. Ці siRNA мають не лише спричинювати деградацію транскрипту фрагмента гена-мішені, але й призводити до виникнення гібридного транскрипту гена-репортера з тим, щоб за участі функціональної RNAi-конструкції

55 могло спостерігатись зниження активності люциферази. Плазміда pABM-70Sluc1 містить подвійний промотор CaMV 35S, сайт множинного клонування, кодувальну послідовність для luc гену *Photinus pyralis*, який кодує люциферазу, відокремлену від модифікованого інтрону PIV2

60



гену картоплі St-LS1 (Eckes et al., 1986, Vancanneyt et al., 1990), додатковий сайт множинного клонування, а також термінатор Nos з гену нопалінсинтази *Agrobacterium tumefaciens*. ПЛР-ампліфікований фрагмент ділянки кодувальної послідовності, наприклад, гену PITG\_03410, клонують в цій плазміді pABM-70Sluci, яка також була клонована в pRNAi-векторі для одержання dsRNA-конструкції (Fig. 14A).

Ця транзйентна тест-система може бути використана не лише для перевірки загальної функціональності RNAi-конструкції, але також для того, щоб дослідити різні ділянки послідовності гена відносно його здатності до глушіння і, нарешті, з її допомогою можна вибрати найкращі ділянки послідовності гена для оптимального глушіння. Крім того, бомбардування трансгенних рослин, стабільно трансформованих RNAi-конструкцією, може сприяти визначенню ефективності глушіння окремих трансгенних HIGS-ліній картоплі, які, наприклад, можуть істотно відрізнятися в залежності від сайту інтеграції для певної конструкції. У різних трансгенних HIGS-ліній картоплі, які одержують трансформацією різних генотипів картоплі, і які після зараження *P. infestans* виявляють знижену кількість спорангіїв, можна також оцінити зниження активності люциферази (Fig. 15 A-18 A). Це свідчить про функціональність HIGS-конструкцій, процесованих до siRNA, щодо глушіння послідовності гену-мішені в трансгенних рослинах.

Коли кодувальні послідовності гену, які мають бути заглушені комбінованою генно-інженерною конструкцією, такою як pRNAi\_HIGS-CoA (гени-мішені: PITG\_08393, PITG\_00146, PITG\_10447, PITG\_00708), кожна з яких клонується у вектор pABM\_70Sluci позаду кодувальної послідовності для luc гену *Photinus pyralis* (pABM\_70Sluci\_PITG\_08393, pABM\_70Sluci\_PITG\_00146, pABM\_70Sluci\_PITG\_10447, pABM\_70Sluci\_PITG\_00708) і разом з вектором pRNAi\_HIGS-CoA, мають транзйентно експресуватись в листі картоплі, ефективність глушіння комбінованої генно-інженерної конструкції може бути проаналізована на різних генах-мішенях. Це також можливо при бомбардуванні трансгенних рослин, стабільно трансформованих комбінованою RNAi-конструкцією з окремих гібридних генно-інженерних конструкцій, що складаються з репортерного гена люциферази і досліджуваних кодувальних послідовностей різних генів-мішеней.

Визначення активності люциферази здійснюють із застосуванням Dual Luciferase® Reporter Assays (компанія Promega, Mannheim) (Schmidt et al., 2004).

Визначення стійкості трансгенних рослин картоплі за умов на відкритому повітрі  
Для випробування стійкості трансгенних рослин картоплі за умов на відкритому повітрі трансгенні рослини спочатку вирощують на початку року (березень) з in vitro рослин в теплиці протягом 3 тижнів в багатогорлих горщиках. Далі, ці рослини висаджують в теплицю з сітчастим дахом в природний ґрунт, завдяки чому рослини опиняються в умовах впливу навколишнього середовища, наприклад, температури, сонячного світла, опадів і вологості, порівнянних з польовими умовами. Рослини висаджують на 3 ділянки по 6 рослин на кожній. Через 8 тижнів на один листок простоперистого листа картоплі кожної з 2 рослин на ділянці розпиленням наносять *P. infestans* (750 мкл;  $10^4$  зооспор на мл). Ці листки поміщають у пластикові пакети для забезпечення високого рівня вологості та сприяння розвитку інфекції. Через два дні ці поліетиленові пакети знімають. Поширення бурої фітофторозної гнилі (*Phytophthora infestans*) в теплиці щотижня оцінюють оптичним способом і документують фотографічно. Критерії для оцінки інфекції спочатку призначають лише для інфікованих листків простоперистого листа картоплі (0: інфекція відсутня, 1: невелика інфекція (інфікованою є половина від заражених листків), 2: інфекція більше ніж на половині листків, 3: інфекція на всіх листках простоперистого листа картоплі), а потім для поширення інфекції на рослину і на всю ділянку (4: інфекція поширюється також на деякі інші листя рослини, 6: інфекція поширюється також на інші рослини, 8: інфекція поширюється також по суті на інші рослини, 10: 10 % рослин інфіковано/знищено, 20: 20 % рослин інфіковано/знищено, 100: 100 % рослин інфіковано/знищено).

У різних трансгенних HIGS-ліній картоплі (PR-H-4-7, PR-H-4-11), одержаних за рахунок трансформацій генотипу картоплі Hermes, виявляють значне зниження ступіню зараження цих рослин під час інфікування *Phytophthora infestans* у порівнянні з трансформаційним генотипом Hermes, який як контроль культивують, висаджують й інфікують так само, як трансгенні рослини. Знижений ступінь інфікування спочатку проявлявся в значно зниженій здатності патогену до зараження інокульованих листків (бальна оцінка через 21 день після інфікування: PR-H-4-7: 3,3; PR-H-4-11: 3,2; Hermes 7,6) і пізніше - в значно зниженій здатності до поширення патогену на ці рослини (бальна оцінка через 32 дні після інфікування: PR-H-4-7: 26; PR-H-4-11: 15; Hermes: 80) (Fig. 19 A, B).

Ці випробування не лише можуть описати процесинг HIGS-конструкцій в трансгенних рослинах картоплі до siRNA, але також функціональність цих генно-інженерних конструкцій

щодо глушіння послідовності гена-мішені в цих трансгенних рослинах, і підвищену стійкість цих рослин до *P. infestans* можна кількісно охарактеризувати зниженим продукуванням спорангіїв патогену на цих рослинах-хазяях. Оскільки визначення функціональних HIGS генів-мішеней є неможливим без ретельного випробування їх функціональності, ці випробування, докладно розкриті в цьому описі, є особливо корисними для визначення генів, які є ефективними в HIGS-конструкції, а також для одержання стійких HIGS-рослин.

#### Посилання

Avrova AO, Boevink PC, Young V, Grenville-Briggs LJ, van West P, Birch PR, Whisson SC (2008) A novel *Phytophthora infestans* haustorium-specific membrane protein is required for infection of potato. *Cell Microbiol.* 10(11):2271-84.

Birch RG, Shen B, Sawyer BJ, Huttner E, Tucker WQ, Betzner AS (2010) Evaluation and application of a luciferase fusion system for rapid in vivo analysis of RNAi targets and constructs in plants. *Plant Biotechnol J.* May 1; 8(4):465-75. Epub 2010 Jan 19.

Blackman LM, Arikawa M, Yamada S, Suzuki T, Hardham AR (2011) Identification of a mastigoneme protein from *Phytophthora nicotianae*. *Protist.* 162(1):100-14.

Benfey, P.N., Ren, L., and Chua, N.-H. (1990). Combinatorial and synergistic properties of CaMV 35S enhancer subdomains. *EMBO J.* (9), 1685-1696.

Chomczynski P, Sacchi N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 162(1):156-9.

Eckes P., Rosahl S., Schell J., Willmitzer L. (1986) Isolation and characterization of a light-inducible, organ-specific gene from potato and analysis of its expression after tagging and transfer into tobacco and potato shoots. *Molecular and General Genetics* 205 (1) 14-22, DOI: 10.1007/BF02428027.

Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* Feb 19; 391(6669):806-11.

Grenville-Briggs LJ, Avrova AO, Bruce CR, Williams A, Whisson SC, Birch PR, van West P (2005) Elevated amino acid biosynthesis in *Phytophthora infestans* during appressorium formation and potato infection. *Fungal Genet Biol.* 42(3):244-56.

Inoue SB, Takewaki N, Takasuka T, Mio T, Adachi M, Fujii Y, Miyamoto C, Arisawa M, Furuichi Y, Watanabe T (1995) Characterization and gene cloning of 1,3-beta-D-glucan synthase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur J Biochem* 231(3):845-54.

Judelson HS, Narayan RD, Ah-Fong AM, Kim KS (2009a) Gene expression changes during asexual sporulation by the late blight agent *Phytophthora infestans* occur in discrete temporal stages. *Mol Genet Genomics.* 281(2):193-206.

Judelson HS, Tani S, Narayan RD (2009b) Metabolic adaptation of *Phytophthora infestans* during growth on leaves, tubers and artificial media. *Mol Plant Pathol.* 10(6):843-55.

Kamoun S, van West P, Vleeshouwers VG, de Groot KE, Govers F. (1998). Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elicitor protein INF1. *Plant Cell. Sep; 10(9):1413-26.*

Lesage G, Sdicu AM, Ménard P, Shapiro J, Hussein S, Bussey H (2004) Analysis of beta-1,3-glucan assembly in *Saccharomyces cerevisiae* using a synthetic interaction network and altered sensitivity to caspofungin. *Genetics.* May; 167(1):35-49.

Li A, Wang Y, Tao K, Dong S, Huang Q, Dai T, Zheng X, Wang Y (2010) PsSAK1, a Stress-Activated MAP Kinase of *Phytophthora sojae*, Is Required for Zoospore Viability and Infection of Soybean. *Mol Plant Microbe Interact.* 23(8):1022-31.

Mazur P, Morin N, Baginsky W, el-Sherbeini M, Clemas JA, Nielsen JB, Foor F (1995) Differential expression and function of two homologous subunits of yeast 1,3-beta-D-glucan synthase. *Mol Cell Biol.* 15(10):5671-81.

Pel MA, Foster SJ, Park TH, Rietman H, van Arkel G, Jones JDG, Van Eck HJ, Jacobsen E, Visser RGF, Van der Vossen EAG (2009) Mapping and cloning of late blight resistance genes from *Solanum venturii* using an interspecific candidate gene approach. *MPMI* 22:601-615.

Roemer T, Paravicini G, Payton MA, Bussey H (1994) Characterization of the yeast (1→6)-beta-glucan biosynthetic components, Kre6p and Skn1p, and genetic interactions between the PKC1 pathway and extracellular matrix assembly. *J Cell Biol.* 127(2):567-79.

Saito, K., Yamazaki, M., Kaneko, H., Murakoshi, I., Fukuda, Y., and van Montagu, M. (1991). Tissue-specific and stress-enhancing expression of the TR promoter for mannopine synthase in transgenic medicinal plants. *Planta* 184, 40-46.

Schmidt K., Heberle B., Kurrasch J., Nehls R., Stahl D.J. (2004) Suppression of phenylalanine ammonia lyase expression in sugar beet by the fungal pathogen *Cercospora beticola* is mediated at

the core promoter of the gene. *Plant Mol. Biol.*, 55: 835-852.

Stahl D.J., Kloos, D.U., and Hehl, R. (2004). A sugar beet chlorophyll a/b binding protein void of G-box like elements confer strong and leaf specific reporter gene expression in transgenic sugar beet. *BMC Biotechnology* 4;31: 12.

- 5 Vancanneyt G., Schmidt R., O'Connor-Sanchez A., Willmitzer L., Rocha-Sosa M. (1990) Construction of an intron-containing marker gene: splicing of the intron in transgenic plants and its use in monitoring early events in *Agrobacterium*-mediated plant transformation. *Mol Gen Genet.* 220(2):245-5.

- 10 Van West P, Kamoun S, van 't Klooster JW, Govers F (1999) Internuclear gene silencing in *Phytophthora infestans*. *Mol Cell. Mar*; 3(3):339-48.

Wang Y, Dou D, Wang X, Li A, Sheng Y, Hua C, Cheng B, Chen X, Zheng X, Wang Y (2009) The PsCZF1 gene encoding a C2H2 zinc finger protein is required for growth, development and pathogenesis in *Phytophthora sojae*. *Microb Pathog.* 47(2):78-86.

- 15 Wang Y, Li A, Wang X, Zhang X, Zhao W, Dou D, Zheng X, Wang Y (2010) GPR11, a putative seven-transmembrane G protein-coupled receptor, controls zoospore development and virulence of *Phytophthora sojae*. *Eukaryot Cell* 9(2):242-50.

Yin C, Jurgenson J E, Hulbert S H (2011) Development of a Host-Induced RNAi System in the Wheat Stripe Rust Fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici*. *MPMI* 24(5): 554–561. doi:10.1094/MPMI-10-10-0229. © 2011 The American Phytopathological Society.

- 20 Zhang M, Wang Q, Xu K, Meng Y, Quan J, et al. (2011) Production of dsRNA Sequences in the Host Plant Is Not Sufficient to Initiate Gene Silencing in the Colonizing Oomycete Pathogen *Phytophthora parasitica*. *PLoS ONE* 6(11): e28114.

EP 1716238 (Bayer S.A.S.) METHOD FOR MODIFYING GENE EXPRESSION OF A PHYTOPATHOGENIC FUNGUS.

- 25 WO 2006/070227 (Devgen N.V.) METHOD FOR DOWN-REGULATING GENE EXPRESSION IN FUNGI.

WO 2009/112270 (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik and Kulturpflanzenforschung) METHOD FOR CREATING BROAD-SPECTRUM RESISTANCE TO FUNGI IN TRANSGENIC PLANTS.

US 2010/0257634 (Venganza Inc.) BIOASSAY FOR GENE SILENCING CONSTRUCTS.

- 30 WO 2006/047495 (Venganza Inc.) METHODS AND MATERIALS FOR CONFERRING RESISTANCE TO PESTS AND PATHOGENS OF PLANTS.

ЛІСТИНГ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- 35 <110> KBC CAAT АГ

<120> ТРАНСГЕННА РОСЛИНА ВИДУ *SOLANUM TUBEROSUM* ЗІ СТИЙКІСТЮ ДО *PHYTOPHTHORA*

- 40 <130> KWS 0199 DE

<160> 43

<170> PatentIn version 3.5

- 45

<210> 1

<211> 1042

<212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

- 50

<400> 1

cgtcaagatg ctgcggaggt ctgtgctgcc gttggcacgt cgtgccttcc cgcggtccgc 60

ggctagccta gcgccgtcct gtgctgctcc caagtacttt tcacgtgcct tcagcgttgc 120

- 55

ggagcagagt cagcggcatg tgatcgccgc gctggtgtc aaccagcctg gttgtctggc 180

cgagatcgcc aacctcttcg ccgctcgagg taactatcga tacgcaaaga cgctggccac 240

- 60

aggagatcct aaacatggtg tgatgcaggc tacaatattg acagtctggt tgtgggtcgc 300

acggaggctcg aggagctctc ccgtatgacg gttgtcgtca acggcactgc gcagagtgtt 360

gtcaacgtac gtatagtaat tacagagaca ggagcagtag gtgattgaca ctcaatgtgt 420

5 ctttcagat gaagaagcag ctcgaggatg tcgtgtatgt tgctgtggtc aatatacctga 480

gcagtggcaa gaacgctgaa aagaactacg tcgagcgca cctgatgctg gccaaaggtgt 540

10 ccacggccgg tacgtcggac gctgatctga taccctacca ccaccggaat tcgtgaacat 600

ggacctgacg taaacatttg ctggtgtgtg tgctggctac agaggctgga tctcgcgctg 660

15 aggtggtgga gcttgccaac ctgttcgacg ccaaggtgat tgacgtgca ccgcaccagg 720

ttatggtaca actggctggc acccctggc gcattgaggc attttggac ctgctaaagc 780

cgctgggtat cacagagatc caccgcagtg gggcattgc gatggctcgc agcaccagtg 840

20 tgaccgacga cctgggcgat ctctcgacgt ttgagggcgc cacgcgaacg cttctggacg 900

agggcgatga cgaagagttc gatgtctctc gccttccgcc tggataatat gttgtagag 960

ttatgatcat gccatcacct tttcttca taggactgt gcctgatgac aattgcagca 1020

25 aggaacgtgc tagcgaagat tg 1042

<210> 2

<211> 3072

30 <212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

<400> 2

35 atggtgctcc gagcggttcg gctgatcgtc caggcatctc tgctcctgca agtgtccag 60

tgtggcgct ccgtaactgg tgctcaagta aatgaaaact ttgagaacac tgagcttacc 120

tcgaacgata aactgggaac agtggctccg gccgacatcc cgtcttaca agacgagaat 180

40 ctcaagaaac aggaagagcg tggctcttt gactggttg gcaatggcga cgacacgcct 240

gccccggctg ctgacgacaa ctccggtaaa tatcgacta cgacaccgat ccctggcagc 300

gctgcgcggc cgtctacgag tagtctgatg tcaaagtatg gtagtatgct cggtgacttt 360

45 actaaagaca cgacgccggc ctcggaagcc gatgagcgca caacgagcgc acgtagcgct 420

gccacccgtg ccacctcgga ctctcttca gtagtacct ctggcagcgc ggcagcagaa 480

50 gtcaagccga agagaaagaa gaccaagaag cctgtggtg ccgccgcgtc tgaaagcggg 540

gagagtgcaa gtgacgacga tgccagcgag gcgagcgctt cgggcagtgga ggcaaagccc 600

aagaagagga caaccaagaa gacgaggaag ccggtcgtag ctgctgcgtc gacgtctgaa 660

55 tccgaggatg cctcgacgtc tgaatccgag gatgctcgg gcagtgaggc aaagcctaag 720

aagaagacaa ccaagaagac tagaaggccg gtagcagctg ctgcatcgac gtctgaatcg 780

60 gaggatgctt cgggcagctc ggacgagtcg ggaagcgacg atctgtcgga tctgtcggc 840

agctcggcgg gttccggaag cgaagatgac atgtcggccc ttctcggtag cgcgggaggt 900  
 tccgggactg acgacgcctt atcagctctg ctggggtcgg gagtcggtgg ctcgggtagt 960  
 5 atgcttagtt tcgaagactt tatgaagaat tacggtagca tgttcggttc gggaagtagt 1020  
 gctgtcgacc tgttcggaga cccgagcacg ccccgagaaca acacgattga cgacgaagat 1080  
 10 atcatcctcg gcgaactgta cgggtggcaag gagcacggcg acgccttctc ggacatcagg 1140  
 aacatcaagt ttggtcagat gatcctgaac attacagttc gcggtcaaga gcgcgtggat 1200  
 tccattggta ttacagtgat gactcaagaa gctgttgga accttggtga cgggtggtgaa 1260  
 15 ggtggtaccg aaggattcat tgaaccggag atgggtgaca ctattgatac cgtcgaagta 1320  
 cactgggaca agaacaaggg caagacgtgc atcttctacc tcaagatggc gacttctggc 1380  
 20 ggtaagacga ttgcgacggg aacgaagacg gccaacacgc ccgtcatcaa gccgccaag 1440  
 ggctaccagc ttgtggatt ccatggctgt gccagtagtt ctggtatctt ttgtattggt 1500  
 ggaatctca ccaagcaaga cgcgacggat ctgcagtcga cggacgtgat ggccatctcc 1560  
 25 agtaagggct ctctgatat ctacaactac gacaccacca ttcgtaactg ggtgggacct 1620  
 ctagagacag cgagtgacaa cgctgttac cagaagagag tcgacgtcag cagcaaggga 1680  
 30 atgtgtccgt cgggtttcaa caaggacgac gacaggtgca tcaccaatg tccttcaac 1740  
 taccctattg actgcttgat ggagtgcag cctcaaaaaca gtgactgcac ccagttgatt 1800  
 gtcgctaagg ttccgccgt cgttgctgtc gctttaaag cgcgtacgat gggtatcttc 1860  
 35 ggtacgtgg tggctgccta cagaaccgt aactttgtc tcacctgag catcaacgtt 1920  
 gtgaacgtg tcaagtcgt gatttactac ctgcgttaca agcagacct gatcccgact 1980  
 40 acggacacgg agaagttgat ggacaaggcg ttccagctgc agattgtcat tcttgacttg 2040  
 cctctggcta tctgttctg cctgggcac aagattctc ctaagctcca gttctcggt 2100  
 accattctgg ctgtcgtgc ggccattgtc atgatggctg tcatggctcg tgaggccctc 2160  
 45 ttcgctcgt cgaacaacgt catgctcatg cttcgtgagt cgggcgctt taacacttct 2220  
 gctctgaacg gagacacat tgagcttgat acgttctca acaccaagaa cggcacgtgt 2280  
 50 ggttacgaga tgagaactct cactaaccgc gtcatgggca aggtctacga aatccgtaac 2340  
 aacacgccga atgctgatgc cgatgatgta cgtgttgagg tgagcaagtc gtccatcatt 2400  
 acggatgaca tccccattgt gaccaaccac tgcatgggtg atatctggac caacaagacg 2460  
 55 ggcgcgtcgt cgtacaagac gcgcaacctg ctgcgtaaga ccctcagtgt aattgttgac 2520  
 cagctcgttg aggacggtac gaccgatatg ggtaagcatg tgaccaagaa ggagaaggct 2580  
 60 ctgcaatact cgaatatggg tctttcgtg ctgtccatgt tcgatccgac gggtattgcc 2640

	tgatggctt ccgagttcgt gcagcccatt tgtggacca ctgagtacct gggtgagatc	2700
	gatgatggta cgctgtacga cgctctgggt ctaaacacgg tcgaccaggc gttcctggga	2760
5	agctacggtg tgtggaagaa gaagggtgat ggctccgtca cggtttactt cgagagtgtt	2820
	gacaagttcc ctgtgtctgt ggtgatcacg tccggtgggtg acaagctcaa ggaggtcaag	2880
10	gtgcctgcta acggcaacgt cacgtggaca tctacggtgg aggagcttgg tgacaagact	2940
	ctttaccttg accgctggcg tctgtgtctc ttggcctgc ctggtacggg cgggtggttcg	3000
	ctactgatgt ggaatcccgcg atcgtctgag ggtggccagc ttgttcttca tgctcgcttg	3060
15	aatgttagct aa	3072
	<210> 3	
	<211> 2405	
20	<212> ДНК	
	<213> Phytophthora infestans	
	<220>	
	<221> misc_feature	
25	<222> (949)..(1048)	
	<223> н являє собою а, с, г або т	
	<400> 3	
30	atgtcatccg tagacttgag tatcctgcgc aacggcatcc cggccgagct gccggcgcac	60
	ccgggcaacc accccgaccc gacgctgccc aaggctccgc accgcaacat cgacggtctg	120
	tccaaggacg atctcgtgct ggccgtgcag aacgcgttac ggtacttccc cgagaggttc	180
35	cacgccactc tggctcccga gttcgcgcag gaactcaagg acgagggcca catctacatg	240
	caccgcttcc gtcccgtgca gtacgagatg aaggcgtacc ccattgacca atacccggcc	300
	aaatgcaaac aggcagctag tatcatgctt atgatcatga acaacctcga ccgtcgcgtt	360
40	gcacagttcc ccaaccacct ggtcacttac ggtggcaacg gtagtgtctt ccagaactgg	420
	gcacagtact tggtaggcat gcgctacctg tccgaactca cggaacagca gacgctcgtc	480
45	atgtactctg gtcaccctat gggttgttgc ctagtcgtc ctgcagctcc acgtatggta	540
	gtgaccaacg gtctaataatg cccaactac tccacacgcg ctacgtacga caaggcctac	600
	gctatgggta acaccagta cggtcagatg actgctggca gctactgcta cattgggtccg	660
50	caggggtattg tacacggtac gaccattact gtactgaaaa cctactgacg aggtctatgg	720
	cggttcagat gagagcaatc taccttcctt ctgaaaaaat gctaaacaat tccagtggat	780
55	gttgtatagg tcttgacaat caatattgcc ccctacgatt ttgtcaatat taacaatcag	840
	tttatttctt ccaatccctg attttacagt gaggatttcg agagtgggaa cgtggaaaca	900
60	aaatcattgt caaatttgag cgagccttcc tcgccgatgc cagactggnn nnnnnnnnnn	960

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 1020  
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngc gtcactccg gtgcatctc cgtcactgca 1080  
 5 gagatcgacg aatctgcagt gaagaagcgt cacgaacagg gctgggtga cgaggctgtg 1140  
 agcgacctgg acgcctgtgt cgttcgtatc cgtgaggcaa aagccaaggg cgagggtgtg 1200  
 agcttggcgt accacggcaa cgtcgtcact cttgggaac gtctcgccga cgaggctgaa 1260  
 10 gctacgggcg agctgctcgt ggagctcggc tcggaccaga cttccctaca caacccgttc 1320  
 aacggcggct actacccggt ccagttgtcg ttcgaggagt ctcagcgcgt catggctgaa 1380  
 15 gacccggagc gcttcagga actggtacag gactctctgc gtcgtcacgc tgcgtctatc 1440  
 aaccgtctga cagccaaggg catgcggttc tgggactacg gtaactcgtt cctattggag 1500  
 gcacaacgtg ccggcgcgga cgtgttcgt cccggtgtta agcccgagga ggctgctgc 1560  
 20 tcgactactg ccttaagta ccctagttac gttcaggaca tcatgggcga cattttctcg 1620  
 cttggtttcg gtccgttccg ctgggtctgt acgtcgggtg accacgcgga cctgcagaag 1680  
 25 acagacgcca ttgctgccg tgtgatgcgc gagctgctgg ccgaaccgga agtgccggac 1740  
 cgggtcgcgg ctacgtcgc tgacaacttg cgctggattg aggctgcaga ggagaacaaa 1800  
 ctggtcgtgg gatcggaggc gcgtatcctg tacgtgacc gtgtgggtcg cggcacgac 1860  
 30 gccatggcgt tcaacgccgc tgtggctagc ggcgagctct cggcaccgt cgtgctcagc 1920  
 cgcgaccacc acgacgtcag cggcaccgac agtccgttcc gtgagacgtc gaatgtgacg 1980  
 35 gacggctcgg ctttctgtgc cgatatggcg gtgcagaacg cgctgggcga cgccgctcgc 2040  
 ggagctacgt ggatcgact gcacaacggc ggcggtgtcg gctggggcga ggtcatgaac 2100  
 ggtggcttcg gaatggtact ggacggctcg gatgacgcgc gcgagaaggc ggcgtgcatg 2160  
 40 ctgggtggg acgtcaacaa cggcgtggca cgtcgtcgt gggcgcgcaa cgccaacgcg 2220  
 cgcttcgcta ttgagcgca gatgaaggcg gacccttgg tacgtttgtt tggttacgag 2280  
 45 cttgagactt tggaagcgtt agattttaat gtgtgtgtat cttgtggta ttgcagctga 2340  
 cgggtacgct ggctaacgag gccgacgacg cgagcgtgcg tgacgctgtg agcaagctct 2400  
 tctag 2405  
 50 <210> 4  
 <211> 1735  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 55 <400> 4  
 atgctctcgc agctaaacg cagattcacc ctgggacgac gttgtcagac cgaagaagaa 60  
 gaccactcga ggatcaccat gagccttcc aacagcaaca gtaccagctc cttgcccct 120  
 60

gtggacgagc accacggctg tgagtacctg gatacggcgc tgacgatctt tgtaatcggc 180  
gcgtcgggcg atctggccaa gaagaagacg tatccgtcgc tcttgcgct ctacaccatg 240  
5 ggctacctgc ctgaacacgc ggtcatcgtg ggctacgctc gcagcgccaa gaatgatgcc 300  
gacttccgcg cgcaaattgc gccctggatc aagcctaaga cacccgaggc cgaggctcgc 360  
aaggaggcct tcctcaacaa gtgcatctac cgcagcggca aatacgactc aactgaagat 420  
10 gtgggcaagg taagcaagga gatggaggca ttggaagaag cccatggatc gcctgtggcc 480  
aaccgcctct tctacttcgc catcccgccc acagtcttcg tgcccatcgg cacgagcatc 540  
15 aagaaggcgg cactgaccac gcgtggttgg aaccgtctca tcgtcgagaa gccatttggc 600  
cacgatctcg actcgttcga caagttgtct caggacatgg gcgcgctgta cagcgaagac 660  
gagatctacc gtatcgatca ctactgggc aaggaaatgg tgcagaactt gctcgtgttg 720  
20 cgcttcggca atgcaatctt cgagcccat ttgaaccgca actacgtgtc cagtgtgacc 780  
atcactttca aggaagacat cggcactcag ggccgcggtg gctacttcga ctgcttcggt 840  
25 atcatccgtg acgtcatgca gaaccacctg cttcaggtgc tgcacttgt ggccatggag 900  
ccaccaatcc aagctgctgg tgacaactac tccaactata tccgtgatga gaaggtaag 960  
gtgcttaact gcattgagcc tatcaagatc gagaacaccg tcctgggcca gtatgaaggc 1020  
30 agcaaggagc tcaacgagcc gggctacctc gaggaccga cggcgccaa gggatcagt 1080  
acccccacct tcgccacagc tttatgtat gtcaacaacc cgcgttggtc tgggttccg 1140  
35 ttcatcatga aggctggtaa ggcctgaac gaacgcaagg gtgagatccg tgtgcaattc 1200  
cgcccgctc ctggagcgca gcactgttc ccaggtgtca agatcccagt acaagagttg 1260  
gtgctgcgtc tacagccgga ggaagccgtc tacttgaaga tgaacgtcaa gagtctggt 1320  
40 ctgcagaccc aggcgatctc aagcgagctg gacttgcgt acgccgagcg ttacgagggt 1380  
gcagaggtgc cggacgcta cactcgttg atcctggacg tgctgcgtgg taagcaggcc 1440  
45 gcattcgtgc gtgatgacga gtcctgtgct gcatggaaga tcttcacgcc attgctgaac 1500  
gagattgaga cgcagaaggt gaagccgtg cagtatacgt tcggctcgcg tggccccaag 1560  
gagagcgacg agctggtgaa cagagctggc ttccagtacc accagggcga ataccagtgg 1620  
50 cagccgctg tgcgactac cagtgcacta taggttgtct ctttgggtga gcacaaagat 1680  
gcccgaagt ctggcataaa tatgatggt gagccagcta gtctcaata aggga 1735  
55 <210> 5  
<211> 1245  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans  
60 <400> 5



gggagcttaa aagtgtaca ggaagtcgct atcatggcgt caagaagtct cgtccgccgc 60  
 tcggcgcgtc tcgccactgc catcgtact aagcgcagct tcgttcgcgc cgctccgcgc 120  
 5 tcggtgaacc tccagtgtt tcagacagca cccgccactc gccagaccgc tcttcagagt 180  
 acgcagacaa gctccagcga tgagccgccc aaaacggagt cccagtaga cccagagcag 240  
 ctattctgg ccaaggctct ggaccatgtg attccacag ggtacgttat ggtttaagt 300  
 10 ctataaaagc gaagatatcc taggtttaa cgctctgaa tgcaagggtg gccattgagg 360  
 ctctagcagc tggcgccacg gatcttggt acccttcggt ggctcacggc atgttcagc 420  
 15 gcggagctat tgatttggt gattatttta tggactcgtg tctcgccaag ctacgcgaga 480  
 cgctgattgt caacacggaa aagttgcagg ccatgacggg gactgaacgt ctcaagttg 540  
 gcgtctgcac gcgtctgcag atgctggagc ctgtgttggc tacatggcca caggctatgg 600  
 20 ccattggcgc tctaccgcag aacgcacctg gtactgcaa gagactggcc cagctctcg 660  
 atgaaatctg gtacttcgt ggtgacaagt ccacggatct atcatggtac accaagcgcg 720  
 25 ctattctcac gggcatctac gtagcacgg agctgtttat gctgaatgac aagtcgccga 780  
 acttcagga cacgtgggat ttctggacc gccgtgtgga cgaaacgac caactcggag 840  
 aactgcctca gaacgtacgt gaagctgtt gagtctcta taaggcttag ctgttgacgt 900  
 30 gactaactac ttgtgtctg gtctgtctc gagcagctga acgatgtggc tgggatggcc 960  
 agtattgggc tgcagtcggt gtttcggct gtgacgtgc ttgcgggtcc tctggccagt 1020  
 35 cagatcatct cgaactgcc ttgagtcaa gttccgaacc cgatttcagc tgtgggcagt 1080  
 gtggttctc cctcggtgt atcggtgtt gcctctgaa tgccattag caatctact 1140  
 tctgtggac atgacggtat ggcgtcaag tcgaaggatc tggacgaaat taaccaagag 1200  
 40 cttgagaagc tcggcggcct tgacgcgagt gaacgacgga actaa 1245  
 <210> 6  
 <211> 1461  
 45 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 6  
 ccacgtccag ctcaagccaa ttgcatgct gtccgtact cgccgcctta cgcatctct 60  
 50 gcgtcgcct tctgactgg gatccgcct cgagtcctca ttcgtcccc tcaactcagct 120  
 atccgaggag gaaacatgt tcaaggacac agtcgcccgg ttgcgggtg acgtggtagc 180  
 55 tccgaatgtc cgcgcatgg acacagcggg ggagatggac catgctatca cacgaggact 240  
 attcgagaat ggactgtgt cggtagagat cccagcagac tacggaggta gcgaggcctc 300  
 gttcatgaac ctctgctga ctattgagga gctgtccaaa gtggatccc tcgtgggact 360  
 60

gctcgtggat ctacagaaca cagttgtgaa caacgtcttc ctggtgagtg aagagtacga 420

ttggtattct aaattctgta gctgaccatt gtgttcgagg tgcacggcac ggacgagcag 480

5 aaagaaaagt acctgccgag actcagcgcg gacatggtgc gtgcatcaat atttgaaat 540

attgtgataa tactaatatt gtacgggtgt gtagatcggc agtttctgtt tgcagaggc 600

tggatcaggt agtgacgcgt tcgcgctgaa gacacgggag gaggcctcgc cggacgggag 660

10 ctactactcc atcactggtc agaagatgtg gatctccaac gccgagtact ctggcgtgta 720

cttgggtgtc gccaatgtgg acccgctcaa gggctacaag ggtatcacgt gctttatcgt 780

15 ggaccgagac atggaaggac tggagatcgg taagcccga gagaagctcg gcatccgcgc 840

atcgtcgaca tgtcccgta cactgacgga tgtgaaggtc ccgaaggaga acattctggg 900

agagctgggc aagggataca agatcgcaat cagcacgttg aatgaaggac gcattggcat 960

20 tgcgtcgag atgctgggac tggctcagg agtctacgac cagacgttgc cgtactgtt 1020

cgagcgccaa cagttcggt ctccatcgg agagtccag gcatgcagc accaatatgc 1080

25 ggaggcagcg ctgatatcg agacggcgcg ttgttggtg tataacgcag cgcgtctcaa 1140

ggatgctggc caaccgttc tcaaacaggc tgctatggcg aagcttcag cctcgcgtgt 1200

ggcagagaag acggcatcca agtgcacga gctgcttga ggcatggct ttaccaagta 1260

30 cttgctgag gagaaattct atcgtgacgc aaagatcgga gctatctacg aaggaaccag 1320

taacatgcag ctgacgacga ttgcaagct tgtgtcggag gaatacaaga ggtaattgaa 1380

35 tgcgtgatc ctgtactcag acttgatcct ttagcaaac caaacaagta acatttccg 1440

agaacgagcg ttagaaccag a 1461

<210> 7

40 <211> 1580

<212> ДНК

<213> Phytophthora infestans

<400> 7

45 atgctgcgtc gtctgccct ccgtaccgtg aagccttctg tgcgcaact cgcctccgcc 60

tcggagctgt acaagaacct gcgcagctcc aagttcagca tgaccaagat cgtggccact 120

atcgccccg tgcggagca gctggacatg ctacagaaga tcacggacga aggtttgcgt 180

50 atcatgcgca ttaacttct acacgccgag tacgacgagg ccttgctgag cgtcactaac 240

cttcgtgcct gtcggggcgt gcacgccgag ggtcaggcca aattcaacct acgtgccgtg 300

55 ctacacgaca ccaaaggacc cgagatccgt acgggtaaga tgcgtgacgg caagaaaatc 360

acgttagaga gtggcaagtc ggtggtgctc acgaccgacc cggcttcga gcttgagggt 420

accgccgaca agttctacgt tacgtatcag cagttagccg aaaccgttaa ggtgggagat 480

60

acagtgttac tatctgacgg ccttatccgt ctcacctgta cgtcagtggg taaggatgag 540  
 attacgtgcc acatccacaa taccgaggaa atcggttaacc gtaagggtgt aaacctcccg 600  
 5 ggtttgatcg tcgagttgcc tgctctatct gataaggaca aacgcgacct ggattgggggt 660  
 gtcgagcacg atatcgactt tatcgcggcc tcgttcaccc gtaaggccag cgacgtgaac 720  
 tcgatccgtt cgttcgtggg agagtgcgtt aagaaacact ggggtaacca acctggttac 780  
 10 attgccccta agatcatctc taagatcgag aacctcgaag gtatccagaa ctttgaggag 840  
 atcctcgagg cctcggatgg catcatgtgt gcccggtggc atttgggtgt cgaagtgccg 900  
 15 gcacagaagg tcctgacata ccagaagatg atggtggacc gctgtaacgc cgtcggaag 960  
 ccggttattg tggcgacgca gatgctcgaa tccatgcaga acaaccgcg cccacgcgt 1020  
 gccgaagtgt cggatgtcgg caatgccgtg ctggacggcg cggactgcgt catgctcagt 1080  
 20 ggcgagtcgg ctacgggcaa gtacccgacg gagtctgtgg ccacgatgaa cacggtgatc 1140  
 aaggaggccg accagctcct actcaagcct aactaccagg ccaagttcca gttcgagccg 1200  
 25 cccacgtcgg acgtcgagtc agccgtgtcg tcggcagtca agacggccaa cgagatgcac 1260  
 gcgcagctcc tgattgtgct caccggtacc ggttacacgg cccgaaaggt cgccaagtac 1320  
 aaaccgactg tgccggtcat gtgcttcacc accgacctta aggtcggccg tcagctccag 1380  
 30 atccaccgcg gtctgtaccc ggtggtgccc gactaccttg accgtgccc gactaccgcg 1440  
 gaggccatcg ctacgccaa gaagatggga tgggtgtctg ccggcgaccg tgcgtcgtg 1500  
 35 atcagcggcg acaagctgtc ggacgatctc ggccgggaaa tcctcatcgg cgtcgctgac 1560  
 gtccagtaag acggagacaa 1580  
 <210> 8  
 40 <211> 900  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 8  
 45 atgtggtcga cgatgatcat gcggttcct acgcaggcca agtccgtgtc gcgcagcgcg 60  
 cttgtggcgg caggtatggc tgcgttcgct gccttctcca gtgttcctc tactcgctgc 120  
 gaagaggaga agtccaaggt ggcgttgagc cccaaggagt tccgttctt cactgtgcgt 180  
 50 aaagttgaga ccgtgaacta caacacgaag cgcgtagcgt tcgctctcc cacacccgag 240  
 cacgagatgg gtctcacgac gcctagtgc cttatggctc gtgccaaggt agacggcaag 300  
 55 acagtgtgtc gccctacac gcctgtcaac gtgaacgacg agaaggggtt cttggagctc 360  
 gtagtcaagg gttaccaca gggaaagctc agcaagcaca tcgtgcagct caaagaagga 420  
 gactctcttg acatgaaagg tcccttccc aagtcaatt actaccccaa caggtaacg 480  
 60

agcatcgga tgatcgctgg cggctccggt atcaccccca tgctgcagct catcaaggcc 540  
 atttgccga acccgaggga ccgcaccgag atcacgctgc tgtactgcag tgtctcgaa 600  
 5 gaagatatca tctgctgga agaagtggag gccatgatgt acctgtacc gcagatctcc 660  
 gtgatccag tgctcagca cccgtccgcc gagtgggaagg gtcttacagg cttcgtgtcc 720  
 aaggagatga tcgaaaagta catgccggag ccgtcagacg acaacctcgt gtgtgtgtgc 780  
 10 ggtcctccgc caatgatgta ccacgtctcg ggtgacaagg cgaaggacag gtctcagggc 840  
 gaactgcaag gtctgtgaa agacatgaac tacacctcca ctcaagtgtt caagtttaa 900  
 15 <210> 9  
 <211> 1245  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 20 <400> 9  
 gtcgagcaca agaccaacac tctgcacca tgactaccct caagatcgtc gttccggcg 60  
 ccgccggcca aattgcgtac tcgttgctgc ctctcagtag gtccgtctcc ttccctctg 120  
 25 tgccttctcc ataccctaac gtctcaccat gttgcagtct gcatcggcca cgtctcggc 180  
 cccaaccagc gcgtggagct gcgcctgctg gacatcgaac ccgccaggga agcgcttgag 240  
 ggcgtaaga tggagctcca ggactgtgcc ttcaacctag tggacgctat catccccaca 300  
 30 gccgatctgg agactgctt caaggacgag gacgtcgcaa tctcgtggg cggcttccg 360  
 cgcaagcaag gcatgcagcg caaggatctg attgagaaga atgtagccat tttaaggct 420  
 35 caggagagctg ctatcgacca gttgccagt cgcgacgta aggtgctgtg tgggccaat 480  
 ccagccaata cgaactgcct cattgccatg gagaacgcac ccagcatccc gcggcgcaat 540  
 ttctggcac tgacgctgt ggaccatgag cgttgctgct cgttctagt ggagaaggc 600  
 40 aacgagaccc aaagcccgaa agttacgtcg aaggacgtca acaaggctgt gatctggggc 660  
 aatcactcga gcacgcaagt gcccgcagtc acgaacgcag aagtgaagg ccagccgctt 720  
 45 gataagatcg tctcgacaa ggattgggct gagaagaagc tcgtcaagg cgtgcaggag 780  
 cgcggtgcag ccatcattaa ggctcgcaag ctctcagcgc ccatgtcggc tgccgccgt 840  
 atcggcgccc acctgcgca ctggttcaat ggctccaagg acggcgagct cgtgtctatg 900  
 50 gccatttct cggacggcaa caagtacggt gtgcccagg ggctcattta ctcgttcca 960  
 gtcaagtgcg cgggcaacgg cgcgtacgag gtggtgaacg gtcttccat ctcgccgct 1020  
 55 atcgacgcaa tgatgaaagc cactgcgcag gagctgacag aggagaaggc cgacgctgtg 1080  
 gagatcctgt cgcgccagt agcagtattc agctaatagc tggacgatgg caacgtcgtc 1140  
 tacaccccat tcgattttt tctccatta tgagctgctt caatcgttta ttgaccatc 1200  
 60

taaaccaatt aatttctgt tattacgatt tcttattgaa aaaaa 1245

<210> 10  
 <211> 1280  
 5 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans

<400> 10  
 atgtcgtctt cattttgtca gctatccaag cgcgtgctgc agtatcttcg acatgagcat 60  
 10 ccacatcgtc tatttccctc catcggtcga agacgcaaac tcccaggcat aaacctcgac 120  
 ggaagatctc agcggatgat ggcggtggtt agccgcaagg tgttccgatg cacaccacac 180  
 15 actactcgcg aaaacgacca tacttctgtc ggccagggtg acctctgggg agctgcacaa 240  
 cggccgtctt ttagcttat ttagcgagc caacagggtg tgcctcattg gccacgtgtt 300  
 cacgcacgta cgtcacgtgt gtgctcattt taatattaaa gatcccgttg aagacgaaaa 360  
 20 gcttcttgc tggcatcatg cgctccaga cgttgttgc cgtcctgtc gcactagtca 420  
 tcgccccgtt tcaggccctg tctccacca gcgagtccaa cgtgccgttc actctcgggt 480  
 25 acgtcccggg ctctttaaa caaggtaccc cgtccgtgga gattccacct tcaaattcaa 540  
 ggcattctcg gctacttgac aacgtcacgt ggacggatgt agacgcctac attgctgcac 600  
 gagccgtcga aggcgtggac gtcaagtgtt tcctcttctt acgtcatgga gaaggcctcc 660  
 30 acaacgtcgc cgaagccact tacggcaccg aagcctggga cagattctac agcaaactag 720  
 cgaaatatac tgacccaag ttgacgaaac ttgggatgca acaggctgtc aaagcgtcgg 780  
 35 aaaggatcga cgaggagctt aagagaggac tgagcctgga ggaagtcgtg gttccccgt 840  
 tggagcgtac actacatacg gcaatgatcg cgtgccagaa tcaccacgag atcccgaagc 900  
 ggtcgtatga atggccccgc gagaccatcg gcgtctgcac gtgcgactta cgcggcacca 960  
 40 tctccgcaa ggccgagctg tacccaagta tcgactcag tgatatctgg agtgatgcag 1020  
 acccgtggtg gacgcctgat catcgtgaga ccgagctgca catcaacgac cgcgctcgca 1080  
 45 tcttctgaa ccgctcttc tacggtcaca agtcagtgcg tgttggtgtg gtgacgcaca 1140  
 gtggactaac caccgcccg atgcgtgtca ttggccatcg taagtacagt gttgcgacgg 1200  
 cggaagtgat accgttctg ctgaagaca ccacggtgca cacgatcctg tcgatcttct 1260  
 50 ctggtaaaga agacatgtag 1280

<210> 11  
 <211> 1016  
 55 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans

<400> 11  
 atgtcgtcct atcgtgctgt ccaagttgta aagttgacta aggacttccg cgccgctacc 60  
 60

agaatcgtga gtgtccccga actaccacc gctgggccc acagcatcgt tgtaagaac 120  
 cgcttcttg gaattaact gaccgacgtc aatcttacga atggcatgta tcatgacaag 180  
 5 ctgccgttgc tcgcgggcgt tgaagggtga ggtctcgta ctgaggtcgg gagtaacgtc 240  
 acgactgtga aagtgggcca cgctgtcatg taccagacgc tgggagccta tgcggactac 300  
 gtacaagtgc ccgtgtcggc cgccatcaag atcccagagc tgcgaagaa cgctctaccg 360  
 10 gttgcagtgg gcggcgtctc tgcgtccatc tgcctgaat gtctcggta gatgaagtcg 420  
 aatgagaccg ttctgtgac tgctgtgct gggggaaccg gacagttgt cgtacagctc 480  
 15 gccaaacttg ctggcaacca tgtatcggc actaccagct ctgacgagaa agtggaggct 540  
 ttgacgaaac tgggctgcga ccgtgtaata aattacaaca aggagaatgt cgcgatgtg 600  
 ctaaagaagg agtatccgaa tggagtagac atcgtttcg agtcattgg aggcgacatg 660  
 20 ttccgtgctg ctgtcgataa cattgcagtc cgtggtcgta tcatcaagat tggcttcac 720  
 tcgcgagtat tggagaccaa agacaagacg actccccaag gccgcctccg ctgctatcgt 780  
 25 gggaagcgaa caagaagatt ctgatgaagt ctgttccat ccgagggctc tcatgtatc 840  
 actttgagga acacattcga gagcacacgg agcgattgct gaagtcatt agcgagggca 900  
 cgttgaagcc tggcgttgac cccactacgt acaagaaatt cgagtccatt ccgaatgaa 960  
 30 tcgaccgcat gtgcgccgt gaaaatgtag gaaaactcat cgtagagctc gagtag 1016  
 <210> 12  
 <211> 267  
 35 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 12  
 atgggcaagc acacggagcg agccaaggag agtcattca agcagcagtc gatgatcctc 60  
 40 gtgcctatgg acacaccagg cgtgcaggtc gtgaagccca tgcattgctt tggctacgac 120  
 gacgcaccgc acggacacat ggatatgctg ttcaaggacg tgcgtgtgcc gttcagcaac 180  
 45 gtgttgctcg gtgaaggctc cggctttgag atcgctcagg atcgcttgg acctggccgt 240  
 atccaccact gtatgcgagc catctga 267  
 <210> 13  
 50 <211> 1147  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 13  
 55 atgcgcaaaa tattgaatat tgattggtta aaacctggtc ttggcatcct tatgaccaat 60  
 tacagttatt gagtgcttta agcggggcag acgtccacta cgtcacactc agaattcca 120  
 cacaagcaac agaccgacac aatgagcagg tgcgagtggc atcccagcaa ctctgtgcaa 180  
 60

atttagcctt gttatattaa ttgtataacg tggcatgttg cagaccgacg atctcagagg 240

ttatcgccga gcggaaggcc aacaacactg cggcttcat caccttcgtg ccctgcggct 300

5 tcaagactaa ggctgacaca gtggacattc ttctgggact gcagcgcggc ggcgcgaaca 360

tcatagaggt gggcattccg tactcggacc cacaggccga tggcccgacc atccagcgcg 420

10 cacaccaggt gggcgtggac cagggcatca cgctgcatga cgtcctggcc acagtgagcg 480

aggcgcaac taaggcctt actacgctg tggcgcttat gggctactac aacaacattt 540

tgcagtacgg cgaagtcaaa atctgccccg acgcccagaa aggtacgcct gtaatcgacc 600

15 acaggagaga ttgtgggct caaaaactga caataaacgt attttagct ggggtggacg 660

gattcattat tgtggacctg ccgcctgagg aggcaaagac gctcagtac gacgcagcta 720

20 agcacggact tgcgtacatc ccgttggtgt cccaacgac gacggaggag cgtatgaagc 780

tcatcgactc ggtggcacat ggtttgtgt attgcgtgag tctaccggt gtcacgggcg 840

ctcgaacga gctgcctccg aacctcgacg cggtcatggc caagagtaag ttgcttttcg 900

25 cgcttagtt tattttaatt gtcgagctaa cgtggccct tgattcgctg cagttcgtgc 960

caacgtgaag caccctctcg ctctggctt cggctctgcg acccgccagc acttcgttca 1020

30 agccagcgcg ctgcccagc gcgttgatg cggctcgaag attgtcaaga tcatcgagga 1080

cgcgcctgac acagccacgc gtgctgcaa tgggaggca ttgccaaga gcatcgtgaa 1140

cccttag 1147

35 <210> 14  
<211> 1917  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

40 <400> 14  
atgggtaaca tctggagga gatcgacgc cagcgccgtc tggacgtggc ggccgccaag 60

caggatcat ccgccgatga tctggccaag aagatcgagc acgcccaggt cgttttcggc 120

45 tgcaccctgc ccgtgctga ccgcctaac gacccacgg tgcgtccggc agtcagggga 180

atctggagaa gaatctgcgt ctaacgcagc taccgctgta ctgtatttt tcttgtatt 240

50 tatggcagag agaggggtgg tccgacgtgg ctctggctgc cgagttaag cgtgcgagcc 300

ccagcaaagg tgacatcgcc acggagctca atctgcgtga gcaagtgcag gcctacgcca 360

acgcagggtc cagtatgatc tccgtactga cagagcccaa gtggtttaag ggatcgctag 420

55 acgacatgag ggcagcccg gaggtggtcg agggcatgag tcagcgtcct gccatcctgc 480

gcaaggattt catcatcgac gtgtaccagt tgctggaggc ccgcgcttac ggagcggatt 540

60 gcgtgttgc catcgttgcg ctgctgtccc aggagcagct tatcgagctc attgacgtac 600

gtcgccccgc ttgcactaca ttagtggtg ttactgtaca ctgacaagcc tctgttgg 660  
 ttgtaggcca cccacaatct cggtatgtgc gctctggctg aggtgaacag catccaggag 720  
 5 ctggacatcg ctctggctgc gagggctcga ctattggcg tcaacaaccg cgatctccgc 780  
 acgtttaagg tagacatgaa cacgacggct cgcggtgcag acgctattcg tgagcgtggg 840  
 cttcgcctgg gacgtgacgg cggtacgctc ttgctctca gtggcattcg ctgcacgca 900  
 10 gacgtgtgca agtacgagaa gtgcggcgcc cggggcatct tggggggcga gtactgatg 960  
 aagagtgggt atattgccgc gacggtgaag gatctcttc agaattgtac gcgtcacacc 1020  
 15 gaggcggcg aattcgctt ggctcctccg ctgccaaag tgtgcggcgt cacgacagt 1080  
 gactacgctc tggcgccctt gcgtaattgt gccaatatga ttggtatcat catggcgga 1140  
 cactacccc gctatgtcca agtggaggaa gccaaaggcca ttgccaggc tgtgtgggag 1200  
 20 tatggggagc gcacggggcc tattctctca gacattgtg agactcactt ggacggcaag 1260  
 aacgactggt tcatagaaa tgccttgcg ttgcgtgaag ctgctcgcg tgcacctctc 1320  
 25 gtggcggag tgtttgtcaa caagacagct gccgagatga acgagactgc aaaggaaatc 1380  
 ggactggact tggtagct acacggcgac gaggggttc agatctgcag ggacattaag 1440  
 taccacacca ttgcgcgtt gcatctgcc gacaccacgc tctgcgacgg cgtggacgca 1500  
 30 gaagccgttc tacagcaggt tcaggaaggc ctgccaaact acattctgt tgatacgacc 1560  
 gtgaagggc agcagggcg cactggcgtc acattcgact ggaagattgc agccatctt 1620  
 35 gcgcaggcac gactccctg cctcatggct ggtggccta cccctgagaa cgtggtgaag 1680  
 gctctatcg tcggtacccc cgttgggggt gatgttagca gtggagtga agtgaaagg 1740  
 tcacctgggt tgaaggatat ggacaagggt actgcgttc taaaggctgt gaaggattac 1800  
 40 ctctcattg ctacgctaa gatcgaggag gagacggaaa cctagagaga gaccctcgga 1860  
 gtgttctaat caatgagggc cactaatgaa gtgctttac gttacgagct tggatgc 1917  
 45 <210> 15  
 <211> 1494  
 <212> ДНК  
 <213> *Phytophthora infestans*  
 50 <400> 15  
 atggtgact atcgtagtac tcgcgggcgc gtccgcgcc ttagcttga gcaggcgtg 60  
 ctgacgggt tggctccga ccgtggcctg ctgataccg aagctgacga gttccctacg 120  
 55 cttccagctg atgcgctgga gaagtggcg tctcttcgt accaggaatt ggccgtggag 180  
 gtcacgccc ttctattga cgaaagcgag atctcgcgtg accagctgcg tgagcttg 240  
 accaagagtt acaacgcgac cacgttccg tccgatgagg tggcgccggt ggtcaagg 300  
 60



acggatcaaa tgctggtgct tgagctcttc catggcccca cgttgcctt taaggatata 360

gctctccagt ttctaggcaa ccttttcgag ttttcttaa agcgcaagaa cgaggcgctg 420

5 ccttctgacg ctctaaaca ccagatcaca gtcgtgggcg ccacctcagg cgacaccggt 480

agctcggcca tatacggctt ccgcggaag gagaacgtcg aggtgtcat cctctcccc 540

gagggctcgtg tgagcgccat tcagcagcga cagatgacta ctgtattgga ccagaacatc 600

10 cacaacgtgg ctgtgaaggg cacgttcgac gactgccagg ctatcgtcaa ggacctttt 660

gccaacgtcg acttaaggc caagtacaac ctagggtccg tcaactcgat taactttgcg 720

15 cgtatcttgg cgcagatcgt gtactacgtc tgggcctact tccgtgtca cgacgagggt 780

gtagcggcg aggttgcctt ctccgtcca acaggcaact tcggtgacat ccttgccggt 840

ttctacgcca agaagctcg tggtccatt ggcaagctga ttgtggctac caacgagaac 900

20 gatatctgc accgctttt ctccacagga aaataccacc gccgcgacat cgagcacacg 960

atttccccgt ccatggacat ttgcgtgctg agtaacttg aacgttatct ctgcgtctg 1020

25 tccggcgaga accacgacat tctacggcg tggtgcagg ctttcgagca gactaatgag 1080

ctcacgatct cgggcgagct gctctcaag gcacaagacg agatggcatc gtatgcggtg 1140

cttcaggagc aggtgcgct cactattgcg gactacaaa cgatgcatca gtaccttctc 1200

30 gacccgcaca gcgctattg cgcagcagct gccatgcact ttgtccagga taacctgca 1260

gacaagccaa actcggcggt agttgtatc ggactgccc actacggcaa gttctcccc 1320

35 gtggtgtcga aggcactagg tgctcgtgag tcagagattg agcaacacc gatcctcaag 1380

gcgctggaat cactgcccac ccggcttcc gttgccagca actcgagtga aactgtggct 1440

gagcatattc gcaagattat tgctgagaag aacgacgaag cctgtagtga ttga 1494

40 <210> 16  
<211> 1299  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

45 <400> 16  
atgagctcgt tccgtcttcg tattgccaac gcgcgccaga tcgttcaagt ttgtgcgaac 60

ggcgagccgt ttaagaccgg cgcggcccaa aaggatctgg ctgtgctcga gaatgcgtca 120

50 cttgtcgtgg acaaggcagg taagatgcc ttcgttggtc ctgccgctga cgtagagaag 180

tggtgagca cgcagctgca gcccgtagc ttgagaagg acgtggacgc tcgtgacatg 240

55 gtcgtactgc cgggtttgt ggatgcgcac acgcacccag tgtggagcgg caaccgtgtc 300

aacgagttg ccatgaagct ggctggcgct acctacatg aagttcacga gagcggcggc 360

ggcatcaaca acacggtgcg tcacaccaag aagagttcag aaactgagct gttggagctg 420

60

ctgcgtacgc gactagaccg catgttgcgt agcggtagca cgcttatcga agcgaagagc 480  
ggatacggtc tcgagactga cactgagctc aagatgctgc gtgttttaca ctccgcatcg 540  
5 acgggtgaca acgcacaccc tgtggagatc gtgtccaact acctgggtgg tcaactcggt 600  
cctgacggca tgactgctgc tgaggccacg gaggatatca tcacgaagca gattcctgct 660  
cttgtgcagg ccaagaagga cggcaccatc tcgccgaat tcacgacgt gttctgcgag 720  
10 aagggtgtgt tcgagcaca cgaactctac cgtattctag aggcaggcaa gaaggcggga 780  
ttggacatta acttcacgg tgatgagatg tgtccgatgc agtccggtac ctggcgga 840  
15 actctgggcg cccgtgcaat ctgcactgt gagatgctga ctgctgagga tctcaggct 900  
atggcagcgc acaagccaga gcctgtattc gccgtgcttc tgcctactac caagtatatc 960  
ctgaagctgc ccaatccgcc agcacgcgac atgacgctg ccggtgttcc tgtgctctg 1020  
20 ggcagtgact acaacccgaa cgctcattgc cttccatgg cactgacat gaacatggca 1080  
tgtgtgctgt tcggtatgac catgaaggag gctctgtag gcgccaccat caacgccgt 1140  
25 gcctcatca accggtcggc tactcacggc agtctcgagg tcggcaagca gggcgactg 1200  
gtcctgatgc gtgctacgca gtgggagcag atcatctacg aaatgggcga ccctcctatt 1260  
gaacacgtag tgaagaagg agttgtctac acgaagtag 1299  
30 <210> 17  
<211> 1846  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans  
35 <400> 17  
gcaacgaaca agtctctcg ttccacttcc gttcacctc gtcgtcatgg ccatcgccaa 60  
ttcgaacacg aagtctgagc tcgttctgga cggcgagtct ctctgtgctg aagacctggt 120  
40 gcagctgtcc aaggagaca cgagaatctc gctaagtcaa gaagcctgga agcgcggtggc 180  
ttgtggccgt gaggtcgtgg acaatatct caaggacaag actcgtgtgg cgtacggtat 240  
45 taacacgggc ttcgactct tctccaact cattatcggc cccgagaagc tcacagagtt 300  
gcaggaaaac ctcatccgt cgcactcgtc tggcacaggc gagccgttga cattcgctca 360  
gacgcgtatg ctgctcgcgc tgcgtatcaa tgtattggct aaggacact cggggatccg 420  
50 tgtgcacact ctggagcagc taatagacgc cttaacgcc gactgtctgt ccgtggtgcc 480  
agccagaggc actgtgggcg cctcgggcga ctggctccg ctacacacc ttgactcgg 540  
55 tatgatgggt gaaggacca tgtgggataa ggtggatgt cagttcgtca tcagcgaggc 600  
ctccaaggtc ctggccaagc acggactgaa gcctgttcag ctggagcaa aggaaggtct 660  
ggctatgatc aacggcacac aactcatcac gtcggtgggt gctgaggcgg ttgccgtgc 720  
60

tcagaacgtc gctaactgcg ctgatatcgc cgtcgcattg acactcgagg tgctctgcgg 780  
tactgtcaac gccttcacc cgcgattca tgcagcccggt ccgcacactg gccagatgct 840  
5 cgttgccctcg cgtattcgca cactactacg tgctgacaac ccgtccgagc tgttccgtag 900  
ccacaactac gaaggaaagg tgcaggacgc ctacactcta cgttgtgcgc ctcaggtgca 960  
cggcattgtg cagcacacga tcaacttcgt acgtggtgtg ctggacgtcg agatgaacag 1020  
10 tgccacagac aaccccatgg tcttcacggg tagtgccgag gtcacgacgg atctgtctcc 1080  
ttcaattgac acgaatcaag tcaagcccaa catcgaacag gtagaacacg agatcacgga 1140  
15 tctgaatgac gccaaggagg agatcaagcg tcttaaggct ctgttgacac agaagcagaa 1200  
gcctgtggaa caccgcggcg cgggtatgaa gcgcacatcg gacacgttct accgtggcgg 1260  
cgggtggctt gtcatctctg gcggcaactt ccacggcgag tatccggcta aggtgctgga 1320  
20 ctacctggca attggtatcc acgagattgc tagcgttagt gagcgtcgta ttgagcgtct 1380  
agtgaacca acgctcagca acctgccggc ttctctctg ccagagggcg gctgaactc 1440  
25 gggtttatg attgctcact gtacggcagc cgctctggtt tcggagaaca aggtgctcac 1500  
acaccgctcg tcggtggact cgatctctac gagtggagcc aaggaggacc acgtgtcgat 1560  
gggaggcttt gctgctcgta aggcgcttac gttgtggag catgtcgaga ctgtagtgc 1620  
30 tattgagatt ctggcagcgt gtcaagccct tgacttgctg cgtccgctgc gtacgacgga 1680  
ggctcttgaa gctgtccacg gactggtacg caccgcgtg gctaggtttg acaaggatcg 1740  
35 cttcatgaag cccgacattg acgccgtgct ggacctcgtt cgtagtggag ctatctcgca 1800  
cgtttagct cgttctgt caaaactgca cgtgtcagga ctttaa 1846  
<210> 18  
40 <211> 1218  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans  
<400> 18  
45 ccgcacagag caactgccac taggcatcat gctgcaccga cttggccgcc gctcgactgc 60  
cacttcgcc cagcggtcac tgcgccgac agccatgacg ccaccgcagc gccaatcctt 120  
tcatttcagc tcgtcagcac gcaagccggc atctttggat gctcagaacc gcgtagctgg 180  
50 tgctgcctcc ttttcttg acgccaaggc cgtttgcaag ggcaagcgct gtgcattggg 240  
caagaacaac agcgggtatt gagctaacc ggccacatgc ggggaggatt cgttcttctt 300  
cacacctgac gtggtgggcg tggctgacgg cgtcgggtgt tggaaacgaga acggcgtgga 360  
tccaggcaag atatcgcgct cgctaatacg caacgcggca ttattgtgc agcagcagac 420  
ggccaatagc gagagtgcc caacgcaaca ggttctggct cacggctaca agcaggcgct 480  
60

gctggatgac gaggtggagg cgggtagcac gacagcctgt atcgtgagac tgaagcagtc 540  
gtctgagggc aaacccgtgc ttgagtactc gaacctcgga gattctggct tcgtggcat 600  
5 ccgcaacggc gagataatct tccgcagtaa attcaggtt cgaattgact gttgggagtg 660  
acagtagaag agttactgac ggcgttgct tagtattatg gacgtgctcc gtaccaactg 720  
gcaaagatcc ctctgcgggt taagcagtat ggtgctattg agaatcacc tgatgatgta 780  
10 agtctgcttc gcatttggat actatttatg ctggagacag tacaatgcta acggttattg 840  
ctccaggcgg actcgggtga gattgacgtg caagacggag acctcgtgt actagccact 900  
15 gatggtgttt gggacaactt cgccccgac ctccagaaag ctcttcgca gttcccgta 960  
agattcttta ccgccgtgt cgagctacct gtaattactg acttgttctc tcgttattgt 1020  
ctgtatttc taccgtagcc gatgctctcc tggcgaagat attggtcagg tgaactcgca 1080  
20 tctttgtgg atgtattgc agagaacccc gacaaggctg ccgaaaatat cgtctggcc 1140  
tcgtccgcc acaacctta gcccgcgac atcactgtcg tcgtggcaa gtagtcgtg 1200  
25 atggcatcaa agctgtag 1218  
<210> 19  
<211> 735  
<212> ДНК  
30 <213> Phytophthora infestans  
<400> 19  
atgaagcagt tactgcagcc gatctcgttc tctggtgctg cgagtgtgt cgtcgtggtg 60  
35 gcaaagcaac gcaagaaacg ctgccgtgcc aatgacaagg aagatgacgc tgtaaggac 120  
gacgaagaga ctgagacagc agaggacgaa ctggacgagg aagaccaacc cacgcgactg 180  
tacgtggcca atgtgggcca ctgtcgagct gttttgtgca ctgcagacgc ctagcagtc 240  
40 gacatgacga cggatcaca ggcgtcgcta ccggctgaac aggagcgtat cgaggcgtca 300  
ggtggcttcg tgcacaacgg ccgactggac ggcattctgc agatctccc tggctcgtt 360  
45 gacttggcgc acaaacagga tggccacttg gtggtcacgc cagatgttgt ggagcatctc 420  
gtgaaccctg cggaccagtt ctgtctgctt gcaagtgcgc ggctcttga cgtgttgacg 480  
tcgcagcaag ctgtcaactt tgtctgcgt aaactcaga ccatggaga cgtccaactc 540  
50 gcagctcagg agctgggtct caaggcgcaa gcttacttcg cacacgataa catcagtggt 600  
gtcattgtgg cgttgaacca gaaagggtgac gcgtaaatg aacagcggct tctattgact 660  
55 acggaagatc ggagaccgac gaagaagcag aaaacccgga gatcaagctc gagatccaag 720  
aaattatgaa caaga 735  
<210> 20  
60 <211> 1845

<212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

<400> 20

5 atgcgacgca aggagaccaa ggtgtgttg acgctcgaag aggtgcgca ggccttcgag 60  
cagcagacgc cgctggccgt caaggacgcg ctgggtgtca tcatgaggc gcagttcatc 120  
atgaacctgg agccgaacct tgtggccgtg cggcaaagag ctcaacata tgttttga 180  
10 gatatccatg gccagttcta cgacctgatg cagctgatgg acgccgttg cggtgccgac 240  
ttggccgagc gtgatgtcca gctggtgtt ctgggagact acgtggaccg cggggccttc 300  
15 tcgtgcgaag tgatgtcta tctgctactg ctcaagatcc gattttccga caaagtgtt 360  
ctctccgtg gcaatcacga gtgcgaatcg attcatcct tctacggatt tcgcaacgag 420  
tgtaagggga agtacggcat ctacgcctac taccattct tctcctgtt ccaatcgatg 480  
20 ccagtggctg cgctgctgc cacgtcgcgt gggcaagttc tgtgtgtgca cggtggcctc 540  
tcacccgagc tgaaaacaat cgaagacatt caaactatg accgacggcg ggaaatccct 600  
25 accacggggc tgttatgca cttttatgg tcggaccca agacttcgca cactcgcgat 660  
gtggacgca aggtggacac tcagccagga tgggagccca atcaggcccg tggatgctc 720  
tactactca attcggcggc attgttcgag ttttaggca ccaacaagct gctgtcgatg 780  
30 ctctgtcac atgagttcga ggatgaaggc ttcacgtatc actcaactc gcaggagtat 840  
caagagctgg atactcgagt ggacaagtcc atgcctccac tcattaccgt ttttcggcg 900  
35 ccgaactact gcgacagcta cggcaacacg gccgcctatt tgctctccg gaatgaacct 960  
ttctgtggg aaatccagca aattaactc gcgggacatc cagccccacc gattgcgagc 1020  
gcagaacgag gatccgacat gtggcgacta ttcaatcaaa cggtgccatt cctccagca 1080  
40 agcaaggaat tctttgagga agttttgtg ttagcagaag gacgacgacg tcttacaagt 1140  
gaaatgcacc cacaagctat ccgaaagatg ttgatgacg aagtgaacaa atgggaattg 1200  
45 gtagaagaaa cgccaacgcg cagctcgggg ccagcgtctc ctctcgaat ccaccgcaga 1260  
cctctttga gtaatctga cgagacccaa acggacgagc gtccaagtct gcttactccg 1320  
caagagatgg acacaattaa gctgatgtt tcattaatgg acacggatgg cagcttgaa 1380  
50 ctacgctga ctaaagtgc tcagttcatt ctcaatattc tgggtgaaaa aatcagcact 1440  
gcggacgcgg aggcattatt ggatgcttg gactacgacc gcaacggagt ggtggatttc 1500  
55 gcggatattc tgcgtgggt tgccgtgatg aaggcgaatc gcaacaagca cgagtcgagc 1560  
cgactcctga gttggccaac tgtacagagc ggtgtgcga tgttgactcg tgggattttt 1620  
tccagtaaag tcttgctatg gctcgattc ggctgcttac tacgcgatat tatcgtcca 1680  
60

aagcagcgaa aagtgatcaa gtcgtcgtcg atccgagtcg tgggctcagc gtcgctagtc 1740

ctgtacatgg tgggcgtatt gtcagggcga gagcgtggct ggctgcggct tttctctctg 1800

5 caacgcgctg tcggaattat gacgcagcga ttcgtatcaa agtag 1845

<210> 21  
<211> 1489  
<212> ДНК

10 <213> *Phytophthora infestans*

<400> 21  
atgatgccgc ggggcttacc accacgaggc ccacctggca gttcccacc tactagtgtt 60

15 gcggctgtac cccctgcagg cggtgccgct gcagctcgtt tcggcaagct ctctgtgaag 120

gtgttgctg cgtttgacct aaaaaagctg ggaatgctgg aactgcaga cccgtatgtg 180

aagctcacga tcggcacgca gaacgtacag actaaggctc aagcaggcgg tggcaagacg 240

20 cctgagttta atgagacct cgacttcaat attgcaaccg agaaggagct cgtggtcgaa 300

gtttgggacc aagaaaaagg aggacaagac cggttcatgg cgcaggcgaa ggtggagatc 360

25 gtgtcgtggc tatcaaggg tggctttgaa ggtgacgtcg agctacggga tcgcgagAAC 420

agccctgccg ggaagctggc gatcgttgcc aagttcacga agcccgaat tggcgcgaca 480

ggacccgtca aggctccacc catggcccct ccgatactct caggtcctgc agtggtccg 540

30 ttgccccag gagcgaatgc cgtatctgtt cctggtgctg tgccattggc accgtccgaa 600

ccgcctcgag acccgaacgg caagttcacc gacaaggaga ttctcgaggc atttaaagcc 660

35 tttgatctgg atcacaataa ctatgtgggt gctgcggaaa tccgcatgt gctaataaat 720

attggcgagg cgcctacaga cgaagaagta gatgaaatga tcaagatggt tgacaaggat 780

ggcgaatggc aggtgagctt tgccgagttt tacgcgatgg ttacgaaagg gaagcagccc 840

40 ccacccggat tgggtgtcac tacagctctt ccggagaaag ctgcagctcc tggaggtgca 900

gtttcgggcg ctcaggccat tcagcttctg aatcagcgca aaatggcgct ggaagagttt 960

45 gcacgcgata acggtatcaa acccgagagt gtgaagaagg cgtacaagcg attccaagcc 1020

acagataaag atggatcggg ccagatcgac tactcggagt tctgcgaggt gctgcaggtg 1080

gatccatcgc cgagtgca gaaggtgttc cagttgtcg acaatgacaa gacgggtcgg 1140

50 atcgacgtcc gggagttcat gattgcgttg tctaatttca cgggtgctga gaaggaggag 1200

aaactaaagt tcggttct cgtgtttgat gaagatggt acggtgtgat cacgcgacaa 1260

55 gaactgatga agatcctgaa ggcgaaccac atggcctcta gcgaatcga agttgcgcgc 1320

aaggcggaca ctattatgtc ccaaggggat aaggacggcg acggagtat ctcgttcgac 1380

gagttctcag ttgtgagcaa gaagtttct aatattttgt tccagccta cacgctaggt 1440

60

acggccaaag attagaatac cccatgaata caatacctt atctctgt 1489

<210> 22  
 <211> 2862  
 5 <212> ДНК  
 <213> *Phytophthora infestans*

<400> 22  
 10 atggctagca agctcaacgc gttctggcc gcggtgctg cgaacgcaa cgtgcccagc 60  
 ccgccaaga cagcgccgc cgtgatggc tttccgcagc ttgagttca ggaagcgccc 120  
 gagaacgtg ggcattgc cccaccacg ccgcagccg ccgtggtgc tctcgccag 180  
 15 cgcaaaaata acccagcct caagctggag ctggactga accaggaaca tgacagacct 240  
 gaggatgac gagatatgc gcgtcctcc cctctaaaga gttcatggc cgccaagca 300  
 gccgccgta agctgaaggc acagacggag aagcacgata tccaacacc agactggcg 360  
 20 cgcacaagca gcgggtccg gctggacgcc aagtcggagg cgggacccat gcgcatggc 420  
 agcgtacaag gctcgacca ccgtcgctg tccaccgaca caacgtatt taaccggtat 480  
 25 ctgctcaac aagcagacct gcatattagt cagcacagg tgcagtatt cgcaaatgc 540  
 ccggtcatta ccgcactgc agctgccgt gatgctctg aatgcgaaat gagtgtgat 600  
 aataacgccg acgaggagca cgcgatcat gtacaggaac ccgaggagat cctgctgtc 660  
 30 ttccgactc gaggcacat cctgtgtcc agtgcgctg aaattgtac acgagctacg 720  
 aacctcatg cactagagca gaacgtcat tcatctgtg cgccgtacac ttagtggg 780  
 35 gatctccag gccagttca gactgtgc gaactctcc gactacagg ctctcctgcc 840  
 gtggacaacc cgttctgtt ctaggtgac tatgtggacc gtggcgtgc tctgtcgag 900  
 ataacttat tgctctggc ctcaaagt gcttcccg acagtgtca ttattgcga 960  
 40 ggcaatcac agtgtcgag ttgagtaca ttacggtt tccgtgccga atgcctcaag 1020  
 aagtaggac ctgtgtcta taaccgtat atcaagtgt tcgagagat gccactggc 1080  
 45 gcagactcg agacagcga cggcacgtc ctggctgtac atggcggact gtcgcccga 1140  
 attcagttc tgggggacat taacggaca gtgaaccgt ttatggagc tgaaccaa 1200  
 ggagctctg gcgactgtt gtgtcagat cctgcgaagg gcgaagctca ggagcaggag 1260  
 50 tgggcacca atgggatgc tggctgtc ttcacatta atgaacgcg ctgtcgcaa 1320  
 ttctgaagc gcaacaacct cctggccat gtacgtgtc atgaactga agaaaatgt 1380  
 55 tataaggagc actttcgaca cgaaggagc cgcacagaag aagacgagga cgggaaactg 1440  
 gctctacct cggtgtgac ggtgtttca gctccgagt actgcaacac gaaccacaat 1500  
 gtcggcgca cgctgaaaat tccctggaa agacaaaatg gtcgtctgt gcagtatcag 1560  
 60

cagcataaac gcagtcaatg ttccgagttt gagttcacgc gagccagcga ggagacggcg 1620

gccaaaggcgt ttctggagga gaatttgccg ttctgccga ttgacttta cgacttggtg 1680

5 aatgtgtgtc ggcagctgcg gctcactctt gagagagcag cgagtatcac cccagcacct 1740

gcttcagaac ctattcgcaa gctgtcgctt gtgtcgctgc tgtgtgcgcc agcaactagt 1800

ctggaaacga ggatcgagga ggaagaccca gagcttcccg tgtcgccacc tgcttctgca 1860

10 ccagcaaatg aagtggagaa ggaagctaca gcaactctga aggcagtggg cgagtcgttg 1920

caggattggg aacttgtga gacgaagagt gtcgaggttg acactaggaa ggtgaagaaa 1980

15 gacaagaaga aggagaaaaa ggagaaaaaa ctgaaggaga agatcgaaaa gaagaagcaa 2040

aaggacaaga agaagtggga tacgagtcga attgctagcg gttggaagct ctgccctggg 2100

ttgtacgct tctacgaccg ctacttctca agagacagta tgaagaagag cgagccggag 2160

20 atcacctcag ctctggcca ttaggcaag cgcccgctgt ggatctcaaa ctacaaaaca 2220

ccttttagac gctcgacttc gaccggcgag gccccaccg acactgaaac tgtcgacacc 2280

25 gtcttgact ctaccggtcc tgctcgacgg aagagtatga cggattggat gccatgccg 2340

tcgttcgagc aggtggcgca gctgacgaac acgcttcagg gtcacattcc cgtgcagtcg 2400

aacggcgta atgtattcac gaaggcacag tggcaagctc tgaagtgtga cttctcgatc 2460

30 ctggatctgg atggcaatgg cgtttgatg gaagagagct tcgttgtct cctcgagag 2520

caagacagcg gtgggttgag ttaaagtga gtgaggatgt gaattgttg ctaatttaa 2580

35 ttgtgttggt ttgtgtgtc agatgcatac gcgactgaag acgaactgag tctgttgatg 2640

gaagtcatgg actgcaacgc cgacaatatg atcactgagc aagatttctt gctattcgca 2700

taccgagcct tactcgcatg gaaaaaagct ctacatggct ccgactagag tgtgcaggag 2760

40 cggaatcgaa ctgacgtagc gaagtatgaa caatgccaga ttagaatcca cagtagcgcg 2820

gcatatgcc ataataaga acgagaaatc tattagtga aa 2862

45 <210> 23  
<211> 984  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

50 <400> 23  
atgtccgcgc cgacctcca tcgatcattc cgcaattgc agctccaag tcaacagtcc 60

aagctccaaa ccgaaacaag agtgatgac gcaatttca cagctgagga ttccactct 120

55 gccgtggccg ctgcgactca gaagccgttg gttgcctgtt tctccgcgcc gtggtgcggc 180

ggttgcaagt tgggtggccc caaggtggac aagctagccg aggagcttgc cgagaccgtc 240

tcgtttgcca gggtagtgc tgaggagcac gagacgttat gcgaagaagt ggaagtggac 300

60



agcttccgc acttccgcgt gtacaggac ggcaagattg tgggtgacta cacgagctcc 360

aagttcgaca aggtggagtc cttatccgc ggccatgtgg ctctaatac tgtcaggag 420

5 accgaggaaa cacctgaagg cgaggttacg gaggaacgg cggagaagga tgctgcgaaa 480

gaggaggaag tgtcagctga ggctgcgacg gaaggctcaa agaagcgcca ggagcgtgaa 540

gaggaggaga cgaatgacga gcaggtggct aagaaggcca agacggagga ggaggcgtcg 600

10 acggaggctg agaaggctgc aactacggag ccagctgaga aggttgagga agcggcaacg 660

gaggagaccg agacggctga aaaggattca tcagaagaga agatcgaagc tgctcccgtt 720

15 gagaagtctg aaacggcccg gaaagacact gctccagtcg atgctgctgc tgcttaaagc 780

acactgctct gcttgcatg atgtctaaat cgacggacat cttctgtggg ctagctgggg 840

gctgattgat ccagctgaaa tcaagatgaa acaataaaaa aagaagtatt ttatggcgat 900

20 tcttttgtt gtgcccgata tcctcgacat gttctgaata catgtacatg tgctctgcct 960

tctgtcaga acaatgtgga atgc 984

25 <210> 24  
<211> 501  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

30 <400> 24  
caagcagtga agctaaggaa caacaagatc aaacaaacca tacacctatc tacgatgcct 60

gtcgagatca acacccccga agagttaac gccgctatcg gcgagaagaa gctgacggtc 120

35 gtgcagtctc ctgcgccgtg gtgcggcggc tgcaagatgg tggccccaa ggtgaccaa 180

ctgatggagt cggacttcgc tgacgtcaag ttctcaagg tgagcgcgga ggagctagag 240

gatttctcgc aggagatcga cgtcgacagc ttccaacgt tccgcgtgta caaggacggc 300

40 gaagtggcgg cgtcttacgt gagtccaag ttgagaagg tagagcagtt catccgtgag 360

aatgcgaagt aagcgtgacg gcgatttcgc accgtctatc aaagctcgcg catggtgatc 420

45 tacaggcttg atgacctacg ctaagatggg ggagagcgag tgagtttggg ccccggcatt 480

gcgtatcggc agtggactga a 501

50 <210> 25  
<211> 734  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

<400> 25

55 gacaagcagt gaagctaagg aacaacaaga tcaaacaac catacaccca tctaagatgc 60

ctgtcgagat caacaccccc gaagagtta acgccgctat cggcgagaag aagctgacgg 120

tcgtgcagtt ctctgcgccg tggcgccggc gctgcaagat ggtggcccc aaggtgacca 180

60

aactgatgga gtcggacttc gctgacgtca agttcctcaa ggtgagcgcg gaggagctag 240  
 aggatttctg cgaggagatc gacgtcgaca gcttcccaac gttccgcgtg tacaaggacg 300  
 5 gcgaagtggc ggcgtcttac gtgagctcca agtttgagaa ggtagagcag ttcattccgtg 360  
 agaatgcgaa gtaagcgtga cggcgatttg cgaccgtcta tcaaagctcg cgcattggtga 420  
 tctacaagct tgatgacctc cgctaagatg gtggagagcg agtgagtttg gtccccggca 480  
 10 ttgcgtatcg gcagtggact gaaggatgct actaatatat tgaaatagga aaccatttta 540  
 acgaagacct tgagcctcag gctcattctc aaccggaaat atagaccgca tgcggtccca 600  
 15 ggaggacaaa tagagtcttc taattggctt acggggtagg tggtcgcatg cgacgaagtt 660  
 cataaaaaga cgctcatgcg gcaatttgcc cgcatgcgct aaacttgccg cacagtagag 720  
 tgtagggggtc gagt 734  
 20 <210> 26  
 <211> 1448  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 25 <400> 26  
 ctcgagccca agcgacaatg gcggcgggtga ctggcagtggt ggtaagcgtt cagagtgtgg 60  
 cgcatgtcga cgaggcaacg gcgcgcgagt cgacgctatc cgtgagtttc ttctgggccg 120  
 30 aatttcacga ggcctgccgt cccaatggac agctggacgt ggtggtgcgc cagctcgcca 180  
 ctctgcaccc tcgcatccgc ttctcaagg tggcgccga ggagattccg gagctctcgg 240  
 35 agcgttttca gatcgccgta gtgccactt tcgtcgtcgc acagggtcgc gccgtgctgg 300  
 acaaactcga gggcgccaat gtggccgaac tggccaagcg cgtggatgtt ctgagcaaga 360  
 gcgtggccaa gagcagctcc acatccgcgt ccacagccga ggacgccccg aaaccgctgg 420  
 40 atgacgcgct cgaataccgt ctcaagaagc tcacagcgc gtcacccgtc atgctcttca 480  
 tgaagggcaa tccgacggag cccaagtgcg gctttagtgc acagatggtg gcgctgttga 540  
 45 acgaagaaaa gatccaattc ggcaccttgc acatcctcaa tgacgacgaa gtgcgtcaag 600  
 gactcaagca gttttccaac tggccactt accctcagct ctatgtgaat ggctcgctca 660  
 ttggcggact ggacatcgtc aaggagatga agtccgaggg atccatcgtc gagcaactag 720  
 50 gactcacgaa gaacgtcgag gaggctgaag ctgccttcca agagagtctc cgtgcactcg 780  
 tcaactccgc tccagtgtg ctctcatga aaggccatcc gtccgagccc aaatgcggct 840  
 55 ttagcaagaa gacagtcaag ctctacgtg accaccagat tggcttcagt tcgttcgaca 900  
 tcttgagtga cgagcaggtg cgtcaaggtc ttaagaagtt ctccaactgg cctacgtacc 960  
 cgcagctgta cgtcaagggc aaactcgttg gtgggctgga tctcctgaac gagatggcgg 1020  
 60

aggacggcga cctcagtga cagcttggcg tggagaagaa ggccaagaag gagaacaaat 1080  
 acgaacagct aatcaaccgc gctcgcgtca tgatcttcat caagggaacg ccccagcagc 1140  
 5 cgcagtgtgg cttcagtcgc aagctcgtgg acatcctgga cgccgagggc ttcaagtacg 1200  
 actactttga catcctcacg gacgacagcg tgcgtcaggg actgaaggag cactcgaact 1260  
 ggcccacgtt cccgcagctt tacgtcaatg gcgagttgat cggcggactg gacatcgtgc 1320  
 10 agcagctgca ggaggacgga gaactcgccg agtcaagga gtagacgacc aggtcatcct 1380  
 tcgcgtaaaa cgaatacaga aaatcatttc tctatcctg catgtgtatg ctgggtttga 1440  
 15 tggtttaa 1448  
 <210> 27  
 <211> 1106  
 <212> ДНК  
 20 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 27  
 gtcggaagag gtcgtcggtc gtccatgcag ctgcagacgt tggcgtacgc catctccggc 60  
 25 gccttcacgc tgctttccat tatcctttcg ggatggctca tctggacaca cttgctgtac 120  
 aatccgtcag ccggcatccg caagcacgtg atccgcatcc tcatgatggt cccatttac 180  
 gcgtaacgt cctacatggc gctggtattc aacgagtcca aactgttgtt cgagactgtg 240  
 30 cgcgatctgt acgaagcctt cgcgctctat tcgtttcact gcttctggt cgagtatctg 300  
 ggtggccaat ccgttctagc aagcaccatg cgctccaagc cgcagatgac acacgtcttc 360  
 35 cctttctgct gtgtacagcc gtgttccatg ggcggcaagt tcctgctgca aaccaccatc 420  
 ggcattctgc agtacattcc cattaagctg cttatgagca tcgtcatgct catcacgagc 480  
 ttggcaggtg tatacggaga aggagagctc atgaaccccc tagtgagcta cggctacgtg 540  
 40 tgctttatcc tcagtgcgtc gcagacgtgg gcactttact gtctgctgat attctccac 600  
 ggagctcacg aggagttgca gcccattgcg ccatggccca agttcctggc cattaaggca 660  
 45 attattttct ttacgtactg gcagtcgac atgattagtg gacttgtaag tgcggggtc 720  
 atctcggaga agtggcatat cggctgtccg gactgctggg acgctcagaa aatgcctcc 780  
 gcactgaatg actttgtcat ctgcgtcag atgctgggct ttgccattgc ccaccactac 840  
 50 gccttcgca ttgaagactt ttgtcgccg tcaggtacgg caggtgttag tgtgccgtct 900  
 tcgaacgtca aggcaccact gctggccaat ttatggacg ctatcaacgt gacggacgtg 960  
 55 tcgacagacc tcaagaactc ccggaacgag attctacca agaaacaggc gctggctgcc 1020  
 aagttcgagc gcatgaactc gacttcacct ggtggtggca tgtttaata gcgtcagta 1080  
 aaaggagcg atacagtaag cacacg 1106  
 60

<210> 28  
 <211> 2007  
 <212> ДНК  
 <213> *Phytophthora infestans*

5  
 <400> 28  
 atgagctcac aggacggcgc tggctcgcga tctgaggaca agaattggaga cggcgtgtac 60  
 gtgacgaaga accgctcgct cttctccatg tggctgcacg gcaaggcgat tccaagccgt 120  
 10 tctggtccgg ccgtggtgtt ccgctcggcc gacgtgatac aggaagggtta ttgctcaag 180  
 cagggcctgc gacttaaaat gtggtcccgc cgctacttta tactgcgact cgaggagcga 240  
 15 cacatgactc tagggattata taccagcaag gactctctga ctttatgctc cgagacgccc 300  
 atcggaccag gacacttgtt gggacacgtc aacacgacca aataccgcg tcgtctcgag 360  
 ttgcgctgcg gtacaaaggt catggtactc gaggcggagg accaaaagtc gtatgaagcc 420  
 20 tggaagaacg ccctccaaga agcgatacgc tggaaccacg ccatggtgcc ttcaaaagac 480  
 ggcagttttg tcacgtacgg gaagcaagcg accgaggata taaaacaaga ggaacgcagt 540  
 25 cgcgccgagg cggccaagaa gctgcgagag aagcagcgag cggacgaggc cgccgcccgc 600  
 gccaacgccg ccaataaacc caaatatctg cccgcgacac gccccgggac gcaatgcttt 660  
 atgacatcga atacaagatt tgagattccc tctcatttcg aatatgtcaa aaccatcggc 720  
 30 tcgggcgcct acggagtcgt catctccgct acgagctcgc aaacaggcac cacggtggca 780  
 attaagaaca tccagcgcgc gttcgacgac ctgacggacg ccaagcgcat tgtacgcgag 840  
 35 attaagctca tgcgccactt gaaccacaag tgcgtgcttg gggaggagga cattttcgag 900  
 cccgtggcgc tgtccaagtt cgaagacgtg tacatttgtt cccaattgat ggctacagat 960  
 ctccaccgcg tcatctactc gagacacgcg ctgtcggacg aacacatcgc cttctcatg 1020  
 40 taccagatgc tgtgtgcat gaagtacgtg cactcggcca acgtgatcca ccgagacctg 1080  
 aagccgtcca acgtcctggt gaacgccaac tgcgagctca agatctgcga cttcggactg 1140  
 45 gcgagaggcg ttttccccga agaagagctg gaattgacag aatacgtagt cacaagatgg 1200  
 taccgagcgc cggagatcat gctgggggtg atgaagtaca ctggggaggt ggacgtctgg 1260  
 tccatgggct gtatcttcgc cgagatgatg tcgcgcaagc ctctttccc gggacaggac 1320  
 50 tacattgatc agctgcatct catcatgaac gcgctggggg ctccaaacga ccaggatctc 1380  
 tacttttga gcaacgcgcg tgctaggaag ttcatgaacg ccgagttcca gaagcgcgga 1440  
 55 cccaaccgga cgaagcctct ggcgacatg ttgcagatt cgcctccaga cgctctggat 1500  
 ttactgcaga agatgctggt gattgacctg aataagcgga ttagtgtgga cgaggcgctg 1560  
 gcccatccgt acttggctgc gatccggaat gtggaggacg agacgaccgc cacttcgagc 1620  
 60

ttcgattttg actttgagaa cgagaaattg acgaaacccg tgctgcagag actgatctgg 1680

gacgagatga ggcatttcca ccctgaagtg ggcgacgaga cagcgacgga gggagatgac 1740

5 agcagtgtcg ctaccacgca ggcttctatc acacccgtga cacctgtgac ccccgctacg 1800

gtagagcaag acacaacaga gacgacaagt gacagctcgg acgcccctgt caaggtatcg 1860

acgccaacag cgtcagagga agccaagcca gaagacgaag acggggaaca acacagcacc 1920

10 aatagcgaca agatccatag gacagacaaa ctgacagacg cacagacgcg acaagaggcc 1980

ggcgaaccag ctcggaagt cgcataa 2007

15 <210> 29  
<211> 2053  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans

20 <400> 29  
gctcaagcca gagtccaac gctcgttcaa cgccattca acgctcgagc aacggctgat 60

accgacatga accgtaagct ggagctcatg gagctggaca gcggcggcgc cagccctaac 120

25 agcagcaaca gtggaagccc cagtccgact ctgacactgc tgcacgctc tgattcgagt 180

agcagtaacc aggggggtga gatgcctctt gtcgggggtg cccacaaccc agacgtacgt 240

cgtctgcctt tctctatttg tagtgatagt atttcacgt agacgtttgt tacagctgag 300

30 ttatttgagg gcaactgcaa cacatggagg cagcagcacg accagcagca agtatggcag 360

ccccgaggag tcatttggtg aagaggacga ggacaacaac aagaagacgg cgcgtcgcaa 420

35 gaccgactcc aacagcaagc gtccgtggac acgcgaggag aatgacaagc tcattgcaact 480

cgtcaagcag tacggcgcca agcgtggtc tctcatcgcc atgcacctgc caggccgtgt 540

cggtaagcaa tgccgtgaga gatggcaca ccaattgaat ccgtcgtgcc gcaaggacgc 600

40 atggacggct gaagaggact atgtcatctt cgagtccac aagaatgtgg gcaaccaatg 660

ggccgagatt tccaagatgt tgctggcag gacggacaat gccatcaaaa accgctacta 720

45 ctcgacctg cgtcgcatgc agaggcagtc aatccgcaaa aaagggtcca tgcgtgatgg 780

caagagcatc cgcgtggcgt cagtcacgtc gtctcccgtg caaaacaaca accaaatggg 840

tcctgtctcc agccagcgat ctttgactgg catgcaacac cagttgccac cgcaacaaca 900

50 gcttccgcac cgaggggtga gttccaatc cacatatcaa cggctcttct cggaggcctc 960

tggggacgcc gcacgcgtga gtcccgctgc ttcgaattaa ttggagagga tcgatactaa 1020

55 ctattatggt gttgatatat aatgcaggat ggcaactcga tagtggactt tgaacgttca 1080

aacatgatgt ccgcatcact acgacaaccc acgatgtgtt acccgctaaa cggaggtagc 1140

tttcaaacg ggatgaaccc ggactatagt cgtcccatgt ccatgacgtc gtctccctgc 1200

60

tcggtgtccc ccgccgatga tctgaatcat aacagccaga acgagacctt tgactacgtt 1260  
ccgatgcaat cttcgatcca gcgtgtacgg tcatctagtc cggttgtgat gggcactcct 1320  
5 ccttcgacgt caataggcat gatgaactca ccttacggct cgcctgcaag tcacatccaa 1380  
cagcaacagc ctggcaacta catgatggca ggaaacccat attctaaca caacgtgcgt 1440  
gggatgtact ttgggacgtc tgggcttgct cagcaatacc gtctgatgc ccctgtaaac 1500  
10 gtccacaca agcgcctcct cgacgtccag ggttcacaac gtgatatgtg gaagaatgat 1560  
agccctgtat cggtagcagc accgatattc cgcggtatgc cggcgacgca catgcagcaa 1620  
15 ggtcaagtca gcgaaccgat ggcattgcag cagtccaagc cagctccat gccactgtat 1680  
aggcaagcgc cgaatatggg tcacttcaac agcatggagc aggtatggac ggatgatgca 1740  
tatctgtgat tggaccgcca ttgtggcatg ctctgatag actgcatgaa acaaatttaa 1800  
20 agttattact taccaaagac agtggcttct ctactcttt acttggttaa ctttttcgc 1860  
ttgatctaca gcggtttcac gttaggtagc ttagctcct gatcgagttg cttattaaat 1920  
25 agcaccactt gttgacaggg attgatatta aaatgaattt tticagact aatatattag 1980  
ctgatattac atgtacaaa atgtcaaact aatagctgac tattagttg aaaaaggcgc 2040  
caaaacaagc taa 2053  
30 <210> 30  
<211> 1173  
<212> ДНК  
<213> Phytophthora infestans  
35 <400> 30  
atgcttggcg acgtagacag ttccggcggg ctgggtccca ttccgtccat gaacgcgggtg 60  
ttggagaagc gcacgtcaag tcagttttcc attagctcgc tgctgcccc gtccgtgagt 120  
40 gtctcgagta ctggtgtgtt aaacacaact gttacacgga gcgagagcgc agtgacagat 180  
agtgtgaag caactaccga taatgaaggc caaggatctg caccaagggt gtctaccaca 240  
45 actgcagagg ggtctggtgg caacaccaag tacatggacc ccactacggg cgactacatg 300  
taccgggaca acgtcaagcc catgagcttc tacgacaaac aacgtcttgt gcagaagatt 360  
acgatgcttc ccagtcaata tctgcgtggc ctcatggacg tcatcagcaa gtaccagcca 420  
50 gatactgtac gtcagatcga cgacgatggc tacgcgttcg atctgggtca gatgaacgag 480  
aatactgtgt gggctatcag tgactacgta aaggactcga tgattgagct ggatggatac 540  
55 attaaatcac tcaaccaaac tgctattgac ctgctgccg gtgaggatcg acatggagaa 600  
actgttctga cggccgcaag tgccggtaca cccaccagca gtgcggttcg ccacttgacc 660  
gacactctgg cgatgaacac gtccaagatg tctgtcatca ctaataacga gaatcagaat 720  
60

aaattcctgg aacaggtgga gatgtattcc aaacccaaag tgaccaagtc gcgtgtaaag 780  
 cccagcaaga agcaccagtg tccgacgtgt aacaagcaat tccgaggacg ctccgagctg 840  
 5 cagaaccata tcagaactca cacaggcgag aagccactca aatgctcgta cgcgggatgc 900  
 acgaagcgat atgcacacag ctggaatctg cgtgcacacg agcgaacaca cgccggaata 960  
 aagccgtata catgtcacta cgacggctgc gggaagagct tcgcccactc tgtatcactt 1020  
 10 aaggaacata ttggatgca tgcaggattc cagccctacg tgtgtccgta cgagggatgc 1080  
 cagaagaagt ttacgcaggt ctcaaattt gcccgacaca agaagacgca cgagaaggaa 1140  
 15 gacaacgaac actcgattga gagcgataat tag 1173  
 <210> 31  
 <211> 754  
 <212> ДНК  
 20 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 31  
 atgattaag tcgcgggccg tgtgtccaag aaatccgtcg tcgatgtgta tgcactctc 60  
 25 agtgtgcccg acagccccgt acttagcacg gcacagaaga acgtggagct gaacgtcgag 120  
 aagttcttcg tggtagcaa gactctgcct gaattgcctt ccaggtagaa gacgtgccc 180  
 gccccgacgc ctctgtaag gcaacggatc ctctacgtg aacgtcggtc tggaggatcg 240  
 30 tctcaactcc cgtccgctg acctgcatac acctgccaac cagtgtatca agcgcatcca 300  
 ggccgctgtg ggccagctgt tccgtgcatt cctcatccag cgcgacttcg tggagacca 360  
 35 cacaccaag ctggtcgctg ggcctcggg gagcggagcc aactgcttca cactcaagta 420  
 ctctgattag gacgtcatct tggctcagag tccgcagaag tacaagcaga tggcgtgtgc 480  
 tgctgctggt ctgagcgcg tttcgagat cggcccggtc ttctgtgctg agaactcgag 540  
 40 cacgcaccgt cacatgtgcg agttcgtggg tctggatctg gagatgacta ttaaggagca 600  
 ctaccacgag gtctggagg tgttctcgga cctgtacatc tacatttctg atggcttgaa 660  
 45 ggaacgttac gccaacgaat tggctactat caacaatcag taccggtcg agccgctcaa 720  
 gtacattaag ccgtcgctta tcatcaactt ctac 754  
 <210> 32  
 50 <211> 659  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 32  
 55 gggctccatg tcatctgcga ctttgacgg agctctctat tgtagaattc aactgactct 60  
 agacaagtaa ccatgcagaa cgaggccggc cagtcgatcg acatctacat cccgcgcaag 120  
 tggcgctat tgcgctggtg actttaatac gctcagagct actggagcta actggtgctt 180  
 60

gctattgtct gtcacgttta tatagctcgt ggaccaaccg catcctggcg gccaaggacc 240  
 acgcctcggg gcagatcaac gtcggccgcg tgaacgcaa cggcgtcttc acgggtgagt 300  
 5 cggacacctt cgctcttgct ggctacattc gccaccacgg tgagggcgac atggccatca 360  
 ccgagctggc tcgccaggcg gacgccaaga actaagcaga ccaagttgtc gtgatcgcg 420  
 gctgctgctg cgaagtggag tgtgcgttca tctacgtcta gctggcagtt caggaggctg 480  
 10 gtgattacga tatgtatcaa cagatacgtc tgtgatcgct ggcaggaatt gcggtaccgt 540  
 cgcttatgga gtcgggtgtt tgcgggttcg acctcgcctt ttgatttgat cgggtgtagg 600  
 15 cttagtattt aactctggcc aacggacgag caagaataaa gtagtcaaa cccgtcaga 659  
 <210> 33  
 <211> 1049  
 <212> ДНК  
 20 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 33  
 ctcgagcgca agacgatctc cgctatcgcc ccaccatgtt cgccagcttc gccactgccc 60  
 25 tcatcgcttc cactctccgg ccctcgagcg cagccgccac caactatgcc ggtggctggc 120  
 ttccgtcgga cccaccaac cagtgtgtgg atatttgctc cgctccgtcc aagacgtgcc 180  
 tcacttcgga cgctgcctgc ctgccaagt cgatggctcc gggcgacttc gactatatgg 240  
 30 tcctggagca gctcttcgtg ccgcagttct gccgtgacct gctaaagggg gtcgactcca 300  
 ctatttcgca ccaaacatc gatatgtacc cgaacggcac agcctgcgtg gagagtgtgg 360  
 35 tcaagagtga gctcacgatt caggtctgt ggcccaatta caacgatggc tacgtgagct 420  
 gctgcaatcc gagctcagcg gtggccaacg acccttataa cgccgctgac ttcgtgccc 480  
 cccaaagcag cctactcacc accatgggtg agaagtgggt ggacgctacg caagccacta 540  
 40 cgtacgaatc gctatgcgag atctacaacc acgagttcca gaagcacggg ctctgctatg 600  
 ccgtgacga cgctgattac atctgggtg ctgtcacgta cttactgct acgtgagca 660  
 45 cggcggaccg catcagttca gccaccgagc agatcaacaa gtgggcagct cagtcgacgc 720  
 ctgagacgac tctggccgag attgaggctc tctacggcca cagtgtcatg gtgttgct 780  
 cggctgtgga tggcaacaac caactgtcgg ctatccgtac gtgctacgag aagccgacaa 840  
 50 acatcacgag cgaggggagcg tccgcgcaga ttgactgctc agccgcgacg gccacctcct 900  
 cgttctccgt atgctccggg gactcgccga tcaactctgac tgcatacaca gccccacct 960  
 55 cggcttcgat gcaataagct ccgacgatag agcgacgggt cagtctgcta gtataaagtt 1020  
 caatgcacca gttacttaaa aatgtacca 1049  
 <210> 34  
 60 <211> 1203



<212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

<400> 34

5 atgaccaagt ggggggtgt agtggcacta acactgctgt tagcgacgcc tagtttagtg 60  
ctaggcgctt gcccacaac gtgtccgga cacggcaaat gcggtctcaa tgacgtctgc 120  
caatgcatgc agaactgggt cggcgggtat tgctcgggtc ggcaatgtgc gttcactcgc 180  
10 gcgtggcaag atacagcaca gcgcgacgac gacgcacact accacgcaga atgtggcagc 240  
cgcggaacgt gtgatcgagc tactggagaa tgcacatgtg acgcaggatt catcggcagc 300  
15 ggctgtcgac gaatgcagtg tcccaatgac tgcaatggcc acggcacgtg tgagtttatt 360  
gaggaattgg cgacggatac ggcccacaag cggattgggg gagtggcagg tcgtaaatac 420  
acgctttggg accaagagaa gatcatgggc tgcgtatgtg acgccaacta cgaaggtcac 480  
20 gattgctcga tgcgctcgtg tcctagaggc gacgatcctc tgaccccgaa tcaatacgac 540  
atggtgcaag ctattattct tgataaggct ggcggtgagg ggtacttgac gtactatgat 600  
25 ccgtacggca atgcgtatac tacggagaaa atcacgcttg gtggaacgct gagtgtcgtc 660  
tttaacca cagacgatga taccacatgt gcaaacattc agaaggcgct ccgccgttta 720  
ccgaacaacg tgctcaacac agtactgtg gtagctgttg acaggtttta tgccttcaag 780  
30 cgctctgacc caacggactc gttggggtat ggaacgttaa acaaaattgt aaatgacgac 840  
gctgcagcgt acgcaggaac cggaactcaa attaaagcga tgtgcgaggt gatttttacg 900  
35 tcggagccgg gcactacggg gtatcagaat ttgctggatt gcaatgttc gcgcgatggc 960  
gatactaagg gccagacccc gcttactact ggtgtaacgt ctggcacttg cgtcgttaa 1020  
gaagtctatc cggtagcgtt tggcagcagc aacatgcttg ccgaagatac tccagcgtat 1080  
40 cgtccattga ccgagctcac cgagtgtgct ggtcgcggca cctgcgacta cgacacagga 1140  
acatgcgagt gcttcgcggg ccacatgggc ttggcatgcc agaagcagga agcgtcgtc 1200  
45 tag 1203

<210> 35

<211> 7947

<212> ДНК

50 <213> *Phytophthora infestans*

<400> 35

atggcgcgcg ctccggcaca attggcgcag cttttactag cggcgctgct gctgtcagcg 60  
55 atgtgtgagg cgttattgcc tatcacgaac gcgctgcagc gtgcccgcga aaacctcacg 120  
gccttcagc ggcaatggat cgatccggac acggacccca agttctacaa catatcagtc 180  
cccaagggtg ccttcaactt cgggtggcaac tcgagctaca acaacgagta caagctcatc 240  
60

ttctcggacg agttaatat ctccaagcgc acgttcgagt cgggtttcga ctccaaatgg 300  
 acggcagtc aacctccgca taccaccaac atggggcagc actactttt gccccaggct 360  
 5 gtgcagatcg acaagggcaa cctcatcatc acgacctcca agcccaaaca gcgctaccgt 420  
 ggcactaagt acgtcagcgg tgctgtgcag acatggaaca agttctgtta caccggcggc 480  
 tacgtcgagg taagggccat tctgcccggc aagtggggta tccccggcac gtggcctgct 540  
 10 atctggatca tgggcaatat cggccgtgcg ccattcctcg gatcccagga cggtagctgg 600  
 ccgtggagct tcgactattg cggcccctac gtggagaagg ccgagaaggt caagcagaag 660  
 15 atcaatgcct gtggcaatct gaccaacaaa cacgacaagg aatcgatcc agagatgtac 720  
 ggcttgaacc ccttcagggt tcgtggagcc acggaaatcg atgtgattga agcgcagatt 780  
 cgtgctcgtg atgagcctgc attcatctcc acgtccctgc agatccgtcc cagtctgtac 840  
 20 gatgatatgc gccccgcttc agagtcgtc cctgctcctg gacaatggta ccagggtctc 900  
 aagtttggtg agttcacgaa aatcaatagc gactactacg gtgagatggg cctcgactcc 960  
 25 atttcggctc tgacacagct cgagtccaat gcgttcaagt cgttcactt gttccgcctg 1020  
 gactggtctc ctggtccga aggttacatt cgatgggtga tggacaacag cttcgtgttc 1080  
 gaaatccctg gatccgcgct gaataagtgg gtaggtgctg tccccctcg ccagatcccc 1140  
 30 gtggagccta gttatctcat tctgagtacg gctgtttcgg agaagttctc tccaccgtgc 1200  
 gatgggcaga ttgtaactc gctatggccc tccaacttta cgatcgacta cgtacgcgtc 1260  
 35 tatcaaggca acccgaaccg gtatacttcg gtgggatgca atccggaagc ctacccgacg 1320  
 aaagattgga tctacgcca cccagtggaa tacgggtctc cgtggtatgt ttactacgt 1380  
 gtggacatcg gtctgtgca tctttcgtc gtggttaatg cgctgctggg tctcttcacg 1440  
 40 gcgttcctg gcacgtcca accgaagatg ttgtcagcgt acgccagctc gttgtggctg 1500  
 actgcagcct tttatggagc tcttagtca agcgccccg tagacctgc ttggattcag 1560  
 45 actgcgctg cgtgtctgtg cgggctggta ctggcggtc tttgtgctt ggtgtaccg 1620  
 gtttcgctg gtgcaatgct tggactgtat ggcggggta tagctagcca attcgtgcct 1680  
 ttgtgtcta cgcgcgtgat cactgcatta ctggttggtg tgggaatcg ctaggatct 1740  
 50 gctccacaga tcgacacgaa gcacgtgtg attctgtga cctcttgct tggtagttg 1800  
 gcgtttctgc tctctgtatc gctgtgggtg agtgaaggcg atattgtga gaatgcgtg 1860  
 55 aatctcgtg gcttcattt caatggtaac aacgatgacc acgtgggtt ctgcacgaaa 1920  
 tattgcctg cgatgtatat tctgctgtc gtactcagt cggtgagcac tacgtatga 1980  
 tacctccgta tgcgtggcgt gacgctgcg accaaccgc gtgaggccaa gttccccgcg 2040  
 60

gtgtcagcaa gttctgacgc gcgggcttgg agacctgatg atgatgcggg cgtggagaag 2100  
actacggtga atttttctc gccatccaag ctgccgtaca acatgcagca gttcagtacc 2160  
5 atcttccgta tcgctgtgaa cgtgcagcgc tcgtttggct tccaactga caactccgc 2220  
aaccagacgg aacacgttgt ggtgcttctc accaacaact cgcgaaagag cggaatcct 2280  
taccgcaagc tgcacgattt ggtgtttcc aactacaaca actggtgctg caagcttaag 2340  
10 atccagcctc tgaactgggg cgagcagcga ccaccgcagg gtggtctcac aatggtggac 2400  
gagatgtcgg tggacttgtg tctgttctc tttatctggg gtgaggccag caacctgcgt 2460  
15 cactcgctg agttctgtg tttctgtt cacaagatga aagaagagt cccgtccgtc 2520  
cgtcactcag agcgcgaggc tggatactt ttgatacgg tggtagacc tgtctacggc 2580  
ttgctgaagg ctgagatgac ttcaaagtac gaccatgagg accgtcaca ctacgacgac 2640  
20 ttcaacgagt tcttctggac gaagagatgt ctgaagtatg actacaaaca cgaagaggtc 2700  
attgatttg cgtcaccaa tccggctatg atctacaaac agaagcagca gcaacgtcaa 2760  
25 ggtctgactg gccttggagc caaaaggct cgaggtggac tcaacggtgg ctgaacggc 2820  
tccaactgt tcaacaagcg tcaaagtatt gccgaggat tcaccgagtc tgccaagacg 2880  
ttcgttgaga agcgtacgtg gctgctaccg ctgcgcgtt tcaaccgtat ctcaacttc 2940  
30 cacgtcatcg cgttccactt ctggcaatg ctgcggtcg cgaatgagca agagatggac 3000  
ttcaggacg cctgcaagat tatctcgagc actttgatat ctacttctt gctggacatt 3060  
35 ttacgtgatg gactcgacat ttcgctgtt tacgacgagc accggaaagt atttcaatg 3120  
gcgcgttccg tgatgcgtgt gtttctgcat ctggctcttg tgggtgtcac gtcgatgta 3180  
tactggtatg cgtgggcgta cgggtgtgcc tgggtggcagt cgtactacgt gaccgcggtg 3240  
40 ctattccacg tgccaggcct gattaactgc gtcattgcaag tgatgcctgg tcttaccac 3300  
tggacacggc gcacggcgtt tgctctgtt gcatttatcc gtgacattgt gattccgatg 3360  
45 aaccgcttat acgtgggtga caacgtgctg gatccggagt cgatgagcgt aggtaccag 3420  
ttctctgga tgcgctatt ggcttgaag ttatactcg gctacgagtt tgagatctac 3480  
ccgcttggtg tgccgagctt tctgctgat gctgaccacg tggagaacaa cgtgagcatg 3540  
50 attacgacag tgttctcat ctctctaaac tggatgccgt tcttctggt gttctgcgtt 3600  
gacattacga ttggaactc gatctggatg gcattcacgg gtacgttcgt tggcttttcg 3660  
55 tcgcgcattg gtgagattcg caactcacc cgcgttcgat ctgcgttcag tcgtgctgtg 3720  
gatgcattta acgcaaaggt gattgcgca agctccaaga cgggactca actctcggac 3780  
agcaatggca cgtcgtatgg atcgacatca gtaggtcacg aggtgcttga tcgtgtgcc 3840  
60

ggtggtgctg atccgacgtc ccgcctcctg ttgcagcgcc ggacatcagc ccatgacgac 3900  
 gagactccgt tactgtcttt ctgcgctgc aaacagacgc ctacggagcg ccaagctgct 3960  
 5 cgtcgccgca agtgggtctc gttctctgtg gcctgggaca ctatcatcga tagcatgctc 4020  
 gcggatgatt tgatctaaa caaggagaaa tctctgcttc attccaccg tcttgacggc 4080  
 taccagcgcg aaatttacct gccgcagtc caacttgctg gttgcttoga gaactttacg 4140  
 10 tcgcacattc ttgatattta ctgctgaac aacggcaagg tctcggagcg tgtgctgcaa 4200  
 gacaaactac tggaattct cagtataac ccaatggtg aggagtcact tgaagagata 4260  
 15 tgggagcttg cgaactgggt gctggttaat gtgcttggtc cctgtcacgc gaatgatgtg 4320  
 aagtacatca catgtgtgt caactcgtgg gccgctcgtg gtgtgttccg tgcgctgaac 4380  
 ttgcaaaagg tggctccatg tggccgctg ttggcgggtt tgatctcgtc ttgaaggcc 4440  
 20 aacgtccgag gatggaagag caacgccaag gttatccctg ttcgcaaaga cccatccgac 4500  
 tacgctcgt acgagttcc gcaacagtct agctcctacc gtcctcgtc ggggcttact 4560  
 25 aagtctgcaa gtacgacagg tctgtcgtc ttgggtctcg aaccacctcg tcgtatgctg 4620  
 ggctctgggt ttgcgcgtat tgcacgtatg cagcagcaga cgcacaaacc agctgtcaac 4680  
 aatggcaagc ttactattc tatctccagc tctcacatca tgcagattcg cgagcgcgtg 4740  
 30 cgtacgttcc tgaattctgg aaaggagatt ctggccacg tccacgagca agaccccggtg 4800  
 ttcgtgaaa gcaagggaat ttcggatcgg ttgacgtgga ttctacaca ggagcgtggt 4860  
 35 tttatgtggg acgataatta tacgggtgaa caaatcactc tcacagcgtt tgagagccac 4920  
 accgatgtgg tgttatcga tctgcacgga cttttgacct tgcagaagat tgatgcggag 4980  
 cccagtcgt acgatgctcg tcgccgcttg ctgttctcg tgaattcgt gttcatggac 5040  
 40 atgccgctg ctccgctgct cgaggaaatg aagtcgtgga gcgtcatcac tccgttctat 5100  
 gccgaagacg ttctgtactc cagaaaggat ttgaaagca aacaggacgg tctggacgtg 5160  
 45 cacacgctgt tgttctgca gacgctgtac aagcgagact gggagaactt ctggagcgt 5220  
 gtgaagccta agaagaacat ctggaaagac ccggagactg cgatcgagtt gcgtatgtgg 5280  
 gcttctctgc gtggccagac actgtcacgt acggtgcagg gtatgatgta cggatgaagct 5340  
 50 gccattcgtt tgctggctga gatcgaacaa gttccccaac agaaactga ggagttgatc 5400  
 aacacaaagt tcacgtacgt ggtggcctgc caaatttatg gacgtcagaa gaagaacaac 5460  
 55 gacccgaagg cgagtacat tgagttttg ctgcaccgat tccctaact gcgcgtggca 5520  
 tacatcgatg aggtccgtg gaactacaa aaggaacagt catactctc ggtgctcatc 5580  
 aagggcggtg aggaactcgt ctgattcac gagatctacc gcgtcgtct gcctggcaat 5640  
 60

cctatcttgg gcgagggcaa acctgagaac cagaacgcag ccattgttt cactcgcggt 5700  
gaaaatctgc aggctatcga tatgaaccag gatggatc ttgaagagaa ctgaagatg 5760  
5 cgaaacctac tcgaagagtt tgacaagggt acggcagacc ggccgtacac gatcgtgggt 5820  
atcccgagc acatattcac gggtagtgtg agctcgttg caaactacat ggcgctgcag 5880  
gagacgtcgt ttgtgacgt aagtcaacgt acgttggcgc gtccgctcgc tagccgtctg 5940  
10 cactacggtc atcccgatgt gttcaacaaa cttttctca taacgcgtgg cgttattagc 6000  
aaggccagta agggatcaa cctcagtga gatatcttg ctggctacaa caattgtatg 6060  
15 cgtggcgggt ccgtgacttt cccggagtac accaagtgcg gcaaggagc tgatgtggga 6120  
atgcagcaga tctacaagtt cgaggcaaag ttagcgcagg gtgcagctga gcaatcgcta 6180  
tcgctgacg tgtaccgtat tagccagcgt ctgcacttt tcaagttgt gtcgttctac 6240  
20 tacaaccatg tgggcttcta cctggcgatg tcaatcatca tctggactgt gtactttctg 6300  
ctgtactgca acttattgcg tgcactgctg tcggttgagg gtgttggcgg tcgtgaaccg 6360  
25 gtattgctaa gtaagctgca gttgatgctt ggatcgtgg cattcttcac tactgcgcca 6420  
ctgctggcga cgatttcagt cgagcgtggc ttaaggcgg cgttgaacga gatcattgtc 6480  
ctgttctgta ctggaggccc gctgtacttc ctttccaca ttggcacgaa atggttctac 6540  
30 ttcggacaga cgattcttgc tgggtggcgc aagtatcgtg cgaccggccg tggattcgtg 6600  
acaaagcact cttctttga tgagctttat cgtttctacg ctagcagcca cctctatgct 6660  
35 gcagtggaga ttgccattgg gctttccgtt tactacaagt tcacggtcgg caatcagtac 6720  
ttcgcgctga catggctgct atggcttgtg ttcgtgtcat ggtactggtc gccgttctgg 6780  
ttcaaccac tggcgttca atggtctgac gttatggagg acttccgtct atggttcaaa 6840  
40 tggatgcgtg gtgacgggtg taaccctgat caatcgtggg aggcgtggtt caaagaggag 6900  
aacgcgtact ttgcagcgt tcgaccgtgg tccaaggcgt gcattacgat caagggcgtg 6960  
45 ctgttcgctg tgatcgccgt ctctatctct tcgacgagtg aaaaatatca ctgatcttg 7020  
acggaaacca cgtggcttcc gctgcttctc tgcttatcga tggccgcggt gtatcttagt 7080  
gcagaggctg tcttcttcac ctgcgcgct tcgggcgaga ccgggcttgt tcgcttctg 7140  
50 aagctccttc tgggtattgt gctgggcgct ggtctgattc tcgcttctat ctacgcggac 7200  
ggtatgtggc agatgctgct gagtatggga tatctcgtg cagctatggg ctgttggcg 7260  
55 cttgtgatcc ttgtagcaa ctgcgcgttt gttggaacgc ttacttctg tcatgacgcc 7320  
gtgctgggtt tggttcgtg gacttctatt ctgttctct cggcgtcta cgttccggc 7380  
aagatccaga catggctact gtacaataat gctttgagtc gtggcgtggt gattgaagat 7440  
60

attctgcgag ccaactcgag caatgatgaa cgcgatgatg atctgtcagt gcagcagatg 7500  
 cgctccatca tccttgagca gcagcgttc atcaacgctc tgactgctag cggcagcgag 7560  
 5 actgacatcc gcggtgctgg tcctgggaag aaagaagatc taatgcacgc tatgagcgac 7620  
 aacacgctga acgcggtact gaggaatatg tcggagtcgg aactcagtgc gctgcaggac 7680  
 tcgtcgattc gtctgcaggc catcatgtcg gaggaggagc gcaaggccgc acaacgcaag 7740  
 10 cagcaacaag aagagcagag actcaccgag gcaggaatga actcgtcgtt gtcgcgacg 7800  
 cgctgtgcct tctccacgag cgatttctcc gccatcccgc tgaatgctag ccctacagt 7860  
 15 cttgtccta ctcaggatgg ttccgctgca cccgtcaacc gcccactaa cggttctgct 7920  
 gctcacggag cttatcctga tgtgtag 7947  
 <210> 36  
 20 <211> 6744  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 36  
 25 atggccacga cgcccggcgg caagatggac cggcgccgcg ccggctccaa ctactccag 60  
 ctcgatgcgg accgcaagcg caacacgtcc aacaaccgca gcaactacgg cgacggccgt 120  
 ggcaccttcg gagaccgctt gagcttgatg gaggtgctc ctccaacac acagggcggc 180  
 30 aaccagatgc gcggcggtgg ctacagggc gactttgcgg acgaagtgc gatcgattt 240  
 tgctgcgagg tactgtacaa caagttcggc ttccagtcag gcagtgtgga caaccagcg 300  
 35 gagcacgtgc tgctgtatt ggccaattcc aaggcgctg ccaagcccca ggaccctccg 360  
 ggacaccacg tcgtcacgct gcacaaaag ctcatgagca actacacgga atggtgccag 420  
 ttcatcggcg tcccagcat ctcgtactcg ggacagccac agggagacct caagaaccct 480  
 40 ctgcacatgg acattatgct cttcctgtg ctatggggag aggttggtaa cttgaggcat 540  
 atgctgagt gcctctgcta cttgtaccac cagtcgctaa acttgctgaa ccaggactc 600  
 45 ctcggtcagc agaaagtacc tgaaggttg tacttaaggc aggtggtgcg cccatctgg 660  
 aaggaggcgt ctaacatgca gaggaagaac agcttgggca agaactgga gcacacccaa 720  
 gtgcgcaact acgacgatat caacgagtat ttctggaaa aatactgtct taactggat 780  
 50 gtcacgcaga tcggcgagga gctgaccaag aagcacacca agacatacta cgagcaccgc 840  
 agtatctca cgctcgact gaactactac cgtattttc agtcaacat gatgttcag 900  
 55 atggtcctga tggcgatcgg ctttatctcg gccatctcg ctacggagg acagcagtg 960  
 ttcgctcagt tcgggtctat gggagaagtg gttgagcctt accagaaaca ggacgttaag 1020  
 ctgacctacg tggggattgt gttcgccctc tctcgatgg gattctgcaa gaccgtctc 1080  
 60

gaagcgtgtc acggatggca ctactcact gccagtgagt cgtcacagac gtcgtctcgt 1140  
tcgttcaact acggtggtgc cttgtggtt cgaatgctct ggaatggcgc gttcgctggc 1200  
5 atttcggct tgatgatcta cccccgttg atcacgagca agaacacaga actgctcgat 1260  
aaggctgcac cggcgtctgt tgcctacatc ctgcctggcg cacttattat cgtcgtgcag 1320  
gctttgtc catcggttgt aaccaaactg ttgcggccca agtttatccg tgaggagaa 1380  
10 acgtgctacg ttggccgcaa catggcgctt ccactgagct accagctcaa gtacatcact 1440  
ttctggatca ttctgtgggc gctgaaggcg ttcgtctcat acttcattct agttcgccca 1500  
15 ttggttctcc cgtcgtggc catttacgag atggagctcg agtacggtag caatgtgtt 1560  
tcgttcaca acttcggagt catcgctgcg ctgtggctgc ctgtgatctt catctcaac 1620  
tacgataccc agatttactt taccgtgttc caggctacac ttggtggcgt tcagggtctc 1680  
20 atcatgaaga ctggcgagat tcacggcatc aaggagatta ccaaggcttt ccgtgtggct 1740  
ccacaactct ttgaccagaa ggttgtagc aatctggctc gctcgaacga cgctcggct 1800  
25 gacggatctg ctgctgata ccagtcgcaa atgatgctgc gcttcgtggt cgtctggaac 1860  
gagattgtca actcgttccg cgaaggtagc ctggtggacg acaaggaggc tgccatcctg 1920  
cagtatgaca tccagagctc gggcgacgtg ttcgaacctg tttcctttc ggcgggtaaa 1980  
30 ctgatgaag ctctggacta cacggttaag attgccaagg aaggaaggg cgactcgag 2040  
ctcaagtgt acatggtgca gaaggattgt ctatcggctg tgcgcagctt cttcacagcc 2100  
35 agcatgtacg tgatggaggc tctgtgggc agtgacgatg cagacattct tgatgcgctg 2160  
cgtcaaatgg aggcgattgc tgcgaacagc agttcatga gcacgttga cgccaagagt 2220  
ctagtgcagc tgcgcacagt ctcatggag ttctggaag ctgtgatga tctgcccagc 2280  
40 ccgatgcgc agtctctgca catgacatcg tctcagatgc acaccatggg agttgtgctg 2340  
aactcgtga ccaagatgga aaactgctc aacgctattc gcatttcgc caaccgccg 2400  
45 gagctcgtg ccaagttcag caactctaag ttctgctga gcgccaacgg ctacgtgtt 2460  
gctgctcgtg gcctcgtgaa cctgtccac aacgacactg cgatgggtgc tgctaccgt 2520  
gctacctct tgatgtcgt cgagaaggcc gatgctatgc cccgtgtgcc tgaggctcaa 2580  
50 cgtcgtcttg gtttttcat gaagtctctt ttgatggaca tccgcagtt gacgtctgtg 2640  
aaggagatgc actcgttctc cgtcgtgacg ccgttctaca gtgaaagtgt gttgatctca 2700  
55 ttgtcggagc tgaacgatcc gctggccaac cccccgtct tccagaaggt ggaggagaag 2760  
ggcaagaaca ttactattct gaagtatctg attaccatcc accccgagga gtgggagaac 2820  
ttttggaac gtattgatgt gagcactgca gaggaagcac aagccaacta cccgctggaa 2880  
60

atccgtctgt gggcgctgta ccgtggtcaa accctggcac gtactgttca aggtatgatg 2940  
ctgtacgagg atgctatcaa gattcttcac tggcttgaga ttggttcaag tcccggcaag 3000  
5 tcggcggagc agaagcaggc tcaacttgag gacatggtgc gtctgaagtt ctctacatt 3060  
tgtcgtgtc aggtgtacgg taagcatcgc gcagagggca aggcccaggc cgatgatatc 3120  
gactatctgc tcaagacgta cccgaacctg cgtgttgctt acgtcgacac catcgtgatg 3180  
10 gacggtggca agcagttcga cacggtgttg atcaagagtg aaggcaatga aattgccgaa 3240  
gtttaccgct acgagctgcc tggagacccg attcttggtg aaggttaagcc cgagaaccag 3300  
15 aacaacgcgc ttccattcac gcgtggcgaa tacctccaga cgattgatat gaaccagcag 3360  
cactactctg aggagtgtct gaagatgccg cagcttctgg tgactgctga cctgcaccct 3420  
tccaagaaac ctgtgtccat tattggtatg cgtgagcaca tttcacggg taacgcttca 3480  
20 tcgctgtcaa agtttaagtc gtggcaggag ctggtgttcg tgacgctgc tcagcgtgtg 3540  
ctggccgacc cgctgtatgt tcgtatgcac tacggtcacc ccgatattt cgacaagatc 3600  
25 attgctatgc ctctgtgtgg agtgtccaag gctccaagg gcattaactt gtctgaggat 3660  
gtgttcgctg gtttaactc gacgcttctg ggtggtgtgg tgacgcacgt ggagttcatg 3720  
cagtgtggta agggctcgtg tgtggctctg tcgcagattt ccatgttcga gggtaagctg 3780  
30 gctaacggtg ctggcgagac gtctctcgct cgtgaggctc atcgtatggg ccagttcatg 3840  
gacttcttcc gtctgaactc catgtactac tcgcacacgg gtttctactt cgccacgtgg 3900  
35 atgacaattg tcacgacctt cgtgtacatg tactgcaagg tgtacttggc tctagcgggt 3960  
gtgcagcagc agattgtgta cgatatgaac acgaccgctg tgatcaccga gaacatcgca 4020  
aacaacttcg acgggctgtg gttcaccgat ctgaaggctg tgctgaacac gcagttctac 4080  
40 atccaagccg gtactttctt catgttccg ctcatgtgtg tgtacttcgg tgaaggaggc 4140  
ttcgtgcgcg gtatgactcg attcatcgac atgatcatca cgctgggccc tgcttcttc 4200  
45 gtgtccagg tcggtacgac gatgcactac ttcgacaaca acatcgtgca cggtggcgcc 4260  
aagtatcagg ctacaggctg tggcttcaag atttcccgat agacgctggt gctgctgtac 4320  
aaggcgtatg caagctccca ctatcgaaag gcctgggagc tcatcgggtt gtgtctgtg 4380  
50 tacatggcgt tcggttaatt ttacatctgt cggaccgatg cggctgcca cgacaacact 4440  
tttgcgtccg actactgtga gactgctcag gcttacgggg tgacagacgt ctggtgtgg 4500  
55 ttcatctcca tctgtgggt ggtgggtccg ttctcttca acagtacgg tctggactac 4560  
aggaaaacca aggtggatat ccagcagtg tgcatgtgga tgttgcccc cgaagactac 4620  
aaggacgacg acccgcccaa caaggaggc tggtaggct ggtggaagg cgatctggag 4680  
60



cagctgcacg gctccaacat gatctcgcgc gtcacggta tcctccgca gtgtcgccac 4740

ttctgtctca tgttctacgt ggctacactc gagacgtccg acgtcatgta cgtggcgtag 4800

5 tcgttcggtg ctgcggctgc gacgattgtt ctgcttggcg tgttccatgg ctttggtagt 4860

ggcatgcgct ccatgagccc ggtgacgcgc gctgtgatct acatggggac cgtcgcagcc 4920

atcgtgacgg cctactctt ggccacttgg atcgtgctgg actggaaatt caagtacgcc 4980

10 atgtcgtctt ggttcgcta cgtggctgcg ctctacgga tcaacgagt cttccgcatg 5040

tggagttcc caagctcgtc gatcgtggc attgctgtt tccagcagct acagttcctc 5100

15 ttgacttta tcttctgcat tggtagatc atcccgctt tggtagtgc gtgcatccc 5160

ttctgaaca tcaccagac gcgtatgatg tacaacgaag gcttctcaa ggtcatgtct 5220

gcttcttcgc agtatgcct ctctctggca gcctcatgg gaatcctggg cgtatcggt 5280

20 gtcggctggc tgtcaactt gctgtcaac ctggagcagt ctgcgagtt cgcaagttac 5340

gtcgtcacgt acgatggcg cctaagtga aacgtggcg atggcaccac gacgtacatg 5400

25 ctctacggtg cctgtgtgtt gggtagatc atcgtggct tcctcaact cttctgggt 5460

cgtcgtctgg ctattgttc ggggtgtctc ttcagtacgc tcggtatgtt ggctgtcagt 5520

gccaacgacg atctccgtt gacgtgctg atgcctgga tcggtctgt tggagcctcg 5580

30 tgcggtattc tgctaccgtc gttggccatc tacatctcg agatctcgac caaggagatg 5640

cgaggcaaag ccatgtgtt gctgggaatc ggctcatca tcggcagttt gctgggcggc 5700

35 atttcgca cgtgaacca gctgggatg atctggcaga cgttctgtc ctgcatcgtg 5760

atgcacctg tcacgccagt cgtcaatgt ttccagaga gtccgtactg ggtgctggat 5820

cgcaagggct gggacgcctg tgaagcctgt ctggtatcc tgcgtcgtaa acctgatgtc 5880

40 caagaggagc tcaaggtcat gcgagaagag gaaacggcag atgaaggcgg cgccggcgcc 5940

tacaagtcc tcacggtct cttctcatg ctgtgtcct ctctgactac tggttcctc 6000

45 aacgccttca tcagctacaa gggagcgagc gactacacg accaagacca gctgttcgtg 6060

aacgcgatg cgctgcagat ctccggtgt gcgatcgca tcttctacat cgacaagctg 6120

gaccacaagt cgattctct cgaacgttg atccctatc ctatctgtc tggcattctg 6180

50 ggcttcaacg agaactcaga gatgtggga gacaaagagg gctcgggtct gtacctcagt 6240

ctttagtca tgctcatgta cttctcatg gggctgggca cgagctctc tctgtgtcc 6300

55 gcatgcgtc gcatgtcaa tactcgggc cgcgcctct ccaccacat gctgttcgt 6360

atcttctcc tggcgatat gggctacgt tacttgaca cggacgact gatgatgcag 6420

aacgaatatt cctatctta cgccatcga ggcttcagt tcgtgccct ggtgctgta 6480

60

atgggcgag gcaccaagaa gaacggcgtc atctgtacca agtcagaagc tcagcgcat 6540  
 cgcgaccgta tcgctcgat gcgtgccgaa cgtgcaagtc gcaacacgag gacgcctgga 6600  
 5 actgcgcgcc agcggaatct cagtcgctg cggtccaagt cgaacgctgg cggccagcgg 6660  
 ggcaacgcgg cgcatggcgg tggctaccaa atgtacgaaa caccgcca cgctgcgccc 6720  
 ccgctcatgc acgcgcgccc gtag 6744  
 10 <210> 37  
 <211> 2462  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 15 <400> 37  
 attcgagaga ttttcgaac tctgacatcg ttgcaacat aactgcctg cattaagggtg 60  
 ctctcaact gtacccatgc cgagcaccca tcgactctgc cagtacgatg cttcaccaaa 120  
 20 gttttagtcc acaagaaaag ccgaaacgta catgtcgtaa cggaagccgt gcgaccttt 180  
 accgttcgtg cgctggtctc acgtagcttc attctcctc ttcctagcc agcaaaggcg 240  
 25 tctccaaga tatccagca attgtctatc ggtaagatc aaggagtaaa atgcactcgg 300  
 cgctgtctc gtgctcaact ttggcttga tcacgagttt ggtctccta gagcgtgccg 360  
 actcgatgat caaatctcgg tctggattga gccctgggt ggacgttgac acccccgaga 420  
 30 gtgcactcaa cgtcacgtcg tcgctggag atacgtggac gttggtcatg agcgacgaat 480  
 ttaacgttcc tggcgtaat ttacgccc gttcgatca catgtggacg gcgtagaaa 540  
 35 tgcccgacgg tgtcaatgca gctctgaat actacagctt caatatgacc gataccgtaa 600  
 cggaatcgga cggtcgtggt gtctccgga taaagattat ggaagaggac aacatcacct 660  
 acacggtgtg gaacacgtac gctaagcctg cgggtttcga gacccatcac atgtactacc 720  
 40 gagccggtat ggtgcaatcc tgaacaaat tctgtttcca aggaggaagg atggaagtgg 780  
 tggctcaatt accagcaaca accagctcta gtaacccga tatgggtgac atcaaaggtc 840  
 45 gcgtcaagac gaacagcttc tatccacgt ggcctggtat ttgcttcta ggaaatctag 900  
 gacgagctct atttcccaa tcgaccagtc ggtgtggcc ttggagttac gacgaatgtg 960  
 acgaaaaatt cgaatccagt caaagaatca gtgcgtgtga cggtaatcca ggaagtggat 1020  
 50 tgaatgtca tcaaggacga ggagcgccgg aaatagatct actggaagga ggaggtgtag 1080  
 ccattccac aagtatccag gtcgtcctg gaatgccga taaattccgt atcattgctc 1140  
 55 ccacggatga taaaagtccc ttctgcgtct tcacggccga gtgtactact attggtgcta 1200  
 acttctctgg gatccagcc aaagcgtacg aagctcgaga ttatgaaagc tggatatcaag 1260  
 gactacggtg cgctccaaat actcttcta gccagttgg cagcttgatg caagatcca 1320  
 60

aaacgggtgct tgcaaatgcc gagaaaggct tcacttctaa tacgtgtaaa ggagtcaatg 1380  
 cgtgtccagc ttcgggtgac ggatactccg atttaggctt gatcgacggg aaagggcctg 1440  
 5 attactgggg ggtaacaaa gaaggcggct gtatgccggg tattaacgga tacacgggag 1500  
 ctttcctatg tgaccctgac agttccaaca aaaaatgttc ctctccgta ggtgcggaag 1560  
 aaccaagag taaagttatg gaaccattcg agtatcagat ggacgcctg tccgctaatt 1620  
 10 ggccagtta gctcgcagca tatacaagtt atgtgaaata ccaagtcgaa tgggtcatgg 1680  
 gctcacaagg ttacattcgc tggatggcgc aggatattgt gattttgaa attccagccg 1740  
 15 agtcggtcga gaatgtcca caagatgctg ccaagtcca ccctaagaaa ctcatgttg 1800  
 aagaacccat gtacgtgatt ttcaacgctg ctctgtcaac tagttgggg accacgccac 1860  
 cgaatccagg gtcgccatgt cgtggagatg ggagcaatgc gcaacataac gctatttg 1920  
 20 acggtttccc catgttcag aagatcgact acattcgat ctatcaggat ctctctcca 1980  
 actccacgat ggctatcggg tgtgacccgt ctactcatcc gactaaacaa tggatcgagg 2040  
 25 atcacattga tgagtatgag acgacggaga ataatggat tgaggttcac ggtggagcca 2100  
 attgcaagac tgataacgac tgtacgttca gtacttctca cattttgacg gggaaatgta 2160  
 gcaagaaaca tcgctgtaga tgcggatctt ccggtgcttg ggggtgtcca cgtgcacaa 2220  
 30 ctccactagc tgatacagcg aatggagaag gttcggacc accaacagtt attacgagct 2280  
 tgggtggtgc attcgtcatt gtgcttttg tcttgtggt gtacaagata atggaccaac 2340  
 35 gcagcaagaa ggcgatggtg ggagctggga ttactcaacc agcaattctc tccaagatcg 2400  
 agatggacga catccacgt tcaataaaa gccagagcgg ctcgaggat aagggtgtgt 2460  
 ag 2462  
 40 <210> 38  
 <211> 942  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 45 <400> 38  
 atggctccac tgcatccgc aacctgacc acaccgacg tggctcctgt cacagctacc 60  
 accgcctcgc agcccttga cgacctagt gacaaggctg agagtggcta tgcggctatg 120  
 50 cctaccaccc caaaggcggg ggctccctc ccaacctcca aaccgcaagg tctccagcgt 180  
 ttcgccgttc agagcgtgca cctgcgcgag tgcttcgac agttcctcgg caccttcgtc 240  
 55 atgatcgtct tcggtatggg cgtcaacaac caagtacca actcacacga cgccaacggc 300  
 acgtggctca gcatcaatat gtgctggggg attggtgtac tcatcggcgt ctactgtcc 360  
 gagggcatca gtggtgctaa cctcaacaca gccgtgacgt tggcacattg cgtgtacggc 420  
 60

cgctaccat ggtgaaagc acccggtac atgatctac agctattggg cgccttctgt 480  
 ggagcttca ttatctacgt catgcagtac cagaacctca acgtcattga cccgtatcgc 540  
 5 gagaccacac agagcagctt ctcgacgtat ccgagcgaca acatctccaa ctacacagcc 600  
 ttctacaccg agttcatcgg tactgctatg cttgtgctca gtatctacgc catcacggac 660  
 aagcgcaaca gatctgccgg tctcgtgggt tctcccttcg ccttctgtct aatgatcatg 720  
 10 gcgttgggca tggcctttgg catgaacacg ggctacgctg tgaaccctgc acgtgacttc 780  
 ggccccgca tcttcacggc catcgcgggc tggggctcca aggtctttac cactcggaac 840  
 15 tactacttct ggatcccgat cgtggccgat tctatgggcg gaattgctgg tgctggactc 900  
 tatcggctgc ttgtggagat ccaccacca cccctctcgt ag 942  
 <210> 39  
 20 <211> 1636  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 39  
 25 atgtccgacg accaagtgcc accgttttcg ctcggtacga aacaccttac acgcatgacg 60  
 tgcagcgcac agttcagaga tgactaactg gccatgctgc cgctacgtgt atttaccaga 120  
 taagccgcg cagcatactt cgacgtacgt cggtcgggtg cgtaagtttg cggagctcgt 180  
 30 gtcgccaag tacgtcaaac aaggtagacg atggaaaaag tgtggctcta aacatcatgc 240  
 tggggcttta ggtggctctt tctaagctcg gagcagattc agcacgacgc gcagactctg 300  
 35 gaggacttcc gcaacggtaa aatcgcccct ggtcagttca aggatgcgga actttggaat 360  
 cttcgccagg gtacgaaaca atgcgacagg atggtaccaa cttgtggtt ttgctgacgt 420  
 ttggtgata attgaatcga tatgtagcgt acgaggctgc cgtgcaccct cagactggcg 480  
 40 agacagtcc ggctgtgttt cggtgtcgg ctttcgtgcc tgtgaacatt cccatttgcg 540  
 ttggcatgct gctcgtcct gccacggtat gtaaagtctt gctgcacttg taacaatagc 600  
 45 tttattttaa tttaaagtct cacttaaata tgcttacagt tgggaaacac gatcttctgg 660  
 caatgggtta accagagcta cagcgccggt ttcaactacg ctaaccgcaa cgccagcagt 720  
 gaacaggaca actccacat ctcagtagc aagttctcga tgctaatggc cttcttcag 780  
 50 cgttctaaca cggtctttg catcgatca cagagtcgta cgctaccgag acgctcgtgt 840  
 cttgctcgac tgccgttggt ctgggtaaga tgggtggagaa agccaagaga ctttctcca 900  
 55 gcacgcgttc ctctctcga aagggtaaaa ctgctaaatg ccgaatgctg tgctccttat 960  
 gtgactgaat ttttgggctg caactgatc agatggttcc tttcgttgct gtcgagagcg 1020  
 caggtgcttt caacgccgtg tcgatgcgct tcaacgagtt ccagtagctg tagagtgtct 1080  
 60

tgcactggaa atatgatgct gttgtgctca ttggagtgtg gtgatgcgtt acagagaggg 1140  
 aattgataac atggacgagc acggagatgt tcacgggctg tcagttgccg ctggacgtca 1200  
 5 gtcgcttggc caagtggcac tcacgcgtat tgcgtaccc atgccagta cgtcctcgca 1260  
 ttgacaagct cttcttgggt gaattatgtc taatattggt ggacttggac agttttgctg 1320  
 ctcccgccgt acctgtatga gatcatgaag aaaaccaaca tcatgcccga ggccaagtac 1380  
 10 ccgaagcttg ctgcggagct cgttacgtgc attatttctg ccatagtccg cggtaatgag 1440  
 ctaacttatt gcgtctctgc ctgcatctat gatagtcgtg ttaacgatgt gtctgtgggg 1500  
 15 tgccatgccc agcgctgtgg cgctcttccc gcagttggga acgatttcgg ctgacagcgt 1560  
 tgaggaggaa ttccgatctc ggggtggatcg caacggccag cccattcgtc acttcatcta 1620  
 caacaaggga atctga 1636  
 20 <210> 40  
 <211> 960  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 25 <400> 40  
 atgagcaccg ccaataaaga agcatctccc ttgtggagc ttcgccgtct taactttgctg 60  
 ttcgccaag ttactatcgg tggccaactc atcaatcgct tgcagcatga ccccgctact 120  
 30 gctgacgcca tggaagacga cgtacgagtc ctgcgtgacg tgaatctaac gctgcagtct 180  
 ggtcagcgcc tgttggctgt ggggtggaat ggagctggca aaagcacgct actcagtatc 240  
 35 ttggctggca agcacctgac ggctgacgac acggcgctga tcttcggtcg agacagcttc 300  
 cgtgacacga cactcaacgc tttaaggact ttcgttagtg ccgactgggg gcagcgctcg 360  
 gtggcgcttc caacgcacgc aatggcttac tcggctgaca tggcggtgga agaaatgatg 420  
 40 acgaaactgc agagtgaaca cccggagcga cgccaaaagt tactgaagggt gttgcgtatt 480  
 gacccaaagt ggcgtttaca tcgctgtcg gacggtcaac gtcgccgctg tcagctcttt 540  
 45 ctggcgctac tgagaccttc gcagctcatc gtactggacg aagtgtggg aatgctcgac 600  
 atcatctcgc gcgaaaacgt actggcattc ctaaaggagg aaacagagac tcgacaagcc 660  
 acggtgttc tagccacgca catcttcgat gggacggacg tctgggcatc tcatgtgctg 720  
 50 tatattcgtc gcggtactgt tgggttctat ggtccgattc agcagtgtac tgatggaggg 780  
 aagatcccga tgtataagggt ggtggaacac tggctacgtg aggaattggc cgacgacgac 840  
 55 cgtgtggaat gcgaggcggg gggcccaagt ggtgagttcg acctgggcaa cgcgcagaac 900  
 cgcgcaggag ggtatgccga cggtcgactg ggtggtgtcg atgtcaccac atcggtttaa 960  
 60 <210> 41  
 <211> 510

<212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

<400> 41

5 atgagcgacg gtactaagct cattgccgtg atcggagacg aagacaccgt cacgggcttt 60  
atcctcgcgg gtgtcggcca tcgaacggcc gagggaacca actttctcgt cgtaaacc 120  
10 tgtgcgtcgg cattcccgaa aggattttt taaagcttag attaactact aacacgcgtc 180  
acatacgacg gtgctgcagc tactccaatc tccgctattg aggccagttt ccggacgctc 240  
tcgagccgtg acgatatcgc aattatcctc atcaaccagc acgtacggca tcctagttag 300  
15 aaccactct gaggtataag ctttatgtt ttctcactc gcttgatatt attgtttggg 360  
caggttgctg aggagatccg tcaccttctc aacacgtacg acaagacat tcccacgggtg 420  
ctagagatcc cgagcaaaga ctgccttac gaccagcta aggactatat catgaagcgc 480  
20 gtgaatctca tgcttgagg agagtcgtga 510

<210> 42

<211> 1491

25 <212> ДНК

<213> *Phytophthora infestans*

<400> 42

30 atggtcgtg aagacgcggt gttcacggaa gcgaagacgc ccaaggccgg cgatgtccag 60  
gccggcagat ccgtcccgt ctgcgcgacc ttctggtca gcctcgcggt gctgctcctg 120  
ctcccctcc agttcggctg gtcggtcggc cagctcaacc tcacgacct caacgacgaa 180  
35 gacgagtga acgcgcgacc tctagtcgac ggaacgtgcc tcatgtttcc cggcatagc 240  
agcacggaat ggacctgat cgtgaacgcg tggatttag gcggtatgat cgggagtctc 300  
40 ggttggtggc ttatctcca acgtttcggg cgcaagaagg tattgctggc gaacgccgtc 360  
gtcatgttg cggcgctgt cattcaagcg agtacgtcga gtatctcggg tttatggtc 420  
gggcgtatcg tcgccgtat cgcgtcgggt tgtgcgacgg gtatgggtgg tggtacatc 480  
45 agtgagatta ccccccgag tctccgtaac tcgtacggca cgtcatgca ggtatctctc 540  
tctgccgga tcttagtagt gaccatcagt ttttcttcg cggataccag tagcggctgg 600  
aggtacatcg ccgcatttcc cgttctaac gccggtttct tcttggcgtt cgcaccgttc 660  
50 gttctttag agagtccgc gtggctttg gaaaagggcg accgggagca tgcggagcgg 720  
gagatcgcca gactttacgg cttcgatttc gtcccagtag cactgacgtg gatggaacca 780  
55 ggtatcaata ctgacctgga gtcagaggaa ctgtcggcg aacagcacga aggcggcaca 840  
ttgtcgtgc tgtttcgcg gctcttctc aagcaactgc ttgtggctct tgggtatca 900  
gctgcgcaac aacttacggg tatcaacgcg gtgtgctatt actcgtccga tatcttctcg 960  
60

gatgcagggg tgctggatgg tcgtgtgggt ggcgtcatcg tgtacgtgct gatgttact 1020  
 ccgacgatgg ctgttgcgcg attgtcggag cgattcggca accgacggct tctgcttact 1080  
 5 ggactggccg ggatgtttat tagtgctacg ggtataactt tggcgttgc gttgtcggtc 1140  
 gaggtactct ctatcgtctt catgggtaca ttcgttgcgt tcttctctgc gagcgtgggg 1200  
 ccgcttatct agcctatcac ggccgcgctg ttcacggact cggtacgcgc cactgccgctc 1260  
 10 tctatgtgca tctttatcaa ttgggtatgc aacttgatca ttggcgtctg cttcccgtac 1320  
 gtctcggatg cgctagacga gtacaagttt gtccccttta tggtagcac cgctgcgttt 1380  
 15 ttcttctca ctcagttttg gatcccgag actgcaggta agagcaccga ggagatcaa 1440  
 gccacgttcc gatctaggaa agctcagaag ccggtggtgg tgtaagctg a 1491  
 <210> 43  
 20 <211> 2462  
 <212> ДНК  
 <213> Phytophthora infestans  
 <400> 43  
 25 ttgtgctact cgagtgcctt cttctccatg acgcagcaag acgttcgcca ggcgctggac 60  
 gccccgcgt tagcagccta catccactcg cgactgggtg catcgcacgg cgccatcgcg 120  
 tccatccgtc agttccagca tggccagtc aacccgacgt acctcttgac aatggccggc 180  
 30 tcgaaagcca agtgggtgtt gcgtaagaag ccgcacggtc agatcctgcc gtcagtcac 240  
 gccgtagagc gcgaatatcg tgttctagag gctctggagc actcggaggt gcccggtccc 300  
 35 cgcgctgtgt tgctatgtga agaccccaaa gtcattggca cacctttcta cctcatggaa 360  
 tacatacatg gtcgtatctt ccaagaccca tcgtgcctg gcattaaacc tatgtatcgc 420  
 tacgccatgt acagctcggc agtagacgcg ttggttaagt tgcacgagct ggactacaag 480  
 40 aagatcggac tggccgactt cggtcgcccc gagaagtact gccaccgtgt cgtgacgcgc 540  
 tggagtgcac aagtccaaag tggccagaag gtctttagt aagctggagt gaaggagaac 600  
 45 ccgaagatga cgcagctgca acgttggtg gagcagaacg ccgacgacgc cgagaaggcc 660  
 acgaccagtg ccgaggggagc gagtatcgtc cacggagact tccgcattga caacatgatc 720  
 ttccacccga cggagcctcg tgtgttggcc attctggact gggagctgtg tactatcggc 780  
 50 aatccgttct cggatgtagc cacattggcg tcggcctaca gactgccact ggacaactcg 840  
 aacacaatca tgacgcctgg tctctcggat gtcctgtga agacactcgg catcccatcg 900  
 55 gagagtgaat tgttgctagg ctactgtcgt cgtgccagac ggttccctct acccactcag 960  
 acgtggcatt tttcatggg gatgatcgta taccgctcg cagccatctg ccacggtgta 1020  
 tacgcccgcg cactgctcgg caacgcgtcg tcggccaacg cagcatgtgc caagacgacg 1080  
 60

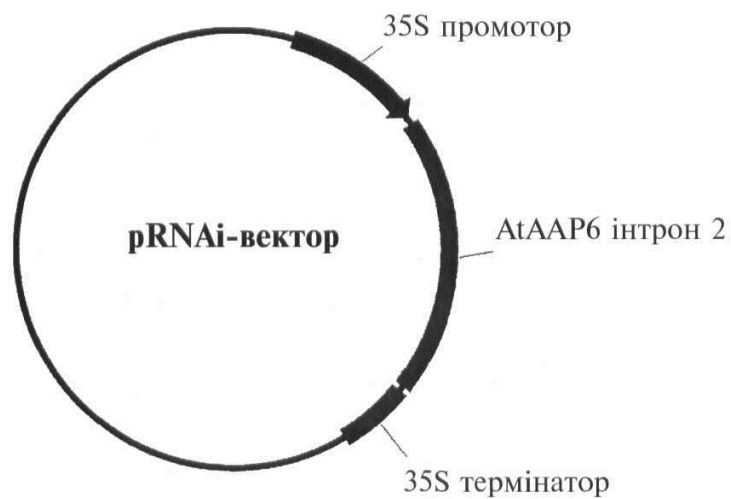
atggaccgac tcttgccat gagcgacgac atcatggacg catcggctga tatttaccg 1140  
gagccggagc tgacgcacat tctgccgttc cccatccgtc ctcagtctct gcagatgtac 1200  
5 aagaagctgc taaagtttg ccagaaccga gtgtaccccg ctgagtcctg ccacattgct 1260  
cagatcgcca aggcgagaga agaaggacgg gagtggcaga gtgtgcctcc tgtattgaa 1320  
gagctcaaga cggaagccaa ggcgctggga ctctggaacc tcttctgcc tcagtgtgtg 1380  
10 gtgccagctc tggatggcaa tggaccagac gtcaactacg gtggagacct gacgaatctc 1440  
gagtacggac tcatgtgtga ggtcatggga cgctccattg tgttggtcc ggaggtttc 1500  
15 aactgctcag caccgatac cggcaacatg gagatcttga cgcggttctg cactgtggag 1560  
cagaagcatc agtggcttgt tcctcttctt caagggtaga tccgatcgtg ttccgcatg 1620  
acggagaagc gtgtggcttc gtcggatgag acgaacatcg agacgcgcat tgtacgcgac 1680  
20 gaacagcgtc aagaatacgt catcaatggc cacaagttct acatctctgg agctggagac 1740  
ccacgatgca agatcattgt gctcatgggc aagcacacgg aacgagccaa ggagagtcca 1800  
25 ttcaagcagc agtcgatgat cctcgtgcct atggacacac cggcgtgca ggtcgtgaag 1860  
cccatgatg tcttggcta cgacgacgca ccgcacggac acatggagat gctgttcaag 1920  
gacgtcgtg tgccgttcag caacgtgtg ctggtgaag gtcgaggctt tgagatcgt 1980  
30 caggctcgtc ttggacctg ccatccac cactgtatgc gagccatcgg agctgctgag 2040  
cggtgtctg agctgatgt gcagcgagcc aagacacgca cagcgttcaa gcagctcctg 2100  
35 gccgagaatc cgctcgtgtg ttcgagatt gccaaagtcg gttgtgaatt ggacagcgcg 2160  
cgctgttga cgctccaggc tgacatcag atggacaagc acggcaacaa ggtggcgcaa 2220  
caggccatcg ctatgatcaa gatcgtggcg cctaactgg cactggacgt ctgcgaccga 2280  
40 gccatccaga tccacggcgc ttctggcgtg agtcaggact ttgtctgtc ttactgtac 2340  
gccgccctgc gcacgctacg tatcgccgac ggaccggatg aagtgcacat gcggaccatc 2400  
45 gcaaaactcg agctgagcca ctcgaagtg taagagaaat gtaaggcaaa agcaagcgtg 2460  
aa 2462

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

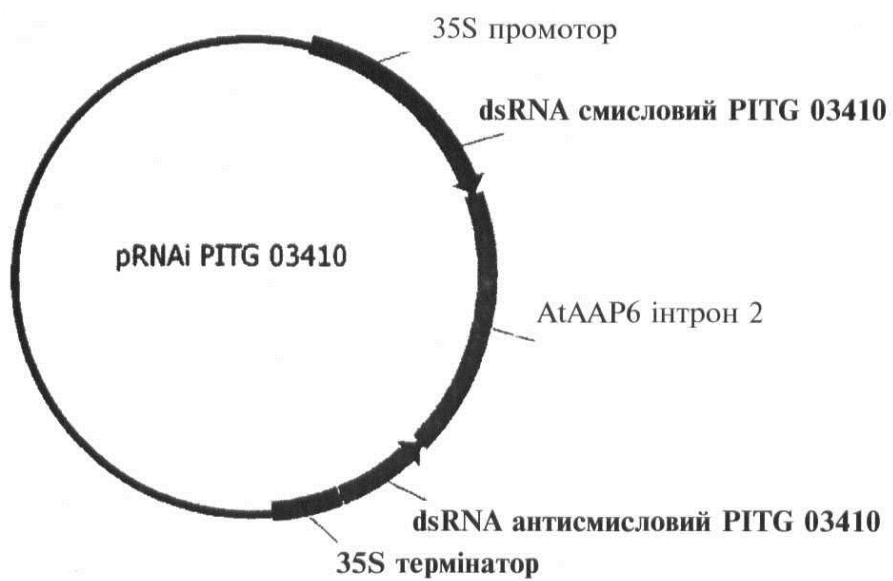
- 50 1. Трансгенна рослина виду *Solanum tuberosum* або її частина, в геном якої стабільно інтегровані дволанцюгова перша ДНК і дволанцюгова друга ДНК для надання патогеностійкості проти ооміцету *Phytophthora infestans*, причому нуклеотидні послідовності кодувального ланцюга згаданих першої ДНК і другої ДНК є повністю або частково зворотно-
- 55 комплементарними відносно одна до іншої, так що з них може бути одержана дволанцюгова РНК, яка **відрізняється** тим, що перша ДНК містить:
- (а) нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1; або
- (б) фрагмент із щонайменше 21 послідовного нуклеотиду нуклеотидної послідовності, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1; або



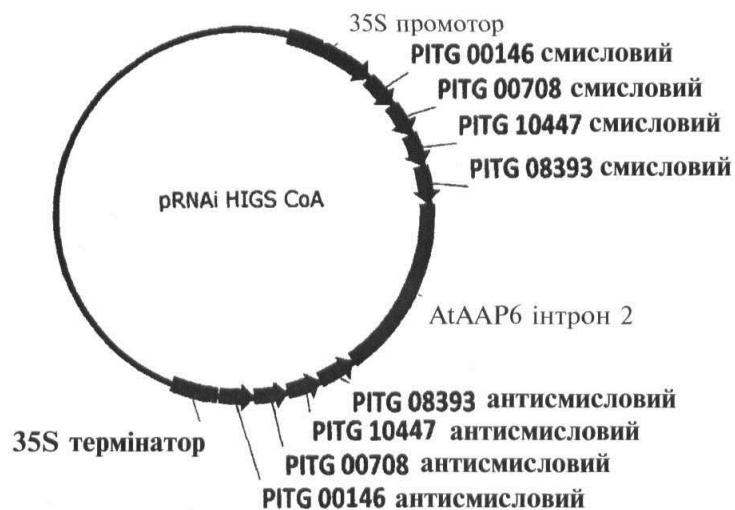
- (c) нуклеотидну послідовність, яка є комплементарною одній з нуклеотидних послідовностей (a) або (b); або  
 (d) нуклеотидну послідовність, яка гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (a), (b) або (c) за жорстких умов.
- 5 2. Трансгенна рослина за п. 1, яка **відрізняється** тим, що згадана дволанцюгова РНК являє собою miRNA або siRNA.
3. Трансгенна рослина за п. 1, яка **відрізняється** тим, що згадані перша ДНК і друга ДНК функціонально зв'язані зі щонайменше одним промотором.
4. Частина рослини за п. 1, яка **відрізняється** тим, що вона є насінням або клітиною.
- 10 5. Спосіб одержання трансгенної рослини виду *Solanum tuberosum*, яка має стійкість до ооміцету *Phytophthora infestans*, який включає:
- (i) одержання трансформованої першої батьківської рослини, що містить першу стабільно інтегровану в геном батьківської рослини дволанцюгову ДНК, яка містить:
- (a) нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1; або
- 15 (b) фрагмент із щонайменше 21 послідовного нуклеотиду нуклеотидної послідовності, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1; або
- (c) нуклеотидну послідовність, яка є комплементарною одній з нуклеотидних послідовностей (a) або (b); або
- (d) нуклеотидну послідовність, яка гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (a), (b) або (c) за жорстких умов;
- 20 (ii) одержання трансформованої другої батьківської рослини, що містить другу стабільно інтегровану в геном батьківської рослини дволанцюгову ДНК, при цьому нуклеотидні послідовності кодувального ланцюга згаданих першої ДНК та другої ДНК є частково або повністю зворотно-комплементарними відносно одна до іншої;
- 25 (iii) схрещування згаданої першої батьківської рослини зі згаданою другою батьківською рослиною;
- (iv) вибір рослини, у геномі якої дволанцюгова перша ДНК і дволанцюгова друга ДНК є стабільно інтегрованими для забезпечення патогеностійкості до ооміцету *Phytophthora infestans*, з метою одержання з них дволанцюгової РНК.
- 30 6. Спосіб за п. 5, який **відрізняється** тим, що дволанцюгова РНК являє собою miRNA або siRNA.
7. Композиція для зовнішнього застосування на рослинах для надання їм стійкості проти *Phytophthora infestans*, яка містить дволанцюгову РНК, причому ланцюг цієї РНК відповідає транскрипту дволанцюгової РНК, що містить
- 35 (a) нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1, або
- (b) фрагмент щонайменше з 21 послідовного нуклеотиду нуклеотидної послідовності, що відповідає послідовності SEQ ID NO: 1, або
- (c) нуклеотидну послідовність, яка є комплементарною одній з нуклеотидних послідовностей (a) або (b), або
- 40 (d) нуклеотидну послідовність, яка гібридується з однією з нуклеотидних послідовностей (a), (b) або (c) за жорстких умов.
8. Композиція за п. 7, яка **відрізняється** тим, що має форму спрею.



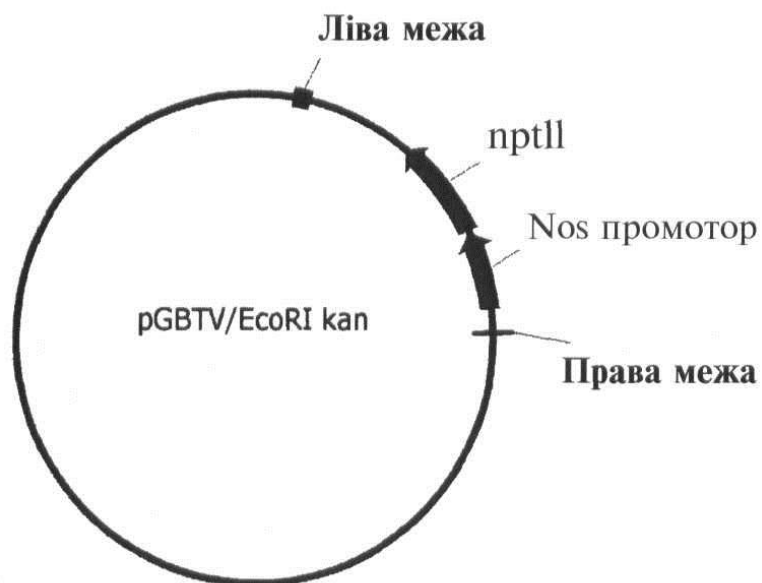
ФІГ. 1



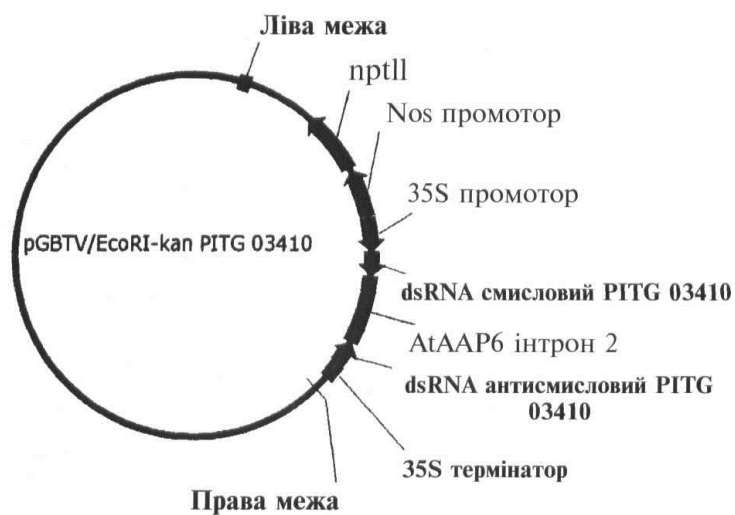
ФІГ. 2



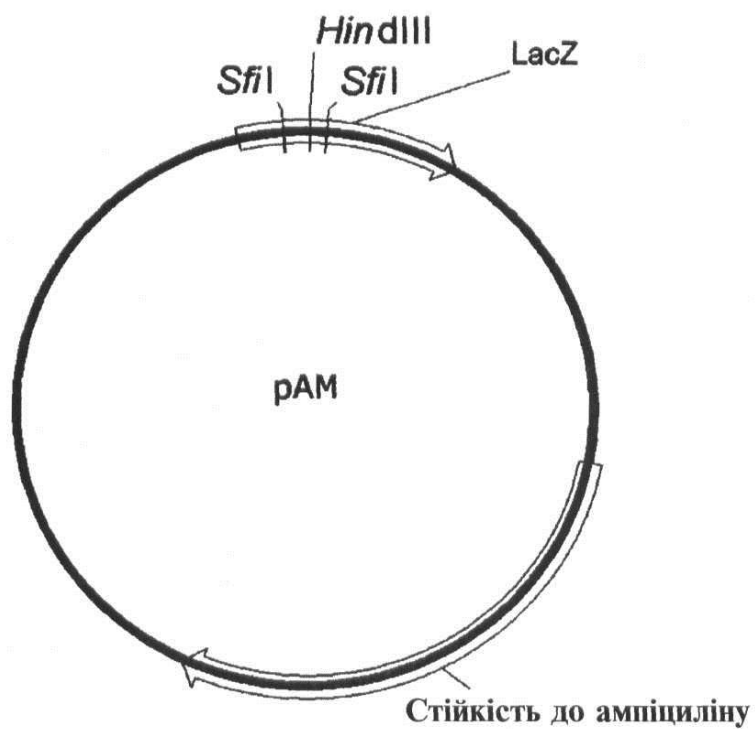
ФІГ. 3



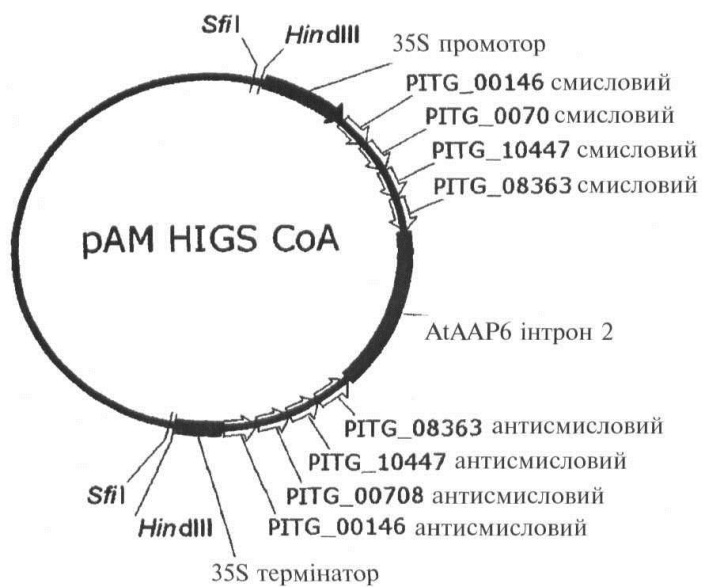
ФІГ. 4



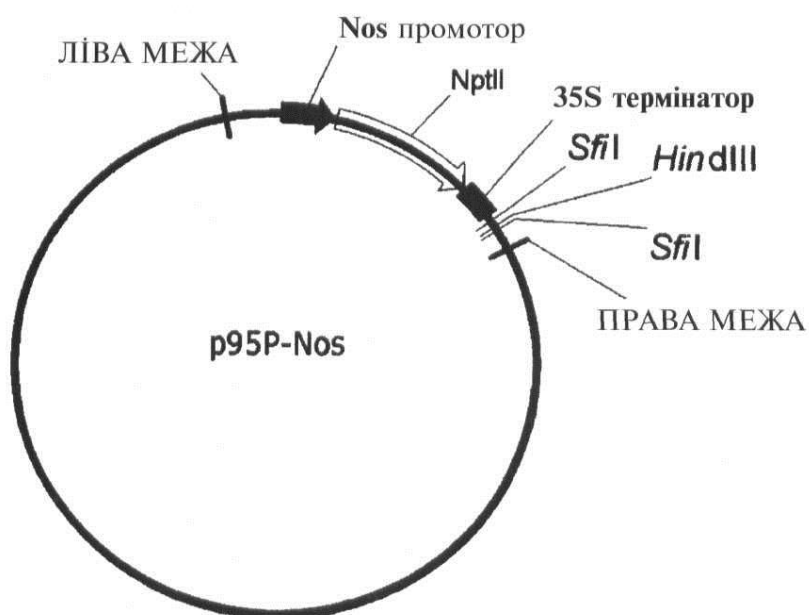
ФІГ. 5



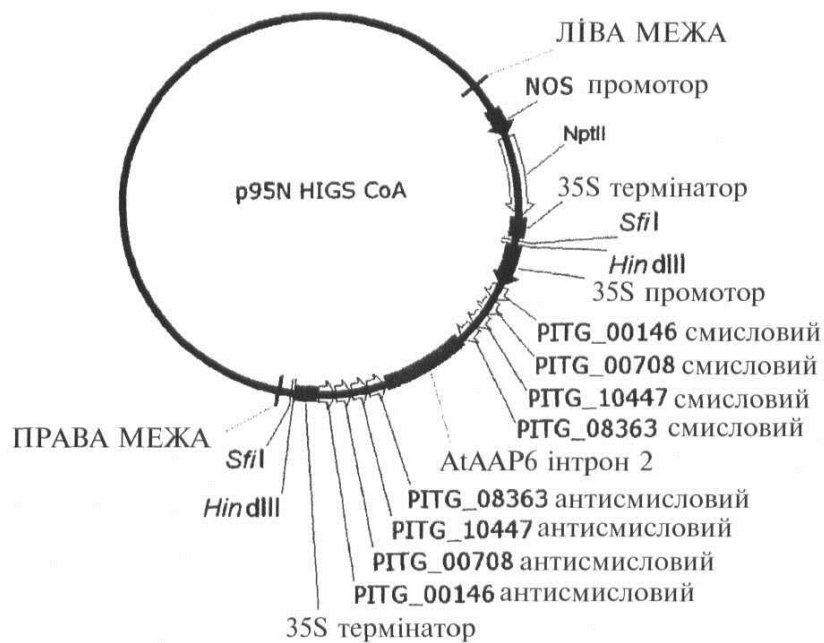
ФІГ. 6



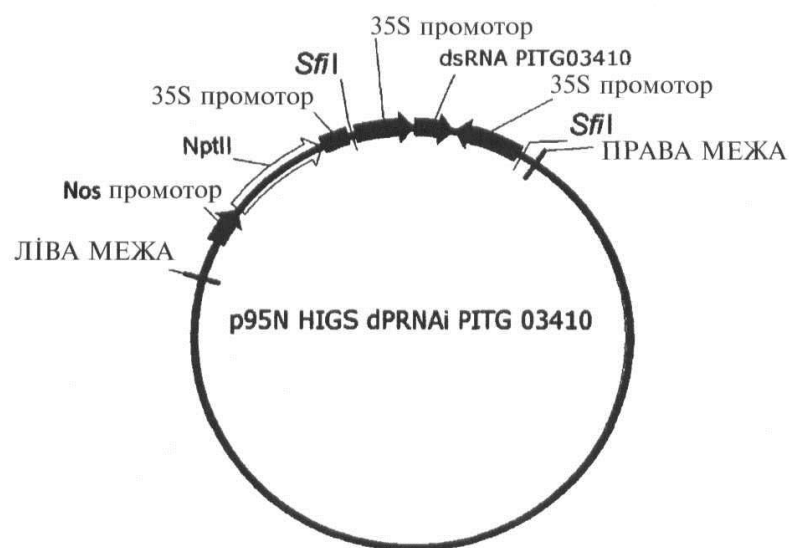
ФІГ. 7



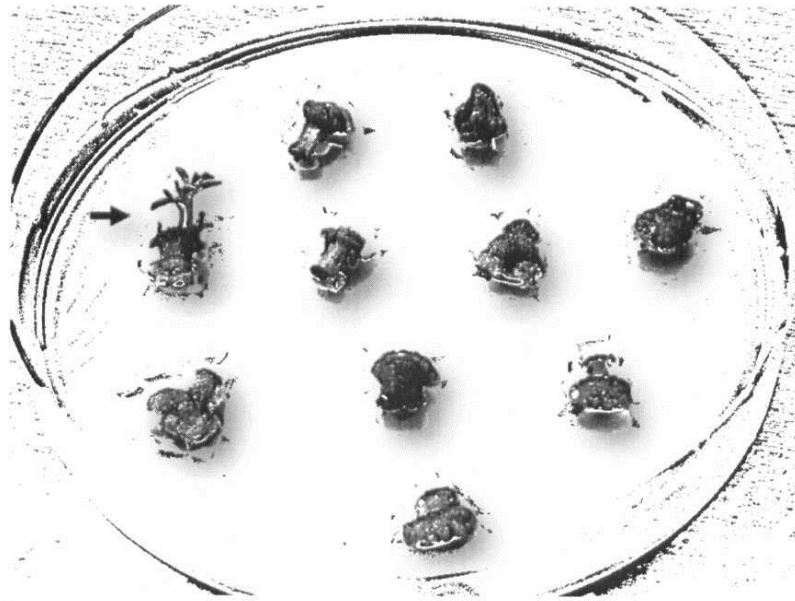
ФІГ. 8



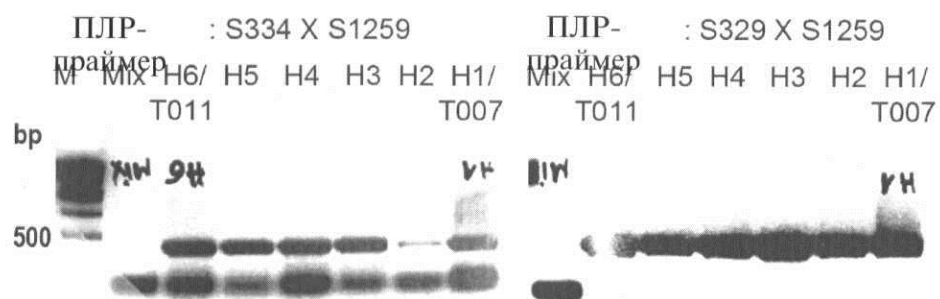
ФІГ. 9



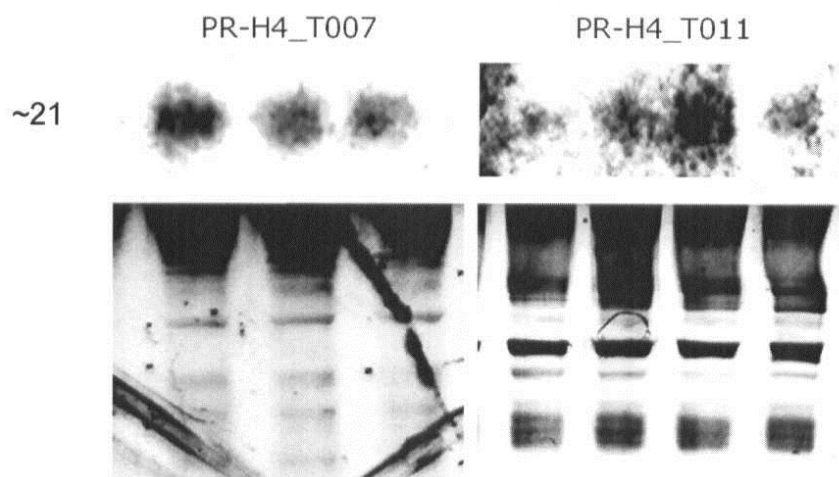
ФІГ. 10



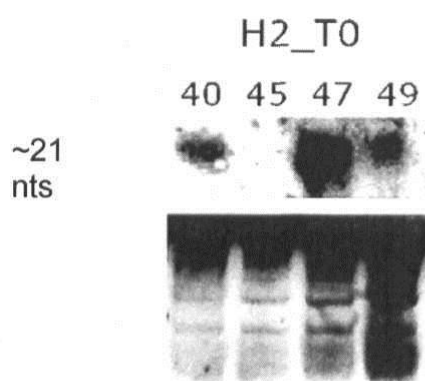
ФІГ. 11



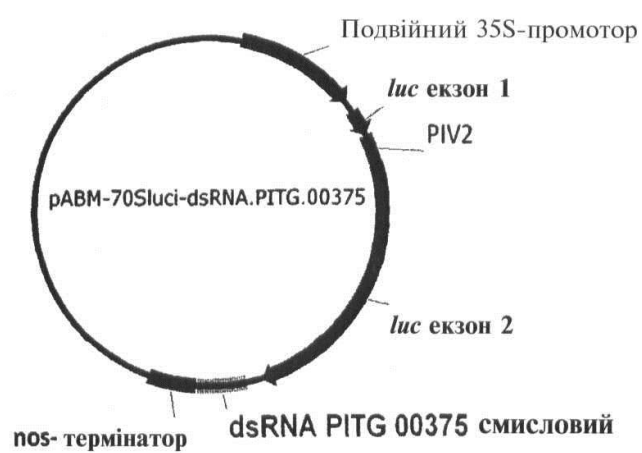
ФІГ. 12



ФІГ. 13А

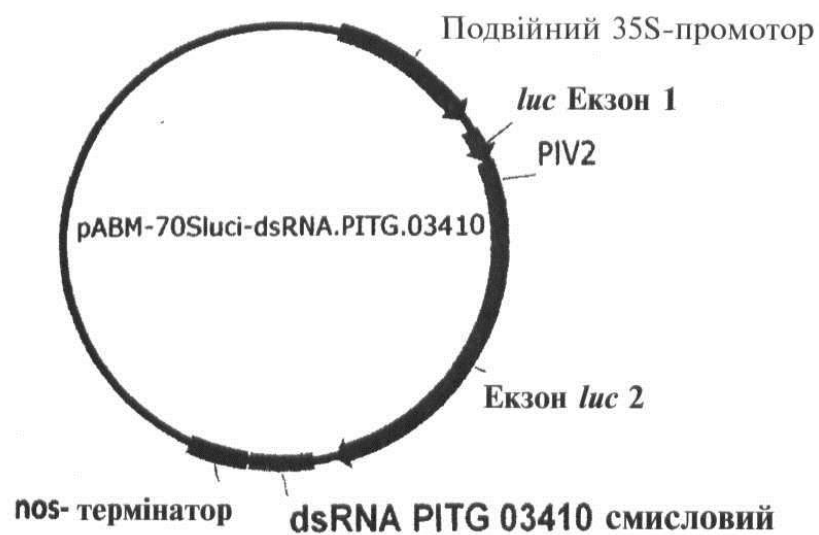


ФІГ. 13В

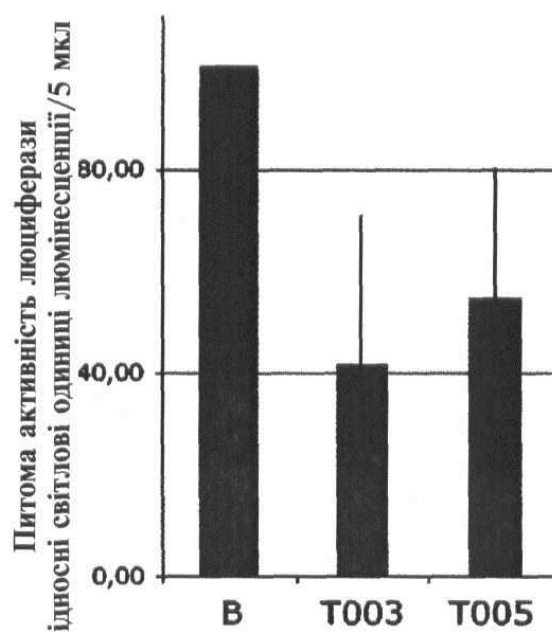


ФІГ. 14А

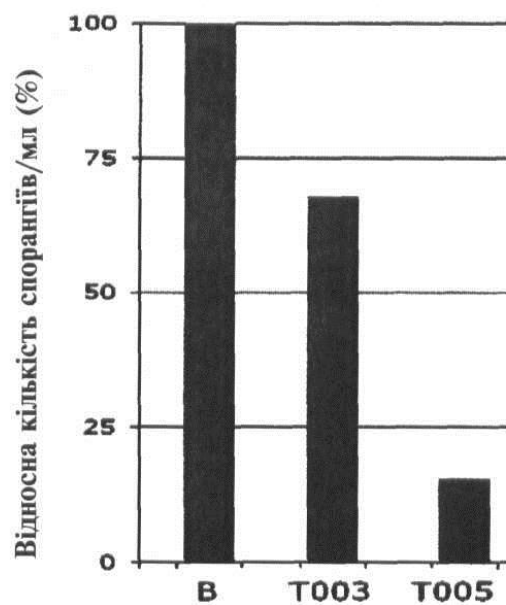




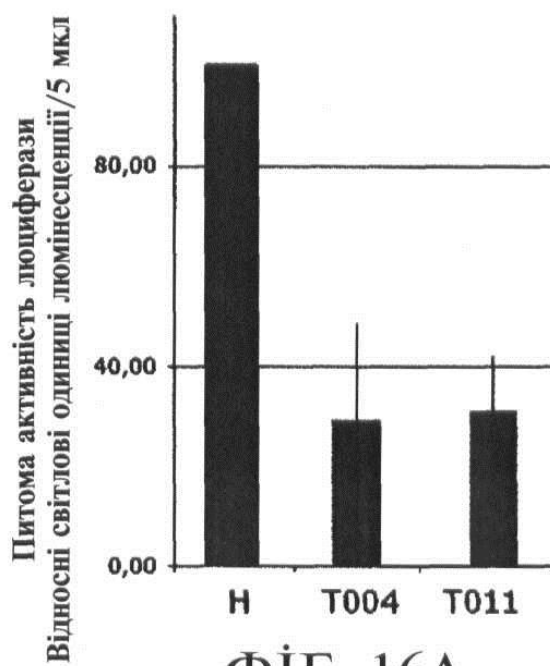
ФІГ. 14В



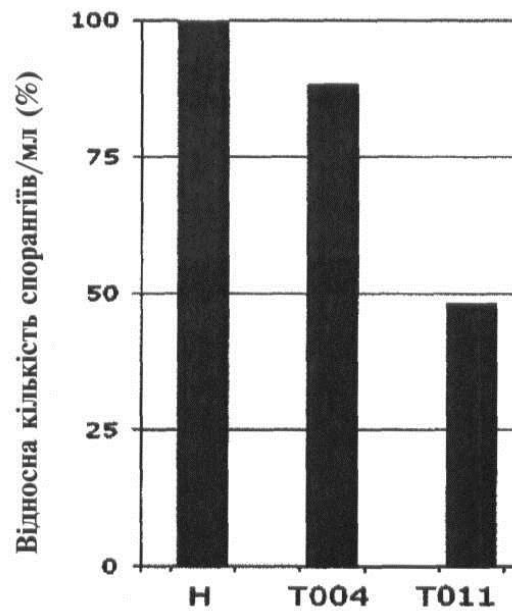
ФІГ. 15А



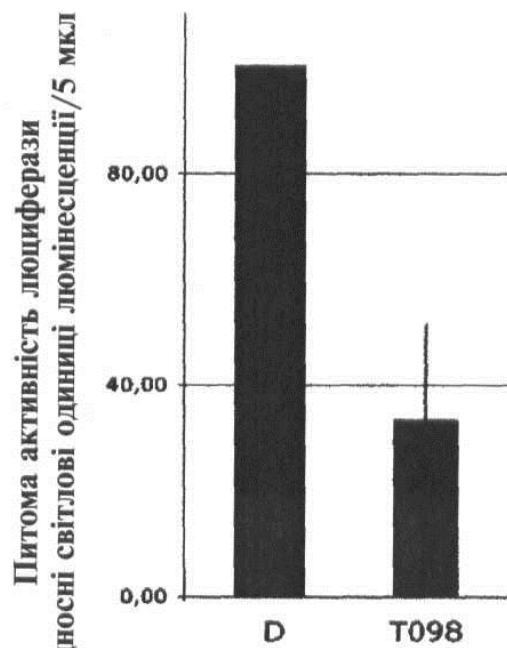
ФІГ. 15В



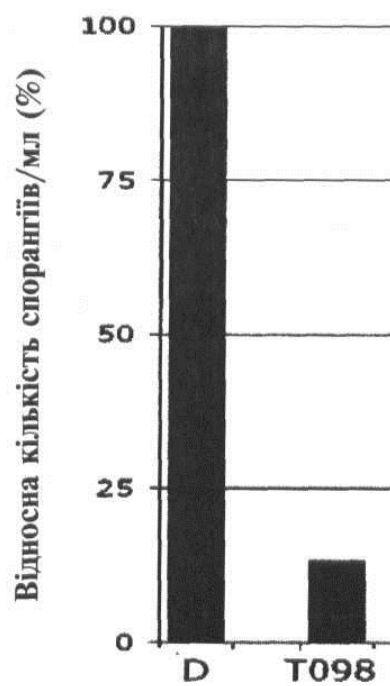
ФІГ. 16А



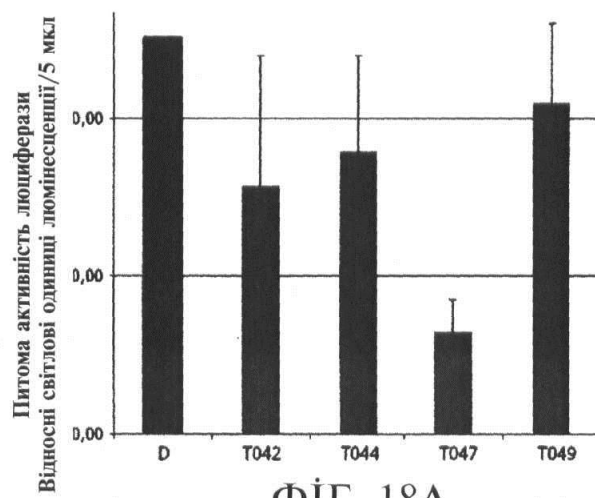
ФІГ. 16В



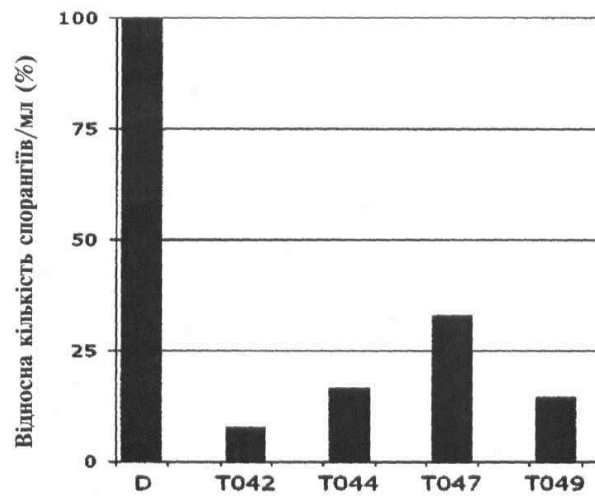
ФІГ. 17А



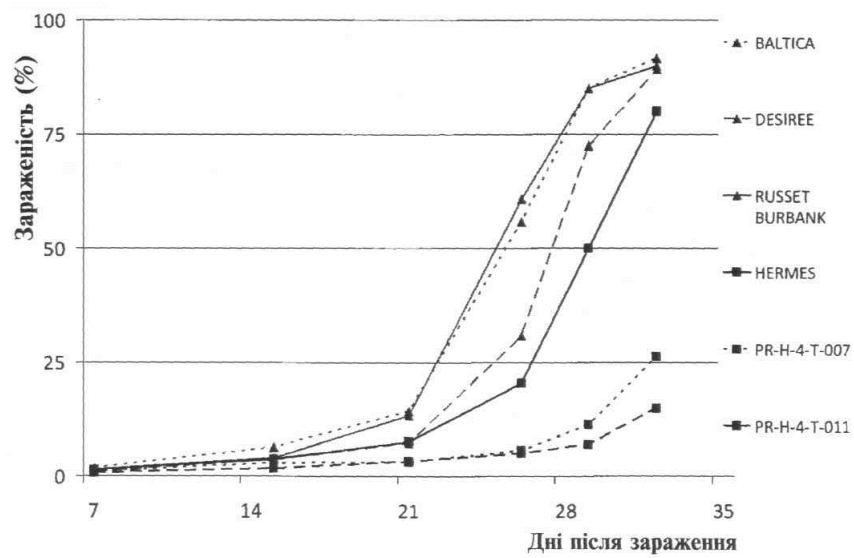
ФІГ. 17В



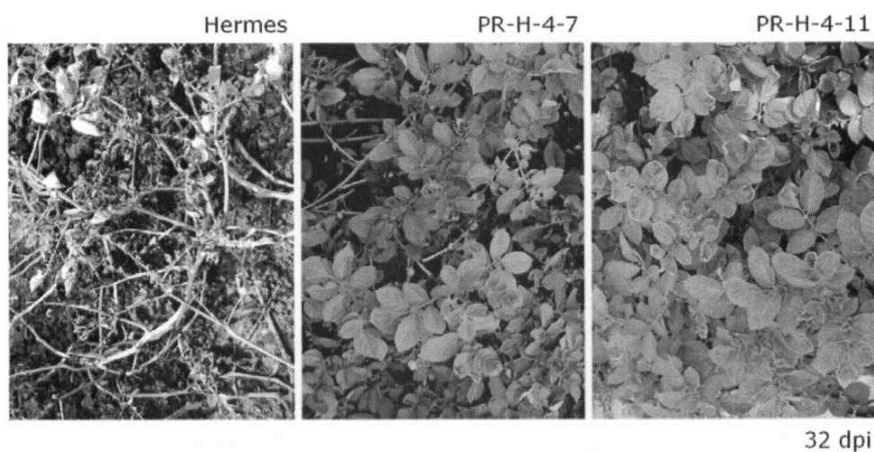
ФІГ. 18А



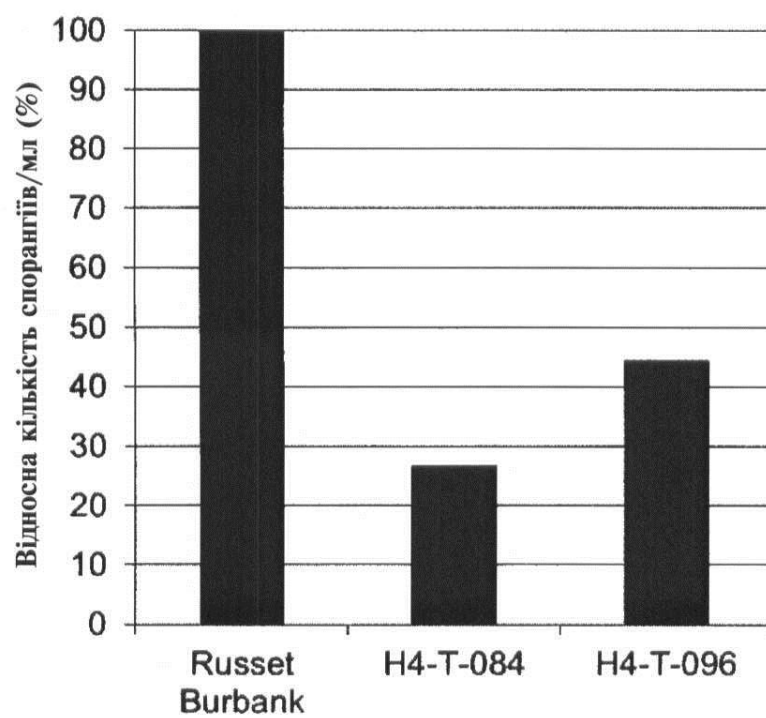
ФІГ. 18В



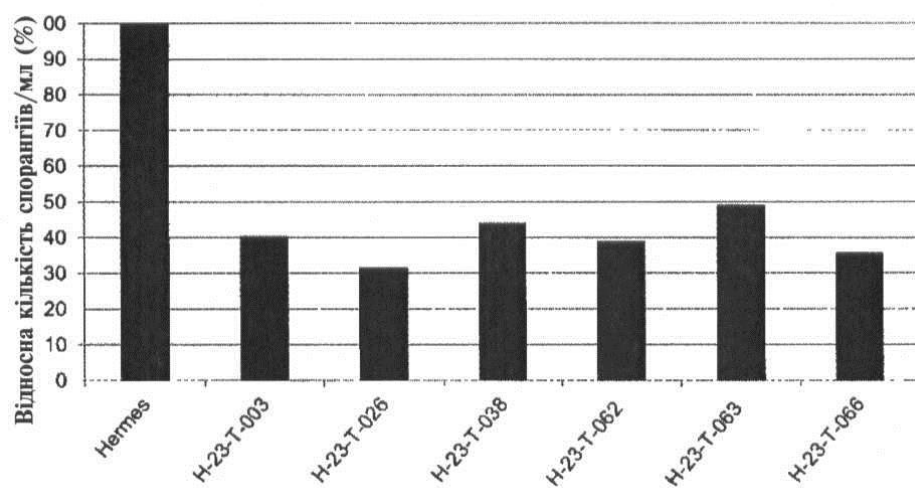
ФІГ. 19А



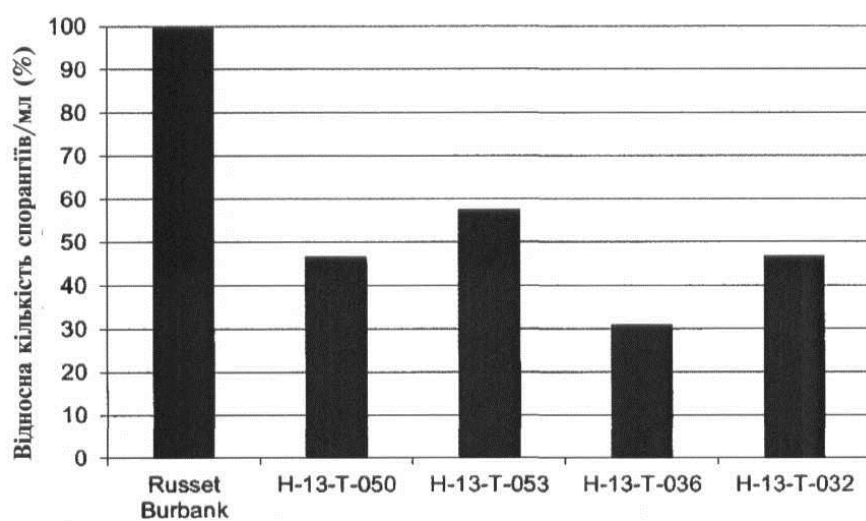
ФІГ. 19В



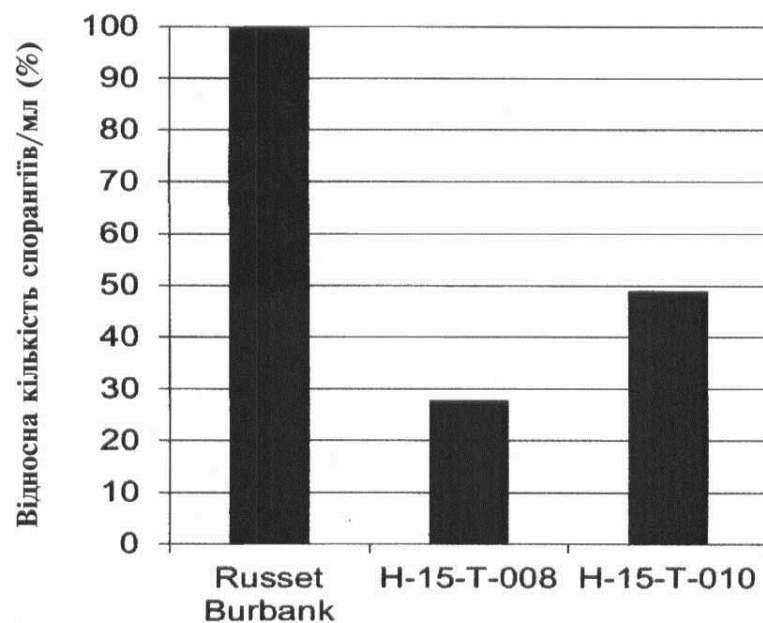
ФІГ. 20



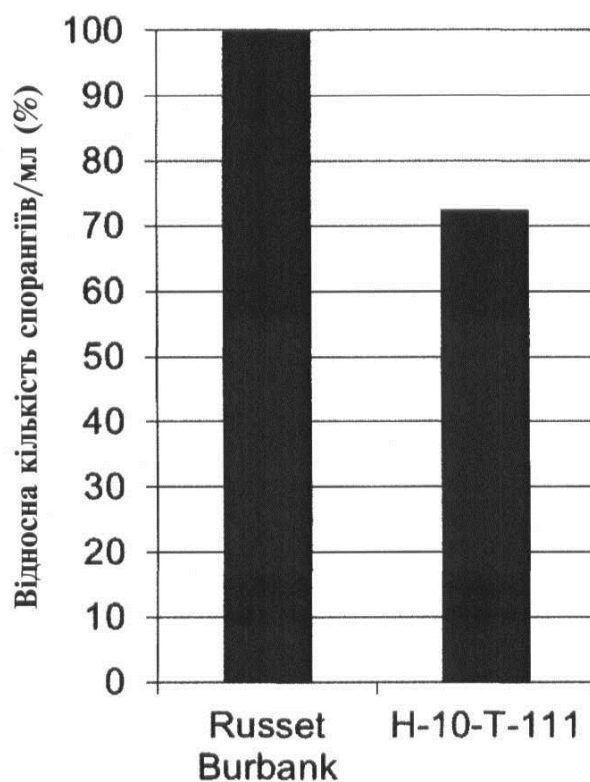
ФІГ. 21



ФІГ. 22

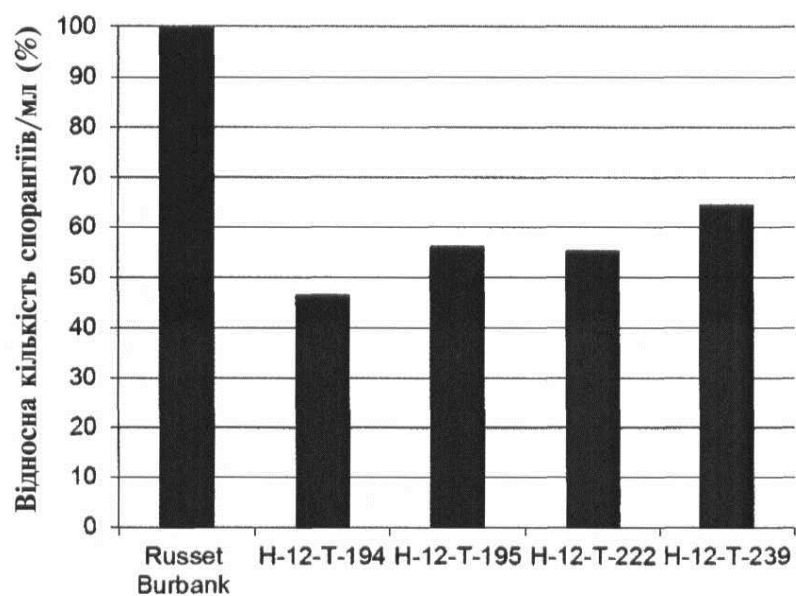


ФІГ. 23

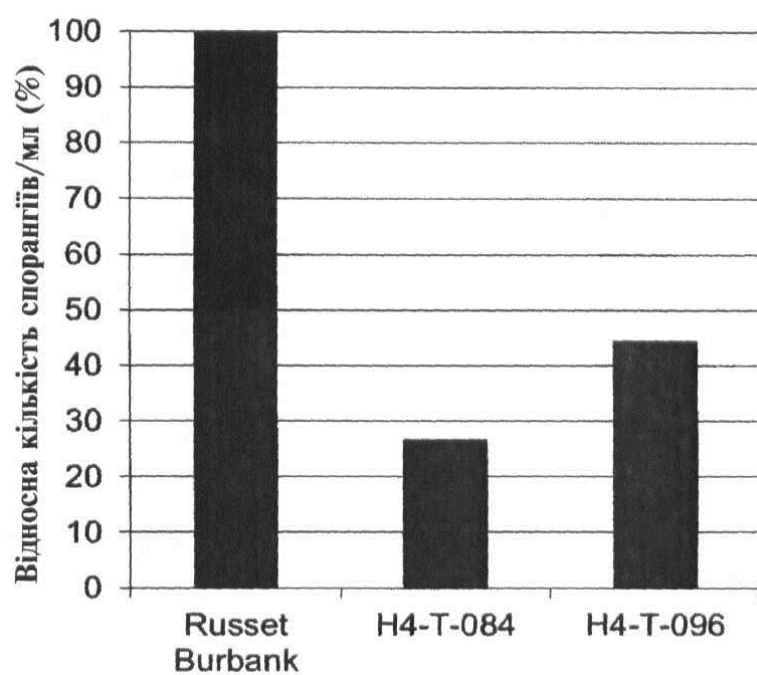


ФІГ. 24

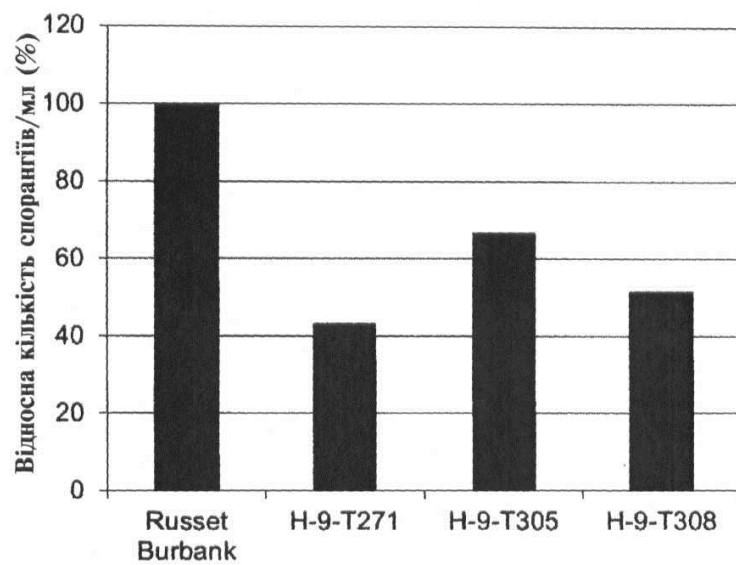




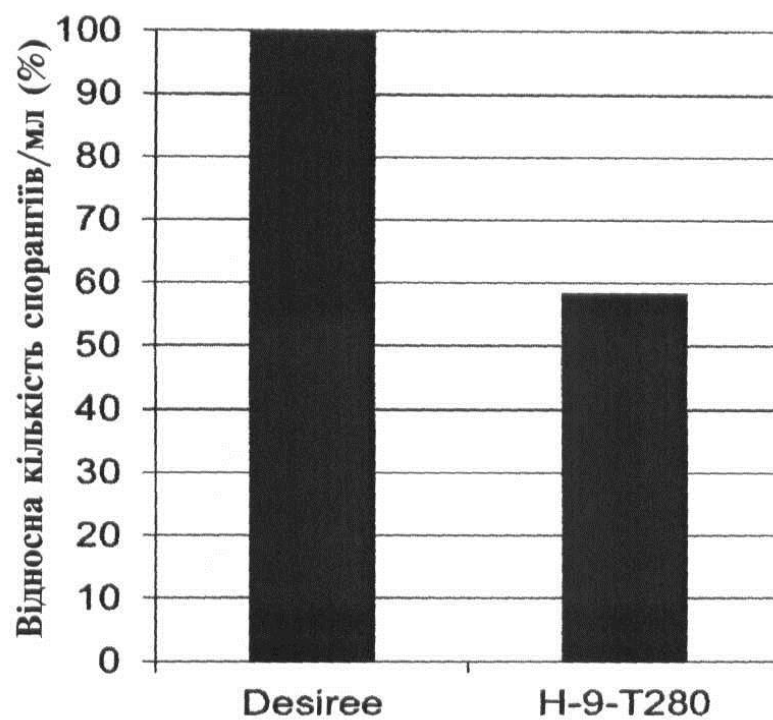
ФІГ. 25



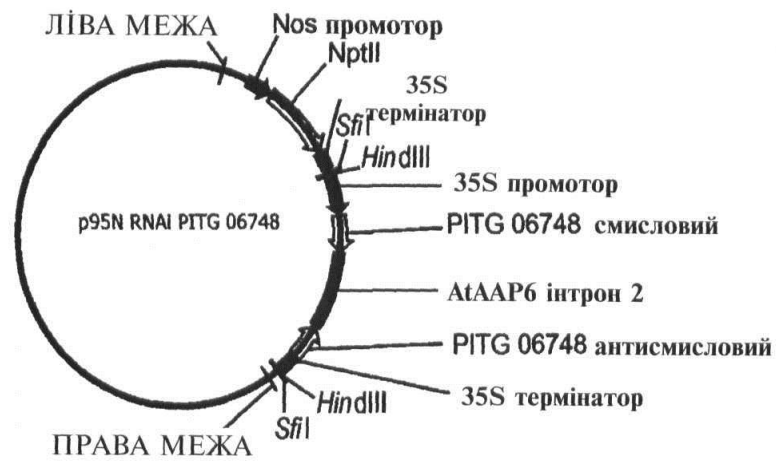
ФІГ. 26



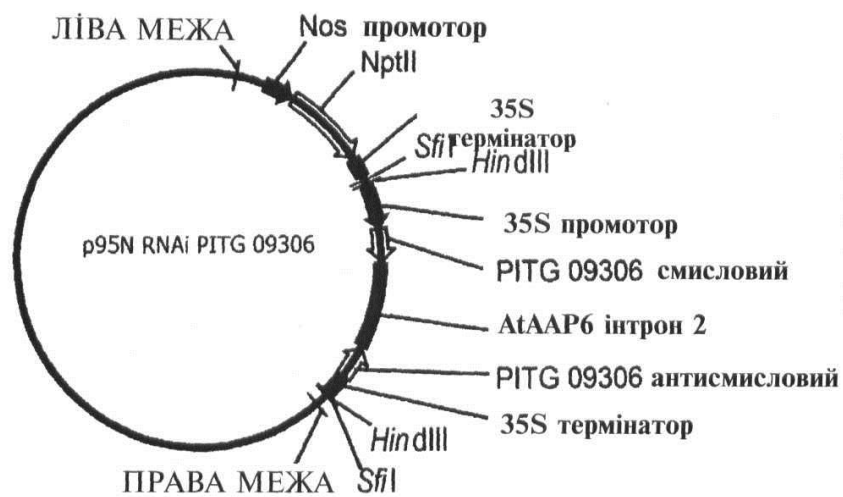
ФІГ. 27



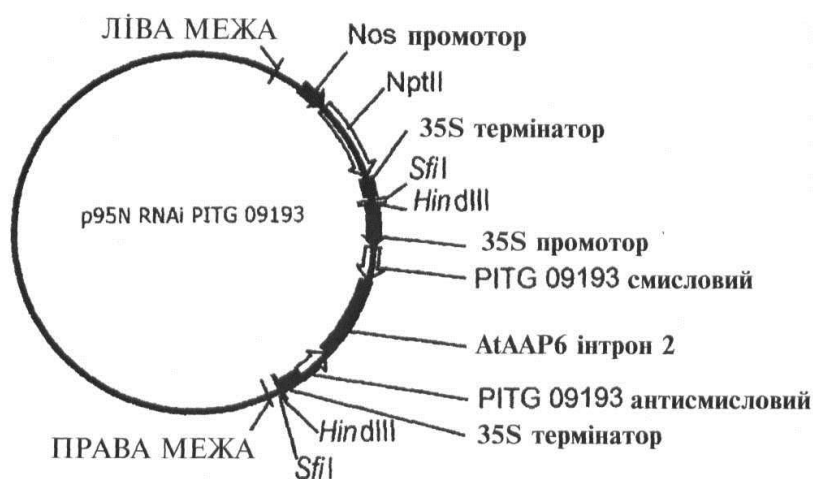
ФІГ. 28



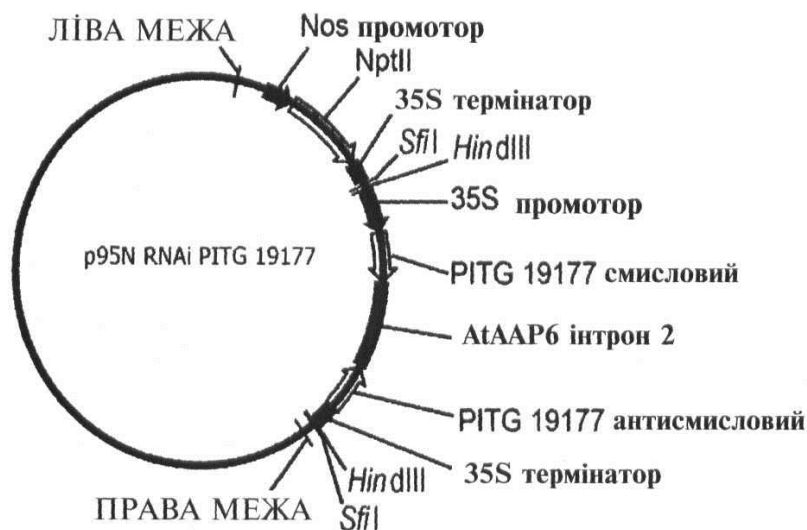
ФІГ. 29



ФІГ. 30



ФІГ. 31



ФІГ. 32

---

Комп'ютерна верстка С. Чулій

---

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