



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120836** (13) **C2**  
(51) МПК**C12N 15/82** (2006.01)**C07K 14/415** (2006.01)**A01H 6/20** (2018.01)МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

|  |   |
|--|---|
| <b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2015 10788</b>  | <b>(72)</b> Винахідник(и):<br><b>Ботс Марк (BE),</b><br><b>Лага Бенджамін (BE),</b><br><b>Мушель Селін (BE)</b>   |
| <b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>02.04.2014</b>   | <b>(73)</b> Власник(и):<br><b>БАЙЕР КРОПСАЄНС НВ,</b><br>J.E. Mommaertslaan 14, B-1831 Diegem,<br>Belgium (BE)  |
| <b>(24)</b> Дата, з якої є чинними<br>права на винахід: <b>25.02.2020</b>  | <b>(74)</b> Представник:<br><b>Пахаренко Олександр Володимирович,</b><br><b>реєстр. №136</b>  |
| <b>(31)</b> Номер попередньої<br>заявки відповідно до<br>Паризької конвенції: <b>13162447.0</b>  | <b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги<br>експертизою:<br>WO 2009/047525 A1, 26.04.2009<br>WO 2010/039750 A2, 08.04.2010<br>Li Yunhai et al, "Control of final seed and<br>organ size by the DA1 gene family in<br>Arabidopsis thaliana", Genes and<br>Development, Cold Spring Harbor Laboratory<br>Press, Plainview, NY, US, 01.05.2008, vol. 22,<br>no. 10, P. 1331 - 1336<br>Krizek et al, "Making bigger plants: key<br>regulators of final organ size", Current Opinion<br>in Plant Biology, Quadrant Subscription<br>Services, GB, vol. 12, no. 1, 01.02.2009, P. 17<br>- 22<br>Gonzalez N et al, "David and Goliath: what<br>can the tiny weed Arabidopsis teach us to<br>improve biomass production in crops?",<br>Current Opinion in Plant Biology, Quadrant<br>Subscription Services, GB, vol. 12, no. 2,<br>01.04.2009, P. 157 - 164 |
| <b>(32)</b> Дата подання<br>попередньої заявки<br>відповідно до<br>Паризької конвенції: <b>05.04.2013</b>  |   |
| <b>(33)</b> Код держави-учасниці<br>Паризької конвенції,<br>до якої подано<br>попередню заявку: <b>EP</b>  |   |
| <b>(41)</b> Публікація відомостей<br>про заявку: <b>10.12.2015, Бюл.№ 23</b>   |   |
| <b>(46)</b> Публікація відомостей<br>про видачу патенту: <b>25.02.2020, Бюл.№ 4</b>  |   |
| <b>(86)</b> Номер та дата<br>подання міжнародної<br>заявки, поданої<br>відповідно до<br>Договору РСТ: <b>PCT/EP2014/056628,</b><br><b>02.04.2014</b> |   |

**(54) РОСЛИНА BRASSICA, ЯКА МІСТИТЬ МУТАНТНІ DA1 АЛЕЛІ****(57)** Реферат:

Винахід стосується рослини *Brassica*, яка містить щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель першого ендегенного DA1 гена є індукованим мутантним DA1 алелем, зазначений мутантний DA1 алель кодує мутантний DA1 білок, де зазначена рослина є гомозиготною за вказаним мутантним DA1 алелем, і де другий DA1 ген містить алель дикого типу. Винахід також стосується насіння зазначеної рослини *Brassica* та способу збільшення ваги тисячі насінин насіння *Brassica*.

UA 120836 C2



## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Винахід стосується галузі сільськогосподарських продуктів, зокрема, видів Brassica, вага насіння яких підвищується. Більш конкретно, винахід стосується способів та засобів зміни ваги насіння.

## 5 РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Вага насіння або розмір насіння є важливими агрономічними характеристиками сільськогосподарських видів Brassica.

Для декількох видів сільськогосподарських рослин, локуси кількісних ознак (QTLs) було картовано для розміру та ваги насіння. У Brassica було картовано декілька локусів QTL для ваги насіння (Cai et al., 2012, BMC Genetics 13:105; Zhang et al., 2011, Theor Appl Genet 122:21; Fan et al., 2010, Theor Appl Genet 121:1289). Два гени-«кандидати», BnMINI3a та BnTTG2a, були визначені, ґрунтуючись на картуванні QTL, як гени-«кандидати» (Fan et al., 2010, supra). BnMINI3a та BnTTG2a є Brassica гомологами фактора транскрипції MINI3 і TTG2 у Arabidopsis, відповідно. Cai et al., 2012 (supra) картували розташування декількох генів-«кандидатів» 15 врожайності, для того щоб забезпечити локуси QTLs, і виявили локалізацію генів TTG2 і GS5 у Arabidopsis поблизу локусів врожайності (QTLs) TSWA1; GW2 в тому ж положенні TSWA2; CKI1 і MN1 поблизу піку TSWA4; MINI3 у довірчому інтервалі TSWA5b; FIE у довірчому інтервалі TSWA5a; AHP3, AHP5 і MEA у тому ж довірчому інтервалі TSWA10; і AGL62, GS3 та GASA4 на піках або у довірчих інтервалах TSWC2a, TSWC2b, і TSWC2c, відповідно. Для двох основних 20 локусів QTL, TSWA7a та TSWA7b, жодна інформація щодо генів-«кандидатів» не може бути одержана з карти.

Крім згаданих вище генів, було ідентифіковано декілька інших генів, що беруть участь у регулюванні розміру або ваги насіння (див. Cai et al., 2012 (вище) для огляду). Було також описано, що у рослин Brassica, які надекспресують різні варіанти гена REV, був підвищений 25 розмір насінин і вага тисячі насінин (WO2007/079353, US2011/0271405). Гени Brassica, які підвищують вагу насіння при надекспресії у Arabidopsis, – це ген AOX1 (WO2012/100682) та ген wr1-тип (Liu et al., 2010, Plant Physiol Biochem 48:9). Інші гени, що впливають на розмір або вагу насіння, являють собою ген MNT (WO2005/085453), ген цитокінінооксидази (US2005/0150012), CYP78A7 (US2010/0281576), сахарозоізомерази (WO2012/119152), гени із групи Полікомб 30 (WO2001/038551), гіберелін 20-оксидази (US2009/0007295) та сорбітолдегідрогенази (WO2008/144653). В US2011/0265225, було описано чотири гени рису, які збільшують розмір насінин при надекспресії в рисі. В WO2003/096797 описано надекспресію декількох генів у декількох видів рослин та вплив на розмір та вагу насінини у Arabidopsis та сої.

Li et al (2008, Genes Dev 22:1331) та WO2009/047525 описали DA1 у Arabidopsis, що кодує 35 передбачуваний рецептор убіквітину, який визначає кінцевий розмір насіння та органу, обмежуючи період клітинної проліферації. В результаті генетичного скринінгу був ідентифікований мутантний da1-1 ген у Arabidopsis thaliana, який підвищує як розмір насіння, так і органів. Підвищення маси насіння спостерігали лише у тому випадку, коли материнські рослини були гомозиготними для da1-1 мутації. Мутант da1-1 містить одонуклеотидний перехід 40 G в A у гені At1g19270, що обумовлює зміну аргініну на лізин у консервативній амінокислоті в положенні 358. Фенотипи da1-1 були доповнені геном DA1 дикого типу за допомогою трансгенної експресії повної кДНК DA1 дикого типу. Розрив гена DA1 не обумовлює чітких фенотипових змін росту. Лінії, гетерозиготні для da1-1 мутації, мали розміри насіння та органів, подібні до рослин дикого типу, натомість рослини з da1-1 мутацією, у комбінації з нокаутним da1 45 алелем виявляли фенотип, подібний до da1-1.

У Brassica гара були ідентифіковані два DA1 ортологи, BrDA1a та BrDA1b (WO2009/047525). Амінокислотна послідовність BrDA1a є ближчою до амінокислотної послідовності DA1 (AtDA1) у Arabidopsis, однак було передбачено, що BrDA1b має більш подібні біохімічні особливості з AtDA1. Трансгенні рослини Arabidopsis da1-1, що експресують 35S-BrDA1a, виявили здатність 50 щонайменше до часткової реалізації da1-1 фенотипу, натомість трансгенні рослини 35S-BrDA1b виявили повну реалізацію da1-1 фенотипу. При надекспресії кДНК BrDA1a з мутацією, тотожною мутації R358K в DA1 у Arabidopsis (BrDA1a<sup>R358K</sup>), у Arabidopsis дикого типу спостерігали типові da1-1 фенотипи.

Cai et al, 2012 (supra) описують, що кожен із Brassica rapa та Brassica oleracea несуть дві 55 копії гена DA1. Гомологічні гени DA1 були нанесені на карту зчеплених генетичних ознак В. parus і вирівняні з QTL локусом ваги тисячі насінин (BTH). В той час як Cai et al. (див. вище) виявили, що декілька генів-«кандидатів» врожайності були зв'язані з QTL локусом BTH, DA1 не був локалізований у одному місці з жодним із 11 протестованих QTL локусів BTH.

Для використання DA1 гена для підвищення врожайності насіння у Brassica, залишається 60 потреба у з'ясуванні відносного внеску різних DA1 генів у вагу насіння. Виділення мутантних

алелів, які відповідають *da1*, у економічно важливих рослин Brassicaceae, таких як озимий ріпак, може бути ускладнене амфідиплоїдією у озимого ріпаку і, як наслідок, функціональною надлишковістю відповідних генів.

Таким чином, стан питання стосовно з'ясування ідентичності DA1 генів у амфідиплоїдних видів *Brassica species*, а також внеску різних DA1 генів у визначення ваги насіння залишається остаточно нез'ясованим. Як описується далі, ця проблема була вирішена, що дає змогу модифікувати DA1 з метою підвищення ваги насіння у *Brassica*, що стане очевидним з різних варіантів втілення та формули винаходу.

#### СУТЬ ВИНАХОДУ

В одному варіанті здійснення винаходу забезпечуються рослина *Brassica* або її частини, які містять щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, вказаний мутантний DA1 алель, що кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну. В іншому варіанті здійснення винаходу, вказана рослина *Brassica* або її частини також містять чотири DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну, і де щонайменше один алель другого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну; або де мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена є повністю нокаутним DA1 алелем. У конкретному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель вказаного першого DA1 гена кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, лізин замість аргініну. У ще одному варіанті здійснення, рослина *Brassica* згідно з винаходом є гомозиготною за мутантними DA1 алелями.

У ще одному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель першого DA1 гена рослин *Brassica* згідно з винаходом є мутантним DA1 алелем, який виявляє щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, таким як мутантний DA1 алель, який має щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, або мутантний DA1 алель, який кодує мутантний DA1 білок, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8. В іншому варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель другого DA1 гена рослин *Brassica* згідно з винаходом є мутантним DA1 алелем, який виявляє щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12, таким як мутантний DA1 алель, який виявляє щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12; або мутантний DA1 алель DA1 гена, вказаний DA1 ген, який кодує DA1 білок, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 14. У конкретному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель першого DA1 гена рослин *Brassica* згідно з винаходом кодує білок SEQ ID NO: 17, в той час як ще у наступному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена рослин *Brassica* згідно з винаходом є повністю нокаутним DA1 алелем, вказаний нокаутний DA1 алель містить послідовність SEQ ID NO: 12 із заміщенням С на Т в положенні 2011.

У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечуються рослини *Brassica* або їх частини, які несуть щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель DA1 гена є повністю нокаутним DA1 алелем. У ще іншому варіанті здійснення винаходу вказаний нокаутний DA1 алель, який містить щонайменше 96 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 3, або містить щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, або містить щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12, або кодує білок, який містить щонайменше 96 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 5, або щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8, або щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 14.

В іншому варіанті здійснення винаходу рослини *Brassica* або їх частини згідно з винаходом обирають з групи, що складається з *Brassica rapa*, *Brassica oleracea* і *Brassica napus*.

У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечуються рослини згідно з винаходом, які містять щонайменше один мутантний DA1 алель, де вага тисячі насінин істотно підвищується у порівнянні з вагою тисячі насінин відповідної рослини, яка не несе мутантного DA1 алеля.

У ще іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується насіння рослин *Brassica* згідно з винаходом, таке як насіння, зразки якого депоновані в NCIMB під інвентарним номером NCIMB 42114.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечуються нащадки рослин *Brassica* згідно з винаходом або насіння згідно з винаходом.

У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб ідентифікації мутантного

DA1 алеля винаходу у біологічному зразку, який полягає у застосуванні до біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів, де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або де специфічний зонд специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля. В іншому варіанті здійснення винаходу, забезпечується спосіб ідентифікації мутантного DA1 алеля винаходу у біологічному зразку, який полягає у застосуванні щодо біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів, крім того, він полягає у застосуванні до біологічного зразка гібридизаційного тесту за допомогою набору специфічних зондів, який містить щонайменше один специфічний зонд, де вказаний набір зондів містить один із вказаних зондів, що специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інший з-поміж вказаних зондів специфічно розпізнає ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один із вказаних зондів специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інший з-поміж вказаних зондів специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або містить специфічний зонд, який специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля.

В наступному варіанті здійснення винаходу забезпечується набір для ідентифікації мутантного DA1 алеля, як описано в п. 1 або п. 2, у біологічному зразку, що містить набір праймерів або зондів, де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5'- або 3'-фланкуючу ділянку мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або містить специфічний зонд, який специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб одержання гібридного насіння, що включає схрещування першої батьківської рослини Brassica згідно з винаходом з другою батьківською рослиною Brassica та збір одержаного гібридного насіння.

У ще іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб гібридизації, що включає схрещування першої батьківської рослини Brassica згідно з винаходом з другою батьківською рослиною Brassica і, необов'язково, також включає етап ідентифікації присутності або відсутності мутантного DA1 алеля згідно з винаходом, який полягає у застосуванні до біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів згідно з винаходом і, необов'язково, гібридизації з щонайменше одним зондом згідно з винаходом.

Наступною метою винаходу було забезпечити спосіб для підвищення ваги тисячі насінин Brassica, вказаний спосіб полягає у введенні мутантного DA1 алеля першого DA1 гена згідно з винаходом та, необов'язково, мутантного алеля DA1 другого DA1 гена згідно з винаходом, у рослину Brassica.

В наступному варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб виробництва насіння Brassica, вказаний спосіб полягає у висіванні насіння згідно з пп. 13 або 14, вирощуванні рослин із вказаного насіння та збиранні насіння із вказаних рослин.

Також забезпечується використання рослин згідно з винаходом для одержання насіння або вирощування озимого ріпаку як сільськогосподарської культури або виробництва олії озимого ріпаку або макухи з насіння озимого ріпаку. Також забезпечується олія або макуха з насіння згідно з винаходом.

У ще подальшому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб одержання харчових продуктів або кормів для тварин, таких як олія, зерно, крохмаль, борошно або білок, або технічних продуктів, таких як біопаливо, волокно, промислові хімічні речовини, фармацевтичні або нутрицевтичні речовини, який включає одержання рослини або її частини або насіння згідно з винаходом, і виробництво харчових продуктів, кормів для тварин або технічних продуктів з рослини або її частини.

Короткий опис креслень

Фігура 1: Вирівнювання білкової послідовності DA1 білка Arabidopsis SEQ ID NO: 2, і DA1 білкових послідовностей Brassica SEQ ID NON 5, 8, 11, 14, 56, 59, 62, 65, 69, 72 та 75. Домени

UIM1, UIM2 та LIM підкреслені. Консервативний аргініновий залишок (R) в положенні, що відповідає положенню 358 DA1 білка *Arabidopsis* послідовності SEQ ID NO: 2, відмічений рамкою.

Фігура 2: Відносна експресія *in silico* в різних тканинах *Brassica* генів DA1-A1 (ромби), DA1-A2 (кола), DA1-C1 (квадрати), і DA1-C2 (трикутники). 1: сім'ядолі; 2: корінь - 2 тижні; 3: стебло - 2 тижні; 4: стебло - 5 тижнів, 33 дні після висіву (ДПВ); 5: молодий листок - 33 ДПВ; 6: апікальна меристема та наймолодший листок, 33ДПВ; 7: маленькі квіткові бруньки (<5мм) 42ДПВ; 8: великі квіткові бруньки (>5мм) 42ДПВ; 9: відкрита квітка 52ДПВ; 10: стадія стручка 2 – 14-20 днів після цвітіння (ДПЦ); 11: стадія стручка 3 – 21-25ДПЦ; 12: стадія насіння 2 – 14-20ДПЦ; 13: стадія насіння 3-21-25ДПЦ; 14: стадія насіння 4 – 26-30ДПЦ; 15: стадія насіння 5 – 31-35ДПЦ; 16: стадія насіння 6 – 42ДПЦ; 17: стадія насіння 7 – 49 ДПЦ.

Фігура 3: Відносна експресія в молодих листках - 33 дні після висіву (A) і стеблі - 5 тижнів - 33 дні після висіву (B) DA1 генів *Brassica* в тканинах різних мутантних ліній. Значення представляють експресію в мутантній лінії порівняно з експресією у дикому типі. Чорні стовпчики: відносна експресія в мутантній лінії YIIN603; сірі стовпчики: відносна експресія в мутантній лінії YIIN611; вертикально посмуговані стовпчики: відносна експресія в мутантній лінії YIIN612; горизонтально посмуговані стовпчики: відносна експресія в мутантній лінії YIIN609; діагонально посмуговані стовпчики: відносна експресія в мутантній лінії YIIN615.

Фігура 4: Вага тисячі насінин (BTH) (A) та товщина плода (СТРУЧТ) (B) у ліній *Brassica* з різними DA1 мутантними алелями. Значення BTH і СТРУЧТ представлені як різниця у порівнянні з сегрегантами дикого типу.

Загальні визначення

Вага тисячі насінин (BTH) стосується ваги в грамах 1000 насінин.

"Сільськогосподарська рослина" стосується видів рослин, що культивуються як сільськогосподарські культури, таких як *Brassica napus* (AACC, 2n=38), *Brassica juncea* (AABB, 2n=36), *Brassica carinata* (BBCC, 2n=34), *Brassica rapa* (син. *B. campestris*) (AA, 2n=20), *Brassica oleracea* (CC, 2n=18) або *Brassica nigra* (BB, 2n=16). Визначення не охоплює бур'яни, такі як *Arabidopsis thaliana*.

"DA1 ген" або "DA1 алель", як тут використовується, є геном або алелем, що має кодуєчу послідовність, яка містить щонайменше 80 % ідентичності послідовності з кодуєчою послідовністю гена DA1 *Arabidopsis thaliana*, як описано в At1g19270.1 та в SEQ ID NO: 1.

Ген DA1 або алель DA1 може, але не повинен кодувати функціональний DA1 білок.

"DA1 білок" або "DA1 поліпептид", як тут використовується, є білком або поліпептидом, що виявляє щонайменше 80 % ідентичності послідовності до амінокислотної послідовності DA1 білка *Arabidopsis thaliana*, як описано в At1g19270.1 та в SEQ ID NO: 2.

"Мутантний DA1 ген" або "мутантний DA1 алель", як тут використовується, стосується будь-якого гена DA1 або алеля DA1, який не виявляється в рослинах у природній популяції або у гібридній популяції, однак який створюється внаслідок втручання людини, такого як мутагенез або таргетинг гена. Мутантний алель DA1 містить нокаутні алелі DA1 та функціональні алелі DA1.

"Мутантний DA1 білок" або "мутантний DA1 поліпептид" є DA1 білком або DA1 поліпептидом, який кодується мутантним DA1 геном або мутантним DA1 алелем.

"Повністю нокаутний da1 ген" або "нокаутний da1 алель", як тут використовується, це da1 ген або da1 алель, який кодує нефункціональний DA1 білок або істотно зменшену кількість DA1 білка, або який кодує DA1 білок зі значно зниженою активністю. Вказаний "повністю нокаутний da1 ген" або "повністю нокаутний DA1 алель" може бути мутантний DA1 алель або мутантний DA1 ген, який може не кодувати DA1 білок, або який може кодувати нефункціональний DA1 білок. Ген або алель можуть також називатись як інактивований ген або алель. Вказаний "повністю нокаутний da1 ген" або "повністю нокаутний DA1 алель" не зберігають da1-1 фенотип при надекспресії в da1-1 мутантному *Arabidopsis thaliana*, як описано в WO2009/047525 (включеному тут шляхом посилання).

"Істотно зменшена кількість DA1 білка" стосується зменшення кількості DA1 білка, який продукується клітиною, що містить мутантний DA1 алель, на щонайменше 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % або 100 % (тобто білок DA1 не продукується алелем) у порівнянні з кількістю DA1 білка, який продукується DA1 алелем дикого типу.

"Функціональний DA1 ген" або "функціональний DA1 алель", як тут використовується, - це DA1 ген або DA1 алель, який кодує функціональний DA1 білок. Вказаний "функціональний DA1 ген" або "функціональний DA1 алель" зберігає da1-1 фенотип при надекспресії під контролем CaMV 35S промотора у da1-1 мутантному *Arabidopsis thaliana*, як описано в WO2009/047525 (включеному тут шляхом посилання).

Термін "послідовність нуклеїнової кислоти" (або молекула нуклеїнової кислоти) стосується молекули ДНК або молекули РНК у одно- або двохланцюговій формі, зокрема ДНК, що кодує білок або білковий фрагмент згідно з винаходом. "Послідовність ендегенної нуклеїнової кислоти" стосується послідовності нуклеїнової кислоти в рослинній клітині, напр., ендегенного алеля гена DA1, присутнього у ядерному геномі клітини *Brassica*. "Послідовність ізольованої нуклеїнової кислоти" використовується для посилання на послідовність нуклеїнової кислоти, що вже не перебуває в своєму природному середовищі, наприклад *in vitro* або в рекомбінантній бактеріальній клітині або в клітині рослини-господаря.

Під терміном "ген" розуміють послідовність нуклеотидів у ДНК, яка містить ділянку (транскрибовану ділянку), що транскрибується в молекулу РНК (напр., в пре-мРНК, яка містить інтронні послідовності, які після цього сплайсуються в зрілий мРНК, або безпосередньо в мРНК без інтронних послідовностей) у клітині, функціонально зв'язану з регуляторними ділянками (напр., промотором). Ген, таким чином, може містити декілька функціонально зв'язаних послідовностей, таких як промотор, 5' лідерну послідовність, яка містить, напр., послідовності, залучені до ініціації трансляції, (білок)кодуючу ділянку (кДНК або геномну ДНК) і 3' нетрансльовану послідовність, яка містить, напр., сайти термінації транскрипції. "Ендегенний ген" використовується, для того щоб диференціювати цей термін від термінів "чужорідний ген", "трансген" або "химерний ген", і стосується гена, що походить від рослини певного роду рослин, виду або різновидності, який не був введений у рослину шляхом трансформації (тобто, це не є "трансген"), але який зазвичай присутній у рослин цього роду, виду або різновидності, або який введений у таку рослину від рослин іншого роду рослин, виду або різновидності, у яких він зазвичай присутній, шляхом звичайних селекційних методик або шляхом соматичної гібридизації, напр., за допомогою злиття протопластів. Аналогічно, "ендегенний алель" гена не вводиться в рослину або рослинну тканину шляхом трансформації рослини, однак, наприклад, утворюється у рослині внаслідок мутагенезу рослини та/або селекції або в результаті скринінгу природних популяцій рослин.

"Експресія гена" або "генна експресія" стосується процесу, в якому ділянка ДНК, що функціонально зв'язана з відповідними регуляторними ділянками, насамперед, з промотором, транскрибується в молекулу РНК. Молекула РНК після цього процесується далі (шляхом посттранскрипційних процесів) у клітині, напр., за допомогою сплайсингу РНК, ініціації трансляції та трансляції в амінокислотний ланцюг (поліпептид), і термінації трансляції за допомогою стоп-кодонів трансляції. Термін "функціонально експресується" використовується тут для позначення того, що утворюється функціональний білок; термін "нефункціонально експресується", для позначення того, що утворюється білок з істотно зниженою функціональною здатністю або ця здатність (біологічна активність) взагалі відсутня, або що білок взагалі не утворюється (див. далі нижче).

Терміни "білок" або "поліпептид" використовуються поперемінно і стосуються молекул, які складаються із амінокислотного ланцюга, без посилання на конкретний спосіб дії, розмір, 3-вимірну структуру або походження. "Фрагмент" або "частина" DA1 білка може, таким чином, називатись як "білок". "Ізольований білок" використовується щодо білка, який більше не знаходиться у його природному середовищі, наприклад, *in vitro* або у рекомбінантній бактеріальній клітині або у клітині рослини-господаря.

Як тут використовується, термін "алель(лі)" означає одну або більше альтернативних форм гена у конкретному локусі. У диплоїдній (або амфідиплоїдній) клітині організму, алелі даного гена перебувають у специфічному положенні або локусі (множина - локуси) на хромосомі. Один алель знаходиться на кожній хромосомі пари гомологічних хромосом.

Як тут використовується, термін "гомологічні хромосоми" означає хромосоми, які містять інформацію, що визначає ті ж біологічні властивості і містять ті ж гени, в тих же локусах, але, можливо, різні алелі цих генів. Гомологічні хромосоми – це хромосоми, що спаровуються у процесі мейозу. "Негомологічні хромосоми", які представляють всі біологічні властивості організму, утворюють набір, а число наборів у клітині називається плоїдністю. Диплоїдні організми містять два набори негомологічних хромосом, де кожна гомологічна хромосома успадковується від різної батьківської особини. У амфідиплоїдних видів, по суті присутні два набори диплоїдних геномів, внаслідок чого хромосоми двох геномів називаються "гомологічними хромосомами" (і, аналогічним чином, локуси або гени двох геномів називаються гомологічними локусами або генами). Диплоїдний або амфідиплоїдний вид рослин може містити велику кількість різних алелів у конкретному локусі.

Як тут використовується, термін "гетерозиготний" означає генетичний стан, який існує, коли два різних алеля перебувають у специфічному локусі, але розташовані окремо на відповідних парах гомологічних хромосом у клітині. На противагу, як тут використовується, термін

"гомозиготний" означає генетичний стан, який виникає, коли два ідентичних алеля перебувають у специфічному локусі, однак розташовані окремо на відповідних парах гомологічних хромосом у клітині.

Як тут використовується, термін "локус" (множина - локуси) означає специфічне місце або місця або сайти на хромосомі, де, наприклад, виявляється ген або генетичний маркер.

"Дикий тип" (також пишеться як "дикийтип" або "дикий-тип"), як тут використовується, стосується типової форми рослини або гена, у якій він найчастіше трапляється у природі. "Рослина дикого типу" стосується рослини в природній або гібридній популяції. "Алель дикого типу" стосується алеля гена, що трапляється у рослин дикого типу.

Щоразу, коли має місце посилання на "рослину" або "рослини" згідно з винаходом, має бути зрозуміло, що також частини рослини (клітини, тканини або органи, насінні стручки, насіння, відокремлені частини, такі як корені, листки, квітки, пилки тощо), нащадки рослин, які зберігають характерні особливості батьків (передусім вагу насіння), такі як насіння, одержане внаслідок самозапилення або перехресного запилення, напр., гібридне насіння (одержане внаслідок схрещування двох інбредних батьківських ліній), гібридних рослин та частин рослин, які від них походять, також охоплені тут, якщо не зазначено щось інше.

"Молекулярний аналіз" (або тест) стосується тут дослідження, яке свідчить (безпосередньо або опосередковано) про присутність або відсутність одного або більше конкретних DA1 алелів в одному або обох DA1 локусах. В одному втіленні він дає змогу кожному визначати, чи є конкретний (дикого типу або мутантний) алель гомозиготним або гетерозиготним у локусі у будь-якої окремої рослини.

"Створення посадкового матеріалу", як тут використовується, стосується будь-яких засобів, відомих у галузі, для того щоб одержати більше рослин, частин рослин або насіння і включає *inter alia* способи вегетативного розмноження (напр., повітряними або наземними відводками, поділом, щепленням, мікророзмноженням, столонами або "вусами", запасаючими органами, такими як цибулини, бульби, бульбоцибулини і кореневища, в результаті травматичної реітерації або живцями, утворенням дочірніх особин на лусках), статеві репродукції (схрещування з іншою рослиною) і нестатеві репродукції (напр., апоміксис, соматична гібридизація).

"Мутагенез", як тут використовується, стосується процесу, протягом якого щодо рослинних клітин (напр., сукупності насіння або інших частин, таких як пилки Brassica, тощо) застосовують методику, яка індукуює мутації в ДНК клітин, таку як контакт із мутагенним агентом, таким як хімічна речовина (така як етилметилсульфонат (EMS), етилнітрозосечовина (ENU), тощо) або іонізуюче опромінення (нейтронами, такими як мутагенез за допомогою швидких нейтронів, тощо), альфа-промені, гама-промені (такі як ті, що забезпечуються джерелом Cobalt 60), рентгенівське опромінення, УФ-опромінення тощо), Т-ДНК інсерційний мутагенез (Azpiroz-Leehan et al. (1997) Trends Genet 13:152-156), транспозонний мутагенез (McKenzie et al. (2002) Theor Appl Genet 105:23-33), або мутагенез в культурі тканин (індукція соматональних варіацій), або комбінація двох або більше з них. Таким чином, бажаний мутагенез одного або більше алелів DA1 може бути здійснений з використанням одного з вищенаведених способів. В той час як мутації, що викликані опроміненням, часто являють собою великі делеції або інші великі uszkodження, такі як транслокації або складні перебудови, мутації, обумовлені дією хімічних мутагенів, часто становлять більш дискретні uszkodження, такі як точкові мутації. Наприклад, EMS алкілує гуанінові основи, що призводить до неправильного спаровування: алкілований гуанін спаровується з тиміновою основою, що призводить, передусім, до переходів G/C у A/T. Після мутагенезу рослини Brassica одержують із оброблених клітин за допомогою загальновідомих методик. Наприклад, одержане насіння Brassica може бути висаджене відповідно до традиційних агрономічних методик; після подальшого самозапилення на рослинах утворюється насіння. Альтернативно, можуть бути вилучені подвійні гаплоїди, що забезпечує негайне одержання гомозиготних рослин, наприклад, як описує Coventry et al. (1988, Manual for Microspore Culture Technique for Brassica napus. Dep. Crop Sci. Techn. Bull. OAC Publication 0489. Універ. Гуельфу, Гуельф, Онтаріо, Канада). Додаткове насіння, що утворюється внаслідок такого самозапилення, у даному або наступному поколіннях, может бути зібране та досліджене на присутність мутантних DA1 алелів. Відомі декілька методик скринінгу специфічних мутантних алелів, напр., Deleteagene™ (Delete-a-gene; Li et al., 2001, Plant J 27: 235-242), використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для скринінгу делеційних мутантів, одержаних за допомогою мутагенезу з використанням швидких нейтронів, програмного забезпечення TILLING (для цілеспрямованого пошуку локальних uszkodжень в геномах; McCallum et al., 2000, Nat Biotechnol 18:455-457), ідентифікування EMS-індукованих точкових мутацій, тощо. Додаткові методики для скринінгу наявності специфічних мутантних DA1 алелів описуються у розділі



Приклади нижче.

Термін "таргетинг гена" стосується тут спрямованої модифікації гена, для чого використовуються такі механізми, як гомологічна рекомбінація, репарація помилково спарених нуклеотидів або сайт-спрямований мутагенез. Спосіб може бути використаний для заміщення, інсерції та делеції ендегенних послідовностей або послідовностей, раніше введених у рослинні клітини. Методи для таргетингу гена можна знайти, наприклад, в WO 2006/105946 або WO2009/002150. Таргетинг гена може бути використаний для створення мутантних DA1 алелів, таких як нокаутні DA1 алелі.

Як тут використовується, термін "не існує у природному стані" або "культивована" якщо використовується при посиланні на рослину, означає рослину з геномом, який був модифікований людиною. Трансгенна рослина, наприклад, – це рослина, яка не існує у природному стані, що несе екзогенну молекулу нуклеїнової кислоти, напр., химерний ген, який містить траскрибовану ділянку, яка, будучи траскрибованою, дає біологічно активну молекулу РНК, здатну знижувати експресію ендегенного гена, такого як DA1 ген, і, відповідно, була генетично модифікована людиною. Крім того, рослина, яка містить мутацію ендегенного гена, наприклад, мутацію в ендегенному DA1 гені, (напр., в регуляторному елементі або в кодуєчій послідовності), як результат застосування мутагенної речовини, також вважається неприродною рослиною, оскільки вона була генетично модифікована людиною. Більш того, рослина конкретного виду, такого як *Brassica napus*, що містить мутацію в ендегенному гені, наприклад, в ендегенному DA1 гені, яка в природі не трапляється у конкретного виду рослин, як результат, наприклад, спрямованих гібридизаційних процесів, таких як схрещування з використанням маркера, селекція або інтрогресія, з рослиною цього ж або іншого виду, такого як *Brassica juncea* або *B. гара*, рослина якого також вважається рослиною, яка не існує у природному стані. На противагу, рослина, яка несе лише спонтанні або природні мутації, тобто рослина, яка не була генетично модифікована людиною, не є "рослина, яка не існує у природному стані" як визначено тут і, відповідно, не охоплюється межами винаходу. Кожна особа із досвідом роботи в галузі збагне, що не зважаючи на те, що рослина, яка не існує у природному стані як правило має нуклеотидну послідовність, яка змінюється у порівнянні з рослиною з природного середовища, рослина, яка не існує у природному стані також може бути генетично модифікована людиною без зміни її нуклеотидної послідовності, наприклад, шляхом модифікації її паттерну метилювання.

Термін "ортолог" гена або білка стосується тут гомологічного гена або білка, виявленого у іншого виду, який має ті ж самі функції гена або білка, однак (зазвичай) дивергує у послідовності з часової точки, коли вид містить гени, що дивергували (тобто, гени, які еволюціонували від спільного предка шляхом видоутворення). Ортологи DA1 генів *Brassica napus* можуть, таким чином, бути ідентифіковані в іншого виду рослин (напр., у *Brassica juncea*, тощо), ґрунтуючись на порівнянні обох послідовностей (напр., виходячи з відсотків ідентичності послідовності уздовж всієї послідовності або уздовж специфічних доменів) та/або на функціональному аналізі.

"Різновидність" використовується тут відповідно до Конвенції Міжнародного союзу з охорони нових сортів рослин (UPOV) і стосується рослин, об'єднаних у межах одного ботанічного таксону найнижчого відомого рангу, належність до якого може бути визначена внаслідок прояву характерних особливостей, які визначаються даним генотипом або комбінацією генотипів, і може відрізнитись від іншої сукупності рослин за експресією щонайменше однієї із вказаних характерних особливостей і може розглядатись як одиниця стосовно її придатності для розмноження у незмінному (стабільному) вигляді.

Термін "який містить" має інтерпретуватись як точне визначення присутності зазначених частин, етапів або складових, однак не виключає присутності однієї або більшої кількості додаткових частин, етапів або складових. Рослина, яка містить певну ознаку, може, таким чином, містити й додаткові ознаки.

Зрозуміло, що при посиланні на слово в однині (напр., рослина або корінь), множина також включена тут (напр., сукупність рослин, сукупність коренів). Таким чином, посилання на елемент з використанням невизначеного артикля "а" або "ан" не виключає можливості, що присутні більше елементів, якщо контекстом чітко не передбачено, що присутній один і лише один елемент. Невизначений артикль "а" або "ан" таким чином, як правило, означає "щонайменше один".

Згідно з метою винаходу, термін "ідентичність послідовності" двох споріднених нуклеотидних або амінокислотних послідовностей, що виражається у відсотках, стосується числа положень у двох оптимально вирівняних послідовностях, які мають ідентичні залишки (x100), розділеного на число положень, які порівнюються. Розрив, тобто положення у вирівнюванні, де в одній послідовності залишок наявний, а в іншій – відсутній, вважається

положенням із неідентичними залишками. "Оптимальне вирівнювання" двох послідовностей виявляється шляхом вирівнювання двох послідовностей по всій довжині відповідно до алгоритму глобального вирівнювання Нідельмана-Вунша (Needleman and Wunsch, 1970, J Mol Biol 48(3):443-53) у Європейському відкритому наборі програмного забезпечення для молекулярної біології (EMBOSS, Rice et al., 2000, Trends in Genetics 16(6): 276-277; див., напр., <http://www.ebi.ac.uk/emboss/align/index.html>), використовуючи налаштування по "умовчанням" (штраф за відкриття гепу (пробілу)=10 (для нуклеотидів) / 10 (для білків) та штраф на розширення гепу (пробілу) =0,5 (для нуклеотидів) / 0,5 (для білків)). Для нуклеотидів використовується по умовчанням матриця скорингу EDNAFULL, а для білків – по умовчанням матриця скорингу EBLOSUM62.

"По суті ідентичні" або "найвищою мірою подібні", як тут використовується, стосується послідовностей, які, при оптимальному вирівнюванні, як визначено вище, розділяють щонайменше певний мінімальний відсоток ідентичності послідовності (як визначено далі нижче).

Термін "жорсткі умови гібридизації" може бути використаний для ідентифікації нуклеотидних послідовностей, які є по суті ідентичними до даної нуклеотидної послідовності. Жорсткі умови залежать від послідовності і можуть відрізнятися за різних обставин. Загалом, жорсткі умови обираються таким чином, щоб температура була приблизно на 5 °C нижчою, ніж температура точки плавлення ( $T_m$ ) для конкретної послідовності при визначеній іонній силі та значенні pH.  $T_m$  – це температура (при відомій іонній силі та pH), при якій 50 % таргетної послідовності гібридується з досконало підібраним зондом. Зазвичай жорсткі умови обираються таким чином, що концентрація солей становить приблизно 0,02 M при pH 7 і температурі, щонайменше, 60 °C. Зниження сольової концентрації та/або підвищення температури підвищує жорсткість умов. Жорсткі умови для РНК-ДНК гібридизації (Нозерн-блот використовує зонд, напр. 100 нт завдовжки) є, наприклад, такі, що включають щонайменше одне промивання в 0,2X SSC при 63 °C протягом 20 хв, або еквівалентні умови.

"Умови високої жорсткості" можуть бути забезпечені, наприклад, шляхом гібридизації при 65 °C у водному розчині, що містить 6x SSC (20x SSC містить 3,0 M NaCl, 0,3 M Na-цитрат, pH 7,0), 5x реактив Денгардта (100X реактив Денгардта містить 2 % Фікол, 2 % Полівініл піролідон, 2 % альбумін бичачої сироватки), 0,5 % додецилсульфат натрію (SDS) та 20 мкг/мл денатурованого носія ДНК (одноланцюгова ДНК рибачої сперми, з середньою довжиною 120-3000 нуклеотидів) як неспецифічної конкурентної речовини. Після гібридизації промивання "високої жорсткості" може бути проведене за декілька етапів, з кінцевим промиванням (близько 30 хв) при температурі гібридизації 0,2-0,1x SSC, 0,1 % SDS.

Термін "умови помірної жорсткості" стосується умов, еквівалентних умовам гібридизації, що були згадані у вищеописаному розчині, однак при 60-62 °C. Промивання "помірної жорсткості" можуть бути проведені при температурі гібридизації 1x SSC, 0,1 % SDS.

Термін "низька жорсткість" стосується умов, еквівалентних умовам гібридизації, що були у вищеописаному розчині при температурі близько 50-52 °C. Промивання низької жорсткості може бути проведене при температурі гібридизації в 2x SSC, 0,1 % SDS. Див. також Sambrook et al. (1989) та Sambrook and Russell (2001).

#### ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

*Brassica napus* (геном AACC,  $2n=4x=38$ ), алотетраплоїдний (амфідиплоїдний) вид, який містить по суті два диплоїдні геноми (геном A і C) завдяки своєму походженню від диплоїдних предків. Було виявлено винахідниками, що *Brassica napus* містить чотири DA1 гени в своєму геномі, і що геном A та геном C містять DA1 гени, які впливають на вагу насіння.

Як у будь-якому диплоїдному геномі, два "алелі" можуть бути присутні *in vivo* для кожного DA1 гена в кожному DA1 локусі в геномі (один алель являє собою послідовність гена, виявлену на одній хромосомі, а інший – на гомологічній хромосомі). Нуклеотидна послідовність цих двох алелів може бути ідентичною (гомозиготна рослина) або відрізнятися між собою (гетерозиготна рослина) у будь-якої даної рослини, хоча кількість відмінних можливих алелів, які існують для кожного DA1 гена, може бути значно вищою, ніж два в популяції виду загалом.

В одному варіанті здійснення винаходу забезпечується рослина *Brassica* або її частини, які містять щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, вказаний мутантний DA1 алель, що кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2 амінокислоту, відмінну від аргініну. В іншому варіанті здійснення винаходу, вказана рослина *Brassica* або її частини також містять чотири DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну, і де щонайменше один алель

другого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну; або де мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена являє собою повністю нокаутний DA1 алель. У конкретному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель вказаного першого DA1 гена кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, лізин замість аргініну. У ще одному варіанті здійснення винаходу, рослина Brassica згідно з винаходом є гомозиготною за мутантними DA1 алелями.

У ще одному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель першого DA1 гена рослин Brassica згідно з винаходом є мутантним DA1 алелем, який виявляє щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, таким як мутантний DA1 алель, що має щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, або мутантний DA1 алель, який кодує мутантний DA1 білок, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8. В іншому втіленні, мутантний DA1 алель другого DA1 гена рослин Brassica згідно з винаходом є мутантним DA1 алелем, який виявляє щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12, таким як мутантний DA1 алель, який виявляє щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12; або мутантний DA1 алель DA1 гена, вказаний DA1 ген, який кодує DA1 білок, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 14. У конкретному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель першого DA1 гена рослин Brassica згідно з винаходом кодує білок SEQ ID NO: 8, в той час як в у ще одному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена рослин Brassica згідно з винаходом являє собою повністю нокаутний DA1 алель, вказаний нокаутний DA1 алель, який містить послідовності SEQ ID NO: 12 із заміщенням С на Т у положенні 2011.

У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечуються рослини Brassica або їх частини, які містять щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель DA1 гена є повністю нокаутним DA1 алелем. У ще іншому варіанті здійснення винаходу, вказаний нокаутний DA1 алель, який має щонайменше 96 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 3, або який містить щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, або який містить щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12, або який кодує білок, який містить щонайменше 96 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 5, або щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8, або щонайменше 90 % ідентичності послідовності до SEQ ID NO: 14.

В іншому варіанті здійснення винаходу, рослини Brassica або їх частини згідно з винаходом обирають з групи, що складається з Brassica rapa, Brassica oleracea і Brassica napus.

У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечуються рослини згідно з винаходом, які містять щонайменше один мутантний DA1 алель, де вага тисячі насінин істотно підвищується у порівнянні з вагою тисячі насінин відповідної рослини, яка не несе мутантний DA1 алель.

У ще іншому варіанті здійснення винаходу, забезпечується насіння рослин Brassica згідно з винаходом, таке як насіння, типові зразки якого депоновані в NCIMB під інвентарним номером NCIMB 42114, в той час як у ще іншому втіленні забезпечується потомство рослин Brassica згідно з винаходом або насіння згідно з винаходом.

Прийнятні також рослини, які одержані або походять з насіння, депонованого в NCIMB під інвентарним номером NCIMB 42114, такі як рослини, які можуть бути одержані або походити в результаті селекції з насіння, депонованого в NCIMB під інвентарним номером NCIMB 42114.

Щонайменше 80 % ідентичності послідовності, як тут використовується, можуть становити щонайменше 80 %, або щонайменше 82 %, або щонайменше 84 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 88 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 91 %, або щонайменше 92 %, або щонайменше 93 %, або щонайменше 94 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 96 %, або щонайменше 97 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % ідентичності послідовності, або можуть становити 100 % ідентичності послідовності.

Щонайменше 90 % ідентичності послідовності, як тут використовується, можуть становити щонайменше 90 %, або щонайменше 91 %, або щонайменше 92 %, або щонайменше 93 %, або щонайменше 94 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 96 %, або щонайменше 97 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % ідентичності послідовності, або можуть становити 100 % ідентичності послідовності.

Щонайменше 91 % ідентичності послідовності, як тут використовується, може становити щонайменше 91 %, або щонайменше 92 %, або щонайменше 93 %, або щонайменше 94 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 96 %, або щонайменше 97 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % ідентичності послідовності або може становити 100 % ідентичності послідовності.

Щонайменше 96 % ідентичності послідовності, як тут використовується, може становити щонайменше 96 %, або щонайменше 97 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % ідентичності послідовності, або може становити 100 % ідентичності послідовності.

Вага тисячі насінин, як тут використовується, є вага в грамах тисячі насінин. Істотне збільшення ваги тисячі насінин – це збільшення щонайменше на 5 %, або щонайменше на 8 %, або щонайменше на 10 %, або щонайменше на 13 %, або щонайменше на 14 %, або щонайменше на 15 %, або щонайменше на 18 %, або щонайменше на 20 %, або щонайменше на 25 %, або щонайменше на 30 %, або щонайменше на 40 %, або щонайменше на 50 % у порівнянні з вагою тисячі насінин рослин Brassica, які не містять мутантні DA1 алелі згідно з винаходом.

Рослини згідно з винаходом можуть також мати збільшену товщину стручків. Збільшеною товщиною стручків може бути підвищене середнє значення PODT (товщини плода) на щонайменше 5 %, або щонайменше на 10 %, або щонайменше на 15 %, або щонайменше на 18 %, або щонайменше на 20 %, або щонайменше на 30 % у порівнянні зі значеннями для рослин Brassica, які не містять мутантні DA1 алелі згідно з винаходом, з використанням методів для вимірювання товщини стручка, як тут описано.

Рослини згідно з винаходом можуть також мати збільшену вагу олії з тисячі насінин, тобто підвищену кількість олії на 1000 насінин. Підвищена кількість олії на 1000 насінин може становити підвищення на щонайменше 5 %, або щонайменше на 8 %, або щонайменше на 10 %, або щонайменше на 13 %, або щонайменше на 14 %, або щонайменше на 15 %, або щонайменше на 18 %, або щонайменше на 20 %, у порівнянні з кількістю олії на 1000 насінин рослин Brassica, які не містять мутантні DA1 алелі згідно з винаходом, за допомогою методів для вимірювання товщини стручка, як тут описується.

Має бути зрозумілим, що насіння з рослин Brassica згідно з винаходом може бути насіння, одержане в результаті запилення рослин Brassica згідно з винаходом пилом тих же рослин Brassica згідно з винаходом, таке як насіння, одержане в результаті самозапилення рослин Brassica згідно з винаходом, або в результаті запилення сусідніх рослин Brassica згідно з винаходом. Вказане насіння може також бути одержане в результаті запилення рослин Brassica згідно з винаходом пилом з іншої рослини Brassica, такої як рослина Brassica з різними мутантними DA1 алелями, або навіть пилом з рослин Brassica, які не несуть мутантні DA1 алелі згідно з винаходом.

Мутантний DA1 алель згідно з винаходом може бути мутантний DA1 алель, який містить одну або більше нуклеотидних делецій, інсерцій або заміщень порівняно з нуклеотидними послідовностями дикого типу. Мутація (її) можуть призводити до однієї або більшої кількості змін (делецій, інсерцій та/або заміщень) в амінокислотній послідовності закодованого білка.

Вказаний нокаутний DA1 алель може бути мутантним DA1 алелем, який містить одну або більше нуклеотидних делецій, інсерцій або заміщень у порівнянні з нуклеотидними послідовностями дикого типу. Мутація(її) можуть призводити до однієї або більшої кількості змін (делецій, інсерцій та/або заміщень) в амінокислотній послідовності закодованого білка, в результаті чого закодований білок не є функціональним DA1 білком.

Термін "положення" при використанні згідно з цим винаходом означає положення будь-якої амінокислоти в межах амінокислотної послідовності, наведеної тут, або положення нуклеотиду в межах нуклеотидної послідовності, наведеної тут. Термін "відповідний", як тут використовується, також включає те, що положення визначається не лише числом попередніх нуклеотидів /амінокислот.

Положення даного нуклеотида згідно з даним винаходом, який може бути заміщений, може варіювати у зв'язку з делеціями або додатковими нуклеотидними вставками у будь-якому місці в DA1 послідовності, включаючи кодуєчі послідовності екзонів та інтронів гена. Аналогічно, положення даної амінокислоти згідно з даним винаходом, яка може бути заміщена, може варіювати у зв'язку з делецією або вставкою амінокислот у будь-якому місці в DA1 поліпептиді.

Таким чином, під "відповідним положенням" або "положення, що відповідає положенню" відповідно до даного винаходу має бути зрозумілим, що вказаний номер нуклеотидів/амінокислот може відрізнитись, однак може ще мати подібні сусідні нуклеотиди/амінокислоти. Вказані нуклеотиди/амінокислоти, які можуть бути замінені, видалені або вставлені також включені в термін "відповідне положення".

Для того щоб визначити, чи відповідає нуклеотидний залишок або амінокислотний залишок в даній DA1 нуклеотидній /амінокислотній послідовності певному положенню в нуклеотидній послідовності або амінокислотній послідовності іншої DA1 нуклеотидної /амінокислотної послідовності, досвідчений вахівець може застосувати засоби та методи, добре відомі в галузі, напр., вирівнювання, вручну чи з використанням комп'ютерних програм, таких як BLAST (Altschul

et al. (1990), Journal of Molecular Biology, 215, 403-410), що є аббревіатурою для Basic Local Alignment Search Tool, або ClustalW (Thompson et al. (1994), Nucleic Acid Res., 22, 4673-4680), або будь-якої іншої програми, яка є прийнятною для генерування вирівнювань послідовностей.

SEQ ID NO: 2 являє собою амінокислотну послідовність DA1 білка *Arabidopsis thaliana*, натомість SEQ ID NO: 5, 8, 11, 14 та 17 - це амінокислотні послідовності DA1 з *Brassica napus*, SEQ ID NO: 56 і 59 - це амінокислотні послідовності DA1 з *Brassica rapa*, SEQ ID NO: 62, 65, 67 та 69 - це амінокислотні послідовності DA1 з *Brassica oleracea*, та SEQ ID NO: 72 та 75 - це амінокислотні послідовності DA1 з *Brassica nigra*. Відповідно, амінокислота в положенні 358 послідовності SEQ ID NO: 2 відповідає амінокислоті в положенні 338 послідовності SEQ ID NO: 5 та 56, амінокислоті в положенні 353 послідовності SEQ ID NO: 8 та 59, амінокислоті в положенні 341 послідовності SEQ ID NO: 11 та 62, амінокислоті в положенні 352 послідовності SEQ ID NO: 14, амінокислоті в положенні 355 послідовності SEQ ID NO: 65 та 69, амінокислоті в положенні 340 послідовності SEQ ID NO: 72, та амінокислоті в положенні 357 послідовності SEQ ID NO: 75. Вирівнювання послідовностей DA1 білків представлене на Фігура 1.

SEQ ID NO: 1 - це нуклеотидна послідовність, що кодує DA1 дикого типу *A. thaliana*, натомість SEQ ID NO: 2 - це амінокислотна послідовність *A. thaliana*, що походить від SEQ ID NO: 1. Відповідно, кодон у положенні 1072-1074 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 1 кодує амінокислоту в положенні 358 послідовності SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO: 3 - це геномна послідовність DA1-A1 дикого типу *B. napus*, SEQ ID NO: 4 є кодуючою послідовністю DA1-A1 дикого типу *B. napus*, натомість SEQ ID NO: 5 - це амінокислотна послідовність *B. napus*, що походить від SEQ ID NO: 3 і 4. Відповідно, кодон у положенні 1012-1014 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 4 і відповідний кодон в положенні 1618-1620 послідовності SEQ ID NO: 3 кодує амінокислоту в положенні 338 послідовності SEQ ID NO: 5 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трьохбуквенний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 338 послідовності SEQ ID NO: 5 кодується кодоном в положеннях 1618-1620 та 1012-1014 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 3 та 4, відповідно.

SEQ ID NO: 6 - це геномна послідовність DA1-A2 дикого типу *B. napus*, SEQ ID NO: 7 є кодуючою послідовністю DA1-A2 дикого типу *B. napus*, натомість SEQ ID NO: 8 - це амінокислотна послідовність *B. napus*, що походить від SEQ ID NO: 6 та 7. Відповідно, кодон у положенні 1057-1059 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 7 і відповідний кодон в положенні 1671-1673 послідовності SEQ ID NO: 6 кодує амінокислоту в положенні 353 послідовності SEQ ID NO: 8 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трьохлітерний код) або "R" (однолітерний код)) у положенні 353 послідовності SEQ ID NO: 8 кодується кодоном у положеннях 1671-1673 та 1057-1059 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 6 та 7, відповідно.

SEQ ID NO: 9 - це геномна послідовність дикого типу DA1-C1 *B. napus*, SEQ ID NO: 10 є кодуючою послідовністю A1-C1 дикого типу *B. napus*, в той час як SEQ ID NO: 11 - це амінокислотна послідовність *B. napus*, що походить від SEQ ID NO: 9 та 10. Відповідно, кодон у положенні 1021-1023 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 10 і відповідний кодон у положенні 1646-1648 послідовності SEQ ID NO: 9 кодує амінокислоту в положенні 341 послідовності SEQ ID NO: 11 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трьохлітерний код) або "R" (однолітерний код)) у положенні 341 послідовності SEQ ID NO: 11 кодується кодоном у положеннях 1646-1648 та 1021-1023 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 9 та 10, відповідно.

SEQ ID NO: 12 - це геномна послідовність дикого типу DA1-C2 *B. napus*, SEQ ID NO: 13 є кодуючою послідовністю DA1-C2 дикого типу *B. napus*, натомість SEQ ID NO: 14 - це амінокислотна послідовність *B. napus*, що походить від SEQ ID NO: 12 та 13. Відповідно, кодон у положенні 1054-1056 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 13 і відповідний кодон в положенні 1686-1688 послідовності SEQ ID NO: 12 кодує амінокислоту в положенні 352 послідовності SEQ ID NO: 14 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трьохлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 352 послідовності SEQ ID NO: 14 кодується кодоном в положеннях 1686-1688 та 1054-1056 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 12 та 13, відповідно.

SEQ ID NO: 54 - це геномна послідовність дикого типу *B. rapa* DA1-A1, SEQ ID NO: 55 є кодуючою послідовністю DA1-A1 дикого типу *B. rapa*, в той час як SEQ ID NO: 56 - це амінокислотна послідовність *B. rapa*, що походить від SEQ ID NO: 54 та 55. Відповідно, кодон у положенні 1012-1014 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 55 і відповідний кодон у

положенні 1621-1623 послідовності SEQ ID NO: 54 кодує амінокислоту в положенні 338 послідовності SEQ ID NO: 56 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 338 послідовності SEQ ID NO: 56 кодується кодоном в положеннях 1621-1623 та 1012-1014 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 54 та 55, відповідно.

SEQ ID NO: 57 – це геномна DA1-A2 послідовність дикого типу *B. para*, SEQ ID NO: 58 є кодуючою DA1-A2 послідовністю дикого типу *B. para*, натомість SEQ ID NO: 59 – це амінокислотна послідовність *B. para*, що походить від SEQ ID NO: 57 та 58. Відповідно, кодон у положенні 1057-1059 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 58 і відповідний кодон в положенні 1682-1684 послідовності SEQ ID NO: 57 кодує амінокислоту в положенні 353 послідовності SEQ ID NO: 59 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 353 послідовності SEQ ID NO: 59 кодується кодоном в положеннях 1682-1684 та 1057-1059 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 57 та 58, відповідно.

SEQ ID NO: 60 - це геномна DA1-C1 послідовність дикого типу *B. oleracea*, SEQ ID NO: 61 є кодуючою DA1-C1 послідовністю дикого типу *B. oleracea*, в той час як SEQ ID NO: 62 – це амінокислотна послідовність *B. oleracea*, що походить від SEQ ID NO: 60 та 61. Відповідно, кодон у положенні 1021-1023 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 61 і відповідний кодон в положенні 1646-1648 послідовності SEQ ID NO: 60 кодує амінокислоту в положенні 341 послідовності SEQ ID NO: 62 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 341 послідовності SEQ ID NO: 62 кодується кодоном в положеннях 1646-1648 та 1021-1023 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 60 та 61, відповідно.

SEQ ID NO: 63 – це геномна послідовність DA1-C2 дикого типу *B. oleracea*, SEQ ID NO: 64 – це ізоформа 1 кодуючої послідовності DA1-C2 дикого типу *B. oleracea*, натомість SEQ ID NO: 65 – це ізоформа 1 амінокислотної послідовності *B. oleracea*, що походить від SEQ ID NO: 63 та 64. SEQ ID NO: 68 – це ізоформа 3 кодуючої послідовності *B. oleracea* дикого типу, в той час як SEQ ID NO: 69 – ізоформа 3 амінокислотної послідовності DA1-C2 дикого типу *B. oleracea*, що походить від SEQ ID NO: 63 та 68. Відповідно, кодон у положенні 1063-1065 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 64 та 68 і відповідний кодон в положенні 1658-1660 послідовності SEQ ID NO: 63 кодує амінокислоту в положенні 355 послідовності SEQ ID NO: 65 та 69 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 355 послідовності SEQ ID NO: 65 та 69 кодується кодоном в положеннях 1658-1660 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 63 та 68 кодонів у положеннях 1063-1065 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 64 та 68.

SEQ ID NO: 70 - це геномна DA1-B1 послідовність дикого типу *B. nigra*, SEQ ID NO: 71 є кодуючою послідовністю DA1-B1 дикого типу *B. nigra*, натомість SEQ ID NO: 72 – це амінокислотна послідовність *B. nigra*, що походить від SEQ ID NO: 70 та 71. Відповідно, кодон у положенні 1018-1020 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 71 і відповідний кодон у положенні 1519-1521 послідовності SEQ ID NO: 70 кодує амінокислоту в положенні 340 послідовності SEQ ID NO: 72 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 340 послідовності SEQ ID NO: 72 кодується кодоном в положеннях 1519-1521 та 1018-1020 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 70 та 71, відповідно.

SEQ ID NO: 73 - це геномна DA1-B2 послідовність дикого типу *B. nigra*, SEQ ID NO: 74 є кодуючою DA1-B2 послідовністю дикого типу *B. nigra*, натомість SEQ ID NO: 75 – це амінокислотна послідовність *B. nigra*, що походить від SEQ ID NO: 73 та 74. Відповідно, кодон у положенні 1069-1071 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 74 і відповідний кодон в положенні 1707-1709 послідовності SEQ ID NO: 73 кодує амінокислоту в положенні 357 послідовності SEQ ID NO: 75 (це положення, знову, відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2). Іншими словами, амінокислота аргінін ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)) в положенні 357 послідовності SEQ ID NO: 75 кодується кодоном в положеннях 1707-1709 та 1069-1071 нуклеотидної послідовності SEQ ID NO: 73 і 74, відповідно.

В одному втіленні амінокислота в положенні, що відповідає положенню 358 послідовності

SEQ ID NO: 2, – це лізин ("Lys" (трёхлітерний код) або "K" (однолітерний код)) замість аргініну ("Arg" (трёхлітерний код) або "R" (однолітерний код)).

Для того щоб визначити, чи має нуклеїнова кислота певний ступінь ідентичності з нуклеїновими послідовностями даного винаходу, досвідчений вахівець може застосувати засоби та методи добре відомі в галузі, напр., вирівнювання, вручну чи з використанням комп'ютерних програм, таких як ті, що згадані нижче у зв'язку з визначенням терміну "гібридизація" та "ступінь гомології".

Згідно з метою винаходу, термін "ідентичність послідовності" або "гомологічність послідовності" (терміни використовуються тут поперемінно) двох споріднених нуклеотидних або амінокислотних послідовностей, що виражається у відсотках, стосується числа положень у двох оптимально вирівняних послідовностях, які мають ідентичні залишки (x100), розділеного на число положень, які порівнюються. Розрив, тобто положення у вирівнюванні, де у одній послідовності залишок наявний, а в іншій – відсутній, вважається положенням із неідентичними залишками. "Оптимальне вирівнювання" двох послідовностей виявляється шляхом вирівнювання двох послідовностей по всій довжині відповідно до алгоритму глобального вирівнювання Нідельмана-Вунша (Needleman and Wunsch, 1970, J Mol Biol 48(3):443-53) у Європейському відкритому наборі програмного забезпечення для молекулярної біології (EMBOSS, Rice et al., 2000, Trends in Genetics 16(6):276-277; див., напр., <http://www.ebi.ac.uk/emboss/align/index.html>), використовуючи налаштування по "умовчання" (штраф за відкриття гепу (пробілу)=10 (для нуклеотидів) / 10 (для білків) та штраф на розширення гепу (пробілу)=0,5 (для нуклеотидів)/0,5 (для білків)). Для нуклеотидів використовується по умовчання матриця скорингу EDNAFULL, а для білків – по умовчання матриця скорингу EBLOSUM62.

Нуклеотидні послідовності, які кодують DA1 білки

Нуклеотидні послідовності DA1-A1, DA1-A2, DA1-C1, та DA1-C2 були виділені з *Brassica napus*, нуклеотидні послідовності DA1-A1, DA1-A2 були виділені з *Brassica rapa*, нуклеотидні послідовності DA1-C1, DA1-C2 були виділені з *Brassica oleracea*, а нуклеотидні послідовності DA1-B1, DA1-B2 були виділені з *Brassica nigra*, що представлено в переліку послідовностей. Зображені послідовності дикого типу DA1, натомість мутантні DA1 послідовності цих послідовностей, та послідовності значною мірою подібні до них, зображені тут нижче і в Прикладах, з посиланням на послідовності DA1 дикого типу. Білок-кодуюча геномна ДНК DA1 з *Brassica napus*, *B. rapa*, *B. oleracea* та *B. nigra* містить будь-які інтрони. Кодуючі послідовності або кДНК послідовності генів DA1 у *Brassica*, що не містять інтронів, також зображені в переліку послідовностей.

"Ген DA1-A1 *Brassica napus*", "ген BnDA1-A1", алель DA1-A1 *Brassica napus*", "алель BnRDA1-A1" або "DA1-A1 від *Brassica napus*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується стосуються гена, алеля або послідовності, які мають щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 3.

"Ген DA1-A2 *Brassica napus*", "ген BnDA1-A2", алель DA1-A2 *Brassica napus*", "алель BnDA1-A2" або "DA1-A2 від *Brassica napus*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується, стосуються гена, алеля або послідовності, які мають щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 6.

"DA1-C1 ген *Brassica napus*", "BnDA1-C1 ген", DA1-C1 алель *Brassica napus*", "BnDA1-C1 алель" або "DA1-C1 з *Brassica napus*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується, стосуються гена, алеля або послідовності, які мають щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 9.

"DA1-C2 ген *Brassica napus*", "BnDA1-C2 ген", DA1-C2 алель *Brassica napus*", "BnDA1-C2 алель" або "DA1-C2 з *Brassica napus*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується стосуються гена, алеля або послідовності, які мають щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 12.

"DA1-A1 ген *Brassica rapa*", "BrDA1-A1 ген", DA1-A1 алель *Brassica rapa*", "BrRDA1-A1 алель" або "DA1-A1 з *Brassica rapa*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується, стосуються гена, алеля або послідовності, які мають щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 54.

"DA1-A2 ген *Brassica rapa*", "BrDA1-A2 ген", DA1-A2 алель *Brassica rapa*", "BrDA1-A2 алель"





NO 61.

Ізоформа 1 кодує послідовності "DA1-C2 гена *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 гена", DA1-C2 алеля *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 алеля" або "DA1-C2 з *Brassica oleracea*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей як тут використовується стосуються кодує послідовності, яка має щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 64.

Ізоформа 2 кодує послідовності "DA1-C2 гена *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 гена", DA1-C2 алеля *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 алеля" або "DA1-C2 з *Brassica oleracea*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується стосуються кодує послідовності, яка має щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 66.

Ізоформа 3 кодує послідовності "DA1-C2 гена *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 гена", DA1-C2 алеля *Brassica oleracea*", "BoDA1-C2 алеля" або "DA1-C2 з *Brassica oleracea*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується стосуються кодує послідовності, яка має щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 68.

Кодуюча послідовність "DA1-B1 гена *Brassica nigra*", "BniDA1-B1 гена", DA1-B1 алеля *Brassica nigra*", "BniDA1-B1 алеля" або "DA1-B1 з *Brassica nigra*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується стосуються кодує послідовності, яка має щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 71.

Кодуюча послідовність "DA1-B2 гена *Brassica nigra*", "BniDA1-B2 гена", DA1-B2 алеля *Brassica nigra*", "BniDA1-B2 алеля" або "DA1-B2 від *Brassica nigra*", або варіанти їх нуклеотидних послідовностей, як тут використовується, стосуються кодує послідовності, яка має щонайменше 80 %, або щонайменше 85 %, або щонайменше 90 %, або щонайменше 95 %, або щонайменше 98 %, або щонайменше 99 %, або 100 % ідентичності послідовності SEQ ID NO 74.

DA1-A1 ген або DA1-A1 алель, або DA1-A1 кодує послідовність може містити ген або алель, або кодує послідовність DA1-A1 *Brassica napus* і DA1-A1 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica rapa*; DA1-A2 ген або DA1-A2 алель, або DA1-A2 кодує послідовність можуть містити DA1-A2 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica napus*, і DA1-A2 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica rapa*; DA1-C1 ген або DA1-C1 алель, або DA1-C1 кодує послідовність може містити DA1-C1 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica napus*, і DA1-C1 ген або алель або кодує послідовність *Brassica oleracea*; DA1-C2 ген або DA1-C2 алель, або DA1-C2 кодує послідовність може містити DA1-C2 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica napus* і DA1-C2 ген або алель, або кодує послідовність *Brassica oleracea*.

Нуклеотидні послідовності зображені в переліку послідовностей у SEQ ID NO: 3, 6, 9 і 12 (*B. napus*), SEQ ID NO: 54 та 57 (*B. rapa*), SEQ ID NO: 60 та 63 (*B. oleracea*) та SEQ ID NO: 70 та 73 (*B. nigra*) кодують DA1 білки дикого типу з відповідного виду *Brassica*. Таким чином, ці послідовності є ендемічними для рослин *Brassica*, з яких вони були виділені. Інші види сільськогосподарських культур *Brassica*, різновидності, гібридні лінії чи надходження з природи можуть бути досліджені щодо наявності інших DA1 алелів, які кодують ті ж білки DA1 або їхні варіанти. Наприклад, методики гібридизації нуклеїнових кислот (напр. Саузерн-блот аналіз, використовуючи, наприклад, умови жорсткої гібридизації) або методики на основі ампліфікації нуклеїнової кислоти, такі як полімеразно-ланцюгові реакції (ПЛР) можуть бути застосовані для ідентифікації DA1 алелів, ендемічних стосовно інших видів рослин *Brassica*, таких як різні різновиди, лінії або зразки *Brassica napus*, однак може також бути здійснений скринінг рослин *Brassica juncea* (DA1 алелі в А-геномі та в В-геномі), *Brassica carinata* (DA1 алелі в В-геномі та С-геномі), їх органів або тканин на присутність інших DA1 алелів дикого типу. Для здійснення скринінгу таких рослин, органів рослин або тканин на присутність DA1 алелів забезпечуються DA1 нуклеотидні послідовності, наведені у переліку послідовностей, або варіанти або фрагменти будь-якої з них. Наприклад, цілі послідовності або фрагменти можуть бути використані як зонди або праймери. Наприклад, специфічні або "дегенеративні" праймери можуть бути використані для ампліфікації нуклеотидних послідовностей, що кодують DA1 білки, з геномної ДНК рослини, рослинного органу або тканини. Ці нуклеотидні DA1 послідовності можуть бути виділені та секвеновані за допомогою стандартних молекулярно-біологічних методик. Біоінформаційний аналіз може бути використаний для складання характеристики

алеля (iv), наприклад, для того, щоб визначити, якому DA1 алелю відповідає послідовність і який DA1 білок або варіант білка кодується цією послідовністю.

Чи кодує нуклеотидна послідовність функціональний DA1 білок, може бути проаналізовано за допомогою методик рекомбінантних ДНК, відомих з рівня техніки, напр., з використанням тесту генетичної комплементції, використовуючи, напр., рослину *Arabidopsis*, що містить da1-1 алель, такий як описано в WO2009/047525 (включений тут шляхом посилання) або рослина *Brassica napus*, яка є гомозиготною за мутантним DA1 алелем DA1-A2 або DA1-C2 гена.

Крім того, зрозуміло, що нуклеотидні послідовності DA1 та їх варіанти (або фрагменти будь-якої з них) можуть бути ідентифіковані *in silico*, шляхом скринінгу баз даних нуклеїнових кислот щодо значною мірою подібних послідовностей. Подібним чином, нуклеотидна послідовність може бути синтезована хімічним шляхом. Фрагменти молекул нуклеїнової кислоти згідно з винаходом також забезпечуються, що описується далі нижче.

Нуклеотидні послідовності, які кодують мутантні DA1 білки

Нуклеотидні послідовності, які містять одну або більше нуклеотидних делецій, інсерцій або заміщення, порівняно з нуклеотидними послідовностями дикого типу, є іншим втіленням винаходу, оскільки являють собою фрагменти таких мутантних молекул нуклеїнової кислоти. Такі мутантні нуклеотидні послідовності можуть бути створені та/або ідентифіковані за допомогою різних відомих методів, як описується далі нижче. Мутація (ii) можуть призводити до однієї або більшої кількості змін (делецій, інсерцій та/або заміщень) в амінокислотній послідовності закодованого білка DA1. Альтернативно, мутація(ii) в послідовності нуклеїнової кислоти призводять до істотно зниженої або повністю відсутньої біологічної активності закодованого білка DA1 порівняно з білком дикого типу.

В одному втіленні мутантний DA1 алель кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну, таку як лізин.

Кодони, які кодують аргінін, є наступними: AGA, AGG, CGT, CGC, CGA, та CGG. Досвідчена особа обов'язково збагне, що різні поодинокі, подвійні та потрійні мутації в цих кодонах можуть призвести до утворення кодону, який не кодує аргінін.

Лізин кодується кодонами AAA та AAG. Поодинокі мутації в будь-якому кодоні, що кодує аргінін, призводять до утворення кодону, який кодує лізин, є відповідно: AGA=>AAA і AGG=>AAG. Подвійні мутації в будь-якому кодоні, що кодує аргінін, призводять до утворення кодону, який кодує лізин, є відповідно: AGA=>AAG; AGG=>AAA; CGA=>AAA; і CGG=>AAG. Потрійні мутації в будь-якому кодоні, що кодує аргінін, призводять до утворення кодону, який кодує лізин, є такими CGT=>AAA; CGT=>AAG; CGC=>AAA; CGC=>AAG; CGA=>AAG; і CGG=>AAG.

В DA1 білку *Arabidopsis*, аргінін у положенні 358 кодується кодоном AGA (положення 1072-1074 послідовності SEQ ID NO: 1); у BnDA1-A1 білку аргінін в положенні 338 кодується кодоном AGA (положення 1012-1014 послідовності SEQ ID NO: 4, положення 1618-1620 послідовності SEQ ID NO: 3); в BnDA1-A2 білку аргінін в положенні 353 кодується кодоном AGA (положення 1057-1059 послідовності SEQ ID NO: 7, положення 1671-1673 послідовності SEQ ID NO: 6); в BnDA1-C1 білку аргінін в положенні 341 кодується кодоном AGA (положення 1021-1023 послідовності SEQ ID NO: 10, положення 1646-1648 послідовності SEQ ID NO: 9); в BnDA1-C2 білку аргінін в положенні 352 кодується кодоном AGA (положення 1054-1056 послідовності SEQ ID NO: 13, положення 1686-1688 послідовності SEQ ID NO: 12); в BrDA1-A1 білку аргінін в положенні 338 кодується кодоном AGA (положення 1012-1014 послідовності SEQ ID NO: 55, положення 1621-1623 послідовності SEQ ID NO: 54); в BrDA1-A2 білку аргінін в положенні 353 кодується кодоном AGA (положення 1057-1059 послідовності SEQ ID NO: 58, положення 1682-1684 послідовності SEQ ID NO: 57); в BoDA1-C1 білку аргінін в положенні 341 кодується кодоном AGA (положення 1021-1023 послідовності SEQ ID NO: 61, положення 1646-1648 послідовності SEQ ID NO: 60); в BoDA1-C2 білку (ізоформа 1 і 3) аргінін в положенні 355 кодується кодоном AGA (положення 1063-1065 послідовності SEQ ID NO: 64 та 68, положення 1658-1660 послідовності SEQ ID NO: 63); в BniDA1-B1 білку аргінін в положенні 340 кодується кодоном AGA (положення 1018-1020 послідовності SEQ ID NO: 71, положення 1519-1521 послідовності SEQ ID NO: 70); в BniDA1-B2 білку аргінін в положенні 357 кодується кодоном AGA (положення 1069-1071 послідовності SEQ ID NO: 74, положення 1707-1709 послідовності SEQ ID NO: 73).

Для досвідченого фахівця зрозуміло, що AGA кодон DA1 генів *Brassica* може мутувати в AAA кодон (однонуклеотидне заміщення) або в AAG кодон (заміщення двох нуклеотидів).

У конкретному втіленні, G в положенні 1672 послідовності SEQ ID NO: 6 мутує в A, що призводить до мутації AGA кодону в положенні 1671-1673, який кодує аргінін, в AAA кодон, що

кодує лізин. Послідовність мутантного DA1-A2 гена, яка містить цю мутацію, наведена в послідовності SEQ ID NO: 15; кодує послідовність такого мутантного DA1-A2 гена – в послідовності SEQ ID NO: 16, та білка, закодованого таким мутантним DA1-A2 геном – в послідовності SEQ ID NO: 17.

Також забезпечуються рослини Brassica, які містять мутантний алель другого DA1 гена, де мутантний алель вказаного другого DA1 гена являє собою повністю нокаутний DA1 ген. Також забезпечуються рослини Brassica, які містять повністю нокаутний DA1 ген, в якому не присутній жоден DA1 алель, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну.

По суті, будь-яка мутація в DA1 нуклеотидній послідовності дикого типу, яка призводить до утворення DA1 білка, що містить щонайменше одну амінокислотну інсерцію, делецію та/або заміщення у порівнянні з DA1 білком дикого типу, може призвести до істотного зниження біологічної активності або до повної її відсутності. Однак, зрозуміло, що певні мутації в DA1 білку більш очевидно зумовляють повну втрату біологічної активності DA1 білка, такі як мутації, в результаті яких значна частина функціональних доменів, таких як UIM домен або LIM домен - втрачаються.

Молекули нуклеїнової кислоти можуть містити одну або більше мутацій, таких як:

- "місєнс-мутація", що являє собою зміну в нуклеотидній послідовності, яка призводить до заміщення амінокислоти на іншу амінокислоту;

- "нонсенс-мутація" або "мутація СТОП-кодону", що являє собою зміну в нуклеотидній послідовності, яка призводить до введення передчасного СТОП-кодону і, таким чином, до термінації трансляції (яка призводить до утворення усіченого білка); рослинні гени містять стоп-кодони трансляції "TGA" (UGA в РНК), "TAA" (UAA в РНК) і "TAG" (UAG в РНК); таким чином будь-яке нуклеотидне заміщення, інсерція або делеція, які призводять до утворення одного з цих кодонів, які будуть транслюватись у зрілій мРНК (у рамці зчитування), призведе до термінації трансляції;

- "інсерційна мутація" однієї або більшої кількості амінокислот, внаслідок чого один або більше кодонів додаються до кодуєчої послідовності нуклеїнової кислоти;

- "делеційна мутація" однієї або більшої кількості амінокислот, внаслідок чого один або більше кодонів видаляються з кодуєчої послідовності нуклеїнової кислоти

- "мутація зі зміщенням рамки зчитування", яка призводить до того, що нуклеотидна послідовність транслюватиметься в іншій рамці, розташованій нижче від мутації. Мутація зі зміщенням рамки зчитування може виникати з різних причин, таких як інсерція, делеція або дуплікація одного або більше нуклеотидів;

- мутація сайту сплайсингу, яка призводить до зміни процесу сплайсингу, що обумовлює змінений процесинг мРНК і, відповідно, до зміненого закодованого білка, який містить або делеції, заміщення, або інсерції різної довжини, можливо, у поєднанні з передчасною термінацією трансляції

Як визначено в цій заявці, "повністю нокаутний da1 ген" або "нокаутний da1 алель" стосується da1 гена або da1 алеля, які не зберігають da1-1 фенотип при надекспресії в da1-1 мутантному *Arabidopsis thaliana*, як описано в WO2009/047525.

З цього визначення є очевидним, що нокаутний DA1 білок може бути забезпечений шляхом введення однієї або більше мутацій – місєнс-мутації, нонсенс-мутації, інсерції, делеції, мутації зі зсувом рамки зчитування або мутації сайту сплайсингу.

Оптимальне вирівнювання нуклеїнової кислоти DA1 у *Arabidopsis* (SEQ ID NO: 1) та амінокислотної послідовності (SEQ ID NO: 2) з нуклеотидною послідовністю DA1, зокрема, з геномними послідовностями DA1 Brassica (SEQ ID NO: 3, 6, 9, 12, 54, 57, 60, 63, 70 і 73), кодуєчими послідовностями (SEQ ID NO: 4, 7, 10, 13, 55, 58, 61, 64, 66, 68, 71 і 74) та амінокислотними послідовностями (SEQ ID NO: 5, 8, 11, 14, 56, 62, 65, 67, 69, 72 та 75) даного винаходу, дає змогу визначити положення відповідних консервативних доменів та амінокислот у цих послідовностях Brassica (див. Фігуру 1 для вирівнювання білкової послідовності DA1 *Arabidopsis* з білковими послідовностями DA1 Brassica DA1 SEQ ID NO: 5, 8, 11, 14, 56, 62, 65, 67, 69, 72, та 75).

Нонсенс-мутація в DA1 алелі, як тут використовується, являє собою мутацію в DA1 алелі, внаслідок якої один або більше стоп-кодонів трансляції вводяться в кодуєчу ДНК і відповідну послідовність мРНК відповідного DA1 алеля дикого типу. Трансляція стоп-кодонів – це TGA (UGA в mRNA), TAA (UAA) і TAG (UAG). Таким чином, будь-яка мутація (делеція, інсерція або заміщення), що призводить до утворення стоп-кодону в рамці зчитування кодуєчої послідовності, призведе до термінації трансляції та усічення амінокислотного ланцюга. Таким чином, повністю нокаутний мутантний DA1 алель може містити нонсенс-мутацію, де стоп-кодон

- у рамці зчитування вводиться в послідовність DA1 кодона шляхом поодиноких нуклеотидних заміщень, таких як мутація CAG в TAG, TGG в TAG, TGG в TGA, або CAA в TAA. Альтернативно, повністю нокаутний мутантний DA1 алель може містити нонсенс-мутацію, де стоп-кодон у рамці зчитування вводиться в послідовність кодону DA1 шляхом подвійних нуклеотидних заміщень, таких як мутація CAG в TAA, TGG в TAA, або CGG в TAG чи TGA. Повністю нокаутний мутантний DA1 алель може також містити нонсенс-мутацію, де стоп-кодон у рамці зчитування вводиться в послідовність DA1 кодону шляхом потрійних нуклеотидних заміщень, таких як мутація CGG в TAA. Усічений білок втрачає амінокислоти, заковдані ДНК, нижче (даунстрім) мутації (тобто, С-термінальної частини DA1 білка) і підтримує амінокислоти, заковдані кодуною ДНК вище (апстрім) мутації (тобто, в N-термінальній частині DA1 білка).
- Таблиці, які тут представлені, описують діапазон можливих нонсенс-мутацій в DA1 послідовностях *Brassica napus*, наведених тут:

Таблиця 1а

## Можливі мутації стоп-кодону в BnDA1-A1 (SEQ ID NO: 3)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 3) | ДТ    |     | Стоп-кодон  |                      |
|---|-------|-----|-------------|----------------------|
|   | Кодон | АА  | Кодон       | АА                   |
| 37-39   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 400-402   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 558-560   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 576-578   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 881-883   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1379-1381   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1385-1387   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1406-1408   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1642-1644   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1705-1707   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1932-1934   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1956-1958   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 136-138   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 839-841   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1229-1231   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1400-1402   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1442-1444   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1472-1474   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2070-2072   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2106-2108   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2205-2207   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 890-892   | CGA   | Arg | TGA<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1723-1725   | CGA   | Arg | TGA<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1298-1300   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Продовження таблиці 1а

|             |     |     |             |                      |
|-------------|-----|-----|-------------|----------------------|
| 1331-1333   | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1469-1471   | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1816-1818   | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1920-1922   | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 7-9         | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 334-336     | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 427,529-530 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 872-874     | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1223-1225   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1681-1683   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1810-1812   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1974-1976   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Таблиця 1b

Можливі мутації стоп-кодону в BnDA1-A2 (SEQ ID NO: 6)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 6) | ДТ    |     | Стоп-кодон |      |
|---|-------|-----|------------|------|
|   | кодон | АА  | кодон      | АА   |
| 37-39   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 313-315   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 450-452   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 468-470   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1417-1419   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1423-1425   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1444-1446   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1510-1512   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1695-1697   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1785-1787   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1974-1976   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |
| 1998-2000   | CAA   | Gln | TAA        | СТОП |

Таблица 1b

|           |     |     |             |                      |
|-----------|-----|-----|-------------|----------------------|
| 2142-2144 | CAA | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 82-84     | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 151-153   | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 259-261   | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 319-321   | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 501-503   | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1183-1185 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1438-1440 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1480-1482 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2106-2108 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2241-2243 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 819-821   | CGA | Arg | TGA<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 46-48     | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1369-1371 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1878-1880 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1962-1964 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 7-9       | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 801-803   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1177-1179 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1743-1745 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1872-1874 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 2016-2018 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Таблиця 1с

Можливі мутації стоп-кодону в BnDA1-C1 (SEQ ID NO: 9)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 9) | ДТ    |     | Стоп-кодон  |                      |
|---|-------|-----|-------------|----------------------|
|   | кодон | АА  | кодон       | АА                   |
| 37-39   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 408-410   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 594-596   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 896-898   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1404-1406   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1431-1433   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1497-1499   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1670-1672   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1733-1735   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1960-1962   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 1984-1986   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 2224-2226   | CAA   | Gln | TAA         | СТОП                 |
| 145-147   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 351-353   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 576-578   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1254-1256   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1410-1412   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1425-1427   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1467-1469   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2089-2091   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 2125-2127   | CAG   | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 905-907   | CGA   | Arg | TGA<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 1323-1325   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1356-1358   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1751-1753   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1844-1846   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1948-1950   | CGG   | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 7-9   | TGG   | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Продовження таблиці 1с

|              |     |     |             |                      |
|--------------|-----|-----|-------------|----------------------|
| 342-344      | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 435, 547-548 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 887-889      | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1248-1250    | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1709-1711    | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1838-1840    | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 2002-2004    | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Таблиця 1d

Можливі мутації стоп-кодону в BnDA1-C2 (SEQ ID NO: 12)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 12) | ДТ    |     | Стоп-кодон |              |
|--|-------|-----|------------|--------------|
|  | кодон | АА  | кодон      | АА           |
| 37-39  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 316-318  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 472-474  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1440-1442  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1446-1448  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1467-1469  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1533-1535  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1710-1712  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1800-1802  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 1987-1989  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 2011-2013  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 2125-2127  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 2161-2163  | CAA   | Gln | TAA        | СТОП         |
| 82-84  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 151-153  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 262-264  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 454-456  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 505-507  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 1205-1207  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |
| 1461-1463  | CAG   | Gln | TAG<br>TAA | СТОП<br>СТОП |



Продовження таблиці 1d

|           |     |     |             |                      |
|-----------|-----|-----|-------------|----------------------|
| 1503-1505 | CAG | Gln | TAG<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 817-819   | CGA | Arg | TGA<br>TAA  | СТОП<br>СТОП         |
| 46-48     | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1359-1361 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1392-1394 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1893-1895 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1975-1977 | CGG | Arg | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 7-9       | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 799-801   | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1199-1201 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1758-1760 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 1887-1889 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |
| 2029-2031 | TGG | Trp | TAG TGA TAA | СТОП<br>СТОП<br>СТОП |

Таблиця 1e

Можливі мутації сайту сплайсингу в BnDA1-A1 (SEQ ID NO: 3)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 3) | Сайт сплайсингу     |      |           |
|---|---------------------|------|-----------|
|   |                     | ДТ   | мутантний |
| 156   | Інtron 1 – донор    | g[gt | a[gt      |
| 157   | Інtron 1 – донор    | g[gt | g[at      |
| 324   | Інtron 1 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 325   | Інtron 1 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 428   | Інtron 2 – донор    | t[gt | t[at      |
| 528   | Інtron 2 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 529   | Інtron 2 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 718   | Інtron 3 – донор    | g[gt | a[gt      |
| 719   | Інtron 3 – донор    | g[gt | g[at      |
| 807   | Інtron 3 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 808   | Інtron 3 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 928   | Інtron 4 – донор    | g[gt | a[gt      |

Продовження таблиці 1е

|      |                     |      |      |
|------|---------------------|------|------|
| 929  | Інtron 4 – донор    | g[gt | g[at |
| 1014 | Інtron 4 – акцептор | ag]t | aa]t |
| 1099 | Інtron 5 – донор    | t[gt | t[at |
| 1174 | Інtron 5 – акцептор | ag]a | aa]a |
| 1508 | Інtron 6 – донор    | t[gt | t[at |
| 1593 | Інtron 6 – акцептор | ag]g | aa]g |
| 1594 | Інtron 6 – акцептор | ag]g | ag]a |
| 1825 | Інtron 7 – донор    | g[gt | a[gt |
| 1826 | Інtron 7 – донор    | g[gt | g[at |
| 1914 | Інtron 7 – акцептор | ag]g | aa]g |
| 1915 | Інtron 7 – акцептор | ag]g | ag]a |

Таблиця 1f

Можливі мутації сайту сплайсингу в BnDA1-A2 (SEQ ID NO: 6)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 6) | Сайт сплайсингу     |      |           |
|---|---------------------|------|-----------|
|   |                     | ДТ   | мутантний |
| 171   | Інtron 1 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 172   | Інtron 1 - донор    | g[gt | g[at      |
| 243   | Інtron 1 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 244   | Інtron 1 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 340   | Інtron 2 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 341   | Інtron 2 - донор    | g[gt | g[at      |
| 420   | Інtron 2 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 421   | Інtron 2 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 646   | Інtron 3 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 647   | Інtron 3 - донор    | g[gt | g[at      |
| 736   | Інtron 3 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 737   | Інtron 3 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 857   | Інtron 4 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 858   | Інtron 4 - донор    | g[gt | g[at      |
| 932   | Інtron 4 – акцептор | ag]t | aa]t      |
| 1017  | Інtron 5 - донор    | t[gt | t[at      |
| 1128  | Інtron 5 – акцептор | ag]a | aa]a      |
| 1248  | Інtron 6 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 1249  | Інtron 6 - донор    | g[gt | g[at      |
| 1332  | Інtron 6 – акцептор | ag]c | aa]c      |
| 1546  | Інtron 7 - донор    | t[gt | t[at      |
| 1646  | Інtron 7 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 1647  | Інtron 7 – акцептор | ag]g | ag]a      |
| 1887  | Інtron 8 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 1888  | Інtron 8 - донор    | g[gt | g[at      |
| 1956  | Інtron 8 – акцептор | ag]g | aa]g      |
| 1957  | Інtron 8 – акцептор | ag]g | ag]a      |

Таблиця 1g

Можливі мутації сайту сплайсингу BnDA1-C1 (SEQ ID NO: 9)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 9) | Сайт сплайсингу     |      |           |
|---|---------------------|------|-----------|
|   |                     | ДТ   | Мутантний |
| 165   | Інtron 1 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 166   | Інtron 1 - донор    | g[gt | g[at      |
| 332   | Інtron 1 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 333   | Інtron 1 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 436   | Інtron 2 - донор    | t[gt | t[at      |
| 546   | Інtron 2 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 547   | Інtron 2 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 736   | Інtron 3 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 737   | Інtron 3 - донор    | g[gt | g[at      |
| 822   | Інtron 3 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 823   | Інtron 3 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 943   | Інtron 4 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 944   | Інtron 4 - донор    | g[gt | g[at      |
| 1033  | Інtron 4 - акцептор | ag]t | aa]t      |
| 1118  | Інtron 5 - донор    | t[gt | t[at      |
| 1199  | Інtron 5 - акцептор | ag]a | aa]a      |
| 1533  | Інtron 6 - донор    | t[gt | t[at      |
| 1621  | Інtron 6 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 1622  | Інtron 6 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 1853  | Інtron 7 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 1854  | Інtron 7 - донор    | g[gt | g[at      |
| 1942  | Інtron 7 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 1943  | Інtron 7 - акцептор | ag]g | ag]a      |

Таблиця 1h

Можливі мутації сайту сплайсингу в BnDA1-C2 (SEQ ID NO: 12)

| Положення у порівнянні з<br>геномною послідовністю<br>(SEQ ID NO 12) | Сайт сплайсингу     |      |           |
|--|---------------------|------|-----------|
|  |                     | ДТ   | мутантний |
| 171  | Інtron 1 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 172  | Інtron 1 - донор    | g[gt | g[at      |
| 246  | Інtron 1 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 247  | Інtron 1 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 340  | Інtron 2 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 341  | Інtron 2 - донор    | g[gt | g[at      |
| 424  | Інtron 2 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 425  | Інtron 2 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 650  | Інtron 3 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 651  | Інtron 3 - донор    | g[gt | g[at      |
| 734  | Інtron 3 - акцептор | ag]g | aa]g      |
| 735  | Інtron 3 - акцептор | ag]g | ag]a      |
| 855  | Інtron 4 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 856  | Інtron 4 - донор    | g[gt | g[at      |
| 938  | Інtron 4 - акцептор | ag]t | aa]t      |
| 1023   | Інtron 5 - донор    | t[gt | t[at      |
| 1150   | Інtron 5 - акцептор | ag]a | aa]a      |
| 1270   | Інtron 6 - донор    | g[gt | a[gt      |
| 1271   | Інtron 6 - донор    | g[gt | g[at      |

|      |                     |      |      |
|------|---------------------|------|------|
| 1355 | Інtron 6 – акцептор | ag]c | aa]c |
| 1569 | Інtron 7 - донор    | t[gt | t[at |
| 1661 | Інtron 7 – акцептор | ag]g | aa]g |
| 1662 | Інtron 7 – акцептор | ag]g | ag]a |
| 1902 | Інtron 8 - донор    | g[gt | a[gt |
| 1903 | Інtron 8 - донор    | g[gt | g[at |
| 1969 | Інtron 8 – акцептор | ag]g | aa]g |
| 1970 | Інtron 8 – акцептор | ag]g | ag]a |

Очевидно, мутації не обмежені лише тими мутаціями, що представлені у наведеній вище таблиці, і зрозуміло, що аналогічні мутації у стоп-кодонах можуть мати місце в DA1 алелях, інших, ніж ті, що наведені в переліку послідовностей, на які зроблено посилання у вищенаведеній таблиці.

Місенс-мутація в DA1 алелі, як тут використовується, – це будь-яка мутація (делеція, інсерція або заміщення) в DA1 алелі, в результаті якої один або більше кодонів змінюються в кодуєчій ДНК та відповідній послідовності мРНК відповідного DA1 алеля дикого типу, що призводить до заміщення однієї або більше амінокислот у DA1 білку дикого типу на одну або більше амінокислот у мутантному DA1 білку.

Мутація зі зміщенням рамки читування в DA1 алелі, як тут використовується, - це мутація (делеція, інсерція, дуплікація тощо) в DA1 алелі, яка призводить до того, що нуклеотидна послідовність трансклюється в іншій рамці нижче ділянки мутації.

Мутація сайту сплайсингу в AD1 алелі, як тут використовується, - це мутація (делеція, інсерція, заміщення, дуплікація тощо) в DA1 алелі, в результаті чого акцепторний сайт сплайсингу мутує, що обумовлює зміни в процесингу мРНК і, відповідно, утворення зміненого закодованого білка, який має інсерції, делеції, заміщення різної довжини, або білок може бути усічений.

У специфічних втіленнях, С в положенні 1385 послідовності SEQ ID NO: 3 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1385-1387, який кодує глутамін, на TAA стоп-кодон; або G в положенні 1683 послідовності SEQ ID NO: 3 мутує в А, що призводить до мутації TGG кодону в положенні 1681-1683, який кодує триптофан, у TGA стоп-кодон; або С в положенні 1932 послідовності SEQ ID NO: 3 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1932-1934, який кодує глутамін, в TAA стоп-кодон; або G в положенні 1744 послідовності SEQ ID NO: 6 мутує в А, що призводить до мутації TGG кодону в положенні 1743-1745, який кодує триптофан, в TAG стоп-кодон; або С в положенні 1998 послідовності SEQ ID NO: 6 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1998-2000, який кодує глутамін в TAA стоп-кодон; або С в положенні 1974 послідовності SEQ ID NO: 6 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1974-1976, який кодує глутамін, в TAA стоп-кодон; або G в положенні 1874 послідовності SEQ ID NO: 6 мутує в А, що призводить до мутації TGG кодону в положенні 1872-1874, який кодує триптофан, в TGA стоп-кодон; або С в положенні 1425 послідовності SEQ ID NO: 9 мутує в Т, що призводить до мутації CAG кодону в положенні 1425-1427, який кодує глутамін в TAG стоп-кодон; або С в положенні 1960 послідовності SEQ ID NO: 9 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1960-1962 який кодує глутамін в TAA стоп-кодон; або С в положенні 1670 послідовності SEQ ID NO: 9 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 1670-1672 який кодує глутамін, у TAA стоп-кодон; або G в положенні 2004 послідовності SEQ ID NO: 9 мутує в А, що призводить до мутації TGG кодону в положенні 2002-2004, який кодує триптофан, у TGA стоп-кодон; або С в положенні 2011 послідовності SEQ ID NO: 12 мутує в Т, що призводить до мутації CAA кодону в положенні 2011-2013, який кодує глутамін, в TAA стоп-кодон.

Амінокислотні послідовності згідно з винаходом

Передбачають, що DA1 білок *A. thaliana* є білком, закодованим 532 амінокислотами, який містить два мотиви, що взаємодіють з убіквітином (ubiquitin interaction motifs, UIM) та один цинк-зв'язуючий домен (LIM) в N-термініусі (WO2009/047525 та Li et al., 2008, supra). IUM – це короткий пептидний мотив з подвійною функцією – зв'язування убіквітину та стимуляції убіквітинування. LIM домен є мотивом білок-білкової взаємодії, який бере важливу участь у цілій низці фундаментальних біологічних процесів, включаючи організацію цитоскелету, розвитку органів та сигнальної трансдукції. Положення двох UIM доменів та LIM домену вказано на Фігурі 1.

Забезпечуються як амінокислотні послідовності DA1 дикого типу (функціональні), так і

мутантні амінокислотні послідовності DA1 (які містять одну або більше мутацій, таких як мутації, що призводять до істотного зниження або відсутності біологічної активності DA1 білка) з представників Brassicaceae, зокрема, з видів Brassica, а саме з Brassica napus, Brassica rapa і Brassica oleracea і Brassica nigra, а також з інших видів сільськогосподарських культур, що належать до роду Brassica. Наприклад, види Brassica, які містять A і/або C геном, можуть кодувати різні DA1-A або DA1-C амінокислоти. Крім того, методи мутагенезу можуть бути використані для створення мутацій в DA1 алелях дикого типу, що призводить до утворення мутантних алелів, які можуть кодувати мутантні DA1 білки. В одному з варіантів втілення амінокислотні DA1 послідовності дикого типу та/або мутантні амінокислотні DA1 послідовності забезпечуються у рослин в межах роду Brassica (тобто, ендегенно).

Амінокислотні послідовності DA1-A1 та DA1-A2 білків були виділені з Brassica napus та Brassica rapa; білків DA1-B1 та DA1-B2 – з Brassica nigra, і DA1-C1 та DA1-C2 білків – з Brassica napus та Brassica oleracea; як представлено в переліку послідовностей. DA1 послідовності дикого типу, натомість мутантні DA1 послідовності цих послідовностей, та послідовності, значною мірою подібні до них, описуються тут нижче, з посиланням на DA1 послідовності дикого типу.

Як описано вище, DA1 білки Brassica, описані тут, мають приблизно 511-533 амінокислот у довжину і містять низку структурних та функціональних доменів.

"DA-A1 амінокислотні послідовності" або "DA1-A1 варіант амінокислотної послідовності" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, які мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 5. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA-A2 амінокислотні послідовності" або "DA1-A2 варіант амінокислотних послідовностей" згідно з винаходом являють собою амінокислотні послідовності, які мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA-C1 амінокислотні послідовності" або "DA1-C1 варіант амінокислотних послідовностей" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, що мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 11. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA1-C2 амінокислотні послідовності" або "DA1-C2 варіант амінокислотних послідовностей" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, що мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 14. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA-A1 амінокислотні послідовності Brassica napus" або "DA1-A1 варіант амінокислотних послідовностей Brassica napus" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, які мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 5. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA-A2 амінокислотні послідовності Brassica napus" або "DA1-A2 варіант амінокислотних послідовностей Brassica napus" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, які мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.

"DA-C1 амінокислотні послідовності Brassica napus" або "DA1-C1 варіант амінокислотних послідовностей Brassica napus" згідно з винаходом – це амінокислотні послідовності, які мають щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 11. Ці амінокислотні послідовності можуть також називатись такими, що є "по суті подібними" або "суттєво ідентичними" до DA1 послідовностей, наведених у переліку послідовностей.



амінокислотні послідовності *Brassica rapa*; DA1-C1 амінокислотні послідовності можуть містити DA1-C1 амінокислотні послідовності *Brassica napus* та DA1-C1 амінокислотні послідовності *Brassica oleracea*; DA1-C2 амінокислотні послідовності можуть містити DA1-C2 амінокислотні послідовності *Brassica napus* та DA1-C2 амінокислотні послідовності *Brassica oleracea*.

5 Таким чином, винахід забезпечує як амінокислотні послідовності дикого типу функціональних DA1 білків, включаючи їх варіанти та фрагменти (як визначено далі нижче), так і мутантні амінокислотні послідовності будь-якої з них.

Далі, мутація в амінокислотній послідовності може призвести до істотного зниження або повної відміни біологічної активності DA1 білка у порівнянні з біологічною активністю 10 відповідного DA1 білка дикого типу.

Амінокислотні послідовності функціональних DA1 білків.

Амінокислотні послідовності, зображені в переліку послідовностей, є DA1 білками дикого типу з *Brassica napus*. Таким чином, ці послідовності є ендегенними для рослин *Brassica napus*, з яких вони були виділені. Може бути проведений скринінг інших видів сільськогосподарських 15 культур *Brassica*, різновидів, гібридних ліній або надходжень з природи щодо інших функціональних DA1 білків з тими ж амінокислотними послідовностями або їх варіантами, як описано вище.

Крім того, зрозуміло, що DA1 амінокислотні послідовності та їх варіанти (або фрагменти 20 будь-якої з них) можуть бути ідентифіковані *in silico*, шляхом скринінгу баз даних амінокислот щодо значною мірою подібних послідовностей. Також забезпечуються фрагменти молекул амінокислот згідно з винаходом.

Амінокислотні послідовності мутантних DA1 білків.

Амінокислотні послідовності, які містять одну або більше амінокислотних делецій, інсерцій або заміщень порівняно з амінокислотними послідовностями дикого типу, є ще одним із втілень 25 винаходу, оскільки являють собою фрагменти таких мутантних молекул амінокислот. Такі мутантні амінокислотні послідовності можуть бути одержані та/або ідентифіковані за допомогою різних відомих методів, що були описані вище. До того ж, такі молекули амінокислот забезпечуються як в ендегенній, так і в ізолюваній формах.

В одному варіанті здійснення винаходу, мутантний DA1 білок містить в положенні, що 30 відповідає положенню 338 SEQ ID NO: 5 та 56, в положенні 353 SEQ ID NO: 8 та 59, в положенні 341 SEQ ID NO: 11 та 62, в положенні 352 послідовності SEQ ID NO: 14, в положенні 355 SEQ ID NO: 65 та 69, в положенні 340 послідовності SEQ ID NO: 72, та в положенні 357 послідовності SEQ ID NO: 75 амінокислоту, іншу, ніж аргінін, таку, як лізін.

У конкретному варіанті здійснення винаходу, забезпечується DA1-A2 білок, який містить 35 лізін замість аргініну в положенні 350 послідовності SEQ ID NO: 8. DA1-A2 білок, що містить цю мутацію, представлений послідовністю SEQ ID NO: 17.

В одному варіанті здійснення винаходу, мутація(ii) в амінокислотній послідовності призводить до істотно зниженої або повної відсутності біологічної активності білка DA1 у 40 порівнянні з білком дикого типу. Як описується вище, в основному, будь-яка мутація, що призводить до утворення білка, який включає щонайменше одну амінокислотну інсерцію, делецію та/або заміщення порівняно з білком дикого типу, може призвести до істотного зниження або відсутності біологічної активності.

Таким чином, в одному варіанті здійснення винаходу, забезпечуються мутантні DA1 білки, які містять одну або більше мутацій – делецій або інсерцій, внаслідок чого делеція (ii) або 45 інсерція (ii) призводить (ять) до секреції мутантного білка, який має істотно знижену активність, або активність *in vivo* взагалі відсутня. Такі мутантні DA1 білки являють собою DA1 білки, де щонайменше 1, щонайменше 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 150, 175, 180 або більше амінокислот видаляються, вставляються або заміщуються у порівнянні з DA1 білком дикого типу, внаслідок чого делеція (ii) або інсерція (ii) призводить (ять) до секреції мутантного білка, який має істотно 50 знижену активність або активність *in vivo* взагалі відсутня.

В іншому варіанті здійснення винаходу, забезпечуються мутантні DA1 білки, які є усіченими, внаслідок чого мутантний білок має істотно знижену активність або активність *in vivo* взагалі 55 відсутня. Такі усічені DA1 білки – це DA1 білки, які втратили функціональні домени в С-термінальній частині відповідного DA1 білка дикого типу і які містять N-термінальну частину відповідного DA1 білка дикого типу.

У ще іншому варіанті здійснення, забезпечуються мутантні DA1 білки, що містять одну або 60 більше мутацій заміщення, в результаті чого заміщення призводить (ять) до утворення мутантного білка, який має значно нижчу активність, або активність відсутня *in vivo*. Такі мутантні DA1 білки – це DA1 білки, в результаті чого консервативні амінокислотні залишки, що виконують специфічну функцію, заміщуються.

В одному аспекті винаходу, забезпечуються рослини Brassica, які містять щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 1, амінокислоту, відмінну від аргініну.

Було виявлено, що амфідиплоїдний вид Brassica napus, що містить A геном і C геном, містить чотири DA1 гени, два DA1 гени в A геномі (DA1-A1 і DA1-A2), та два DA1 гени в C-геномі (DA1-C1 та DA1-C2), що диплоїдний вид Brassica rapa, який містить A-геном, містить два DA1 гени, DA1-A1 та DA1-A2, що диплоїдний вид Brassica oleracea, який містить C геном, містить два DA1 гени, DA1-C1 та DA1-C2, і що диплоїдний вид Brassica nigra, який містить B геном, містить два DA1 гени, DA1-B1 і DA1-B2. Відповідно для винаходу прийнятні диплоїдні види Brassica, які містять два DA1 гени, де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, який кодує мутантний DA1 білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 1, амінокислоту, відмінну від аргініну. Вказаний мутантний DA1 алель може бути мутантним алелем DA1-A1 гена, DA1-A2 гена, DA1-C1 гена, DA1-C2 гена, DA1-B1 гена, і DA1-B2 гена. Більш конкретно, прийнятними є рослини Brassica rapa, які містять мутантний алель DA1-A2 гена, рослини Brassica oleracea, які містять мутантний алель DA1-C2 гена, і рослини Brassica nigra, які містять мутантний алель DA1-B2 гена. Другий DA1 ген вказаних рослин Brassica може містити алель дикого типу, але також може містити мутантний DA1 алель, такий як повністю нокаутний DA1 алель.

Рослини Brassica згідно з винаходом можуть також бути рослинами Brassica, які містять чотири DA1 гени. Тут описані рослини Brassica napus, які містять чотири DA1 гени, два з яких – в A геномі (DA1-A1 та DA1-A2), і два – в C-геномі (DA1-C1 та DA1-C2). Далі, рослинами Brassica, які містять чотири DA1 гени, може бути алотетраплоїд Brassica juncea (A і B геном) та Brassica carinata (B і C геном), де DA1 генами можуть бути DA1-A1, DA1-A2, DA1-B1, DA1-B2 (для B. juncea), і DA1-B1, DA1-B2, DA1-C1 та DA1-C2 (для B. carinata). Прийнятними є рослини Brassica, які містять мутантний алель DA1-A2 гена або мутантний алель DA1-C2 гена, або мутантний алель DA1-B2 гена, що кодує білок, який несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 1, амінокислоту, відмінну від аргініну, такий як лізин. Вказані рослини Brassica також містять мутантний алель другого DA1 гена, який може бути мутантним DA1 алелем, який кодує білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 1, амінокислоту, відмінну від аргініну, такий як лізин, або вказаний другий мутантний DA1 алель може бути повністю нокаутний da1 ген. Вказаний мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена може бути алелем будь-якого DA1 гена, іншого ніж перший DA1 ген. Прийнятні другі DA1 гени – це DA1-A2, DA1-C2 та DA1-B2 гени. Прийнятні рослини Brassica згідно з винаходом, які містять чотири DA1 гени, - це рослини Brassica napus, які містять мутантний алель першого DA1-A2 гена, або мутантний алель першого DA1-C2 гена, або мутантний алель першого DA1-A2 гена та мутантний алель другого DA1-C2 гена, або мутантний алель першого DA1-C2 гена і мутантний алель другого DA1-A2 гена, або рослини Brassica juncea, які містять мутантний алель першого DA1-A2 гена, або мутантний алель першого DA1-B2 гена, або мутантний алель першого DA1-A2 гена і мутантний алель другого DA1-B2 гена, або мутантний алель першого DA1-B2 гена і мутантний алель другого DA1-A2 гена, або рослини Brassica carinata, які містять мутантний алель першого DA1-B2 гена, або мутантний алель першого DA1-C2 гена, або мутантний алель першого DA1-B2 гена і мутантний алель другого DA1-C2 гена, або мутантний алель першого DA1-C2 гена і мутантний алель другого DA1-B2 гена, де вказаний мутантний алель вказаного першого DA1 гена кодує білок, який несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO:1, амінокислоту, відмінну від аргініну, таку як лізин, і де вказаний мутантний алель вказаного другого мутантного DA1 гена – це мутантний DA1 ген, який кодує білок, що несе в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 1, амінокислоту, відмінну від аргініну, таку як лізин, або є повністю нокаутний da1 ген.

В іншому аспекті винаходу, забезпечуються рослини Brassica, які містять щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель DA1 гена є повністю нокаутний DA1 алель. Відповідно, для винаходу прийнятні рослини видів Brassica, які містять два DA1 гени, такі як Brassica rapa, Brassica oleracea, та Brassica nigra, де щонайменше один алель DA1 гена являє собою повністю нокаутний DA1 алель. Вказаний нокаутний DA1 алель може бути повністю нокаутним алелем DA1-A1 гена, DA1-A2 гена, DA1-C1 гена, DA1-C2 гена, DA1-B1 гена та DA1-B2 гена. Більш специфічно, прийнятними є рослини Brassica rapa, що містять повністю нокаутний алель DA1-A1 гена, DA1-A2 гена або як DA1-A1, так і DA1-A2 гени, рослини Brassica oleracea, що містять повністю нокаутний алель DA1-C2 гена, та рослини Brassica nigra, які містять повністю нокаутний алель DA1-B1 гена, DA1-B2 гена, або як DA1-B1, так і DA1-B2 гени.



Також прийнятні рослини видів Brassica, які містять чотири DA1 гени, такі як Brassica napus, Brassica juncea і Brassica carinata, що містять повністю нокаутний алель DA1-A1 гена, DA1-A2 гена, DA1-C2 гена або DA1-B2 гена, або повністю нокаутний алель DA1-B1 гена або DA1-B2 гена, або будь-яку їх комбінацію. Прийнятними видами рослин Brassica згідно з винаходом, які містять чотири DA1 гени, є рослини Brassica napus, які містять повністю нокаутний алель DA1-A1 гена, або DA1-A2 гена, або DA1-C2 гена, або будь-яку їх комбінацію; або рослини Brassica juncea, які містять повністю нокаутний алель DA1-A1 гена, або а DA1-A2 гена, або а DA1-B1 гена, або а DA1-B2 гена, або будь-яку їх комбінацію; або рослини Brassica carinata, які містять повністю нокаутний алель DA1-B1 гена, або DA1-B2 гена, або DA1-C2 гена, або будь-яку їх комбінацію.

Способи згідно з винаходом

Мутантні алелі DA1 можуть бути створені (наприклад, індуковані за допомогою мутагенезу) та/або ідентифіковані з використанням низки методів, які є традиційними в галузі, наприклад, методів, що базуються на ПЛР, для того щоб ампліфікувати частину або всю геномну або кДНК DA1.

Після мутагенезу, рослини вирощуються з обробленого насіння або регенеруються з оброблених клітин за допомогою відомих методик. Наприклад, мутагенізоване насіння може бути висаджене відповідно до традиційних методик вирощування, в результаті самозапилення на рослинах утворюється насіння. У альтернативному варіанті, дигаметоїдні рослини (рослини подвоєних гаплоїдів) можуть бути одержані з оброблених мікроспор або клітин пилку, що забезпечує безпосереднє одержання гомозиготних рослин, наприклад, як описано у Coventry et al. (1988, Manual for Microspore Culture Technique for Brassica napus. Dep. Crop Sci. Techn. Bull. OAC Publication 0489. універ. Гуельфа, Гуельф, Онтаріо, Канада). Додаткове насіння, яке утворюється в результаті такого самозапилення в цьому або наступному поколінні, може бути зібране та досліджене на присутність мутантних алелів DA1, за допомогою методик, які є традиційними в галузі, наприклад з використанням методик, що базуються на ампліфікації нуклеїнової кислоти, таких як методик, що ґрунтуються на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) (ампліфікації DA1 алелів) або методик, основаних на гібридизації, напр., Саузерн-блоттингу, скринінгу ВАС бібліотек, тощо та/або прямого секвенування DA1 алелів. Для здійснення скринінгу на присутність точкових мутацій (так званого однонуклеотидного поліморфізму або SNP) в мутантних DA1 алелях, можуть бути використані методи SNP-детекції, що є традиційними в галузі, наприклад метод, оснований на лігуванні олігонуклеотидів, методики мінісеквенування (SBE) або методики, основані на відмінностях сайтів рестрикції, такі як TILLING.

Як було описано вище, мутагенізація (спонтанна або індукована) специфічного алеля дикого типу DA1 призводить до присутності одного або більше видалених, вставлених або заміщених нуклеотидів (далі називаються як "ділянка мутації") в одержаному мутантному DA1 алелі. Мутантний алель DA1 може, таким чином, бути охарактеризований за допомогою локалізації та конфігурації одного або більше видалених, вставлених або заміщених нуклеотидів в алелі дикого типу DA1. Сайт в алелі дикого типу DA1, де один або більше нуклеотидів були вставлені, видалені або заміщені, відповідно, тут також називається як "ділянка або послідовність мутації". "5'- або 3'- фланкуюча ділянка або послідовність", як тут використовується, стосується ділянки ДНК або послідовності в мутантному DA1 алелі (або відповідному алелі дикого типу) щонайменше з 20 п.н., переважно щонайменше з 50 п.н., щонайменше з 750 п.н., щонайменше з 1500 п.н., і до 5000 п.н. ДНК, що відрізняються від ДНК, що містить один або більше видалених, вставлених або заміщених нуклеотидів, переважно ДНК з мутантного DA1 алеля (або відповідного алеля дикого типу), що розташований або безпосередньо вище і прилеглий до (5'-фланкуючої ділянки або послідовності) або безпосередньо нижче і прилеглий до (3'-фланкуючої ділянки або послідовності) ділянки мутації в мутантному DA1 алелі (або у відповідному DA1 алелі дикого типу). "З'єднувальна ділянка", як тут використовується, стосується ділянки ДНК у мутантному DA1 алелі (або відповідному дикому типі), де ділянка мутації та 5'- або 3'- фланкуючі ділянки зв'язані одна з одною. "Послідовність, що охоплює з'єднувальну ділянку між ділянкою мутації та 5'- або 3'- фланкуючою ділянкою", таким чином включає послідовність мутації, а також фланкуючу послідовність, суміжну з нею.

В одному втіленні забезпечується спосіб ідентифікації мутантного DA1 алеля винаходу у біологічному зразку, який полягає у застосуванні до біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів, де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані

праймери специфічно розпізнають з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або де специфічний зонд специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля. В іншому втіленні, забезпечується спосіб ідентифікації мутантного DA1 алеля винаходу у біологічному зразку, який полягає у застосуванні до біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів, після цього біологічний зразок піддають гібридизаційному аналізу за допомогою набору специфічних зондів, який містить щонайменше один специфічний зонд, де вказаний набір зондів містить один із вказаних зондів, який специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інший з-поміж вказаних зондів специфічно розпізнає ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один із вказаних зондів специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інший з-поміж вказаних зондів специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або містить специфічний зонд, який специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля.

Засоби, розроблені для ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля або рослини або рослинного матеріалу, які містять специфічний мутантний DA1 алель, або продуктів, що містять рослинний матеріал, який містить специфічний мутантний DA1 алель, основані на специфічних геномних характеристиках специфічного мутантного DA1 алеля у порівнянні з геномними характеристиками відповідного DA1 алеля дикого типу, таких як специфічна карта рестрикції геномної ділянки, яка містить ділянку мутації, молекулярні маркери або послідовність фланкуючих ділянок і/або ділянок мутацій.

Така методика, як ПЛР, основана на щонайменше двох специфічних "праймерах": один розпізнає послідовність в межах 5" або 3" фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, а інший розпізнає послідовність в межах 3" або 5" фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, відповідно; або один розпізнає послідовність в межах 5" або 3" фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, а інший розпізнає послідовність в межах ділянки мутації мутантного DA1 алеля; або один розпізнає послідовність в межах 5" або 3" фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, а інший розпізнає послідовність, яка охоплює з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації специфічного мутантного DA1 алеля (як тут описується нижче), відповідно.

Після секвенування специфічного мутантного DA1 алеля, можуть бути створені молекулярні маркери та зонди, які специфічно розпізнають послідовність всередині 5'-фланкуючої і 3'-фланкуючої ділянок та/або ділянки мутації мутантного DA1 алеля в нуклеїновій кислоті (ДНК або РНК) зразка за допомогою молекулярно-біологічної методики. Наприклад, метод ампліфікації міг би бути розроблений для ідентифікації мутантного DA1 алеля в біологічних зразках (таких як зразки рослин, рослинного матеріалу або продуктів, які містять рослинний матеріал). Така ПЛР ґрунтується на, щонайменше, двох специфічних "праймерах": один розпізнає послідовність в межах 5'- або 3'- фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, а інший розпізнає послідовність в межах 3'- або 5'- фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, відповідно; або один розпізнає послідовність в межах 5'- або 3'- фланкуючої ділянки мутантного DA1 алеля, а інший розпізнає послідовність в межах мутантної ділянки мутантного алеля ROD1; або один розпізнає послідовність в межах 5'- або 3'- фланкуючої ділянки мутантного алеля DA1, а інший розпізнає послідовність, що охоплює з'єднувальну ділянку між 3'- або 5'- фланкуючими ділянками та мутантною ділянкою специфічного мутантного алеля DA1 (як описується далі нижче), відповідно.

Праймери переважно мають послідовність від 15 до 35 нуклеотидів завдовжки, які за оптимізованих умов ампліфікації "специфічно розпізнають" послідовність у межах 5'- або 3'- фланкуючої ділянки, послідовність в межах ділянки мутації, або послідовність, що охоплює з'єднувальну ділянку між 3'- або 5'- фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації специфічного мутантного алеля DA1, так що специфічний фрагмент ("специфічний фрагмент мутантного DA1" або дискримінуючий амплікон) ампліфікуються зі зразка нуклеїнової кислоти, який містить специфічний мутантний алель DA1. Це означає, що лише цільовий мутантний алель DA1, а не інша послідовність рослинного геному, ампліфікуються за оптимізованих умов ПЛР.

ПЛР-праймери, прийнятні для винаходу, можуть бути наступними:

- Олігонуклеотиди, довжина яких варіює від 17 нт до приблизно 200 нт, які містять нуклеотидну послідовність, утворену щонайменше 17 послідовними нуклеотидами, переважно 20 послідовними нуклеотидами, обраними з 5'- або 3'- фланкуючої послідовності специфічного мутантного алеля DA1 або його комплементу ((тобто, наприклад, послідовність 5'- або 3'-, що фланкує один або більше нуклеотидів, які були видалені, вставлені або заміщені в мутантних

DA1 алелях винаходу, такої як послідовність 5'- або 3'-, що фланкує нонсенс-мутацію, місенс-мутацію, мутацію зі зсувом рамки або мутації сайту сплайсингу, описані вище або послідовність 5'- або 3'-, що фланкує мутації СТОП-кодону, описані у наведених вище Таблицях або послідовності 5" або 3", фланкуючі мутації сайт сплайсингу, як показано вище, або мутації заміщення, зазначені у вищенаведених Таблицях, чи його комплемент) (праймери, що розпізнають 5'-фланкуючі послідовності); або

- Олігонуклеотиди, довжина яких варіює від 17 нт до приблизно 200 нт, які містять нуклеотидну послідовність, утворену щонайменше 17 послідовними нуклеотидами, переважно 20 нуклеотидами, обраними з послідовності ділянки мутації специфічного мутантного алеля DA1 або його комплемента (тобто, наприклад, послідовності нуклеотидів, вставлених або заміщених в генах DA1 винаходу або його комплемента) (праймери, що розпізнають послідовності мутацій).

Праймери, зазвичай, можуть бути довшими, ніж згадані, що утворені 17 послідовними нуклеотидами, і можуть, напр., бути 18, 19, 20, 21, 30, 35, 50, 75, 100, 150, 200 нт завдовжки або навіть довшими. Праймери можуть повністю складатись із нуклеотидної послідовності, обраної зі згаданих нуклеотидних послідовностей фланкуючих послідовностей та послідовностей мутацій. Однак, нуклеотидні послідовності праймерів на їхніх 5'-кінцях (тобто, поза 17 послідовними нуклеотидами, розташованими на 3'-кінці) є менш критичними. Таким чином, 5'-кінці послідовностей праймерів можуть включати нуклеотидну послідовність, обрану з фланкуючої послідовності або послідовності мутації, як прийнятну, однак можуть містити декілька (напр., 1, 2, 5, 10) невідповідностей. 5'-кінцеві послідовності праймерів можуть навіть повністю складатись із нуклеотидної послідовності, неспорідненої з фланкуючою послідовністю, або послідовністю мутації, такою, як, напр., нуклеотидна послідовність, що представляє сайти рестрикції. Такі неспоріднені послідовності або фланкуючі послідовності ДНК з невідповідностями ("місматчами") повинні бути не довшими, ніж 100, більш переважно не довшими, ніж 50 або навіть 25 нуклеотидів.

Більше того, прийнятні праймери можуть складатись або включати нуклеотидну послідовність, що охоплює з'єднувальну ділянку між фланкуючою та мутаційною послідовностями (тобто, наприклад, з'єднувальну ділянку між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує один або більше нуклеотидів, які були видалені, вставлені або заміщені в мутантних DA1 алелях винаходу, та послідовність з одного або більше нуклеотидів, вставлених або заміщених, або послідовність 3'- або 5'-, відповідно, що фланкує один або більше нуклеотидів, які були видалені, таку як з'єднувальну ділянку між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує нонсенс-мутацію, місенс-мутацію, мутацію зі зсувом рамки або мутацію сайту сплайсингу в генах DA1 винаходу, описані вище, та послідовність нонсенс-мутації, місенс-мутації, мутації зі зсувом рамки або мутації сайту сплайсингу, або з'єднувальну ділянку між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує мутацію потенційного СТОП-кодону, як визначено в наведених вище Таблицях, або мутації заміщення, зазначені вище, та послідовність мутації потенційного СТОП-кодону або мутації заміщення, відповідно), за умови, що нуклеотидна послідовність не походить виключно ні з ділянки мутації, ні з фланкуючої ділянки.

Також одразу ж має бути зрозумілим досвідченому фахівцеві, що належним чином відібрані пари ПЛР-праймерів не повинні містити послідовностей, що є комплементарними одна до одної.

Для мети винаходу, "комплемент нуклеотидної послідовності, представлений в SEQ ID№: X" являє собою нуклеотидну послідовність, яка може бути одержана від представленої нуклеотидної послідовності шляхом заміщення нуклеотидів комплементарними їм нуклеотидами згідно з правилами Чаргаффа ( $A \leftrightarrow T$ ;  $G \leftrightarrow C$ ) і зчитування послідовності в напрямку від 5'- до 3'-, тобто у протилежному напрямку представленої нуклеотидної послідовності.

Приклади праймерів, прийнятих для ідентифікації специфічних мутантних DA1 алелів, описуються в Прикладах.

Як тут використовується, "нуклеотидна послідовність SEQ ID NO Z від положення X до положення Y" свідчить, що нуклеотидна послідовність включає обидва кінці нуклеотиду.

Здебільшого, ампліфікований фрагмент має довжину від 50 до 1000 нуклеотидів, таку як від 50 до 500 нуклеотидів, або довжину від 100 до 350 нуклеотидів. Специфічні праймери можуть мати послідовність, яка є на від 80 до 100 % ідентичною до послідовності з 5'- або 3'-фланкуючої ділянки, до послідовності в межах мутованої ділянки, або до послідовності, що охоплює з'єднувальну ділянку між 3'- або 5'-фланкуючою ділянкою та ділянкою мутації специфічного мутантного алеля DA1, за умови, що невідповідності ще дозволяють специфічну ідентифікацію специфічного мутантного алеля DA1 за допомогою цих праймерів за оптимізованих умов ПЛР. Діапазон допустимих невідповідностей, однак, може просто бути

визначений експериментально і відомий досвідченому фахівцеві в галузі.

Детекція та/або ідентифікація "специфічного фрагмента мутантного DA1" може відбуватись різними способами, напр., через оцінку розміру після гель-електрофорезу або капілярного електрофорезу або з використанням методів детекції, основаних на застосуванні флуоресцентних міток. Специфічні фрагменти мутантного DA1 також можуть бути безпосередньо секвеновані. Інші методи, основані на специфічності послідовності, для детекції ампліфікованих фрагментів ДНК також відомі в галузі.

Стандартні протоколи ампліфікації нуклеїнової кислоти, такі як протоколи ПЛР, описані в галузі, такі як в "PCR Applications Manual" (Roche Molecular Biochemicals, 2nd Edition, 1999) та в інших посиланнях. Оптимальні умови для ПЛР, включаючи послідовність специфічних праймерів, визначаються в "протоколі ПЛР ідентифікації" для кожного специфічного DA1 алеля. Однак зрозуміло, що кількість параметрів у протоколі ПЛР ідентифікації може потребувати зміни з урахуванням специфічних лабораторних умов, і може бути дещо модифікована для одержання аналогічних результатів. Наприклад, використання різних методів для приготування ДНК може потребувати підбору, наприклад, кількості праймерів, полімеразних ферментів, концентрації  $MgCl_2$  або умов температури відпалу, що використовуються. Аналогічно, відбір інших праймерів може вимагати інших оптимальних умов для протоколу ПЛР ідентифікації. Ці узгодження однак будуть очевидними для фахівця із досвідом роботи в галузі, і тому докладно висвітлені у рекомендаціях із застосування даної ПЛН, як було процитовано вище.

Типові протоколи ПЛР ідентифікації для ідентифікації специфічних мутантних DA1 алелів, як описано в Прикладах.

Альтернативно, специфічні праймери можуть бути використані для ампліфікації специфічного фрагмента мутантного DA1, який може бути використаний як "специфічний зонд" для ідентифікації специфічного мутантного алеля DA1 у біологічних зразках. Контакт нуклеїнової кислоти біологічного зразка із зондом, за умов, що роблять можливою гібридизацію зонда з її відповідним фрагментом у нуклеїновій кислоті, призводить до утворення гібриду нуклеїнова кислота/зонд. Утворення цього гібриду може бути виявлене (напр., міченням нуклеїнової кислоти або зонду), внаслідок чого утворення гібриду свідчить про присутність специфічного мутантного алеля DA1. Такі способи ідентифікації, основані на гібридизації зі специфічним зондом (на твердофазному носіїві або у розчині), описані в літературі. Такий специфічний зонд здебільшого являє собою послідовність, що за оптимізованих умов гібридується специфічно з ділянкою в межах 5'- або 3'- фланкуючої ділянки та/або в межах мутованої ділянки специфічного мутантного DA1 алеля (далі називається як "специфічна ділянка мутантного DA1"). Здебільшого, специфічний зонд містить послідовність завдовжки від 10 до 1000 п.н., 50 і 600 п.н., між 100 і 500 п.н., між 150 і 350 п.н., яка є щонайменше на 80 %, переважно від 80 до 85 %, більш переважно від 85 до 90 %, особливо переважно від 90 до 95 %, найбільш переважно від 95 % до 100 % ідентичною (або комплементарною) до нуклеотидної послідовності специфічної ділянки. Переважно, специфічний зонд включатиме послідовність, утворену від приблизно 13 до приблизно 100 послідовними нуклеотидами, ідентичними (або комплементарними) до специфічної ділянки специфічного мутантного алеля DA1.

Специфічні зонди, прийнятні для винаходу, можуть бути наступними:

- олігонуклеотиди, довжина яких варіює від 13 нт до приблизно 1000 нт, які містять нуклеотидну послідовність із щонайменше 13 послідовних нуклеотидів, обрану з 5'- або 3'- фланкуючої послідовності специфічного мутантного DA1 алеля або його компонента (тобто, наприклад, послідовності 5'- або 3'-, фланкуючої один або більше нуклеотидів, що були видалені, вставлені або заміщені в мутантних DA1 алелях винаходу, такі як послідовність 5'- або 3'-, що фланкує нонсенс-мутацію, місенс-мутацію, мутацію зі зсувом рамки зчитування, описані вище, або або послідовність 5'- або 3'-, що фланкує мутацію потенційного СТОП-кодону, вказану вище в Таблицях, або послідовності 5" або 3", фланкуючі мутації сайту сплайсингу, вказаних вище, або мтації заміщення, вказані вище), або послідовність, яка має щонайменше 80 % ідентичності послідовності до них (зондів, які розпізнають 5'-фланкуючі послідовності); або
- олігонуклеотиди, довжина яких варіює від 13 нт до приблизно 1000 нт, які містять нуклеотидну послідовність, утворену щонайменше 13 послідовними нуклеотидами, обрану з послідовностей мутації специфічного мутантного DA1 алеля або його компонента (тобто, наприклад, послідовностей нуклеотидів, вставлених або заміщених в DA1 генах винаходу, або їх компонента), або послідовності, яка має щонайменше 80 % ідентичності послідовності до них (зондів, що розпізнають мутаційні послідовності).

Зонди можуть повністю складатись із нуклеотидної послідовності, обраної з-поміж згаданих нуклеотидних послідовностей фланкуючих або мутаційних послідовностей. Однак, нуклеотидна

послідовність зондів на їхніх 5'- або 3'-кінцях має менш критичне значення. Таким чином, 5'- або 3'- послідовності зондів можуть складатись із нуклеотидної послідовності, відібраної з фланкуючої або мутаційної послідовностей, як таких що є прийнятними, однак можуть містити нуклеотидну послідовність, неспоріднену з фланкуючими або мутаційними послідовностями.

Крім того, прийнятні зонди можуть включати або складатись із нуклеотидної послідовності, що охоплює з'єднувальну ділянку між фланкуючою та мутаційною послідовностями (тобто, наприклад, з'єднувальну ділянку між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує один або більше нуклеотидів, які були видалені, вставлені або заміщені в мутантних DA1 алелях винаходу, і послідовністю, що містить один або більше нуклеотидів, вставлених або заміщених, або послідовністю 3'- або 5'-, відповідно, що фланкує один або більше видалених нуклеотидів, таку як з'єднувальна ділянка між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує нонсенс-мутацію, місенс-мутацію, мутацію зі зсувом рамки читування або мутацію сайту сплайсингу в DA1 генах винаходу, описані вище, та послідовність нонсенс-мутації, місенс-мутації, мутації зі зсувом рамки читування або мутації сайту сплайсингу, або з'єднувальної ділянки між послідовністю 5'- або 3'-, що фланкує мутацію потенційного СТОП-кодону, зазначену у вищенаведених Таблицях, або мутації заміщення, зазначені вище, і послідовність потенційного СТОП-кодону або мутацію заміщення, відповідно, за умови, що згадана нуклеотидна послідовність не походить виключно або з ділянки мутації, або з фланкуючих ділянок.

Типові специфічні зонди, прийнятні для того щоб ідентифікувати специфічні мутантні DA1, описані в Прикладах.

Детекція та/або ідентифікація "специфічної ділянки мутантного DA1", яка гібридизується зі специфічним зондом, може відбуватись різними шляхами, напр., за допомогою оцінки розміру після гель-електрофорезу або з використанням методів детекції, основаних на використанні флуоресцентних міток. Інші методи, що ґрунтуються на специфічності послідовності, для детекції "специфічної ділянки мутантного DA1", яка гібридизується зі специфічним зондом, відомі з рівня техніки.

Альтернативно, рослини або частини рослин, які містять один або більше мутантних DA1 алелів, можуть бути створені та ідентифіковані за допомогою інших методів, таких як метод "Delete-a-gene<sup>TM</sup>", який використовує ППЛ для скринінгу делеційних мутацій, викликаних мутагенезом з використанням швидких нейтронів (огляд здійснено Li and Zhang, 2002, *Funct Integr Genomics* 2:254-258), метод TILLING (цілеспрямованих індукованих локальних ушкоджень у геномах), який ідентифікує EMS-індуковані мутації за допомогою денатуруючої рідинної хроматографії високого розрішення (DHPLC) для визначення заміни пар основ за допомогою гетеродуплексного аналізу (McCallum et al., 2000, *Nat Biotech* 18:455, and McCallum et al. 2000, *Plant Physiol.* 123, 439-442), тощо. Як згадувалось, метод TILLING використовує високопродуктивний скринінг мутацій (напр., з використанням Cel 1 розщеплення гетеродуплексу мутантної ДНК і ДНК дикого типу та детекції за допомогою секвенуючого гелю). Таким чином, тут охоплено застосування методу TILLING для ідентифікації рослин або частин рослин, які містять один або більше мутантних DA1 алелів, та методів для створення та ідентифікації таких рослин, органів рослин, тканин або насіння. Таким чином, в одному втіленні, спосіб згідно з винаходом включає етапи мутагенізації насіння рослин (напр., EMS мутагенез), створення генофонду рослинних особин або ДНК, ПЛР-ампліфікації цільової ділянки, утворення гетеродуплексів та високоефективної детекції, ідентифікації мутантної рослини, секвенування мутантного ПЛР-продукту. Зрозуміло, що інші методи мутагенезу та селекції можуть однаковою мірою бути використані для створення таких мутантних рослин.

Замість індукції мутацій в DA1 алелях, природні (спонтанні) мутантні алелі можуть бути ідентифіковані за допомогою методів, відомих з рівня техніки. Наприклад, програма ECOTILLING може бути використана (Henikoff et al. 2004, *Plant Physiology* 135(2):630-6) для скринінгу сукупності рослин або частин рослин, на присутність природних мутантних DA1 алелів. Що стосується методик мутагенезу, наведених вище, переважно проводиться скринінг видів Brassica, що несуть A та/або C геном, в результаті чого ідентифікований DA1 алель може в подальшому бути введений в інші види Brassica, такі як Brassica napus, шляхом схрещування (внутрішньовидового та міжвидового схрещування) і селекції. В ECOTILLING скринінг природних поліморфізмів у гібридних лініях або споріднених видів проводиться за допомогою методології TILLING, описаної вище, в якій особини або сукупність особин використовуються для ПЛР-ампліфікації гена-мішені DA1, утворення гетеродуплексу та високоефективного аналізу. Це може супроводжуватись відбором окремих рослин, що мають потрібну мутацію, яка може бути використана в подальшому в селекційній програмі для включення бажаного мутантного алеля.

Ідентифіковані мутантні алелі можуть після цього бути секвеновані, а послідовність може бути порівняна з послідовністю алеля дикого типу для ідентифікації мутації(ій). Функціональність, необов'язково, може бути протестована, як зазначено вище. За допомогою цього підходу може бути ідентифікована сукупність мутантних DA1 алелів (і рослин Brassica, які містять один або більше з них). Бажані мутантні алелі можуть після цього комбінуватись з бажаними алелями дикого типу з використанням селекційних методів, як описано далі нижче. В кінцевому результаті одержують єдину рослину, яка містить бажану кількість мутантних DA1 алелів і бажану кількість DA1 алелів дикого типу.

Олігонуклеотиди, прийнятні як ПЛР-праймери або специфічні зонди для детекції специфічного мутантного DA1 алеля, можуть бути використані для розробки способів визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля.

Для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля може бути розроблений метод кількісного аналізу, оснований на ампліфікації нуклеїнової кислоти, для визначення присутності мутантного та/або відповідного специфічного DA1 алеля дикого типу:

Для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, два праймери, що специфічно розпізнають DA1 алель дикого типу, можуть бути сконструйовані таким чином, що вони спрямовані один до одного, в результаті чого ділянка мутації виявляється розташованою між праймерами. Ці праймери можуть бути праймерами, які специфічно розпізнають 5'- та 3'-фланкуючі послідовності, відповідно. Цей набір праймерів дає змогу одночасної діагностичної ПЛР-ампліфікації мутантного, а також відповідного DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, два праймери, які специфічно розпізнають DA1 алель дикого типу, можуть бути сконструйовані таким чином, що вони спрямовуються в напрямку один до одного, і що один із них специфічно розпізнає ділянку мутації. Ці праймери можуть бути праймерами, які специфічно розпізнають послідовність 5'- або 3'- фланкуючої ділянки та ділянки мутації DA1 алеля дикого типу, відповідно. Цей набір праймерів, разом із третім праймером, який специфічно розпізнає послідовність ділянки мутації у мутантному DA1 алелі, дають змогу проводити одночасну діагностичну ампліфікацію мутантного DA1 алеля, а також DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, два праймери, які розпізнають DA1 алель дикого типу, спеціально можуть бути сконструйовані у такий спосіб, що вони спрямовані у напрямку один до одного, і що один з них специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5'- або 3'-фланкуючою ділянкою та ділянкою мутації. Ці праймери можуть бути праймерами, які специфічно розпізнають 5'- або 3'-фланкуючу послідовність між ділянкою мутації та 3'- або 5'-фланкуючою ділянкою DA1 алеля дикого типу, відповідно. Цей набір праймерів, разом із третім праймером, який специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між ділянкою мутації та 3'- або 5'- фланкуючою ділянкою мутантного DA1 алеля, відповідно, дають змогу проводити одночасну діагностичну ПЛР-ампліфікацію мутантного DA1 алеля, а також DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, статус зиготності специфічного мутантного DA1 алеля може бути визначений за допомогою наборів альтернативних праймерів, які специфічно розпізнають мутантні алелі, а також DA1 алелі дикого типу.

Якщо рослина гомозиготна за мутантним DA1 алелем або відповідним DA1 алелем дикого типу, кількісний аналіз діагностичної ПЛР-ампліфікації, описаний вище, забезпечить єдиний продукт ПЛР-ампліфікації, який переважно має типову довжину як для мутантного алеля, так і для DA1 алеля дикого типу. Якщо рослина гетерозиготна за мутантним DA1 алелем, мають утворитись два продукти специфічної ПЛР-ампліфікації, що відображує ампліфікацію як мутантного, так і DA1 алеля дикого типу.

Ідентифікація специфічних продуктів ампліфікації DA1 алеля дикого типу та мутантного DA1 алеля може відбуватись, напр., шляхом оцінки після електрофорезу в гелі або капілярного електрофорезу (напр., для мутантних DA1 алелів, які містять певне число вставлених або видалених нуклеотидів, що призводить до відмінності у розмірі між фрагментами, ампліфікованими з DA1 алеля дикого типу або з мутантного DA1 алеля, в результаті чого вказані фрагменти можуть бути відокремлені візуально на гелі); шляхом з'ясування присутності або відсутності двох різних фрагментів після електрофорезу в гелі або капілярного електрофорезу, в результаті чого діагностична ПЛР-ампліфікація мутантного DA1 алеля може, необов'язково, бути виконана окремо від діагностичної ампліфікації DA1 алеля дикого типу; шляхом прямого секвенування ампліфікованих фрагментів; або методів детекції, оснований на використанні флуоресцентних міток.

Типові праймери, прийнятні для визначення зиготності специфічних мутантних DA1 алелів, описані в Прикладах.

Альтернативно, для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля може бути розроблений метод гібридизаційного аналізу для визначення присутності мутантного та/або відповідного специфічного DA1 алеля дикого типу:

Для того, щоб визначити статус зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, два специфічні зонди, які розпізнають DA1 алель дикого типу, можуть бути сконструйовані у такий спосіб, що кожен зонд специфічно розпізнає послідовність в межах DA1 алеля дикого типу, і що ділянка мутації локалізується між послідовностями, які розпізнаються цими зондами. Ці зонди можуть бути зондами, які специфічно розпізнають 5'- і 3'-фланкуючі послідовності, відповідно. Використання одного або, переважно, обох з цих зондів, дає змогу проводити одночасну діагностичну гібридизацію мутантного, а також відповідного DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, два специфічні зонди, які розпізнають DA1 алель дикого типу, можуть бути сконструйовані таким чином, що один з них специфічно розпізнає послідовність в межах DA1 алеля дикого типу вище або нижче від ділянки мутації, переважно вище від ділянки мутації, і що один з них специфічно розпізнає ділянку мутації. Ці зонди можуть бути зондами, що специфічно розпізнають послідовності 5'- або 3'- фланкуючих ділянок, переважно 5'-фланкуючої ділянки, та ділянку мутації DA1 алеля дикого типу, відповідно. Використання одного або, переважно, двох цих зондів, необов'язково, разом із третім зондом, який специфічно розпізнає послідовність ділянки мутації в мутантному DA1 алелі, дає змогу провести діагностичну гібридизацію мутантного алеля та DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, для визначення статусу зиготності специфічного мутантного DA1 алеля, специфічний зонд, який розпізнає DA1 алель дикого типу, може бути сконструйований таким чином, що зонд специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5'- або 3'- фланкуючою ділянкою, переважно 5'-фланкуючою ділянкою та ділянкою мутації DA1 алеля дикого типу. Цей зонд, необов'язково, разом з другим зондом, що специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5'- або 3'-фланкуючою ділянкою, переважно 5'-фланкуючою ділянкою та ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, дає змогу здійснювати діагностичну гібридизацію мутантного DA1 алеля та DA1 алеля дикого типу.

Альтернативно, статус зиготності специфічного мутантного DA1 алеля може бути визначений за допомогою альтернативних наборів зондів, які специфічно розпізнають мутантний DA1 алель та DA1 алель дикого типу.

Якщо рослина є гомозиготною за мутантним DA1 алелем або відповідним DA1 алелем дикого типу, кількісний аналіз діагностичної гібридизації, описаний вище, забезпечить єдиний продукт специфічної гібридизації, такий як один або більше фрагментів гібридизуючої ДНК (рестрикції), який має, переважно типову довжину як для мутантного, так і для DA1 алеля дикого типу. Якщо рослина гетерозиготна за мутантним DA1 алелем, з'являться два продукти специфічної гібридизації, що відображає гібридизацію як мутантного, так і DA1 алеля дикого типу.

Ідентифікація продуктів специфічної гібридизації мутантного алеля та DA1 алеля дикого типу може відбуватись, напр., шляхом оцінки розміру після гель-електрофорезу або капілярного електрофорезу (напр., для мутантних DA1 алелів, які містять низку вставлених або видалених нуклеотидів, що призводить до відмінності у розмірі між фрагментами ДНК, які гібридизуються (фрагментами рестрикції), із дикого типу та мутантним DA1 алелем, так що вказані фрагменти можуть бути відокремлені візуально на гелі); шляхом оцінки присутності або відсутності двох різних продуктів специфічної гібридизації після гель-електрофорезу або капілярного електрофорезу, в результаті чого діагностична гібридизація мутантного DA1 алеля може, необов'язково, бути здійснена окремо від діагностичної гібридизації DA1 алеля дикого типу; шляхом прямого секвенування фрагментів ДНК, які гібридизуються (фрагментів рестрикції); або за допомогою методів детекції, основаних на застосуванні флуоресцентних міток.

Типові зонди, прийнятні для визначення статусу зиготності специфічних мутантних DA1 алелів, описані в Прикладах.

Крім того, методи детекції, специфічні для специфічного мутантного DA1 алеля, які відрізняються від методів ампліфікації, що ґрунтуються на полімеразно-ланцюговій реакції або на гібридизації, можуть також бути розроблені з використанням інформації стосовно специфічної послідовності специфічного мутантного DA1 алеля, яка тут наводиться. Такі альтернативні методи детекції включають методи лінійної сигнальної ампліфікації, які основані на інвазійному розщепленні конкретних структур нуклеїнової кислоти, яка також має назву технології Invader<sup>TM</sup> (як описано, напр., в Патентах США 5,985,557 "Invasive Cleavage of Nucleic Acids", 6,001,567 "Detection of of Nucleic Acid sequences by Invader Directed Cleavage", включених тут шляхом посилання), методи детекції з використанням ПЛР у реальному часі (РЧ-ПЛР), такі

як Taqman, або інші методи детекції, такі як SNPLEX. Стисло, в технології Invader™, мутаційна послідовність-мішень може, напр., бути гібридизована з міченим першим олігонуклеотидом нуклеїнової кислоти, який містить нуклеотидну послідовність послідовності мутації, або послідовність, що охоплює з'єднувальну ділянку між 5'-фланкуючою ділянкою та ділянкою мутації, та другим олігонуклеотидом нуклеїнової кислоти, який містить 3'-фланкуючу послідовність, розташовану безпосередньо вище та прилеглу до послідовності мутації, де перший та другий олігонуклеотиди перекриваються щонайменше, на один нуклеотид. Дуплексна або триплексна структура, яка утворюється в процесі цієї гібридизації, дозволяє селективне розщеплення зонда за допомогою фермента (Cleavase®), залишаючи послідовність-мішень інтактною. Після цього проводиться детекція відщепленого міченого зонда, ймовірно, через застосування проміжного етапу, що призводить до подальшої сигнальної ампліфікації.

Ще однією метою винаходу було забезпечити набір для ідентифікації мутантного DA1 алеля, як описано в п. 1 або п. 2, у біологічному зразку, що містить набір праймерів або зондів, де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають ділянку мутації мутантного DA1 алеля; або де один вказаний праймер специфічно розпізнає 5" або 3" фланкуючі ділянки мутантного DA1 алеля, а інші вказані праймери специфічно розпізнають з'єднувальну ділянку між 3" або 5" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля, відповідно; або містить специфічний зонд, який специфічно розпізнає з'єднувальну ділянку між 5" або 3" фланкуючою ділянкою і ділянкою мутації мутантного DA1 алеля.

"Набір", як тут використовується, стосується набору реагентів для виконання способу винаходу, конкретніше, ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля в біологічних зразках або визначення статусу зиготності рослинного матеріалу, який містить специфічний мутантний DA1 алель. Ще конкретніше, кращий варіант втілення набору реагентів винаходу містить щонайменше два специфічні праймери, як описано вище, для ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля, або щонайменше два або три специфічні праймери для визначення статусу зиготності. Необов'язково, набір реактивів може також містити будь-який інший реагент, описаний тут в протоколі ПЛР ідентифікації. Альтернативно, згідно з іншим втіленням цього винаходу, набір реактивів може містити щонайменше один специфічний зонд, який специфічно гібридується з нуклеїновою кислотою біологічних зразків для ідентифікації в них присутності специфічного мутантного DA1 алеля, як описано вище, для ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля, або щонайменше два або три специфічні зонди для з'ясування статусу зиготності. Необов'язково, набір реактивів може також містити будь-який інший реагент (такий як, але не обмежуючись цим, гібридизаційний буфер, мітку) для ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля в біологічних зразках із використанням специфічного зонду.

Може бути використаний набір реактивів винаходу, і його компоненти можуть бути специфічно прилаштовані для досягнення мети контролю якості (напр., чистоти вибірок насіння), виявлення присутності або відсутності специфічного мутантного DA1 алеля в рослинному матеріалі або матеріалі, що включає або походить від рослинного матеріалу, такого як, але не обмежуючись цим, харчові продукти або корми для відгодівлі тварин.

Термін "праймер", як тут використовується, охоплює будь-яку нуклеїнову кислоту, що здатна слугувати "затравкою" для синтезу комплементарного ланцюга нуклеїнової кислоти у матрице-залежних процесах, таких як ПЛР. Як правило, праймери являють собою олігонуклеотиди від 10 до 30 нуклеотидів завдовжки, однак також можуть використовуватись довші послідовності. Праймери можуть бути забезпечені у двохланцюговій формі, хоча одноланцюгова форма є кращою. Зонди можуть бути використані як праймери, однак вони сконструйовані для зв'язування з цільовими ДНК або РНК, і не мають використовуватись у процесах ампліфікації.

Термін "такі, що розпізнають", як тут використовується при посиленні на специфічні праймери, стосується факту, що специфічні праймери специфічно гібридизуються з нуклеотидною послідовністю у специфічному мутантному DA1 алелі за умов, передбачених методом (таких як умови протоколу ідентифікації продуктів ПЛР), внаслідок чого специфічність визначається за присутністю позитивного або негативного контролів.

Термін "гібридизація", як тут використовується при посиленні на специфічні зонди, стосується факту, що зонд зв'язується зі специфічним фрагментом в послідовності нуклеїнової кислоти специфічного мутантного DA1 алеля за умов стандартної жорсткості. Умови стандартної жорсткості, як тут використовується, стосуються умов для гібридизації, описаних тут, або умов традиційної гібридизації, описаних Sambrook et al., 1989 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Нью-Йорк), яка, наприклад, може включати наступні етапи: 1) імобілізацію фрагментів геномної ДНК рослини



або фрагментів ДНК з ВАС-бібліотеки на фільтрі; 2) передгібридизацію фільтру протягом від 1 до 2 годин при 65 °C в передгібридизаційному буфері: 6 X SSC, 5 X реагент Денгардта, 0,5 % SDS та 20 мкг/мл денатуруючого носія ДНК, 3) додавання міченого гібридизаційного зонда; 4) інкубування протягом від 16 до 24 годин, 5) одноразового промивання фільтра протягом 30хв при 68 °C в 6X SSC, 0,1 %SDS; 6) триразового промивання фільтра (двічі - протягом 30 хв в 30 мл, і один раз - протягом 10 хв в 500 мл) при 68 °C в 2 X SSC, 0,1 %SDS, і 7) аналіз фільтра з використанням чутливої до радіоактивного випромінювання рентгенівської плівки протягом від 4 до 48 годин при -70 °C.

Як тут використовується, "біологічний зразок" являє собою зразок рослини, рослинного матеріалу або продукту, який містить рослинний матеріал. Термін "рослина" призначений для охоплення рослинних тканин на будь-якій стадії розвитку, а також будь-яких клітин, тканин або органів, взятих з будь-якої такої рослини, або таких, що походять від будь-якої такої рослини, включаючи, без обмеження, будь-яке насіння, листки, стебла, квітки, корені, окремі клітини, гамети, клітинні культури, культури тканин або протопласти. "Рослинний матеріал", як тут використовується, стосується матеріалу, який одержаний або походить від рослини. Продукти, які містять рослинний матеріал, стосуються харчових продуктів, кормів для тварин або інших продуктів, які одержані з використанням рослинного матеріалу або можуть бути забруднені рослинним матеріалом. Зрозуміло, що в контексті даного винаходу, такі біологічні зразки тестуються на присутність нуклеїнових кислот, специфічних для специфічного мутантного DA1 алеля, передбачаючи присутність нуклеїнових кислот у цих зразках. Таким чином, способи, на які тут посилаються для ідентифікації специфічного мутантного DA1 алеля у біологічних зразках, стосуються ідентифікації в біологічних зразках нуклеїнових кислот, що містять специфічний мутантний DA1 алель.

Специфічні DA1 алелі можуть бути об'єднані в одній рослині шляхом перенесення одного або більше специфічного мутантного DA1 алеля(лів) від однієї рослини до іншої рослини, до рослин, що містять один або більше мутантний DA1 алель(лі), потомство може бути одержане від цих рослин і рослинних клітин, частин рослин; насіння рослин може походити від цих рослин.

Два або більше відібрані мутантні DA1 алелі можуть бути об'єднані в одній рослині, за допомогою способу, що включає наступні етапи:

a - одержання та /або ідентифікацію двох або більш рослин, кожна з яких містить один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, як описано вище,

b - схрещування першої рослини, яка містить один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, з другою рослиною, яка містить один або більше інших відібраних мутантних DA1 алелів, збір F1 насіння від схрещування, та, необов'язково, ідентифікацію F1 рослини, яка містить один або більше відібраних мутантних DA1 алелів з першої рослини з одним або більше відібраними мутантними DA1 алелями від другої рослини, як описано вище,

c - необов'язково, повторення етапу (b) до того часу, доки не буде одержана F1 рослина, яка містить всі відібрані мутантні DA1 алелі,

d - необов'язково

- ідентифікацію F1 рослини, що є гомозиготною або гетерозиготною за обраним мутантним DA1 алелем шляхом визначення статусу зиготності мутантних DA1 алелів, як описано вище, або

- створення рослин, що є гомозиготними за одним або більше обраними мутантними DA1 алелями, шляхом виконання одного з наступних етапів:

- вилучення подвійних гаплоїдних рослин з оброблених мікроспор або пилкових клітин F1 рослин, які містять один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, як описано вище,

- самозапилення F1 рослин, які містять один або більше відібраних мутантних DA1 алелів в одній або більше генерації (y), збір насіння F1 Sy від рослин, що були одержані в результаті самозапилення, та ідентифікація F1 Sy рослин, що є гомозиготними за одним або більше мутантними DA1 алелями, як описано вище.

Один або більше мутантний DA1 алель може бути перенесений від однієї рослини до іншої рослини за допомогою способу, який включає декілька етапів:

a. створення та/або ідентифікація першої рослини, яка містить один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, як описано вище, або створення першої рослини шляхом комбінування одного або більше відібраних мутантних DA1 алелів в одній рослині, як описано вище (де перша рослина є гомозиготна або гетерозиготна за одним або більше мутантним DA1 алелем),

b. схрещування першої рослини, яка містить один або більше мутантних DA1 алелів з другою рослиною, яка не містить один або більше мутантних DA1 алелів, збір F1 насіння від схрещування (де насіння є гетерозиготним за мутантним DA1 алелем, якщо перша рослина

була гомозиготна за мутантним DA1 алелем, і де половина насіння є гетерозиготним, а половина насіння – азиготним, тобто не містить мутантного DA1 алеля, якщо перша рослина була гетерозиготна за мутантним DA1 алелем), і, необов'язково, ідентифікацію F1 рослин, що містять один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, як описано вище,

5 с. зворотне схрещування F1 рослин, які містять один або більше відібраних мутантних DA1 алелів з другою рослиною, яка не містить один або більше відібраних мутантних DA1 алелів в одному або більше поколіннях (х), збирання BCx насіння від всіх схрещувань, та ідентифікація в кожному поколінні BCx рослин, які містять один або більше відібраних мутантних DA1 алелів, як описано вище,

10 d. необов'язково, одержання BCx рослин, які є гомозиготними за одним або більше відібраними мутантними DA1 алелями, шляхом виконання одного з наступних етапів:

- вилучення подвійних гаплоїдних рослин з оброблених мікроспор або пилкових клітин BCx, які містять один або більше бажаний мутантний DA1 алель (лі), як описано вище,

15 - самозапилення BCx рослин, які містять один або більше бажаний мутантний DA1 алель (лі), для одного або більше поколінь (у), збір BCx Sy насіння від самозапилення, та ідентифікація BCx Sy рослин, які є гомозиготні за одним або більше бажаним мутантним DA1 алелем, як описано вище.

Перша та друга рослини можуть бути рослини Brassica, такі як рослини Brassica napus або рослини з іншого роду сільськогосподарських культур Brassica. Перша рослина може бути  
20 рослина Brassica, така як рослина Brassica napus або рослини з іншого роду сільськогосподарських культур Brassica, а друга рослина може бути рослина Brassica з селекційної лінії, такої як з селекційної лінії Brassica napus або з гібридної лінії з іншого роду сільськогосподарських культур Brassica. "Гібридна лінія", як тут використовується, це переважно гомозиготна рослинна лінія, яка відрізняється від інших рослинних ліній кращим генотипом  
25 та/або фенотипом, який використовується для одержання гібридних нащадків.

В іншому варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб одержання гібридного насіння, що включає схрещування першої батьківської рослини Brassica згідно з винаходом з другою батьківською рослиною Brassica та збір одержаного гібридного насіння. Вказана друга  
30 батьківська рослина Brassica може, але не повинна, мати мутантні DA1 алелі згідно з винаходом. Прийнятною другою батьківською рослиною Brassica є рослина, що має ті ж мутантні DA1 алелі, що й перша батьківська рослина Brassica.

У ще іншому варіанті здійснення винаходу, забезпечується спосіб гібридизації, що включає схрещування першої батьківської рослини Brassica згідно з винаходом з другою батьківською рослиною Brassica і, необов'язково, далі включає етап ідентифікації присутності або відсутності  
35 мутантного DA1 алеля згідно з винаходом, який полягає у застосуванні до біологічного зразка реакції ампліфікації з використанням набору щонайменше двох праймерів згідно з винаходом, і, необов'язково, гібридизації з щонайменше одним зондом згідно з винаходом. Вказана друга батьківська рослина Brassica може, але не повинна, мати мутантні DA1 алелі згідно з винаходом. Прийнятною другою батьківською рослиною Brassica – це рослина, що має ті ж самі  
40 мутантні DA1 алелі, що й перша батьківська рослина Brassica.

Наступна мета винаходу полягала у забезпеченні способу підвищення ваги тисячі насінин Brassica, вказаний спосіб включає введення мутантного DA1 алеля першого DA1 гена згідно з винаходом і, необов'язково, мутантного DA1 алеля другого DA1 гена згідно з винаходом, в  
45 рослини Brassica. Також прийнятним є спосіб підвищення ваги тисячі насінин насіння Brassica, вказаний спосіб включає введення одного або більше повністю нокаутних DA1 алелів згідно з винаходом в рослину Brassica.

Вказані мутантні DA1 алелі можуть, наприклад, бути введені шляхом мутагенезу або генного таргетингу, як тут описується, або можуть бути введені шляхом схрещування рослин Brassica, які містять вказаний мутантний DA1 алель.

50 У наступному варіанті здійснення винаходу забезпечується спосіб одержання насіння Brassica; вказаний спосіб включає висів насіння згідно з винаходом, вирощування рослин із вказаного насіння, і збір насіння з вказаних рослин. Насіння може бути висіяне і рослини можуть бути вирощені з використанням традиційної сільськогосподарської практики. Насіння може бути зібране, наприклад, після валкування або за допомогою комбайну.

55 Далі забезпечується використання рослин згідно з винаходом для одержання насіння, або для одержання врожаю ріпаку, або для одержання ріпакової олії або макухи з олійного ріпаку. Також забезпечується олія або макуха з насіння згідно з винаходом.

У ще одному варіанті здійснення винаходу, забезпечується спосіб виготовлення харчових продуктів або кормів для тварин, таких як олія, борошно, зерно, крохмаль або білок, або  
60 технічних продуктів, таких як біопаливо, волокно, промислові хімічні речовини, фармацевтичні

або нутрицевтичні речовини, який включає одержання рослини або її частини або насіння згідно з винаходом, і приготування харчових продуктів, кормів для тварин або технічних продуктів з рослини або її частини.

Рослини згідно з винаходом можуть додатково містити ендегенний ген або трансген, який надає стійкості до гербіцидів, такий як ген *bar* або *pat*, які надають стійкості до глюфосинату амонію (Liberty®, Basta® або Ignite®) [EP 0 242 236 та EP 0 242 246, включені шляхом посилання]; або будь-який модифікований ген EPSPS, такий як ген 2mEPSPS з кукурудзи [EP 0 508 909 та EP 0 507 698, включені шляхом посилання], або ген гліфосат-ацетилтрансферази або гліфосат-оксидоредуктази, який надає стійкості до гліфосату (RoundupReady®), або бромексинітрил нітрилази, що надає стійкість до бромексинітрилу, або будь-який модифікований ген ANAS, який надає стійкості до препаратів сульфонілсечовини, імідазолінонів, сульфоніламінокарбонілтріазолінонів, тріазолопіримідинів або піримідил(окси/тіо)бензоатів, як у мутантів олійного ріпаку PM1 та PM2, стійких до імідазолінонів, що мають ринкову назву канола Clearfield®. Крім того, рослини згідно з винаходом можуть додатково містити ендегенний ген або трансген, який забезпечує підвищення вмісту олії або покращення складу олії, таке як підвищення 12:0 ACP-тіоестерази, такий як барназа, для забезпечення контролю над запиленням під контролем промотора, активного у пиляках; для одержання чоловічої стерильності, або *barstar* під контролем промотора, активного у пиляках, для збереження чоловічої стерильності, або такої як цитоплазматична чоловіча стерильність *ogura* (MCS-*ogura*), та ядерний відновлювач стерильності.

Рослини та насіння згідно з винаходом можуть далі бути оброблені хімічною сполукою, такою як хімічна сполука, обрана з наступного переліку: Гербіциди: Клетодим, Клопіралід, Диклофоп, Етаметсульфурон, Флуазифоп, Глюфосинат, Гліфосат, Метазахлор, Квінмерак, Квізалофоп, Тепралоксидим, Трифлуралін. Фунгіциди / Регулятори росту рослин (PPP): Азоксистробін, N-[9-(дихлорметил)-1,2,3,4-тетрагідро-1,4-метан-нафталін-5-іл]-3-(дифторметил)-1-метил-1H-піразол-4-карбоксамід (Бензовіндифлупір, Бензодифлупір), Біксафен, Боскалід, Карбендазим, Карбоксин, Хлормекват-хлорид, Coniothyrium minitans, Ципроконазол, Ципродиніл, Дифеноконазол, Диметоморф, Димоксистробін, Епоксиконазол, Фамоксадон, Флуазинам, Флудиоксоніл, Флюопіколід, Флуопірам, Флуоксастробін, Флуквіконазол, Флузілазол, Флутіаніл, Флутріафол, Флуксапіроксад, Іпродіон, Ізопіразам, Мефеноксам, Мепікват-хлорид, Металаксил, Метконазол, Метоміностробін, Паклобутразол, Пенфлуфен, Пентіопірад, Пікоксистробін, Прохлораз, Протіоконазол, Піраклостробін, Седаксан, Тебуконазол, Тетраконазол, Тіофанат-метил, Тирам, Тріадименол, Трифлуксистробін, *Bacillus firmus*, *Bacillus firmus*, штам I-1582, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis*, штам GB03, *Bacillus subtilis* штам QST 713, *Bacillus pumilis*, *Bacillus pumilis*, штам GB34.

Інсектициди: Ацетаміпрід, Альдікарб, Азадирахтин, Карбофуран, Хлорантраніліпрол (Ринаксипір), Клотіанідин, Ціантраніліпрол (Ціазипір), (бета-)Цифлутрин, гама-Цигалотрин, лямбда-Цигалотрин, Циперметрин, Дельтаметрин, Диметоат, Динетофуран, Етипрол, Флонікамід, Флубендіамід, Флуєнсульфон, Флуопірам, Флупірадіфуран, тау-Флувалінат, Іміціафос, Імідаклопрід, Метафлувізон, Метіокарб, Піметрозин, Піріфлуквіназон, Спінеторам, Спіносад, Спіротетрамат, Сульфоксафлор, Тіаклопрід, Тіаметоксам, 1-(3-хлорпіридин-2-іл)-N-[4-ціано-2-метил-6-(метилкарбамоїл)феніл]-3-[[5-(трифторметил)-2H-тетразол-2-іл]метил]-1H-піразол-5-карбоксамід, 1-(3-хлорпіридин-2-іл)-N-[4-ціано-2-метил-6-(метилкарбамоїл)феніл]-3-[[5-(трифторметил)-1H-тетразол-1-іл]метил]-1H-піразол-5-карбоксамід, 1-{2-флуоро-4-метил-5-[(2,2,2-трифторетил)сульфініл]феніл}-3-(трифторметил)-1H-1,2,4-тріазол-5-амін, (1E)-N-[(6-хлорпіридин-3-іл)метил]-N'-ціано-N-(2,2-дифторетил)етанімідамід, *Bacillus firmus*, *Bacillus firmus* штам I-1582, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* штам GB03, *Bacillus subtilis* штам QST 713, *Metarhizium anisopliae* F52.

Всі патенти, заявки на патент, публікації або публічне оприлюднення (включаючи публікації в мережі інтернет), на які тут є посилання або які цитуються тут, включені шляхом посилання у своєму повному обсязі.

Перелік послідовностей, що міститься у файлі, який називається "BCS 13-2002\_ST25.txt", об'єм якого становить 209 кілобайт (розмір визначено в Microsoft Windows®), включає 75 послідовностей від SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 75, і додається при цьому у електронному вигляді та включений тут шляхом посилання.

Якщо не стверджується щось інше у Прикладах, всі методики рекомбінантних ДНК виконуються згідно із стандартними протоколами, як описано в Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY та в T. 1 і T. 2 Ausubel et al. (1994) *Current Protocols in Molecular Biology*, Current Protocols, CША.

Стандартні матеріали та методи для молекулярних досліджень рослин описані в Plant Molecular Biology Labfax (1993) by R.D.D. Croy, сумісно опубліковані BIOS Scientific Publications Ltd (Велика Британія) та Blackwell Scientific Publications (Велика Британія). Інші посилання на стандартні молекулярно-біологічні методики включають Sambrook and Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, Том I і II Brown (1998) Molecular Biology LabFax, Second Edition, Academic Press (Велика Британія). Стандартні матеріали та методики для проведення полімеразно-ланцюгових реакцій можна знайти у Dieffenbach and Dveksler (1995) PCR Primer: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, and in McPherson et al. (2000) PCR-Basics: From Background to Bench, First Edition, Springer Verlag, Німеччина.

#### Послідовності

SEQ ID NO 1: DA1 кодуюча послідовність *Arabidopsis thaliana*

SEQ ID NO 2: DA1 білкова послідовність *Arabidopsis thaliana*

SEQ ID NO 3: DA1-A1 геномна послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 4: DA1-A1 кодуюча послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 5: DA1-A1 білкова послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 6: DA1-A2 геномна послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 7: A1-A2 кодуюча послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 8: DA1-A2 білкова послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 9: DA1-C1 геномна послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 10: DA1-C1 кодуюча послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 11: DA1-C1 білкова послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 12: DA1-C2 геномна послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 13: DA1-C2 кодуюча послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 14: DA1-C2 білкова послідовність *Brassica napus*

SEQ ID NO 15: DA1-A2 геномна послідовність *Brassica napus*, яка містить заміщення G на A в положенні 1672

SEQ ID NO 16: DA1-A2 кодуюча послідовність *Brassica napus*, яка кодує DA1 білок, із заміщенням R на K у положенні 353

SEQ ID NO 17: DA1-A2 білкова послідовність *Brassica napus* із заміщенням R на K в положенні 353

SEQ ID NO 18: Праймер 1 для детекції DA1-A1-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 19: Праймер 2 для детекції DA1-A1-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 20: FAM зонд для детекції DA1-A1-EMS03 алеля

SEQ ID NO 21: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-A1-EMS03 алеля

SEQ ID NO 22: Праймер 1 для детекції DA1-A2-EMS01 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 23: Праймер 2 для детекції DA1-A2-EMS01 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 24: FAM зонд для детекції DA1-A2-EMS01 алеля

SEQ ID NO 25: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-A2-EMS01 алеля

SEQ ID NO 26: Праймер 1 для детекції DA1-A2-EMS05 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 27: Праймер 2 для детекції DA1-A2-EMS05 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 28: FAM зонд для детекції DA1-A2-EMS05 алеля

SEQ ID NO 29: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-A2-EMS05 алеля

SEQ ID NO 30: Праймер 1 для детекції DA1-C1-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 31: Праймер 2 для детекції DA1-C1-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 32: FAM зонд для детекції DA1-C1-EMS02 алеля

SEQ ID NO 33: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-C1-EMS02 алеля

SEQ ID NO 34: Праймер 1 для детекції DA1-C1-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 35: Праймер 2 для детекції DA1-C1-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу

SEQ ID NO 36: FAM зонд для детекції DA1-C1-EMS03 алеля

SEQ ID NO 37: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-C1-EMS03 алеля  
 SEQ ID NO 38: Праймер 1 для детекції DA1-C2-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 39: Праймер 2 для детекції DA1-C2-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 40: FAM зонд для детекції DA1-C2-EMS02 алеля  
 SEQ ID NO 41: VIC зонд для детекції відповідного DA1-C2-EMS02 алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 42: Праймер 1 для детекції DA1-C1-EMS04 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 43: Праймер 2 для детекції DA1-C1-EMS04 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 44: FAM зонд для детекції DA1-C1-EMS04 алеля  
 SEQ ID NO 45: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-C1-EMS04 алеля  
 SEQ ID NO 46: Праймер 1 для детекції DA1-A2-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 47: Праймер 2 для детекції DA1-A2-EMS02 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 48: FAM зонд для детекції DA1-A2-EMS02 алеля  
 SEQ ID NO 49: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-A2-EMS02 алеля  
 SEQ ID NO 50: Праймер 1 для детекції DA1-A2-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 51: Праймер 2 для детекції DA1-A2-EMS03 алеля та відповідного алеля дикого типу  
 SEQ ID NO 52: FAM зонд для детекції DA1-A2-EMS03 алеля  
 SEQ ID NO 53: VIC зонд для детекції відповідного алеля дикого типу DA1-A2-EMS03 алеля  
 SEQ ID NO 54: DA1-A1 геномна послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 55: DA1-A1 кодуюча послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 56: DA1-A1 білкова послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 57: DA1-A2 геномна послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 58: DA1-A2 кодуюча послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 59: DA1-A2 білкова послідовність *Brassica rapa*  
 SEQ ID NO 60: DA1-C1 геномна послідовність *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 61: DA1-C1 кодуюча послідовність *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 62: DA1-C1 білкова послідовність *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 63: DA1-C2 геномна послідовність *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 64: ізоформа 1 DA1-C2 кодуючої послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 65: ізоформа 1 DA1-C2 білкової послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 66: ізоформа 2 DA1-C2 кодуючої послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 67: ізоформа 2 DA1-C2 білкової послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 68: ізоформа 3 DA1-C2 кодуючої послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 69: ізоформа 3 DA1-C2 білкової послідовності *Brassica oleracea*  
 SEQ ID NO 70: DA1-B1 геномна послідовність *Brassica nigra*  
 SEQ ID NO 71: DA1-B1 кодуюча послідовність *Brassica nigra*  
 SEQ ID NO 72: DA1-B1 білкова послідовність *Brassica nigra*  
 SEQ ID NO 73: DA1-B2 геномна послідовність *Brassica nigra*  
 SEQ ID NO 74: DA1-B2 кодуюча послідовність *Brassica nigra*  
 SEQ ID NO 75: DA1-B2 білкова послідовність *Brassica nigra*

#### ПРИКЛАДИ

Приклад 1 – Виділення ДНК послідовності DA1 генів

Для того щоб визначити послідовності DA1 генів елітної селекційної лінії ріпаку ярого, був проведений скринінг бібліотеки бактеріальної штучної хромосоми (BAC) лінії наступним чином:

Виділення BAC-клонів, які несуть DA1 послідовність

Для ідентифікації колоній *Escherichia coli*, які містять BAC-клон, який містить DA1 послідовність елітної селекційної лінії ріпаку ярого, було здійснено скринінг BAC-бібліотеки лінії (середній розмір клону понад 120 кб), нанесеної у вигляді окремих копій клонів на нейлонові фільтри високої щільності за допомогою стандартної методики Саузерн-блот-гібридизації:

- Зонд із послідовністю з *Arabidopsis thaliana* був мічений згідно зі стандартними методиками, що використовуються для гібридизації з ДНК на нейлоновій мембрані.

- Передгібридизацію здійснювали упродовж 2 годин при 65 °C в 30 мл наступного гібридизаційного буферу: 6x SSC (20x SSC включає 3,0 M NaCl, 0,3 M Na цитрат, pH 7.0), 5x

розчину Денгардта (100х розчин Денгардта містить 2 % фікол, 2 % полівінілпіролідон, 2 % альбумін бичачої сироватки), 0,5 % SDS та 20 мкг/мл денатурованого носія ДНК (одноланцюгова ДНК сперми лосося), з середньою довжиною 120-3000 нуклеотидів).

Гібридизацію здійснювали за наступних умов:

- 5 - Мічений зонд (20 нг) денатурували нагрівання протягом 5 хвилин при 95 °С та охолоджували на кризі упродовж 5 хвилин і додавали до 15 мл гібридизаційного буферу (того ж буферу, який використовували для передгібридизації),
- Гібридизацію здійснювали протягом ночі при 65 °С.
- Фільтри промивали тричі упродовж 30 хвилин при 65 °С в гібридизаційних пробірках (один раз 30 мл 6х SSC з 0,1 % SDS і двічі 30 мл 2х SSC з використанням 0,1 % SDS) і один раз упродовж 10 хвилин при 65 °С з використанням 500 мл 2х SSC з 0,1 % SDS в камері.
- Плівка BioMax MR (Kodak) експонувалась із радіоактивними фільтрами упродовж 4 годин при -70 °С.

15 Виходячи з позитивних сигналів, дев'ять колоній *E. coli*, які містять ВАС-клон, який містить DA1 послідовність, були зняті за допомогою скринінгу ВАС бібліотеки з селекційної лінії ярого ріпаку (загальне число позитивних колоній: 93) (названі тут "позитивні колонії").

Виділення ВАС-клонів, які містять повну DA1 послідовність

20 Для ідентифікації позитивних колоній, які містять ВАС-клон з повною послідовністю геномної ДНК одного з DA1 генів, Саузерн-блот аналіз був проведений на ВАС-клоні ДНК, виділеному з позитивних колоній та на геномній ДНК, виділеній з *Brassica napus*:

- ВАС-клон ДНК був виділений шляхом лужного лізису, як описано з рівня техніки, з позитивних колоній, вирощених у 25 мл середовища Luria Broth, яке містить 25 мкг/мл флорамфеніколу.
- Геномна ДНК була виділена з листкової тканини *Brassica napus* згідно зі СТАВ методом, 25 оснований на використанні цетилтриметиламонію броміду (Doyle and Doyle, 1987, *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15).

30 - Концентрацію ДНК у кожному препараті оцінювали шляхом порівняння інтенсивності смуги 1 мкл кожного зразка з інтенсивністю смуги 1, 2, 4, 8 та 20 мкл розчину, який містить 25 нг/мкл Lambda ДНК (Life Technologies®) на 1 % TBE (Invitrogen®) агарозному гелі (Roche®), який містить етидію бромід (ICN Biochemicals®).

35 - 100-200 нг ДНК ВАС-клону та 1,7 мкг геномної ДНК були розщеплені рестрикційним ферментом *Asel* в кінцевому реакційному об'ємі 20 мкл, застосовуючи умови, рекомендовані виробником (New England Biolabs). Час розщеплення та/або кількість фермента рестрикції підбирали таким чином, щоб переконатись у повному розщепленні зразків геномної ДНК без неспецифічної деградації.

40 - Після розщеплення 2 мкл буферу для нанесення зразків на агарозний гель, який містить РНК-азу (12,5 мл 1 % ксиленціанол FF; 12,5 мл 1 % бромфеноловий синій водорозчинний індикатор; 25 мл гліцерин; 100 мкл 0,5М EDTA pH 8.0; 1мкл РНКаз (10 мг/мл)) додавали до розщеплених зразків ДНК, після чого зразки інкубували упродовж 30 хв при 37 °С.

40 - Зразки наносили на 1 % TAE агарозний гель.

- ДНК фага-лямбда (Fermentas®), розщеплена *PstI* або маркер довжин ДНК (1 kbp DNA Ladder (Life Technologies) був використаний як стандарт розміру.

45 - після електрофорезу зразки ДНК (розщеплений ВАС-клон та геномну ДНК) переносили на нейлонову мембрану (Hybond-N+Amersham Pharmacia Biotech®) за допомогою сухого лужного капілярного блоттингу.

- Скринінг нейлонових мембран з розщепленим ВАС-клоном та геномною ДНК був проведений за допомогою стандартної методики Саузерн-блот-гібридизації, як описано вище для скринінгу ВАС-бібліотеки, за винятком того, що для геномної ДНК плівка BioMat MR (Kodak) експонувалась з радіоактивними фільтрами упродовж 2 днів при -70 °С.

50 - Виходячи з порівняння між паттерном гібридизації, одержаним після розщеплення ДНК ВАС-клонів ідентифікованих колоній, та геномної ДНК, виділеної з *Brassica napus* за допомогою ендонуклеази рестрикції *Asel*, та гібридизації із зондом, ВАС-клони були згруповані у чотири групи і для кожної з чотирьох груп, був відібраний ВАС-клон, який містить повну (непроцесовану) DA1 послідовність (названі DA1\_A1, DA1\_A2, DA1\_C1, DA1\_C2).

55 - DA1 послідовності, які містились в ВАС-клонах відібраних позитивних колоній, були визначені 454 ВАС секвенуванням (Keygene NV).

Приклад 2 – Характеристика послідовності DA1 гена, що належить *Brassica napus*

60 Фрагменти геномної ДНК секвенували; гени, кодуєчі ділянки DA1 послідовності визначали за допомогою програмного забезпечення FGeneSH (Softberry, Inc. Mount Kisco, NY, США). Як було виявлено за допомогою FgeneSH, BnDA1 послідовності мають дев'ять екзонів.

SEQ ID NON: 3, 6, 9 і 12 – це геномні послідовності DA1\_A1, DA1\_A2, DA1\_C1, та DA1\_C2, відповідно. SEQ ID NON: 4, 7, 10 та 13 – це кодуючі послідовності DA1\_A1, DA1\_A2, DA1\_C1, та DA1\_C2, відповідно. Білки, закодзовані DA1\_A1, DA1\_A2, DA1\_C1, та DA1\_C2 представлені в SEQ ID NON: 5, 8, 11 та 14, відповідно.

В результаті, DA1 послідовності були використані як запит у пошуку гомологів за допомогою програми BLAST у внутрішній базі даних кодуючих послідовностей Brassica rapa, Brassica nigra та Brassica oleracea послідовності. Контиги (транскриптоми) у цих базах даних були одержані за допомогою збирання коротких відрізків ("рідів" або зчитувань) послідовностей з використанням пакету програмного забезпечення SOAPdenovo. BLAST аналіз призвів до ідентифікації 2 DA1 генів-гомологів для B. rapa (BrDA1-A1 (SEQ ID NO 54) і BrDA1-A2 (SEQ ID NO: 57)), 2 DA1 генів-гомологів для B. oleracea (BoDA1-C1 (SEQ ID NO 60) і BoDA1-C2 (SEQ ID NO 63)), та 2 DA1 генів-гомологів для B. nigra (BniDA1-B1 (SEQ ID NO:70) та BniDA1-B2 (SEQ ID NO: 73)). Молекули кДНК, які відповідають цим послідовностям, були передбачені за допомогою програмного забезпечення FgeneSH і представлені в SEQ ID NO 55, SEQ ID NO 58, SEQ ID NO 61, SEQ ID NO 71 та SEQ ID NO: 74 для BrDA1-A1, BrDA1-A2, BoDA1-C1, BniDA1-B1 і BniDA1-B2, відповідно. Для BoDA1-C2 було передбачено три ізоформи, які зображені в SEQ ID NON: 64, 66 та 68.

#### Приклад 3 - Експресія DA1 генів у Brassica

Аналіз експресії in silico (оснований на даних BGI Solexa мПНК Brassica napus) виявив, що найчастіше експресуються BnDA1-A2 і BnDA1-C2, особливо в тканині кореня двотижневих рослин (корені 2-тижневі) та в тканині стебла п'ятитижневих рослин (стебло, 5-тижнів, 33 ДПП) (Фігура 2).

#### Приклад 4 - Генерування та ізолювання мутантних DA алелів

Мутації в генах DA1 із Brassica napus, ідентифіковані в Прикладі 1, були здійснені та ідентифіковані наступним чином:

- 30000 насінин елітної лінії ярого ріпаку (насіння M0) були попередньо замочені для набухання протягом двох годин на вологому фільтрувальному папері в деіонізованій або дистильованій воді. Половину насінин обробляли 0,8 % EMS, а іншу половину - 1 % EMS (Sigma: M0880) та інкубували протягом 4 годин.

- Мутагенізоване насіння (насіння M1) промивали 3 рази і висушували у витяжній шафі протягом ночі. 30000 M1 рослин були вирощені у ґрунті і схрещені між собою для одержання насіння M2. M2 насіння було зібрано для кожної окремої рослини M1.

- Двічі було вирощено по 4800 рослин M2, що походять від різних рослин M1; зразки ДНК були одержані зі зразків листків кожної окремої рослини M2 згідно з методикою CTAB (Doyle and Doyle, 1987, Phytochemistry Bulletin 19:11-15).

- Було проведено скринінг зразків ДНК на присутність точкових мутацій в генах DA1, які зумовлюють введення СТОП-кодонів та інших амінокислот у ділянки генів DA1, які кодують білки, шляхом прямого секвенування за допомогою стандартних методик секвенування (LGC) та аналізу послідовностей на присутність точкових мутацій з використанням програмного забезпечення NovoSNP (VIB Antwerp).

- Таким чином були ідентифіковані наступні мутантні алелі DA1, представлені в Таблиці 2.

Таблиця 2

#### СТОП-кодони та мутації заміщення амінокислот у DA1

| EMS мутанти для DA1-A1 (SEQ ID NO: 3) |                 |               |          |           |               |      |
|---------------------------------------|-----------------|---------------|----------|-----------|---------------|------|
| Положення                             | Зразок          | Назва рослини | Посл. ДТ | Мут. посл | Алель         | Тип  |
| 1385                                  | EMS_DS_0078_G09 | YIIN601       | C        | T         | DA1-A1-EMS01  | стоп |
| 1385                                  | EMS_DS_0078_H12 | YIIN602       | C        | T         | DA1-A1-EMS02  | стоп |
| 1683                                  | EMS_DS_0067_B11 | YIIN603       | G        | A         | DA1-A1-EMS03  | стоп |
| 1932                                  | EMS_DS_0098_D01 | YIIN604       | C        | T         | DA1-A1-EMS04  | стоп |
| EMS мутанти за DA1-A2 (SEQ ID NO: 6)  |                 |               |          |           |               |      |
| Положення                             | Зразок          | Назва рослини | Посл.ДТ  | Мут. посл | Алель         | Тип  |
| 1744                                  | EMS_DS_0081_E03 | YIIN605       | G        | A         | DA1-A2-EMS01  | стоп |
| 1998                                  | EMS_DS_0081_E11 | YIIN606       | C        | T         | DA1-A2-EMS02  | стоп |
| 1974                                  | EMS_DS_0095_G01 | YIIN607       | C        | T         | DA1-A2-EMS03  | стоп |
| 1874                                  | EMS_DS_0089_H02 | YIIN608       | G        | A         | DA1-A2-EMS04  | стоп |
| 1672                                  | EMS_DS_0081_C08 | YIIN609       | G        | A         | DA1-A2-EMS05* | R→K  |

| EMS мутанти за DA1-C1 (SEQ ID NO: 9)  |                 |               |          |            |               |      |
|---------------------------------------|-----------------|---------------|----------|------------|---------------|------|
| Положення                             | Зразок          | Назва рослини | Посл. ДТ | Мут. посл. | Алель         | Тип  |
| 1425                                  | EMS_DS_0098_H01 | YIIN610       | C        | T          | DA1-C1-EMS01  | стоп |
| 1960                                  | EMS_DS_0067_G05 | YIIN611       | C        | T          | DA1-C1-EMS02  | стоп |
| 1670                                  | EMS_DS_0078_G06 | YIIN612       | C        | T          | DA1-C1-EMS03  | стоп |
| 2004                                  | EMS_DS_0090_F09 | YIIN613       | G        | A          | DA1-C1-EMS04  | стоп |
| EMS мутанти за DA1-C2 (SEQ ID NO: 12) |                 |               |          |            |               |      |
| Положення                             | Зразок          | Назва рослини | Посл. ДТ | Мут. посл. | Алель         | Тип  |
| 2011                                  | EMS_DS_0080_D03 | YIIN614       | C        | T          | DA1-C2-EMS01  | стоп |
| 2011                                  | EMS_DS_0084_C03 | YIIN615       | C        | T          | DA1-C2-EMS02* | стоп |

\*Насіння рослин, які містять алелі DA1-A2-EMS05 та DA1-C2-EMS02 у гомозиготному стані, було депоновано в NCIMB, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, AB 21 9YA UK, відповідно до Будапештської угоди від 21 лютого, 2013, під інвентарним номером NCIMB 42114.

Приклад 5 – Ідентифікація рослини Brassica, яка несе мутантний DA1 алель Brassica

Рослини Brassica, які містять мутації в DA1 генах, визначені в Прикладі 4, були ідентифіковані наступним чином:

- для кожного мутантного DA1 гена, ідентифікованого в зразках ДНК M2 рослини, було вирощено щонайменше 50 M2 рослин, які походять від тієї ж M1 рослини, що й M2 рослина, яка містить DA1 мутації; зразки ДНК були одержані із зразків листків кожної окремої M2 рослини.

- був проведений скринінг зразків ДНК на присутність ідентифікованої точкової DA1 мутації, як описано вище у Прикладі 4.

- гетерозиготні та гомозиготні (як було визначено на основі електрофореграм) M2 рослини, які містять ту ж мутацію, були самозапилені, в результаті чого було зібрано M3 насіння.

Експресію різних DA1 генів у різних тканинах мутантних ліній аналізували за допомогою RT-ПЛР аналізу, специфічного для кожного DA1 гена, на тотальній РНК, виділеній з Brassica napus. Результати свідчать, що лінія YIIN603 не виявила сайленсингу A1 мутантного алеля, але експресія C1 алеля підвищилась у молодому листку і знизилась у стеблі. У YIIN612 лінії виявлено сайленсинг C1 алеля у стеблі та відсутність підвищення експресії інших алелів. У більшості мутантних ліній, всі алелі мають подібні рівні експресії, як у рослин дикого типу. Загалом, надекспресія алелів дикого типу в мутантах виявлена не була (Фігура 3).

Приклад 6 – Аналіз характеристик насіння рослин Brassica, які містять мутантні DA1 гени

Рослини Brassica, гомозиготні за різними DA1 генами, вирощували в тепличних умовах та визначали вагу тисячі насінин (BTH) і кількість насіння (г на 5 рослин). Значення BTH для двох різних тепличних експериментів та кількість насіння представлені в Таблиці 3.

Таблиця 3

Кількість насіння (г на 5 рослин) та вага тисячі насінин (BTH) для рослин, що є гомозиготні за різними мутантними DA1 генами, вирощених за умов оранжерейної культури

| Мутантний алель              | Кількість (г на 5 рослин) | BTH (I) | BTH (II) |
|------------------------------|---------------------------|---------|----------|
| (DA1-A1-EMS03)(DA1-A2-EMS05) | 59,50                     | 4,67    | 3,65     |
| DA1-A1-EMS03                 | 53,79                     | 4,11    | 3,45     |
| DA1-A2-EMS05                 | 61,21                     | 4,58    | 3,47     |
| -                            | 68,22                     | 4,23    | 3,13     |
| (DA1-A2-EMS05)(DA1-C1-EMS02) | 68,85                     | 4,04    | 3,38     |
| DA1-A2-EMS05                 | 75,50                     | 4,23    | 3,46     |
| DA1-C1-EMS02                 | 70,39                     | 3,6     | 3,09     |
| -                            | 74,26                     | 3,64    | 3,16     |



Продовження таблиці 3

|                              |       |      |      |
|------------------------------|-------|------|------|
| (DA1-A2-EMS05)(DA1-C1-EMS03) | 61,25 | 4,32 | 3,29 |
| DA1-A2-EMS05                 | 52,77 | 4,06 | 3,37 |
| DA1-C1-EMS03                 | 70,65 | 3,92 | 3,18 |
| -                            | 61,08 | 4,16 | 3,16 |
| (DA1-A2-EMS05)(DA1-C2-EMS02) | 65,04 | 4,5  | 3,72 |
| DA1-A2-EMS05                 | 65,00 | 4,07 | 3,45 |
| DA1-C2-EMS02                 | 80,79 | 3,92 | 3,38 |
| -                            | 74,55 | 3,78 | 3,35 |

Рослини Brassica, гомозиготні за різними DA1 генами, були вирощені в польових умовах у трьох локалітетах. Визначали вагу тисячі насінин (ВТН) і товщину стручка (СТРУЧТ).

5 Товщину стручка визначали за бальною шкалою від 1 до 9, де 1=малий, 5=середній, 9=товстий. Значення для ВТН та СТРУЧТ представлені в Таблиці 4. Відмінності між ВТН і СТРУЧТ рослин, які містять мутантні DA1 гени, та сегрегантів дикого типу представлені графічно на Фігурах 4а і b, відповідно.

10 Таблиця 4: Середні значення ваги тисячі насінин (ВТН), стандартна похибка (СП), СІ.нижнє та СІ.верхнє значення для ВТН, та середні значення для товщини стручка (ТОВЩС) та рівня стандартного відхилення (PCB) для СТРУЧТ, для рослин, гомозиготних за різними мутантними DA1 генами, вирощених у польових умовах

| Генотип                          | ВТН (г) | СП    | СІ.нижнє | СІ.верхнє       | Товщина стручка (1-9) |
|----------------------------------|---------|-------|----------|-----------------|-----------------------|
| -                                | 3,937   | 0,050 | 3,839    | 4,034           | 5,22                  |
| DA1-A2-EMS05                     | 4,039   | 0,050 | 3,941    | 4,137           | 5,22                  |
| DA1-A1-EMS03                     | 3,756   | 0,050 | 3,658    | 3,854           | 4,89                  |
| (DA1-A1-EMS03)<br>(DA1-A2-EMS05) | 3,987   | 0,050 | 3,890    | 4,085           | 5,00                  |
| -                                | 3,430   | 0,050 | 3,332    | 3,528           | 5,00                  |
| DA1-C1-EMS02                     | 3,431   | 0,050 | 3,334    | 3,529           | 5,00                  |
| DA1-A2-EMS05                     | 3,847   | 0,050 | 3,749    | 3,945           | 5,67                  |
| (DA1-A2-EMS05)<br>(DA1-C1-EMS02) | 3,567   | 0,050 | 3,469    | 3,664           | 5,11                  |
| -                                | 3,769   | 0,050 | 3,672    | 3,867           | 5,44                  |
| DA1-C1-EMS03                     | 3,690   | 0,050 | 3,592    | 3,787           | 5,00                  |
| DA1-A2-EMS05                     | 3,871   | 0,050 | 3,773    | 3,969           | 5,56                  |
| (DA1-A2-EMS05)<br>(DA1-C1-EMS03) | 3,965   | 0,050 | 3,867    | 4,062           | 5,89                  |
| -                                | 3,678   | 0,050 | 3,580    | 3,776           | 5,11                  |
| DA1-C2-EMS02                     | 3,749   | 0,050 | 3,652    | 3,847           | 4,89                  |
| DA1-A2-EMS05                     | 3,615   | 0,050 | 3,517    | 3,713           | 5,00                  |
| (DA1-A2-EMS05)<br>(DA1-C2-EMS02) | 4,174   | 0,050 | 4,076    | 4,271           | 5,78                  |
| Дикий-тип                        | 3,653   | 0,050 | 3,556    | 3,751           | 4,89                  |
|                                  |         |       |          | PCB<br>(СТРУЧТ) | 0,32                  |

15 В подальших польових експериментах, рослини Brassica, гомозиготні за різними DA1 генами, вирощували в польових умовах у п'яти локалітетах в Канаді та Бельгії. Були визначені наступні параметри: вихід насіння (г/ділянку; 7.5 м<sup>2</sup>/ділянку; вологість насіння 8 %), вага тисячі насінин (ВТН; г/1000 насіння), вміст олії (% від ваги насіння; NIR аналіз), вміст білка (% від ваги насіння; NIR аналіз) і вагу олії з тисячі насінин (ВНТН; грами олії в 1000 насінин (г/1000 насінин); підраховане значення ВТН \* вміст олії (%)). Значення для двох різних польових експериментів представлені в Таблицях 5а і 5b.

20

Таблиця 5: Врожайність (ВРОЖ), вага тисячі насінин (ВТН), вміст олії (ВО), вміст білка (ВБ), вихід олії (ВИХО), та вага олії з тисячі насінин (ВОТН) рослин, гомозиготних за різними мутантними DA1 генами, вирощених у польових умовах у п'яти різних локалітетах у Канаді (А) та Бельгії (В). \*: відмінність між мутантними рослинами та сегрегантами дикого типу була статистично вірогідною; \*\* сегреганти дикого типу статистично вірогідно відрізнялись від контролю дикого типу.

А.

Таблиця 5

| Генотипи                    | Врожай-<br>ність | ВТН    | Вміст<br>олії | Вміст<br>білка | Вихід<br>олії | ВОТН |
|-----------------------------|------------------|--------|---------------|----------------|---------------|------|
| Канада                      | грам             | грам   | %             | %              | грам          | Грам |
| YIIN603/YIIN609 (--/--)     | 2717             | 4,13   | 45,72         | 48,36          | 1242,21       | 1,89 |
| YIIN603/YIIN609 (--/A2A2)   | 2639             | 4,60*  | 45,07         | 49,13          | 1189,40       | 2,07 |
| YIIN603/YIIN609 (A1A1/--)   | 2605             | 4,40*  | 45,20         | 48,99          | 1177,46       | 1,99 |
| YIIN603/YIIN609 (A1A1/A2A2) | 2559*            | 4,52*  | 44,68         | 48,86          | 1143,36       | 2,02 |
| YIIN609/YIIN611 (--/--)     | 2563**           | 4,25   | 45,56         | 48,45          | 1167,70       | 1,94 |
| YIIN609/YIIN611 (--/C1C1)   | 2708             | 4,12   | 45,44         | 47,84          | 1230,52       | 1,87 |
| YIIN609/YIIN611 (A2A2/--)   | 2629             | 4,28   | 45,42         | 48,01          | 1194,09       | 1,94 |
| YIIN609/YIIN611 (A2A2/C1C1) | 2551             | 4,36   | 45,14         | 48,17          | 1151,52       | 1,97 |
| YIIN609/YIIN612 (--/--)     | 2567**           | 3,89** | 45,73         | 47,99          | 1173,89       | 1,78 |
| YIIN609/YIIN612 (--/C1C1)   | 2673             | 4,04   | 45,42         | 49,01          | 1214,08       | 1,83 |
| YIIN609/YIIN612 (A2A2/--)   | 2472             | 4,18*  | 44,62         | 47,98          | 1103,01       | 1,87 |
| YIIN609/YIIN612 (A2A2/C1C1) | 2655             | 4,16*  | 44,98         | 48,15          | 1194,22       | 1,87 |
| YIIN609/YIIN615 (--/--)     | 2695             | 4,18   | 45,18         | 48,37          | 1217,60       | 1,89 |
| YIIN609/YIIN615 (--/C2C2)   | 2691             | 4,43*  | 45,22         | 48,03          | 1216,87       | 2,00 |
| YIIN609/YIIN615 (A2A2/--)   | 2683             | 4,44*  | 44,58         | 48,04          | 1196,08       | 1,98 |
| YIIN609/YIIN615 (A2A2/C2C2) | 2496*            | 4,74*  | 43,99         | 48,51          | 1097,99       | 2,09 |
| 98-55-013                   | 2827             | 4,15   | 46,09         | 48,59          | 1302,96       | 1,91 |

В.

| Генотипи                    | Врожай-<br>ність | ВТН   | Вміст олії | Вміст<br>білка | Вихід<br>олії | Вміст олії<br>в тисячі<br>насінин |
|-----------------------------|------------------|-------|------------|----------------|---------------|-----------------------------------|
| Бельгія                     | грам             | грам  | %          | %              | грам          | грам                              |
| YIIN603/YIIN609 (--/--)     | 2912,85          | 3,73  | 46,80      | 43,77          | 1363,21       | 1,75                              |
| YIIN603/YIIN609 (--/A2A2)   | 2939,11          | 3,94* | 46,55      | 44,20          | 1368,16       | 1,83                              |
| YIIN603/YIIN609 (A1A1/--)   | 2970,45          | 3,84  | 46,55      | 43,97          | 1382,74       | 1,79                              |
| YIIN603/YIIN609 (A1A1/A2A2) | 2912,75          | 4,10* | 45,87      | 44,42          | 1336,08       | 1,88                              |
| YIIN609/YIIN611 (--/--)     | 3053,15          | 3,72  | 46,78      | 43,69          | 1428,26       | 1,74                              |
| YIIN609/YIIN611 (--/C1C1)   | 3080,2           | 3,66  | 46,80      | 43,71          | 1441,53       | 1,71                              |
| YIIN609/YIIN611 (A2A2/--)   | 2932,5           | 3,92* | 46,54      | 44,09          | 1364,79       | 1,82                              |
| YIIN609/YIIN611 (A2A2/C1C1) | 2889,3           | 3,90* | 46,70      | 43,92          | 1349,30       | 1,82                              |
| YIIN609/YIIN612 (--/--)     | 2965,45          | 3,62  | 47,31      | 44,59          | 1402,95       | 1,71                              |
| YIIN609/YIIN612 (--/C1C1)   | 3105,4           | 3,67  | 46,91      | 44,33          | 1456,74       | 1,72                              |
| YIIN609/YIIN612 (A2A2/--)   | 2864,5           | 3,80* | 46,87      | 44,68          | 1342,59       | 1,78                              |
| YIIN609/YIIN612 (A2A2/C1C1) | 2969,7           | 3,83* | 46,56      | 44,52          | 1382,69       | 1,78                              |
| YIIN609/YIIN615 (--/--)     | 3049,55          | 3,68  | 46,83      | 43,40          | 1428,10       | 1,72                              |
| YIIN609/YIIN615 (--/C2C2)   | 3030,1           | 3,81  | 46,58      | 43,50          | 1411,42       | 1,77                              |
| YIIN609/YIIN615 (A2A2/--)   | 2966,35          | 3,94* | 46,42      | 43,33          | 1376,98       | 1,83                              |
| YIIN609/YIIN615 (A2A2/C2C2) | 2855,2           | 4,32* | 46,00      | 43,89          | 1313,39       | 1,99                              |
| 98-55-013                   | 3096,59          | 3,69  | 47,25      | 44,03          | 1463,14       | 1,74                              |

10

Дані, одержані за умов оранжерейної культури та в польових умовах, свідчать, що DA1-A2-EMS05 мутант (YIIN609), який містить мутацію в положенні 1683 DA1-A2 гена, призводить до заміщення аргініну на лізин у закодованому білку, що обумовлює підвищення ваги насіння. Це підвищення ваги насіння також зростає при комбінуванні з DA1-C2-EMS02 мутантним (YIIN615), тобто повністю нокаутним DA1-C2 геном. Крім того, повністю нокаутні мутантні DA1-A1 та DA1-C2 алелі виявляють здатність до підвищення ваги тисячі насінин та олії з тисячі насінин за

15

відсутності DA1-A2-EMS05 мутантного (Таблиці 4A і B). Результати польових досліджень також показали, що рослини, які містять DA1-A2-EMS05 мутантний алель, насамперед у комбінації з мутантним DA1-C2-EMS02, мали підвищену товщину плода у порівнянні з рослинами дикого типу, які не містять вказані DA1 мутанти, і мали підвищену вагу олії з тисячі насінин.

- 5        Приклад 7 – Детекція та/або перенесення мутантних алелів DA1 генів в (елітні) лінії Brassica  
       Для відбору рослин, які містять точкову мутацію в алелі DA1, може бути використане пряме секвенування з використанням стандартних методик секвенування, відомих з рівня техніки, як ті, що описані в Прикладі 4. Альтернативно, ПЛР-аналіз може бути розроблений для відокремлення рослин, які містять специфічну точкову мутацію в алелі DA1, від рослин, які не
- 10       містять такої специфічної точкової мутації. Таким чином, дискримінуючий Taqman ПЛР-аналіз був розроблений для виявлення присутності або відсутності статусу зиготності мутантних алелів, ідентифікованих у Прикладі 4 (див. Таблицю 2):

- Матрична ДНК:

- Геномна ДНК, виділена з листового матеріалу гомозиготних або гетерозиготних мутантних

15       рослин Brassica (містять мутантний DA1 алель, який тут названий "DA1-Xx-EMSXX").

- ДНК контролю дикого типу: геномна ДНК, виділена з листового матеріалу рослин дикого типу Brassica (які містять еквівалент дикого типу мутантного DA1 алеля, названий тут як "ДТ").

- Позитивний ДНК контроль: відомо, що геномна ДНК, виділена з листового матеріалу гомозиготних мутантних рослин Brassica, містить DA1-Xx-EMSXX.

20       - Праймери та зонди для мутантного та відповідного цільового DA1 гена дикого типу представлені в Таблиці 6.

      Як правило, кожен набір праймерів складається з двох праймерів, що ампліфікують як мутантний ген-мішень, так і ген дикого типу, один зонд, специфічний для нуклеотиду, який є відмінним між мутантним та геном дикого типу, в якому FAM зонд несе нуклеотид для мутантного, а VIC зонд містить нуклеотид для гену дикого типу.

25

Таблиця 6

Праймери та зонди для детекції алелів дикого типу і мутантних DA1 алелів

| Рослина: YIIN603_TQ2 |                               |           |              | SEQ ID NO |
|----------------------|-------------------------------|-----------|--------------|-----------|
| Праймер 1            | ACGAGTTAGCTTGAATTGCTCTGTAA    |           |              | 18        |
| Праймер 2            | TCTGTCTGGAAGAACAACCTGTTAGA    |           |              | 19        |
| FAM зонд             | CCCACTTCAGTTTC                | FAM алель | DA1-A1-EMS03 | 20        |
| VIC зонд             | ATATTCCCCTCCAGTTT             | VIC алель | WT           | 21        |
| Рослина: YIIN605_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | GAGCAAACCTGTTAGCACTGTAAGAAAGA |           |              | 22        |
| Праймер 2            | CCTCGCATTGACGTGTCAACT         |           |              | 23        |
| FAM зонд             | CACAGGAACTAGGCTG              | FAM алель | DA1-A2-EMS01 | 24        |
| VIC зонд             | ACAGGAACTGGGCTG               | VIC алель | WT           | 25        |
| Рослина: YIIN609_TQ2 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CCATGCTTCGATCTCTTTCTTACAG     |           |              | 26        |
| Праймер 2            | TAGGGTCACTATCACATGCCAGAG      |           |              | 27        |
| FAM зонд             | AAGGCAGAGTCCTTTT              | FAM алель | DA1-A2-EMS05 | 28        |
| VIC зонд             | AGGCAGAGTCCTCTT               | VIC алель | WT           | 29        |
| Рослина: YIIN611_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CCATCACTTGACATATCCCCTCTT      |           |              | 30        |
| Праймер 2            | ACTACAATGTGTGGTCTTGA AAAAAGG  |           |              | 31        |
| FAM зонд             | AACATCTTAGCTCAGTGT            | FAM алель | DA1-C1-EMS02 | 32        |
| VIC зонд             | ACATCTTGGCTCAGTGTC            | VIC алель | WT           | 33        |
| Рослина: YIIN612_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CTTTAGGGTCACTATCACATGCCA      |           |              | 34        |
| Праймер 2            | ATTCCCCTCCAGTTTCCCTTC         |           |              | 35        |
| FAM зонд             | TTTCAGAGGAATAAAC              | FAM алель | DA1-C1-EMS03 | 36        |
| VIC зонд             | TTTCAGAGGAACAAAC              | VIC алель | WT           | 37        |
| Рослина: YIIN615_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CGCTGAGCCAAGACGTTGA           |           |              | 38        |
| Праймер 2            | CAACATTGCTGTTTCTTGAACCA       |           |              | 39        |
| FAM зонд             | AGGAATATGTAAAGTAATGG          | FAM алель | DA1-C2-EMS02 | 40        |
| VIC зонд             | AGGAATATGTCAAGTAATG           | VIC алель | WT           | 41        |
| Рослина: YIIN613_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | ACACTGAGCCAAGATGTTGAAGAG      |           |              | 42        |
| Праймер 2            | TGCAGCGTTGCTGTTTCTAGA         |           |              | 43        |
| FAM зонд             | ATGGCTCATAAGTGATT             | FAM алель | DA1-C1-EMS04 | 44        |
| VIC зонд             | TCATAAGTGTTAGAAAGTTGAG        | VIC алель | WT           | 45        |
| Рослина: YIIN606_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CCGGACGCTGAGCCAA              |           |              | 46        |
| Праймер 2            | CTTGAACCAGCAGCTAACTCTGC       |           |              | 47        |
| FAM зонд             | AGAAGGAATATGTTAAGTGATG        | FAM алель | DA1-A2-EMS02 | 48        |
| VIC зонд             | AGAAGGAATATGTCAAGTGA          | VIC алель | WT           | 49        |
| Рослина: YIIN607_TQ1 |                               |           |              |           |
| Праймер 1            | CTATTGTGGTCTTGA AAAAGGATTCC   |           |              | 50        |
| Праймер 2            | ATGAGCCATCACTTGACATATTCC      |           |              | 51        |
| FAM зонд             | CGCTGAGCTAAGAC                | FAM алель | DA1-A2-EMS03 | 52        |
| VIC зонд             | ACGCTGAGCCAAGA                | VIC алель | WT           | 53        |

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- <110> БАЙЄР КРОПСАЄНС НВ  
 5      ЛАГА, Бенджамін  
       БОТС, Марк  
       МУШЕЛЬ, Селін
- <120> РОСЛИНИ *Brassica*, ЯКІ МІСТЯТЬ МУТАНТНІ da1 АЛЕЛІ  
 10
- <130> BCS13-2002
- <160> 75
- 15   <170> Патент, версія 3.5
- <210> 1  
 <211> 1599  
 <212> ДНК  
 20   <213> *Arabidopsis thaliana*
- <220>  
 <221> CDS  
 25   <222> (1)..(1599)
- <400> 1  
 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttt aaa ggc tct aac caa agg ctc cgg      48  
 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Leu Arg  
 30   1           5           10           15
- gtt ggg aat aat aag cac aat cac aat gtt tat tac gat aat tat ccg      96  
 Val Gly Asn Asn Lys His Asn His Asn Val Tyr Tyr Asp Asn Tyr Pro  
           20           25           30  
 35
- act gct tca cat gat gat gag cct agt gcg gcg gat aca gat gct gat      144  
 Thr Ala Ser His Asp Asp Glu Pro Ser Ala Ala Asp Thr Asp Ala Asp  
           35           40           45
- 40   aat gat gaa cct cat cat act cag gaa cca tct aca tct gag gat aat      192  
 Asn Asp Glu Pro His His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Asp Asn

|    |   |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|
|    | 50  | 55  | 60  |     |
|    | aca tcg aat gac cag gaa aat gaa gac ata gac cgt gca att gca ttg |     |     | 240 |
|    | Thr Ser Asn Asp Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu |     |     |     |
| 5  | 65  | 70  | 75  | 80  |
|    | tcg ctt tta gaa gag aat caa gaa cag aca agt ata agc ggg aaa tac |     |     | 288 |
|    | Ser Leu Leu Glu Glu Asn Gln Glu Gln Thr Ser Ile Ser Gly Lys Tyr |     |     |     |
|    | 85  | 90  | 95  |     |
| 10 | tcg atg ccg gtg gat gaa gat gag caa ctt gct aga gcc cta caa gaa |     |     | 336 |
|    | Ser Met Pro Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Leu Gln Glu |     |     |     |
|    | 100   | 105 | 110 |     |
| 15 | agt atg gta gtt ggg aat tca ccc cgt cac aaa agt gga agt aca tat |     |     | 384 |
|    | Ser Met Val Val Gly Asn Ser Pro Arg His Lys Ser Gly Ser Thr Tyr |     |     |     |
|    | 115   | 120 | 125 |     |
|    | gat aat ggg aat gca tat gga gct gga gat tta tat ggg aat gga cat |     |     | 432 |
| 20 | Asp Asn Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Asp Leu Tyr Gly Asn Gly His |     |     |     |
|    | 130   | 135 | 140 |     |
|    | atg tat gga gga gga aat gta tat gca aat gga gat att tat tat cca |     |     | 480 |
|    | Met Tyr Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro |     |     |     |
|    | 145   | 150 | 155 | 160 |
| 25 | aga cct att act ttt caa atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgt aat |     |     | 528 |
|    | Arg Pro Ile Thr Phe Gln Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn |     |     |     |
|    | 165   | 170 | 175 |     |
| 30 | atg gag att ggc cat gga aga ttt ctg aat tgc ctt aat tca cta tgg |     |     | 576 |
|    | Met Glu Ile Gly His Gly Arg Phe Leu Asn Cys Leu Asn Ser Leu Trp |     |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |     |
|    | cat cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgc agt cag ccg att tct gag |     |     | 624 |
| 35 | His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser Gln Pro Ile Ser Glu |     |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |     |
|    | tac gag ttt tca aca tca ggg aac tac cct ttt cac aag gct tgt tac |     |     | 672 |
|    | Tyr Glu Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr |     |     |     |
| 40 | 210   | 215 | 220 |     |

agg gag aga tat cat cct aaa tgt gat gtc tgc agc cac ttt ata cca 720  
 Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser His Phe Ile Pro  
 225 230 235 240

5 aca aat cat gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtt 768  
 Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val  
 245 250 255

10 cag aag tat tgt cct tct cac gaa cac gat gct acc ccg aga tgt tgc 816  
 Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys  
 260 265 270

15 agt tgt gaa aga atg gag cca cgg aat acg aga tat gtt gaa ctt aac 864  
 Ser Cys Glu Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Arg Tyr Val Glu Leu Asn  
 275 280 285

20 gat gga cgg aaa ctt tgc ctt gag tgt ttg gac tcg gcg gtc atg gac 912  
 Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp  
 290 295 300

25 acc atg caa tgc caa cct ctg tac ttg caa ata caa aat ttc tat gaa 960  
 Thr Met Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Asn Phe Tyr Glu  
 305 310 315 320

gga ctc aac atg aag gta gag cag gaa gtt cca ctc ctc ttg gtt gag 1008  
 Gly Leu Asn Met Lys Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu  
 325 330 335

30 aga caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat 1056  
 Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr  
 340 345 350

35 cac atg cca gaa aca aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt 1104  
 His Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val  
 355 360 365

40 agt act gta aga aag cga tca aag cat ggc aca gga aaa tgg gcc ggg 1152  
 Ser Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Lys Trp Ala Gly  
 370 375 380

aat att aca gaa cct tac aag tta aca cgg caa tgt gaa gtt acc gcc 1200  
 Asn Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala  
 385 390 395 400

5

att ctc atc tta ttc ggg ctc cct agg tta ctt act ggt tcg att cta 1248  
 Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu  
 405 410 415

10

gct cat gag atg atg cat gcg tgg atg agg ctc aaa gga ttc cga aca 1296  
 Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr  
 420 425 430

15

ctg agc caa gat gtt gaa gaa ggt ata tgt caa gtg atg gct cat aaa 1344  
 Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys  
 435 440 445

20

tgg tta gat gct gag tta gct gct ggt tca aca aat agc aat gct gca 1392  
 Trp Leu Asp Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Thr Asn Ser Asn Ala Ala  
 450 455 460

25

tca tca tcc tcc tct tct caa gga ctg aaa aag gga ccg aga tct cag 1440  
 Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gln Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln  
 465 470 475 480

30

tac gag aga aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat 1488  
 Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp  
 485 490 495

35

gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc aga gct ggg agg tta gct gtt 1536  
 Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val  
 500 505 510

40

cac aag tac ggt ttg cga aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc ggt 1584  
 His Lys Tyr Gly Leu Arg Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly  
 515 520 525

aga ttc ccg gtt taa 1599  
 Arg Phe Pro Val  
 530



<210> 2

<211> 532

5 <212> PRT

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 2

10 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Leu Arg

1 5 10 15

Val Gly Asn Asn Lys His Asn His Asn Val Tyr Tyr Asp Asn Tyr Pro

20 25 30

15

Thr Ala Ser His Asp Asp Glu Pro Ser Ala Ala Asp Thr Asp Ala Asp

35 40 45

Asn Asp Glu Pro His His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Asp Asn

20 50 55 60

Thr Ser Asn Asp Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu

65 70 75 80

Ser Leu Leu Glu Glu Asn Gln Glu Gln Thr Ser Ile Ser Gly Lys Tyr

25 85 90 95

Ser Met Pro Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Leu Gln Glu

100 105 110

30 Ser Met Val Val Gly Asn Ser Pro Arg His Lys Ser Gly Ser Thr Tyr

115 120 125

Asp Asn Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Asp Leu Tyr Gly Asn Gly His

130 135 140

35

Met Tyr Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro

145 150 155 160

Arg Pro Ile Thr Phe Gln Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn

40 165 170 175

Met Glu Ile Gly His Gly Arg Phe Leu Asn Cys Leu Asn Ser Leu Trp  
180 185 190

5 His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser Gln Pro Ile Ser Glu  
195 200 205

Tyr Glu Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr  
210 215 220

10 Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser His Phe Ile Pro  
225 230 235 240

Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val  
15 245 250 255

Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys  
260 265 270

20 Ser Cys Glu Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Arg Tyr Val Glu Leu Asn  
275 280 285

Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp  
290 295 300

25 Thr Met Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Asn Phe Tyr Glu  
305 310 315 320

Gly Leu Asn Met Lys Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu  
30 325 330 335

Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr  
340 345 350

35 His Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val  
355 360 365

Ser Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Lys Trp Ala Gly  
370 375 380

40

Asn Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala  
385 390 395 400

5 Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu  
405 410 415

Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr  
420 425 430

10

Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys  
435 440 445

15

Trp Leu Asp Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Thr Asn Ser Asn Ala Ala  
450 455 460

Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gln Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln  
465 470 475 480

20

Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp  
485 490 495

Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val  
500 505 510

25

His Lys Tyr Gly Leu Arg Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly  
515 520 525

Arg Phe Pro Val

30

530

<210> 3

<211> 2231

35

<212> ДНК

<213> Brassica napus

<220>

40

<221> экзон

<222> (1)..(156)

<223> екзон 1

<220>

5 <221> екзон

<222> (325)..(427)

<223> екзон 2

<220>

10 <221> екзон

<222> (529)..(718)

<223> екзон 3

<220>

15 <221> екзон

<222> (808)..(928)

<223> екзон 4

<220>

20 <221> екзон

<222> (1015)..(1098)

<223> екзон 5

<220>

25 <221> екзон

<222> (1175)..(1294)

<223> екзон 6

<220>

30 <221> екзон

<222> (1295)..(1507)

<223> екзон 7

<220>

35 <221> мутація

<222> (1385)..(1385)

<223> C=>T в YIIN601/602

<220>

40 <221> екзон

<222> (1594)..(1825)

<223> екзон 8-9

<220>

5 <221> мутація

<222> (1683)..(1683)

<223> G=>A в YIIN603

<220>

10 <221> екзон

<222> (1915)..(2231)

<223> екзон 10

<220>

15 <221> мутація

<222> (1932)..(1932)

<223> C=>T в YIIN604

<400> 3

20 atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg cac ccc 48

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro

1 5 10 15

atg ggg aat gaa cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac 96

25 Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

20 25 30

ccg cac gaa cat tct gag cct act gat gct gat cat acg cag gaa cca 144

Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro

30 35 40 45

tct act tct gag gtgttactat atgctgattg aatattgata gctttgcttt 196

Ser Thr Ser Glu

50

35

tatagttttt ttgttttctg atttaggaga tctcaaaaat agtcaaataa atcatattag 256

tctccattta tcagataatg gttttagtg taacctcaaa attttgttgt ttttttact 316

40 ttactag gag gag aca tgg aat ggg aag gaa aat gag gaa gta gac cgt 366

|    |   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | Glu   | Glu | Thr | Trp | Asn | Gly | Lys | Glu | Asn | Glu | Glu | Val | Asp | Arg |     |
|    | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     | 65  |     |     |     |     |     |     |
|    | gca ctt gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa gga cca gag act   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 414 |
| 5  | Ala Leu Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Gly Pro Glu Thr   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 70  |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |     |     |     |     |     |
|    | aat aca ggc gcc t gtgagttaca tttactgat ttgttcagc ccaaaacagt       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 467 |
|    | Asn Thr Gly Ala   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 85  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 10 | aatatgaaaa atacagtttt gttatacatt tgaaaaaata aaaataaaaa atgaaaagca |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 527 |
|    | g gg aaa cac gca atg atg gat gac gat gag caa ctt gct aga gcc ata  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 575 |
|    | Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 15 | 90  |     |     |     | 95  |     |     |     | 100 |     |     |     |     |     |     |
|    | caa gag agt atg ata gct agg aat gga act act tat gac tt ggg aat    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 623 |
|    | Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Thr Thr Tyr Asp Phe Gly Asn   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 105   |     |     |     | 110 |     |     |     | 115 |     |     |     |     |     |     |
| 20 | gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga ggc aat gta tat gcc aac   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 671 |
|    | Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 120   |     |     |     | 125 |     |     |     | 130 |     |     |     |     |     |     |
| 25 | ggg gat att tat tat cca aga cct att gct ttc tca atg gac ttc ag    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 718 |
|    | Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala Phe Ser Met Asp Phe Arg   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 135   |     |     |     | 140 |     |     |     | 145 |     |     |     |     | 150 |     |
|    | gtttcactta gatggccttt taattgggt tgatgtgtta tagttcttt tagcttttt    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 778 |
| 30 | atcaacaact tgtcactact gcataatag g atc tgt gct ggc tgc aat atg gag |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 832 |
|    | Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu                                   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 155   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 35 | att ggc cag gga aga tat ctg aat tgc ctc aat gca tta tgg cat cca   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 880 |
|    | Ile Gly Gln Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | 160   |     |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     |     |
|    | caa tgt ttt cga tgc tat ggc tgc agt cac cca atc tct gag tac gag   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 928 |
| 40 | Gln Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

|    |   |     |     |     |      |
|----|---|-----|-----|-----|------|
|    | 175   | 180 | 185 | 190 |      |
|    | gtgaactcaa actcattctt tccgtttag ttaaccttt gaatcaatgt aataacatgt |     |     |     | 988  |
| 5  | tttcctttt ttttgtctt aaatag ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt  |     |     |     | 1041 |
|    | Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe                             |     |     |     |      |
|    | 195   |     |     |     |      |
|    | cac aaa gct tgt tac agg gag agg ttc cat cca aaa tgt gat gtc tgc |     |     |     | 1089 |
| 10 | His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys |     |     |     |      |
|    | 200   | 205 | 210 | 215 |      |
|    | agc ctc ttt gtaatgaaaa tcttttagcat ttcagttgt tttcttcgg          |     |     |     | 1138 |
|    | Ser Leu Phe   |     |     |     |      |
| 15 |   |     |     |     |      |
|    | atattccact tatgttattt tcttttcttg tgacag att tca aca aac cat gct |     |     |     | 1192 |
|    | Ile Ser Thr Asn His Ala   |     |     |     |      |
|    | 220   |     |     |     |      |
| 20 |   |     |     |     |      |
|    | ggc ctt att gag tat aga gca cat cct ttc tgg gtc cag aag tat tgt |     |     |     | 1240 |
|    | Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys |     |     |     |      |
|    | 225   | 230 | 235 | 240 |      |
|    | cca tct cac gaa cac gat gct act cct aga tgt tgc agt tgt gaa aga |     |     |     | 1288 |
| 25 | Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg |     |     |     |      |
|    | 245   | 250 | 255 |     |      |
|    | atg gag cca cgg aat aca gga tat ttt gaa ctc aac gat gga cgg aag |     |     |     | 1336 |
|    | Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys |     |     |     |      |
| 30 | 260   | 265 | 270 |     |      |
|    | ctt tgc ctg gag tgt cta gac tca tgc gtg atg gac act ttt caa tgc |     |     |     | 1384 |
|    | Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys |     |     |     |      |
|    | 275   | 280 | 285 |     |      |
| 35 |   |     |     |     |      |
|    | caa cct ctg tac tta cag ata caa gag ttc tac gaa gga ctt aac atg |     |     |     | 1432 |
|    | Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met |     |     |     |      |
|    | 290   | 295 | 300 |     |      |
| 40 | acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc tta gtt gag cgg cag gca ctt |     |     |     | 1480 |

Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu  
305 310 315 320

aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat gtgagtagaa caaaaaatac 1527  
5 Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn  
325

aaatttactt tagtaactat ttgagaatgt gtcacattta tattgtgtca ctgtgtgctt 1587

10 tcttag ggt cac tat cac atg cca gag aca aga gga ctc tgt ctg tcg 1635  
Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser  
330 335 340

gaa gaa caa act gtt aga act gtg aga aag aga tcg aag gga aac tgg 1683  
15 Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp  
345 350 355

agt ggg aat atg atc aca gag caa ttc aag cta act cgc cga tgc gag 1731  
Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu  
20 360 365 370 375

gtt acc gcc att ctc atc tta ttt ggt ctc cct agg cta ctc act ggt 1779  
Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly  
380 385 390

25 tca att cta gct cat gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa g 1825  
Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys  
395 400 405

30 gtgagtttct tgcttctgt ttcttatcta actgcttctc ttgtttcaca tttgttgaac 1885

cgttactaca atgtgtggtc ttgaaaaag gg ttc cgg cca ctt agc caa gat 1937  
Gly Phe Arg Pro Leu Ser Gln Asp  
410

35 gtt gaa gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa gct 1985  
Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala  
415 420 425 430

40 gag tta gct gct ggt tca aga aat agc aat gct gca tca tct tca tca 2033



Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser  
435 440 445

tct tct tat gga gga gtg aag aag gga cca agg tct cag tac gag agg 2081  
5 Ser Ser Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg  
450 455 460

aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac cag ata gag gct gat gct tct ccg 2129  
Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ala Asp Ala Ser Pro  
10 465 470 475

ggt tat gga gat ggg ttc aga gcc ggg agg cta gca gtt aac aag tat 2177  
Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr  
480 485 490

15 ggt ttg agg aga aca ctt gag cat ata cag atg act ggg aga ttc ccg 2225  
Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro  
495 500 505 510

20 gtt taa 2231  
Val

25 <210> 4  
<211> 1536  
<212> ДНК  
<213> Brassica napus

30 <220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1536)

35 <220>  
<221> мутація  
<222> (865)..(865)  
<223> C=>T в YIIN601/602

40 <220>

<221> мутація

<222> (1077)..(1077)

<223> G=>A в YIIN603

5 <220>

<221> мутація

<222> (1237)..(1237)

<223> C=>T в YIIN604

10 <400> 4

atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg cac ccc 48

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro

1 5 10 15

15 atg ggg aat gaa cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac 96

Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

20 25 30

ccg cac gaa cat tct gag cct act gat gct gat cat acg cag gaa cca 144

20 Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro

35 40 45

tct act tct gag gag gag aca tgg aat ggg aag gaa aat gag gaa gta 192

Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu Val

25 50 55 60

gac cgt gca ctt gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa gga cca 240

Asp Arg Ala Leu Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Gly Pro

65 70 75 80

30 gag act aat aca ggc gcc tgg aaa cac gca atg atg gat gac gat gag 288

Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu

85 90 95

caa ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gct agg aat gga act 336

35 Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Thr

100 105 110

act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga 384

Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly

40 115 120 125

ggc aat gta tat gcc aac ggt gat att tat tat cca aga cct att gct 432  
 Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala  
 130 135 140

5

ttc tca atg gac ttc agg atc tgt gct ggc tgc aat atg gag att ggc 480  
 Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly  
 145 150 155 160

10

cag gga aga tat ctg aat tgc ctc aat gca tta tgg cat cca caa tgt 528  
 Gln Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Gln Cys  
 165 170 175

15

ttt cga tgc tat ggc tgc agt cac cca atc tct gag tac gag ttc tca 576  
 Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser  
 180 185 190

20

acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg gag agg ttc 624  
 Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe  
 195 200 205

25

cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att tca aca aac cat gct 672  
 His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Ser Thr Asn His Ala  
 210 215 220

30

ggt ctt att gag tat aga gca cat cct ttc tgg gtc cag aag tat tgt 720  
 Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys  
 225 230 235 240

35

cca tct cac gaa cac gat gct act cct aga tgt tgc agt tgt gaa aga 768  
 Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg  
 245 250 255

40

atg gag cca cgg aat aca gga tat ttt gaa ctc aac gat gga cgg aag 816  
 Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys  
 260 265 270

ctt tgc ctg gag tgt cta gac tca tcg gtg atg gac act ttt caa tgc 864  
 Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys  
 275 280 285

caa cct ctg tac tta cag ata caa gag ttc tac gaa gga ctt aac atg 912  
 Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met  
 290 295 300

5

acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc tta gtt gag cgg cag gca ctt 960  
 Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu  
 305 310 315 320

10

aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat ggt cac tat cac atg cca gag 1008  
 Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu  
 325 330 335

15

aca aga gga ctc tgt ctg tcg gaa gaa caa act gtt aga act gtg aga 1056  
 Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg  
 340 345 350

20

aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg atc aca gag caa ttc 1104  
 Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe  
 355 360 365

25

aag cta act cgc cga tgc gag gtt acc gcc att ctc atc tta ttt ggt 1152  
 Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly  
 370 375 380

30

ctc cct agg cta ctc act ggt tca att cta gct cat gag atg atg cac 1200  
 Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His  
 385 390 395 400

35

gcg tgg atg cgg ctc aaa ggg ttc cgg cca ctt agc caa gat gtt gaa 1248  
 Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Pro Leu Ser Gln Asp Val Glu  
 405 410 415

40

gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa gct gag tta 1296  
 Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu  
 420 425 430

45

gct gct ggt tca aga aat agc aat gct gca tca tct tca tca tct tct 1344  
 Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
 435 440 445

tat gga gga gtg aag aag gga cca agg tct cag tac gag agg aag ctt 1392

Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu

450 455 460

5

ggt gag ttt ttc aag cac cag ata gag gct gat gct tct ccg gtt tat 1440

Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ala Asp Ala Ser Pro Val Tyr

465 470 475 480

10 gga gat ggg ttc aga gcc ggg agg cta gca gtt aac aag tat ggt ttg 1488

Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu

485 490 495

agg aga aca ctt gag cat ata cag atg act ggg aga ttc ccg gtt taa 1536

15 Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

500 505 510

<210> 5

20 <211> 511

<212> PRT

<213> Brassica napus

<400> 5

25

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro

1 5 10 15

Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

30 20 25 30

Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro

35 40 45

35 Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu Val

50 55 60

Asp Arg Ala Leu Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Gly Pro

65 70 75 80

40

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

|    |   |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|
|    | 290   | 295 | 300 |     |
|    | Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu |     |     |     |
|    | 305   | 310 | 315 | 320 |
| 5  | Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu |     |     |     |
|    |   | 325 | 330 | 335 |
|    | Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg |     |     |     |
| 10 |   | 340 | 345 | 350 |
|    | Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe |     |     |     |
|    |   | 355 | 360 | 365 |
| 15 | Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly |     |     |     |
|    |   | 370 | 375 | 380 |
|    | Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His |     |     |     |
| 20 |   | 385 | 390 | 395 |
|    |   |     | 400 |     |
|    | Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Pro Leu Ser Gln Asp Val Glu |     |     |     |
|    |   | 405 | 410 | 415 |
| 25 | Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu |     |     |     |
|    |   | 420 | 425 | 430 |
|    | Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser |     |     |     |
|    |   | 435 | 440 | 445 |
| 30 | Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu |     |     |     |
|    |   | 450 | 455 | 460 |
|    | Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ala Asp Ala Ser Pro Val Tyr |     |     |     |
| 35 |   | 465 | 470 | 475 |
|    |   |     | 480 |     |
|    | Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu |     |     |     |
|    |   | 485 | 490 | 495 |
| 40 | Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val     |     |     |     |

500

505

510

<210> 6

5 <211> 2267

<212> ДНК

<213> Brassica napus

10 <220>

<221> экзон

<222> (1)..(171)

<223> экзон 1

15 <220>

<221> экзон

<222> (244)..(340)

<223> экзон 2

20 <220>

<221> экзон

<222> (421)..(646)

<223> экзон 3

25 <220>

<221> экзон

<222> (737)..(857)

<223> экзон 4

30 <220>

<221> экзон

<222> (933)..(1016)

<223> экзон 5

<220>

35 <221> экзон

<222> (1129)..(1248)

<223> экзон 6

<220>

40 <221> экзон



<222> (1333)..(1545)

<223> екзон 7

<220>

5 <221> екзон

<222> (1647)..(1828)

<223> екзон 8

<220>

10 <221> мутація

<222> (1672)..(1672)

<223> G=>A в YIIN609

<220>

15 <221> мутація

<222> (1744)..(1744)

<223> G=>A в YIIN605

<220>

20 <221> екзон

<222> (1829)..(1887)

<223> екзон 9

<220>

25 <221> мутація

<222> (1874)..(1874)

<223> G=>A в YIIN608

<220>

30 <221> екзон

<222> (1957)..(2267)

<223> екзон 10

<220>

35 <221> мутація

<222> (1974)..(1974)

<223> C=>T в YIIN607

40 <220>

<221> мутація

<222> (1998)..(1998)

<223> C=>T в YIIN606

5 <400> 6

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

10 ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

15 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactataa ctctctttac 191

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu

20 50 55

atatctctgg ttgtactat tgctcaaca tttgttgtt tccctttact ag gag gat 249

Glu Asp

25

aca tcc ggc cag gaa aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct 297

Thr Ser Gly Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser

60 65 70 75

30 ctt ata gaa aac agt caa gga cag act aat aat aca tgc gct g 340

Leu Ile Glu Asn Ser Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala

80 85

gtgagtcctt ttctctgcc aaactagaaa tatgaattat gaaactcggg ttgttacatt 400

35

taaaagaata gccaacgcag gg aag tac gca atg gtg gat gaa gat gag caa 452

Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu Asp Glu Gln

90 95 100

40 ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat aca ccg cgt 500

Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn Thr Pro Arg  
105 110 115

cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca tat ggg gct gga 548  
5 Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly  
120 125 130

gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat gta tat gcc 596  
Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala  
10 135 140 145

aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc cca atg gat ttc 644  
Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met Asp Phe  
150 155 160

15 ag gttcactttg atactcaatc aatcatctgt agcctgtttg ttaagtttct 696  
Arg  
165

20 ttccagttaa gtaactcacc aacaacgtgt cactacctag g att tgt gct ggc tgc 752  
Ile Cys Ala Gly Cys  
170

aat atg gag att gga cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta 800  
25 Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu  
175 180 185

tgg cat cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cat ccc atc tct 848  
Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser  
30 190 195 200

gag tac gag gtgaagtcaa gctttcttat tcttttgatt gtagataacc 897  
Glu Tyr Glu  
205

35 ttcaaaatta acgcataaca tgttttcctt tatag ttc tca acg tct ggg aac 950  
Phe Ser Thr Ser Gly Asn  
210

40 tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca aaa tgt 998

Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys  
 215 220 225

gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaat ctttagcctt ttttcattt 1046  
 5 Asp Val Cys Ser Leu Phe  
 230

ttaaagtgcc tatatatgcc ttgttcctt cggatattgc acttatcttc tgttgatttt 1106

10 cttgtttcga atgtgtgac ag att cca aca aac cat gct ggt ctt att gaa 1158  
 Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu  
 235 240

tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct tct cac gaa 1206  
 15 Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu  
 245 250 255

cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg gag 1248  
 His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu  
 20 260 265 270

gttgagtttt tctcccccta agtgccttac aacaaacatc ttcccaaagt caataactaat 1308

ttgccagctt tcgtttatgt gcag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt 1359  
 25 Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu  
 275 280

aac gat gga cgg aaa ctt tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg 1407  
 Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met  
 30 285 290 295

gac act ttt caa tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac 1455  
 Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr  
 300 305 310

35 gaa ggt ctt ttc atg aag gtt gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt 1503  
 Glu Gly Leu Phe Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val  
 315 320 325 330

40 gag agg caa gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat 1545

Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn

335

340

gtgagtaaac aacatacagt tgtcaagtaa ttatttgaa tatatcacat ttattttgt 1605

5

ttatccgaa gtgtttaac ttttggtgt gttcttcta g ggt cac tat cac atg 1661

Gly His Tyr His Met

345

10 cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act 1709

Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr

350

355

360

365

gta aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg 1757

15

Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met

370

375

380

att aca gag cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtc act gcc att 1805

Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile

385

390

395

20

ctc atc ttg ttt ggg ctc cct ag g cta ctc acc ggt tcg att cta gct 1853

Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala

400

405

410

25

cat gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag g gtgagttct 1897

His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys

415

420

tagttcactg cttctcttt ttttcacat tgttgaatct ctattgtggt cttgaaaag 1956

30

ga ttc cgg acg ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg 2003

Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val

425

430

435

440

35

atg gct cat aag tgg ttg gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac 2051

Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn

445

450

455

agc aat gtt gcg tca tct tca tct tct aga gga gtg aag aag gga cca 2099

40

Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro

|    |   |     |     |      |
|----|---|-----|-----|------|
|    | 460   | 465 | 470 |      |
|    | aga tcg cag tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc |     |     | 2147 |
|    | Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile |     |     |      |
| 5  | 475   | 480 | 485 |      |
|    | gag tct gat gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg |     |     | 2195 |
|    | Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg |     |     |      |
|    | 490   | 495 | 500 |      |
| 10 | tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg cca aaa aca ctt gag cat ata cag |     |     | 2243 |
|    | Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln |     |     |      |
|    | 505   | 510 | 515 | 520  |
| 15 | atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa                                 |     |     | 2267 |
|    | Met Thr Gly Arg Phe Pro Val                                     |     |     |      |
|    | 525   |     |     |      |
| 20 | <210> 7   |     |     |      |
|    | <211> 1584  |     |     |      |
|    | <212> ДНК   |     |     |      |
|    | <213> Brassica napus  |     |     |      |
| 25 | <220>   |     |     |      |
|    | <221> CDS   |     |     |      |
|    | <222> (1)..(1584)   |     |     |      |
| 30 | <220>   |     |     |      |
|    | <221> мутація   |     |     |      |
|    | <222> (1058)..(1058)  |     |     |      |
|    | <223> G=>A в YIIN609  |     |     |      |
| 35 | <220>   |     |     |      |
|    | <221> мутація   |     |     |      |
|    | <222> (1130)..(1130)  |     |     |      |
|    | <223> G=>A в YIIN605  |     |     |      |
| 40 | <220>   |     |     |      |

<221> мутація  
 <222> (1260)..(1260)  
 <223> G=>A в YIIN608

5 <220>  
 <221> мутація  
 <222> (1291)..(1291)  
 <223> C=>T в YIIN607

10 <220>  
 <221> мутація  
 <222> (1315)..(1315)  
 <223> C=>T в YIIN606

15 <400> 7  
 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48  
 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 1 5 10 15

20 ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96  
 Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144  
 25 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr  
 35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gaa 192  
 His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu  
 30 50 55 60

aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240  
 Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser  
 65 70 75 80

35 caa gga cag act aat aat aca tgc gct ggg aag tac gca atg gtg gat 288  
 Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp  
 85 90 95

40 gaa gat gag caa ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg 336

Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly  
100 105 110

aat aca ccg cgt cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca 384  
5 Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala  
115 120 125

tat ggg gct gga gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga 432  
Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly  
10 130 135 140

aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc 480  
Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe  
145 150 155 160  
15

cca atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att gga cat 528  
Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His  
165 170 175

gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta tgg cat cca gaa tgt ttt 576  
20 Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe  
180 185 190

cga tgt tat ggc tgt agg cat ccc atc tct gag tac gag ttc tca acg 624  
25 Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr  
195 200 205

tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat 672  
Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His  
30 210 215 220

cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat gct ggt 720  
Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly  
225 230 235 240  
35

ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct 768  
Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro  
245 250 255

tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg 816  
40



Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met  
260 265 270

gag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt 864  
5 Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu  
275 280 285

tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg gac act ttt caa tgc caa 912  
Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln  
10 290 295 300

cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac gaa ggt ctt ttc atg aag 960  
Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys  
305 310 315 320  
15

gtt gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctc aac 1008  
Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn  
325 330 335

gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca gag aca 1056  
20 Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr  
340 345 350

aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gta aga aag 1104  
25 Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys  
355 360 365

aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att aca gag 1152  
Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu  
30 370 375 380

cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtc act gcc att ctc atc ttg 1200  
Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
385 390 395 400  
35

ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg 1248  
Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
405 410 415

atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag gga ttc cgg acg ctg agc caa gac 1296  
40

Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp

420 425 430

gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg ttg gaa gca 1344

5 Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala

435 440 445

gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gcg tca tct tca tct 1392

Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser

10 450 455 460

tct aga gga gtg aag aag gga cca aga tcg cag tac gag agg aag ctt 1440

Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu

465 470 475 480

15

ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt tat 1488

Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr

485 490 495

20 gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg 1536

Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu

500 505 510

cca aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa 1584

25 Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

515 520 525

<210> 8

30 <211> 527

<212> PRT

<213> Brassica napus

<400> 8

35

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

40 20 25 30

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

Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro  
 245 250 255  
 5 Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met  
 260 265 270  
 Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu  
 275 280 285  
 10 Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln  
 290 295 300  
 Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys  
 15 305 310 315 320  
 Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn  
 325 330 335  
 20 Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr  
 340 345 350  
 Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys  
 355 360 365  
 25 Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu  
 370 375 380  
 Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
 30 385 390 395 400  
 Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
 405 410 415  
 35 Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp  
 420 425 430  
 Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala  
 435 440 445  
 40

Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser  
450 455 460

5 Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
465 470 475 480

Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
485 490 495

10

Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
500 505 510

Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

15

515 520 525

<210> 9

<211> 2250

20

<212> ДНК

<213> Brassica napus

<220>

25

<221> экзон

<222> (1)..(165)

<223> экзон 1

<220>

30

<221> экзон

<222> (333)..(435)

<223> экзон 2

<220>

35

<221> экзон

<222> (547)..(736)

<223> экзон 3

<220>

40

<221> экзон

<222> (823)..(943)

<223> екзон 4

<220>

5 <221> екзон

<222> (1034)..(1117)

<223> екзон 5

<220>

10 <221> екзон

<222> (1200)..(1532)

<223> екзон 6-7

<220>

15 <221> мутація

<222> (1425)..(1425)

<223> C=>T в YIIN 610

<220>

20 <221> екзон

<222> (1622)..(1853)

<223> екзон 8-9

<220>

<221> мутація

25 <222> (1670)..(1670)

<223> C=>T в YIIN 612

<220>

<221> екзон

30 <222> (1943)..(2250)

<223> екзон 10

<220>

<221> мутація

35 <222> (1960)..(1960)

<223> C=>T в YIIN 611

<220>

40 <221> мутація

<222> (2004)..(2004)

<223> G=>A B YIIN 613

<400> 9

```

5  atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg ccc ccc      48
   Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro
   1         5         10        15

   gtg ggg aat gag tac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac      96
10  Val Gly Asn Glu Tyr Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr
   20        25        30

   ccg cac gaa cat tct gag cct agt gca gag aca gat gct gat cat acg      144
   Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr
15        35        40        45

   cag gaa cca tct act tct gag gttactatat gctgattgaa tatttgatag      195
   Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu
   50        55

20  cttttgttt atagttttt ttctgattt aggagatctc aaaaatagtc aaataaatca      255

   tattagtctc catttatcag ataatggttt gtagtgtaac ctcaaaattt tgtgttttt      315

25  tttttactt ttactag gaa gag aca tgg aat ggg cag gaa aat gaa gaa      365
   Glu Glu Thr Trp Asn Gly Gln Glu Asn Glu Glu
   60        65

   gta gac cgt gca att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa gga      413
30  Val Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Gly
   70        75        80

   cca gag act aat aca ggc gcc t gtgagttaca tttactgat tgttttagcc      465
   Pro Glu Thr Asn Thr Gly Ala
35        85

   caaaacagaa taatatgaaa gaaaaaaaga tagttttgtt tcatacattt tgaaaaaaat      525

   aaaataaaaa atgaaaagca g gg  aaa cac gca atg atg gat gac gat gag      575
40  Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu

```

90 95

cag ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gtt agg aat gga act 623  
Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Val Arg Asn Gly Thr

5 100 105 110 115

act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga 671  
Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly

120 125 130

10 ggc aat gta tat gac agt ggt gat att tat tat cca aga cct att gct 719  
Gly Asn Val Tyr Asp Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala

135 140 145

15 ttc tca atg gac ttc ag gttcactta gatggccttt taatttgggt 766  
Phe Ser Met Asp Phe Arg

150

tgatgtgtta tagtttcttt tagcttttta tcaacaactt gtcactactg gcatag g 823

20 att tgt gct ggc tgc aat atg gag att ggc cat gga aga tat ctg aat 871  
Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn

155 160 165

25 tgc atc aac gca cta tgg cat cca caa tgt ttt cga tgt cat ggc tgc 919  
Cys Ile Asn Ala Leu Trp His Pro Gln Cys Phe Arg Cys His Gly Cys

170 175 180 185

agt cac cca atc tct gag tac gag gtgaactcaa attcattctt tccgtttag 973

30 Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu

190

ttaaccttt gaatcaatgt aataacatgt ttctcttctt ttcttttgg tcttaaataag 1033

35 ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg gag 1081  
Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu

195 200 205

agg ttt cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaaa 1127

40 Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe



|    |  |     |     |      |
|----|--|-----|-----|------|
|    | 210  | 215 | 220 |      |
|    | tctttacccc tttccggtg ttttctcg gatattgcac ttatcttatg ttactttctt   |     |     | 1187 |
| 5  | ttctgtgac ag att cca acg aac cat gct ggt ctt ata gag tat aga gca |     |     | 1238 |
|    | Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala              |     |     |      |
|    | 225  | 230 |     |      |
|    | cat cct ttc tgg gtc cag aag tat tgc cca tct cac gaa cac gat gct  |     |     | 1286 |
| 10 | His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala  |     |     |      |
|    | 235  | 240 | 245 | 250  |
|    | act cct aga tgt tgc agt tgt gaa aga atg gag tca cgg aat aca gga  |     |     | 1334 |
|    | Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu Ser Arg Asn Thr Gly  |     |     |      |
| 15 | 255  | 260 | 265 |      |
|    | tat ttt gaa ctg aac gat gga cgg aag ctt tgc ctt gag tgt cta gac  |     |     | 1382 |
|    | Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp  |     |     |      |
|    | 270  | 275 | 280 |      |
| 20 | tca tcg gtg atg gac act ttt caa tgc cag cct ctg tac ttg cag ata  |     |     | 1430 |
|    | Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile  |     |     |      |
|    | 285  | 290 | 295 |      |
| 25 | caa gag ttc tac gaa gga ctt aac atg acg gta gag cag gag gtt cca  |     |     | 1478 |
|    | Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro  |     |     |      |
|    | 300  | 305 | 310 |      |
|    | ctt ctg ttg gtt gag agg caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa  |     |     | 1526 |
| 30 | Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu  |     |     |      |
|    | 315  | 320 | 325 | 330  |
|    | agg aat gtgagtagaa caaaaaaaaaa acaaatttac ttagtaact attgagaat    |     |     | 1582 |
|    | Arg Asn  |     |     |      |
| 35 |  |     |     |      |
|    | gtgtcacatt tatatttgtt cattgtgtgc tttcttag ggt cac tat cac atg    |     |     | 1636 |
|    | Gly His Tyr His Met  |     |     |      |
|    | 335  |     |     |      |
| 40 |  |     |     |      |

cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gag gaa caa act gtt aga act 1684  
Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr  
340 345 350

5 gtg aga aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca gag 1732  
Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu  
355 360 365

caa ttc aag cta act cgc cgg tgc gag gtt act gcc att ctc atc tta 1780  
10 Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
370 375 380 385

ttt ggt ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg 1828  
Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
15 390 395 400

atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa g gtgagttct tgctcttgt 1873  
Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys  
405

20 ttcttatcta actgctctc ttgttcacg ttgttgaac cggtactaca atgtgtggtc 1933

ttgaaaaag gg ttc cgg aca ctg agc caa gat gtt gaa gag ggg ata tgt 1983  
Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys  
25 410 415 420

caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa gtt gag ttg gct gct ggg tct 2031  
Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser  
425 430 435

30 aga aac agc aac gct gca tca tct tct tat gga gga gtg aag aag gga 2079  
Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly  
440 445 450 455

35 cca aag tcg cag tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac cag 2127  
Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln  
460 465 470

ata gag tct gat gct tct ccg gtt tat gga gat ggg ttc agg gcc ggg 2175  
40 Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly

475 480 485

agg tta gca gtt agc aag tat ggt ttg agg aga aca ctt gag cat ata 2223

Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile

5 490 495 500

caa atg act ggg aga ttc ccg gtt taa 2250

Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

505 510

10

<210> 10

<211> 1536

<212> ДНК

<213> Brassica napus

15

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1536)

20

<220>

<221> мутація

<222> (889)..(889)

<223> C=>T в YIIN610

25

<220>

<221> мутація

<222> (1045)..(1045)

<223> C=>T в YIIN612

30

<220>

<221> мутація

<222> (1246)..(1246)

<223> C=>T в YIIN611

35

<220>

<221> мутація

<222> (1290)..(1290)

<223> C=>T в YIIN613

40

<400> 10

atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg ccc ccc 48

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro

1 5 10 15

5

gtg ggg aat gag tac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac 96

Val Gly Asn Glu Tyr Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

20 25 30

10 ccg cac gaa cat tct gag cct agt gca gag aca gat gct gat cat acg 144

Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr

35 40 45

cag gaa cca tct act tct gag gaa gag aca tgg aat ggg cag gaa aat 192

15 Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Gln Glu Asn

50 55 60

gaa gaa gta gac cgt gca att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat 240

Glu Glu Val Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn

20 65 70 75 80

caa gga cca gag act aat aca ggc gcc tgg aaa cac gca atg atg gat 288

Gln Gly Pro Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp

85 90 95

25

gac gat gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gtt agg 336

Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Val Arg

100 105 110

30

aat gga act act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg 384

Asn Gly Thr Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met

115 120 125

35 cat gga gga ggc aat gta tat gac agt ggt gat att tat tat cca aga 432

His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Asp Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg

130 135 140

cct att gct ttc tca atg gac ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg 480

40 Pro Ile Ala Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met

|    |   |     |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|-----|
|    | 145   | 150 | 155 | 160 |     |
|    | gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgc atc aac gca cta tgg cat |     |     |     | 528 |
|    | Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Ile Asn Ala Leu Trp His |     |     |     |     |
| 5  | 165   | 170 | 175 |     |     |
|    | cca caa tgt ttt cga tgt cat ggc tgc agt cac cca atc tct gag tac |     |     |     | 576 |
|    | Pro Gln Cys Phe Arg Cys His Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr |     |     |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |     |     |
| 10 |   |     |     |     |     |
|    | gag ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg |     |     |     | 624 |
|    | Glu Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg |     |     |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |     |     |
| 15 |   |     |     |     |     |
|    | gag agg ttt cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca acg |     |     |     | 672 |
|    | Glu Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr |     |     |     |     |
|    | 210   | 215 | 220 |     |     |
|    | aac cat gct ggt ctt ata gag tat aga gca cat cct ttc tgg gtc cag |     |     |     | 720 |
| 20 | Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln |     |     |     |     |
|    | 225   | 230 | 235 | 240 |     |
|    | aag tat tgc cca tct cac gaa cac gat gct act cct aga tgt tgc agt |     |     |     | 768 |
|    | Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser |     |     |     |     |
| 25 | 245   | 250 | 255 |     |     |
|    | tgt gaa aga atg gag tca cgg aat aca gga tat ttt gaa ctc aac gat |     |     |     | 816 |
|    | Cys Glu Arg Met Glu Ser Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp |     |     |     |     |
|    | 260   | 265 | 270 |     |     |
| 30 |   |     |     |     |     |
|    | gga cgg aag ctt tgc ctt gag tgt cta gac tca tcg gtg atg gac act |     |     |     | 864 |
|    | Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr |     |     |     |     |
|    | 275   | 280 | 285 |     |     |
| 35 |   |     |     |     |     |
|    | ttt caa tgc cag cct ctg tac ttg cag ata caa gag ttc tac gaa gga |     |     |     | 912 |
|    | Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly |     |     |     |     |
|    | 290   | 295 | 300 |     |     |
|    | ctt aac atg acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc ttg gtt gag agg |     |     |     | 960 |
| 40 | Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg |     |     |     |     |

|    |   |     |     |     |      |
|----|---|-----|-----|-----|------|
|    | 305   | 310 | 315 | 320 |      |
|    | caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat ggt cac tat cac |     |     |     | 1008 |
|    | Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His |     |     |     |      |
| 5  |   | 325 | 330 | 335 |      |
|    | atg cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gag gaa caa act gtt aga |     |     |     | 1056 |
|    | Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg |     |     |     |      |
|    |   | 340 | 345 | 350 |      |
| 10 | act gtg aga aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca |     |     |     | 1104 |
|    | Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr |     |     |     |      |
|    |   | 355 | 360 | 365 |      |
| 15 | gag caa ttc aag cta act cgc cgg tgc gag gtt act gcc att ctc atc |     |     |     | 1152 |
|    | Glu Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile |     |     |     |      |
|    |   | 370 | 375 | 380 |      |
|    | tta ttt ggt ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag |     |     |     | 1200 |
| 20 | Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu |     |     |     |      |
|    |   | 385 | 390 | 395 | 400  |
|    | atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa ggg ttc cgg aca ctg agc caa |     |     |     | 1248 |
|    | Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln |     |     |     |      |
| 25 |   | 405 | 410 | 415 |      |
|    | gat gtt gaa gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa |     |     |     | 1296 |
|    | Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu |     |     |     |      |
|    |   | 420 | 425 | 430 |      |
| 30 | gtt gag ttg gct gct ggg tct aga aac agc aac gct gca tca tct tct |     |     |     | 1344 |
|    | Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser |     |     |     |      |
|    |   | 435 | 440 | 445 |      |
| 35 | tat gga gga gtg aag aag gga cca aag tcg cag tac gag agg aag ctt |     |     |     | 1392 |
|    | Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu |     |     |     |      |
|    |   | 450 | 455 | 460 |      |
|    | ggg gag ttt ttc aag cac cag ata gag tct gat gct tct ccg gtt tat |     |     |     | 1440 |
| 40 | Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr |     |     |     |      |

465                      470                      475                      480

gga gat ggg ttc agg gcc ggg agg tta gca gtt agc aag tat ggt ttg      1488  
 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu

5                      485                      490                      495

agg aga aca ctt gag cat ata caa atg act ggg aga ttc ccg gtt taa      1536  
 Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

                    500                      505                      510

10

<210> 11  
 <211> 511  
 <212> PRT

15 <213> Brassica napus

<400> 11

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro

20    1                      5                      10                      15

Val Gly Asn Glu Tyr Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

                    20                      25                      30

25    Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr

                    35                      40                      45

Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Gln Glu Asn

30    50                      55                      60

Glu Glu Val Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn

65                      70                      75                      80

35    Gln Gly Pro Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp

                    85                      90                      95

Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Val Arg

                    100                      105                      110

40

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



Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg  
340 345 350

5 Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr  
355 360 365

Glu Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile  
370 375 380

10 Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu  
385 390 395 400

Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln  
405 410 415

15 Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu  
420 425 430

Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser  
20 435 440 445

Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
450 455 460

25 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
465 470 475 480

Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu  
485 490 495

30 Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
500 505 510

35 <210> 12  
<211> 2286  
<212> ДНК  
<213> Brassica napus

40

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (1)..(171)  
 <223> экзон 1

5

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (247)..(340)  
 <223> экзон 2

10

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (425)..(650)  
 <223> экзон 3

15

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (735)..(855)  
 <223> экзон 4

20

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (939)..(1022)  
 <223> экзон 5

25

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (1151)..(1270)  
 <223> экзон 6

30

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (1356)..(1568)  
 <223> экзон 7

35

<220>  
 <221> экзон  
 <222> (1662)..(1902)  
 <223> экзон 8-9

40

<220>

<221> екзон

<222> (1970)..(2286)

<223> екзон 10

5

<220>

<221> мутація

<222> (2011)..(2011)

<223> C=>T в YIIN614/YIIN615

10

<400> 12

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

15

1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

20

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

25

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactataa ctgtctttac 191

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu

50 55

atatctctgg ctgctgtac tgttgcttca acatttttt gttcccttt actag gag 249

30

Glu

gat aca tcc ggc cag gag aat gac gac att gac cgt gct atc gca ttg 297

Asp Thr Ser Gly Gln Glu Asn Asp Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu

35

60 65 70

tct ctt ata gaa aac agt caa gga cat act aac aca ggc gcc g 340

Ser Leu Ile Glu Asn Ser Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala

75 80 85

40

gtgagtcctt ttccttgcc aaactagaaa gaaatatgaa ttatgaaact cggtttgta 400

catttaacag aatagtgaac gcag gg aag tac gca atg gtg gat gaa gat 450  
 Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu Asp

5 90 95

gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat aca 498  
 Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn Thr

100 105 110

10

ccg cgt cag aag cat gga agc agt tat gat att ggg aac gca tat ggt 546  
 Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr Gly

115 120 125

15

gct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat gtt 594  
 Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val

130 135 140 145

20

tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act gct ttt cct atg 642  
 Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met

150 155 160

gat ttc ag gttcactttt gatactcaat taatcatctg tagcctgttt 690  
 Asp Phe Arg

25

aacttggttg agatgtgtta aataacttat caagaacacc ttag g att tgt gct 744  
 Ile Cys Ala

165

30

ggc tgc aat atg gag att ggg cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat 792  
 Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn

170 175 180

35

gca ctg tgg cat ccg gaa tgt ttt cga tgc tat ggc tgt agg cac ccc 840  
 Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro

185 190 195

att tct gag tac gag gtgaaatcaa gctttctcat tctttctttt gtagttaacc 895  
 Ile Ser Glu Tyr Glu

40

200

tttgatgtaa tgaataacat gtttccttt ttttcttaa tag ttc tca aca tct 950

Phe Ser Thr Ser

5

205

ggg aac tac cct ttc cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca 998

Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro

210

215

220

10

aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt gtagttaaatt ctttagtctt tgtttccat 1052

Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe

225

230

15

cattaaagtg cctatttatg cgtgtttct ttcggatagt gcactatta tatcttctgt 1112

tgattttctt gtttcgaat gtaaatttgt tgtgacag att cca aca aac cat gct 1168

Ile Pro Thr Asn His Ala

235

20

ggg ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tac tgc 1216

Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys

240

245

250

25

cct tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga 1264

Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg

255

260

265

270

atg gag gtgagtttt ctccccaaaa tgtgtccac aacaaacatc tgctcaaagt 1320

30

Met Glu

cgaaatgtca acttcggtt ttttttctt ttag cca cgg aat aca gga tat 1373

Pro Arg Asn Thr Gly Tyr

35

275

gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt tgc ctg gag tgt ctg gac tca 1421

Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser

280

285

290

40

gca gtc atg gac act ttt caa tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa 1469  
Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln  
295 300 305 310

5 gaa ttc tat gaa ggg ctt ttc atg aag gta gag cag gac gtt cca ctt 1517  
Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu  
315 320 325

ctt tta gtt gag agg caa gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag 1565  
10 Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys  
330 335 340

aat gtgagtagca aaaagaaaaa cacaattata cttcagtaca tatatcacct 1618  
Asn  
15

ttttcacaa gtgtttaag cttttcattg tgtgcttcct tag ggt cac tat cac 1673  
Gly His Tyr His  
345  
20

atg cca gag acg aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc 1721  
Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser  
350 355 360

25 act gtg aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat 1769  
Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn  
365 370 375

atg att aca gag cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtt act gcc 1817  
30 Met Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala  
380 385 390 395

att ctc atc ttg ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta 1865  
Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu  
35 400 405 410

gct cat gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa g gtgagtttct 1912  
Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys  
415 420  
40

tagttcactg cttctcttt ttccacattg ttgaatctct attgtggtct tgaaaag 1969

ga ttc cgg acg ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gta 2016

Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val

5 425 430 435

atg gct cat aag tgg ttg gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac 2064

Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn

440 445 450 455

10

agc aat gtt gca tca tca tca tct tct tct tct gga gga ttg aag aag 2112

Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys

460 465 470

gga cca aga tcg caa tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac 2160

15 Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His

475 480 485

caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct 2208

Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala

20 490 495 500

ggg agg tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg ccg aaa aca ctt gag cat 2256

Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His

505 510 515

25

ata cat atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa 2286

Ile His Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

520 525

30

<210> 13

<211> 1587

<212> ДНК

<213> Brassica napus

35

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1587)

40

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; мутація

&lt;222&gt; (1312)..(1312)

&lt;223&gt; C=&gt;T в YIIN614/YIIN615

5

&lt;400&gt; 13

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

10

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

15 gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gag 192

20 His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

50 55 60

aat gac gac att gac cgt gct atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240

Asn Asp Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

25 65 70 75 80

caa gga cat act aac aca ggc gcc ggg aag tac gca atg gtg gat gaa 288

Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu

85 90 95

30

gat gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat 336

Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn

100 105 110

35 aca ccg cgt cag aag cat gga agc agt tat gat att ggg aac gca tat 384

Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr

115 120 125

ggg gct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat 432

40 Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn



|    |   |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|
|    | 130   | 135 | 140 |     |
|    | ggt tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act gct ttt cct |     |     | 480 |
|    | Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro |     |     |     |
| 5  | 145   | 150 | 155 | 160 |
|    | atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att ggg cat gga |     |     | 528 |
|    | Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly |     |     |     |
|    | 165   | 170 | 175 |     |
| 10 | aga tat ctg aat tgc ttg aat gca ctg tgg cat ccg gaa tgt ttt cga |     |     | 576 |
|    | Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe Arg |     |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |     |
| 15 | tgc tat ggc tgt agg cac ccc att tct gag tac gag ttc tca aca tct |     |     | 624 |
|    | Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr Ser |     |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |     |
|    | ggg aac tac cct ttc cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca |     |     | 672 |
| 20 | Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro |     |     |     |
|    | 210   | 215 | 220 |     |
|    | aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat gct ggt ctt |     |     | 720 |
|    | Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu |     |     |     |
| 25 | 225   | 230 | 235 | 240 |
|    | att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tac tgc cct tct |     |     | 768 |
|    | Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser |     |     |     |
|    | 245   | 250 | 255 |     |
| 30 | cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg gag |     |     | 816 |
|    | His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu |     |     |     |
|    | 260   | 265 | 270 |     |
| 35 | cca cgg aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt tgc |     |     | 864 |
|    | Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys |     |     |     |
|    | 275   | 280 | 285 |     |
|    | ctg gag tgt ctg gac tca gca gtc atg gac act ttt caa tgc caa cct |     |     | 912 |
| 40 | Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro |     |     |     |

|    |   |     |     |      |
|----|---|-----|-----|------|
|    | 290   | 295 | 300 |      |
|    | ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tat gaa ggg ctt ttc atg aag gta |     |     | 960  |
|    | Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys Val |     |     |      |
| 5  | 305   | 310 | 315 | 320  |
|    | gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctc aac gaa |     |     | 1008 |
|    | Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu |     |     |      |
|    | 325   | 330 | 335 |      |
| 10 | gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca gag acg aga |     |     | 1056 |
|    | Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg |     |     |      |
|    | 340   | 345 | 350 |      |
| 15 | gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gtg aga aag aga |     |     | 1104 |
|    | Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys Arg |     |     |      |
|    | 355   | 360 | 365 |      |
|    | tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att aca gag cct |     |     | 1152 |
| 20 | Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu Pro |     |     |      |
|    | 370   | 375 | 380 |      |
|    | tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc atc ttg ttt |     |     | 1200 |
|    | Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe |     |     |      |
| 25 | 385   | 390 | 395 | 400  |
|    | ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg atg |     |     | 1248 |
|    | Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met |     |     |      |
|    | 405   | 410 | 415 |      |
| 30 | cac gcg tgg atg cgg ctc aaa gga ttc cgg acg ctg agc caa gac gtt |     |     | 1296 |
|    | His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val |     |     |      |
|    | 420   | 425 | 430 |      |
| 35 | gaa gaa gga ata tgt caa gta atg gct cat aag tgg ttg gaa gca gag |     |     | 1344 |
|    | Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu |     |     |      |
|    | 435   | 440 | 445 |      |
|    | tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gca tca tca tct tct     |     |     | 1392 |
| 40 | Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Ser |     |     |      |

450 455 460

tct tct gga gga ttg aag aag gga cca aga tcg caa tac gag agg aag 1440  
 Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys

5 465 470 475 480

ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt 1488  
 Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val

485 490 495

10 tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac aag tat ggt 1536  
 Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly

500 505 510

15 ttg ccg aaa aca ctt gag cat ata cat atg acc ggt aga ttc ccg gtt 1584  
 Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile His Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

515 520 525

taa 1587

20

<210> 14  
 <211> 528  
 <212> PRT

25 <213> Brassica napus

<400> 14

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

30 1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

35 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

50 55 60

40 Asn Asp Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

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

Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro  
 290 295 300  
  
 5 Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys Val  
 305 310 315 320  
  
 Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu  
 325 330 335  
 10  
 Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg  
 340 345 350  
  
 Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys Arg  
 15 355 360 365  
  
 Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu Pro  
 370 375 380  
 20  
 Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe  
 385 390 395 400  
  
 Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met  
 25 405 410 415  
  
 His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val  
 420 425 430  
  
 30 Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu  
 435 440 445  
  
 Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Ser  
 450 455 460  
 35  
 Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys  
 465 470 475 480  
  
 Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val  
 40 485 490 495

Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly  
500 505 510

5 Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile His Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
515 520 525

<210> 15

10 <211> 2267

<212> ДНК

<213> Brassica napus

15 <220>

<221> экзон

<222> (1)..(171)

<223> экзон 1

20 <220>

<221> экзон

<222> (244)..(340)

<223> экзон 2

25 <220>

<221> экзон

<222> (421)..(646)

<223> экзон 3

30 <220>

<221> экзон

<222> (737)..(857)

<223> экзон 4

35 <220>

<221> экзон

<222> (933)..(1016)

<223> экзон 5

<220>

40 <221> экзон

<222> (1129)..(1248)

<223> экзон 6

<220>

5 <221> экзон

<222> (1333)..(1545)

<223> экзон 7

<220>

10 <221> экзон

<222> (1647)..(1828)

<223> экзон 8

<220>

15 <221> экзон

<222> (1829)..(1887)

<223> экзон 9

<220>

20 <221> экзон

<222> (1957)..(2267)

<223> экзон 10

<400> 15

25 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

30 Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactataa ctctctttac 191

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu

50 55

40

atatctctgg ttgtactat tgctcaaca tttgttgtt tcccttact ag gag gat 249  
 Glu Asp

5 aca tcc ggc cag gaa aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct 297  
 Thr Ser Gly Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser  
 60 65 70 75

ctt ata gaa aac agt caa gga cag act aat aat aca tgc gct g 340  
 10 Leu Ile Glu Asn Ser Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala  
 80 85

gtgagtcctt tttccttgcc aaactagaaa tatgaattat gaaactcggg ttgttacatt 400

15 taaaagaata gccaacgcag gg aag tac gca atg gtg gat gaa gat gag caa 452  
 Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu Asp Glu Gln  
 90 95 100

ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat aca ccg cgt 500  
 20 Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn Thr Pro Arg  
 105 110 115

cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca tat ggg gct gga 548  
 Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly  
 25 120 125 130

gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat gta tat gcc 596  
 Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala  
 135 140 145

30 aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc cca atg gat ttc 644  
 Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met Asp Phe  
 150 155 160

35 ag gttcactttg atactcaatc aatcatctgt agcctgtttg ttaagtttct 696  
 Arg  
 165

ttccagttaa gtaactcacc aacaacgtgt cactacctag g att tgt gct ggc tgc 752  
 40 Ile Cys Ala Gly Cys



170

|    |   |      |
|----|---|------|
|    | aat atg gag att gga cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta   | 800  |
|    | Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu   |      |
| 5  | 175 180 185   |      |
|    | tggttgcatcca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cat ccc atc tct  | 848  |
|    | Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser   |      |
|    | 190 195 200   |      |
| 10 |   |      |
|    | gag tac gag gtgaagtcaa gctttcttat tcttttgatt gtagataacc           | 897  |
|    | Glu Tyr Glu   |      |
|    | 205   |      |
| 15 | ttcaaaatta acgcataaca tgttttcctt tatag ttc tca acg tct ggg aac    | 950  |
|    | Phe Ser Thr Ser Gly Asn   |      |
|    | 210   |      |
|    | tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca aaa tgt   | 998  |
| 20 | Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys   |      |
|    | 215 220 225   |      |
|    | gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaat ctttagcctt ttttcattt           | 1046 |
|    | Asp Val Cys Ser Leu Phe   |      |
| 25 | 230   |      |
|    | ttaaagtgcc tatatatgcc ttgtttcctt cggatattgc acttatcttc tgttgatttt | 1106 |
|    | cttgtttcga atgtgtgac ag att cca aca aac cat gct ggt ctt att gaa   | 1158 |
| 30 | Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu                           |      |
|    | 235 240   |      |
|    | tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct tct cac gaa   | 1206 |
|    | Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu   |      |
| 35 | 245 250 255   |      |
|    | cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg gag           | 1248 |
|    | His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu           |      |
|    | 260 265 270   |      |
| 40 |   |      |

gttgagtttt tctcccccta agtgtcctac aacaaacatc ttcccaaagt caataactaat 1308

ttgccagctt tcgtttatgt gcag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt 1359  
Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu  
5 275 280

aac gat gga cgg aaa ctt tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg 1407  
Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met  
285 290 295

10 gac act ttt caa tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac 1455  
Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr  
300 305 310

15 gaa ggt ctt ttc atg aag gtt gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt 1503  
Glu Gly Leu Phe Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val  
315 320 325 330

gag agg caa gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat 1545  
20 Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn  
335 340

gtgagtaaac aacatacagt tgtcaagtaa tttatttgaa tatatcacat ttattttgt 1605

25 ttatccgaa gtgtttaac ttttggtgt gttcttcta g ggt cac tat cac atg 1661  
Gly His Tyr His Met  
345

cca gag aca aaa gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act 1709  
30 Pro Glu Thr Lys Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr  
350 355 360 365

gta aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg 1757  
Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met  
35 370 375 380

att aca gag cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtc act gcc att 1805  
Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile  
385 390 395

40

ctc atc ttg ttt ggg ctc cct ag g cta ctc acc ggt tcg att cta gct 1853  
 Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala  
 400 405 410

5 cat gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag g gtgagtttct 1897  
 His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys  
 415 420

tagttcactg cttctctttt ttttcacat tgttgaatct ctattgtggt ctgaaaag 1956

10

ga ttc cgg acg ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg 2003  
 Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val  
 425 430 435 440

15 atg gct cat aag tgg ttg gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac 2051  
 Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn  
 445 450 455

agc aat gtt gcg tca tct tca tct tct aga gga gtg aag aag gga cca 2099  
 20 Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro  
 460 465 470

aga tcg cag tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc 2147  
 Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile  
 475 480 485

25

gag tct gat gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg 2195  
 Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg  
 490 495 500

30 tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg cca aaa aca ctt gag cat ata cag 2243  
 Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln  
 505 510 515 520

atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa 2267

35 Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 525

<210> 16

40 <211> 1584

<212> ДНК

<213> Brassica napus

5 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(1584)

<400> 16

10 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

15 Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

20 35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gaa 192

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

50 55 60

25

aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240

Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

65 70 75 80

30 caa gga cag act aat aat aca tgc gct ggg aag tac gca atg gtg gat 288

Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp

85 90 95

gaa gat gag caa ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg 336

35 Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly

100 105 110

aat aca ccg cgt cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca 384

Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala

40 115 120 125

tat ggg gct gga gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga 432  
 Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly  
 130 135 140

5

aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc 480  
 Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe  
 145 150 155 160

10

cca atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att gga cat 528  
 Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His  
 165 170 175

15

gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta tgg cat cca gaa tgt ttt 576  
 Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe  
 180 185 190

20

cga tgt tat ggc tgt agg cat ccc atc tct gag tac gag ttc tca acg 624  
 Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr  
 195 200 205

25

tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat 672  
 Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His  
 210 215 220

30

cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat gct ggt 720  
 Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly  
 225 230 235 240

35

ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct 768  
 Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro  
 245 250 255

40

tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg 816  
 Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met  
 260 265 270

gag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt 864  
 Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu  
 275 280 285

tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg gac act ttt caa tgc caa 912  
 Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln  
 290 295 300

5

cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac gaa ggt ctt ttc atg aag 960  
 Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys  
 305 310 315 320

10

gtt gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctc aac 1008  
 Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn  
 325 330 335

15

gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca gag aca 1056  
 Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr  
 340 345 350

20

aaa gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gta aga aag 1104  
 Lys Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys  
 355 360 365

25

aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att aca gag 1152  
 Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu  
 370 375 380

30

cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtc act gcc att ctc atc ttg 1200  
 Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
 385 390 395 400

35

ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg 1248  
 Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
 405 410 415

40

atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag gga ttc cgg acg ctg agc caa gac 1296  
 Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp  
 420 425 430

45

gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg ttg gaa gca 1344  
 Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala  
 435 440 445

gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gcg tca tct tca tct 1392  
 Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser  
 450 455 460

5 tct aga gga gtg aag aag gga cca aga tcg cag tac gag agg aag ctt 1440  
 Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
 465 470 475 480

10 ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt tat 1488  
 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
 485 490 495

15 gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg 1536  
 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
 500 505 510

20 cca aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa 1584  
 Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 515 520 525

<210> 17  
 <211> 527  
 25 <212> PRT  
 <213> Brassica napus

<400> 17

30 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 20 25 30

35 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr  
 35 40 45

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu  
 40 50 55 60

Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser  
 65                      70                      75                      80

5    Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp  
                     85                      90                      95

Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly  
                     100                      105                      110

10    Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala  
                     115                      120                      125

Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly  
 15    130                      135                      140

Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe  
 145                      150                      155                      160

20    Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His  
                     165                      170                      175

Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe  
                     180                      185                      190

25    Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr  
                     195                      200                      205

Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His  
 30    210                      215                      220

Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly  
 225                      230                      235                      240

35    Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro  
                     245                      250                      255

Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met  
                     260                      265                      270

40



|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|    | Glu | Pro | Arg | Asn | Thr | Gly | Tyr | Val | Glu | Leu | Asn | Asp | Gly | Arg | Lys | Leu |  |
|    | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Cys | Leu | Glu | Cys | Leu | Asp | Ser | Ala | Val | Met | Asp | Thr | Phe | Gln | Cys | Gln |  |
| 5  | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     |     |     | 300 |     |     |     |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Pro | Leu | Tyr | Leu | Gln | Ile | Gln | Glu | Phe | Tyr | Glu | Gly | Leu | Phe | Met | Lys |  |
|    | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     |     |     | 315 |     |     | 320 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 10 | Val | Glu | Gln | Asp | Val | Pro | Leu | Leu | Leu | Val | Glu | Arg | Gln | Ala | Leu | Asn |  |
|    |     |     |     |     |     | 325 |     |     |     |     |     |     | 330 |     |     | 335 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Glu | Ala | Arg | Glu | Gly | Glu | Lys | Asn | Gly | His | Tyr | His | Met | Pro | Glu | Thr |  |
|    |     |     |     |     |     | 340 |     |     |     |     |     |     | 345 |     |     | 350 |  |
| 15 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Lys | Gly | Leu | Cys | Leu | Ser | Glu | Glu | Gln | Thr | Val | Ser | Thr | Val | Arg | Lys |  |
|    |     |     |     |     |     | 355 |     |     |     |     |     |     | 360 |     |     | 365 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Arg | Ser | Lys | His | Gly | Thr | Gly | Asn | Trp | Ala | Gly | Asn | Met | Ile | Thr | Glu |  |
| 20 | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     |     |     | 380 |     |     |     |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Pro | Tyr | Lys | Leu | Thr | Arg | Gln | Cys | Glu | Val | Thr | Ala | Ile | Leu | Ile | Leu |  |
|    | 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     |     |     | 395 |     |     | 400 |  |
| 25 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Phe | Gly | Leu | Pro | Arg | Leu | Leu | Thr | Gly | Ser | Ile | Leu | Ala | His | Glu | Met |  |
|    |     |     |     |     |     | 405 |     |     |     |     |     |     | 410 |     |     | 415 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Met | His | Ala | Trp | Met | Arg | Leu | Lys | Gly | Phe | Arg | Thr | Leu | Ser | Gln | Asp |  |
| 30 |     |     |     |     |     | 420 |     |     |     |     |     |     | 425 |     |     | 430 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Val | Glu | Glu | Gly | Ile | Cys | Gln | Val | Met | Ala | His | Lys | Trp | Leu | Glu | Ala |  |
|    |     |     |     |     |     | 435 |     |     |     |     |     |     | 440 |     |     | 445 |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| 35 | Glu | Leu | Ala | Ala | Gly | Ser | Arg | Asn | Ser | Asn | Val | Ala | Ser | Ser | Ser | Ser |  |
|    | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     |     | 460 |     |     |     |  |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|    | Ser | Arg | Gly | Val | Lys | Lys | Gly | Pro | Arg | Ser | Gln | Tyr | Glu | Arg | Lys | Leu |  |
|    | 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     | 475 |     |     | 480 |  |
| 40 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
485 490 495

5 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
500 505 510

Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
515 520 525

10

<210> 18  
<211> 26  
<212> ДНК  
<213> штучна

15

<220>  
<223> праймер 1 для DA1-A1-EMS03

<400> 18

20 acgagtttagc ttgaattgct ctgtaa 26

<210> 19

<211> 25

25 <212> ДНК

<213> штучна

<220>

<223> праймер 2 для DA1-A1-EMS03

30

<400> 19

tctgtcggaa gaacaaactg ttaga 25

35 <210> 20

<211> 14

<212> ДНК

<213> штучна

40

<220>

<223> FAM probe для DA1-A1-EMS03

<400> 20

cccacttcag tttc

14

5

<210> 21

<211> 18

<212> ДНК

10 <213> штучна

<220>

<223> DA1-A1-EMS03

15 <400> 21

atattcccac tccagttt

18

<210> 22

20 <211> 28

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

25 <223> праймер 1 для DA1-A2-EMS01

<400> 22

gagcaaaactg ttagcactgt aagaaga

28

30

<210> 23

<211> 21

<212> ДНК

<213> штучна

35

<220>

<223> праймер 2 для DA1-A2-EMS01

<400> 23

40 cctcgattg acgtgtcaac t

21

<210> 24  
 <211> 17  
 5 <212> ДНК  
 <213> штучна  
  
 <220>  
 <223> FAM probe для DA1-A2-EMS01  
 10  
 <400> 24  
 cacaggaaac taggctg 17  
  
 15 <210> 25  
 <211> 16  
 <212> ДНК  
 <213> штучна  
  
 20 <220>  
 <223> VIC probe для DA1-A2-EMS01  
  
 <400> 25  
 acaggaact gggctg 16  
 25  
  
 <210> 26  
 <211> 25  
 <212> ДНК  
 30 <213> штучна  
  
 <220>  
 <223> праймер 1 для DA1-A2-EMS05  
  
 35 <400> 26  
 ccatgcttcg atctcttct tacag 25  
  
 <210> 27  
 40 <211> 24

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

5 <223> праймер 2 для DA1-A2-EMS05

<400> 27

taggtcact atcacatgcc agag

24

10

<210> 28

<211> 16

<212> ДНК

<213> штучна

15

<220>

<223> FAM probe для DA1-A2-EMS05

<400> 28

20 aaggcagagt cctttt

16

<210> 29

<211> 15

25 <212> ДНК

<213> штучна

<220>

<223> VIC probe для DA1-A2-EMS05

30

<400> 29

aggcagagtc ctctt

15

35 <210> 30

<211> 24

<212> ДНК

<213> штучна

40

<220>

<223> праймер 1 для DA1-C1-EMS02

<400> 30

ccatcacttg acatatcccc tctt

24

5

<210> 31

<211> 26

<212> ДНК

10 <213> штучна

<220>

<223> праймер 2 для DA1-C1-EMS02

15 <400> 31

actacaatgt gtggtcttga aaaagg

26

<210> 32

20 <211> 18

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

25 <223> FAM probe для DA1-C1-EMS02

<400> 32

aacatcttag ctcagtg

18

30

<210> 33

<211> 18

<212> ДНК

<213> штучна

35

<220>

<223> VIC probe для DA1-C1-EMS02

<400> 33

40 acatcttggc tcagtg

18

|    |                                  |    |
|----|----------------------------------|----|
|    | <210> 34                         |    |
|    | <211> 24                         |    |
| 5  | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
|    | <220>                            |    |
|    | <223> праймер 1 для DA1-C1-EMS03 |    |
| 10 | <400> 34                         |    |
|    | ctttagggtc actatcacat gccca      | 24 |
| 15 | <210> 35                         |    |
|    | <211> 22                         |    |
|    | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
| 20 | <220>                            |    |
|    | <223> праймер 2 для DA1-C1-EMS03 |    |
|    | <400> 35                         |    |
|    | attcccactc cagtttcct tc          | 22 |
| 25 |                                  |    |
|    | <210> 36                         |    |
|    | <211> 16                         |    |
|    | <212> ДНК                        |    |
| 30 | <213> штучна                     |    |
|    | <220>                            |    |
|    | <223> FAM probe для DA1-C1-EMS03 |    |
| 35 | <400> 36                         |    |
|    | tttcagagga атааас                | 16 |
|    | <210> 37                         |    |
| 40 | <211> 16                         |    |

|    |                                  |    |
|----|----------------------------------|----|
|    | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
|    | <220>                            |    |
| 5  | <223> VIC probe для DA1-C1-EMS03 |    |
|    | <400> 37                         |    |
|    | tttcagagga асааас                | 16 |
| 10 | <210> 38                         |    |
|    | <211> 19                         |    |
|    | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
| 15 | <220>                            |    |
|    | <223> праймер 1 для DA1-C2-EMS02 |    |
|    | <400> 38                         |    |
| 20 | cgctgagcca agacgttga             | 19 |
|    | <210> 39                         |    |
|    | <211> 23                         |    |
| 25 | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
|    | <220>                            |    |
|    | <223> праймер 2 для DA1-C2-EMS02 |    |
| 30 | <400> 39                         |    |
|    | саacattgct gtttcttgaа сса        | 23 |
| 35 | <210> 40                         |    |
|    | <211> 20                         |    |
|    | <212> ДНК                        |    |
|    | <213> штучна                     |    |
| 40 | <220>                            |    |



<223> FAM probe для DA1-C2-EMS02

<400> 40

aggaatatgt taagtaatgg 20

5

<210> 41

<211> 19

<212> ДНК

10 <213> штучна

<220>

<223> VIC probe для DA1-C2-EMS02

15 <400> 41

aggaatatgt caagtaatg 19

<210> 42

20 <211> 24

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

25 <223> праймер 1 для DA1-C1-EMS04

<400> 42

acactgagcc aagatgttga agag 24

30

<210> 43

<211> 21

<212> ДНК

<213> штучна

35

<220>

<223> праймер 2 для DA1-C1-EMS04

<400> 43

40 tgcagcgttg ctgtttctag a 21

<210> 44  
 <211> 17  
 5 <212> ДНК  
 <213> штучна  
  
 <220>  
 <223> FAM probe для DA1-C1-EMS04  
 10  
 <400> 44  
 atggctcata agtgatt 17  
  
 15 <210> 45  
 <211> 22  
 <212> ДНК  
 <213> штучна  
  
 20 <220>  
 <223> VIC probe для DA1-C1-EMS04  
  
 <400> 45  
 tcataagtgg ttagaagttg ag 22  
 25  
  
 <210> 46  
 <211> 16  
 <212> ДНК  
 30 <213> штучна  
  
 <220>  
 <223> праймер 1 для DA1-A2-EMS02  
  
 35 <400> 46  
 ccggacgctg agccaa 16  
  
 <210> 47  
 40 <211> 23

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

5 <223> праймер 2 для DA1-A2-EMS02

<400> 47

cttgaaccag cagctaactc tgc

23

10

<210> 48

<211> 22

<212> ДНК

<213> штучна

15

<220>

<223> FAM probe для DA1-A2-EMS02

<400> 48

20 agaaggaata tgtaagtga tg

22

<210> 49

<211> 20

25 <212> ДНК

<213> штучна

<220>

<223> VIC probe для DA1-A2-EMS02

30

<400> 49

agaaggaata tgtcaagtga

20

35 <210> 50

<211> 25

<212> ДНК

<213> штучна

40

<220>

<223> праймер 1 для DA1-A2-EMS03

<400> 50

ctattgtggt cttgaaaagg attcc

25

5

<210> 51

<211> 24

<212> ДНК

10 <213> штучна

<220>

<223> праймер 2 для DA1-A2-EMS03

15 <400> 51

atgagccatc acttgacata ttcc

24

<210> 52

20 <211> 14

<212> ДНК

<213> штучна

<220>

25 <223> FAM probe для DA1-A2-EMS03

<400> 52

cgctgagcta agac

14

30

<210> 53

<211> 14

<212> ДНК

<213> штучна

35

<220>

<223> VIC probe для DA1-A2-EMS03

<400> 53

40 acgctgagcc aaga

14

<210> 54  
 <211> 2234  
 5 <212> ДНК  
 <213> Brassica rapa

<220>  
 10 <221> экзон  
 <222> (1)..(156)  
 <223> экзон 1

<220>  
 15 <221> экзон  
 <222> (322)..(424)  
 <223> экзон 2

<220>  
 20 <221> экзон  
 <222> (537)..(726)  
 <223> экзон 3

<220>  
 25 <221> экзон  
 <222> (813)..(933)  
 <223> экзон 4

<220>  
 30 <221> экзон  
 <222> (1022)..(1105)  
 <223> экзон 5

<220>  
 35 <221> экзон  
 <222> (1182)..(1514)  
 <223> экзон 6-7

<220>  
 40 <221> экзон

<222> (1597)..(1828)

<223> экзон 8-9

<220>

5 <221> экзон

<222> (1918)..(2234)

<223> экзон 10

<400> 54

10 atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg cac ccc 48

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro

1 5 10 15

atg ggg aat gaa cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gat aac tac 96

15 Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Asp Asn Tyr

20 25 30

ccg cac gaa cat tct gag cct act gat gct gat cat acg cag gaa cca 144

Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro

20 35 40 45

tct act tct gag gtgttactat atgctgattg aatattgata gctttgcttt 196

Ser Thr Ser Glu

50

25

tatagttttt ttctgattt aggagatctc aaaaatagtc aaataaatca tattagtctc 256

catttatcag ataatgggtt gtagtgtaac ctcaaaattt tgttgttttt tttactttt 316

30 actag gag gag aca tgg aat ggg aag gaa aat gaa gaa gta gac cgt gta 366

Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu Val Asp Arg Val

55 60 65

att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa aga cca gag act aat 414

35 Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Arg Pro Glu Thr Asn

70 75 80

aca ggc gcc t gtgagtttat acattttact gattgtttta gcccaaaaca 464

Thr Gly Ala

40 85

gaataatatg aagaaaaaaa gatggttttg ttccatacat ttaaaaaaaa taaaataaaa 524

aatgaaaagc ag gg aaa cac gca atg atg gat gac gat gag caa ctt gct 574

5 Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala

90 95

aga gcc ata caa gag agt atg ata gct agg aat gga act act tat gac 622

Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Thr Thr Tyr Asp

10 100 105 110 115

ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga ggc aat gta 670

Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val

120 125 130

15 tat gac aat ggt gat att tat tat cca aga cct att gct ttc tca atg 718

Tyr Asp Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala Phe Ser Met

135 140 145

20 gac ttc ag gttcactta gatagccttt taattttggg ttgatgtgtt 766

Asp Phe Arg

150

atagtttctt ttaacttttt atcaacaact tgcactgca taatag g atc tgt gct 822

25 Ile Cys Ala

ggc tgc aat atg gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgc ctc aat 870

Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn

30 155 160 165

gca ctt tgg cat cca caa tgt ttt cga tgc tat ggc tgc agt cac cca 918

Ala Leu Trp His Pro Gln Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro

170 175 180 185

35 atc tct gag tac gag gtgaactcaa actcattctt tccgtttag ttaaccttt 973

Ile Ser Glu Tyr Glu

190

40 gaatcaatgt aataacatgt ttcccttttt tttttgggc taaatag ttc tca acg 1030

Phe Ser Thr

tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gca tgt tac agg gag agg ttc cat 1078  
 5 Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe His  
 195 200 205  
  
 cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaaa tcttagcat 1125  
 Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe  
 10 210 215  
  
 ttccagtgt ttctttcgg atattccact tatgttattt tctttcttg tgacag att 1184  
 Ile  
  
 15  
 tca aca aac cat gct ggt ctt att gag tat aga gca cat cct ttc tgg 1232  
 Ser Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp  
 220 225 230 235  
  
 20 gtc cag aag tat tgc cct tct cac gaa cac gat gct acg cca aga tgt 1280  
 Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys  
 240 245 250  
  
 tgc agc tgt gaa aga atg gag ccg cgt aat aca gga tat ttt gaa ctc 1328  
 25 Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu  
 255 260 265  
  
 aac gat gga cgg aag ctt tgc ctt gag tgt cta gac tca tcg gtg atg 1376  
 Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met  
 30 270 275 280  
  
 gac act ttt caa tgc cag cct ctg tac ttg cag ata caa gag ttc tat 1424  
 Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr  
 285 290 295  
  
 35  
 gaa gga ctt aac atg acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc tta gtt 1472  
 Glu Gly Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val  
 300 305 310 315  
  
 40 gag agg cag gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat 1514



Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn  
320 325

5 gtgagtaaaa aaatacaaat ttactttagt aactattga gaatgtgtca catttatatt 1574

gtgtcattgt gtgctttctt ag ggt cac tat cac atg cca gag aca aga gga 1626  
Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg Gly  
330 335

10 ctc tgt ctg tcg gaa gaa caa act gtt aga act gtg aga aag aga tcg 1674  
Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg Lys Arg Ser  
340 345 350 355

15 aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca gag caa ttc aag cta act 1722  
Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe Lys Leu Thr  
360 365 370

20 cgt cga tgc gag gtt act gcc att ctc atc ttg ttt ggt ctc cct agg 1770  
Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg  
375 380 385

cta ctc act ggt tca att cta gct cat gag atg atg cac gcg tgg atg 1818  
Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met  
390 395 400

25 cgg ctc aaa g gtgagttct tgcttctgt ttcttatcta actgcttctc 1868  
Arg Leu Lys  
405

30 ttgttcaca ttgttgaac cgttactaca atgtgtggtc ttgaaaaag gg ttc cgg 1925  
Gly Phe Arg

cca ctt agc caa gat gtt gaa gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat 1973  
35 Pro Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His  
410 415 420 425

aag tgg tta gaa gct gag tta gct gct ggt tca aga aat agc aat gct 2021  
40 Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala  
430 435 440

gca tca tct tca tca tct tct tat gga gga gtg aag aag gga cca agg 2069  
Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg  
445 450 455

5 tct cag tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac cag ata gag 2117  
Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu  
460 465 470

10 gct gat gct tct ccg gtt tat gga gat ggg ttc aga gcc ggg agg cta 2165  
Ala Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu  
475 480 485

15 gca gtt aac aag tat ggt ttg agg aga aca ctt gag cat ata cag atg 2213  
Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met  
490 495 500 505

act ggg aga ttc ccg gtt taa 2234  
Thr Gly Arg Phe Pro Val  
20 510

<210> 55  
<211> 1536  
25 <212> ДНК  
<213> Brassica rapa

<220>  
30 <221> CDS  
<222> (1)..(1536)

<400> 55  
atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg cac ccc 48  
35 Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro  
1 5 10 15

atg ggg aat gaa cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gat aac tac 96  
Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Asp Asn Tyr  
40 20 25 30

ccg cac gaa cat tct gag cct act gat gct gat cat acg cag gaa cca 144  
Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro  
35 40 45

5 tct act tct gag gag gag aca tgg aat ggg aag gaa aat gaa gaa gta 192  
Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu Val  
50 55 60

10 gac cgt gta att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa aga cca 240  
Asp Arg Val Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Arg Pro  
65 70 75 80

15 gag act aat aca ggc gcc tgg aaa cac gca atg atg gat gac gat gag 288  
Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu  
85 90 95

20 caa ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gct agg aat gga act 336  
Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Thr  
100 105 110

25 act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga 384  
Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly  
115 120 125

ggc aat gta tat gac aat ggt gat att tat tat cca aga cct att gct 432  
Gly Asn Val Tyr Asp Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala  
130 135 140

30 ttc tca atg gac ttc agg atc tgt gct ggc tgc aat atg gag att ggc 480  
Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly  
145 150 155 160

35 cat gga aga tat ctg aat tgc ctc aat gca ctt tgg cat cca caa tgt 528  
His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Gln Cys  
165 170 175

40 ttt cga tgc tat ggc tgc agt cac cca atc tct gag tac gag ttc tca 576  
Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser  
180 185 190

acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gca tgt tac agg gag agg ttc 624  
 Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe  
 195 200 205

5 cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att tca aca aac cat gct 672  
 His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Ser Thr Asn His Ala  
 210 215 220

10 ggt ctt att gag tat aga gca cat cct ttc tgg gtc cag aag tat tgc 720  
 Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys  
 225 230 235 240

cct tct cac gaa cac gat gct acg cca aga tgt tgc agc tgt gaa aga 768  
 15 Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg  
 245 250 255

atg gag ccg cgt aat aca gga tat ttt gaa ctc aac gat gga cgg aag 816  
 Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys  
 20 260 265 270

ctt tgc ctt gag tgt cta gac tca tcg gtg atg gac act ttt caa tgc 864  
 Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys  
 275 280 285

25 cag cct ctg tac ttg cag ata caa gag ttc tat gaa gga ctt aac atg 912  
 Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met  
 290 295 300

30 acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc tta gtt gag agg cag gca ctt 960  
 Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu  
 305 310 315 320

aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat ggt cac tat cac atg cca gag 1008  
 35 Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu  
 325 330 335

aca aga gga ctc tgt ctg tcg gaa gaa caa act gtt aga act gtg aga 1056  
 Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg  
 40 340 345 350

aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca gag caa ttc 1104  
 Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe  
 355 360 365

5

aag cta act cgt cga tgc gag gtt act gcc att ctc atc ttg ttt ggt 1152  
 Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly  
 370 375 380

10

ctc cct agg cta ctc act ggt tca att cta gct cat gag atg atg cac 1200  
 Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His  
 385 390 395 400

15

gcg tgg atg cgg ctc aaa ggg ttc cgg cca ctt agc caa gat gtt gaa 1248  
 Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Pro Leu Ser Gln Asp Val Glu  
 405 410 415

20

gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa gct gag tta 1296  
 Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu  
 420 425 430

25

gct gct ggt tca aga aat agc aat gct gca tca tct tca tca tct tct 1344  
 Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
 435 440 445

30

tat gga gga gtg aag aag gga cca agg tct cag tac gag agg aag ctt 1392  
 Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
 450 455 460

35

ggt gag ttt ttc aag cac cag ata gag gct gat gct tct ccg gtt tat 1440  
 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ala Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
 465 470 475 480

40

gga gat ggg ttc aga gcc ggg agg cta gca gtt aac aag tat ggt ttg 1488  
 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
 485 490 495

agg aga aca ctt gag cat ata cag atg act ggg aga ttc ccg gtt taa 1536  
 Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 500 505 510

<210> 56

<211> 511

5 <212> PRT

<213> Brassica rapa

<400> 56

10 Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg His Pro

1 5 10 15

Met Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Asp Asn Tyr

20 25 30

15

Pro His Glu His Ser Glu Pro Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu Pro

35 40 45

Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu Val

20 50 55 60

Asp Arg Val Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Arg Pro

65 70 75 80

25 Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu

85 90 95

Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Thr

100 105 110

30

Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly

115 120 125

Gly Asn Val Tyr Asp Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala

35 130 135 140

Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly

145 150 155 160

40 His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Gln Cys

|    |   |     |     |
|----|---|-----|-----|
|    | 165   | 170 | 175 |
|    | Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |
| 5  | Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |
|    | His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Ser Thr Asn His Ala |     |     |
| 10 | 210   | 215 | 220 |
|    | Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys |     |     |
|    | 225   | 230 | 235 |
|    | Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg |     |     |
| 15 | 245   | 250 | 255 |
|    | Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys |     |     |
|    | 260   | 265 | 270 |
| 20 | Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys |     |     |
|    | 275   | 280 | 285 |
|    | Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met |     |     |
| 25 | 290   | 295 | 300 |
|    | Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu |     |     |
|    | 305   | 310 | 315 |
|    | Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu |     |     |
| 30 | 325   | 330 | 335 |
|    | Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr Val Arg |     |     |
|    | 340   | 345 | 350 |
| 35 | Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu Gln Phe |     |     |
|    | 355   | 360 | 365 |
|    | Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly |     |     |
| 40 | 370   | 375 | 380 |

Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His  
385 390 395 400

5 Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Pro Leu Ser Gln Asp Val Glu  
405 410 415

Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu  
420 425 430

10 Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
435 440 445

15 Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
450 455 460

Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ala Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
465 470 475 480

20 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
485 490 495

25 Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
500 505 510

<210> 57

<211> 2278

30 <212> ДНК

<213> Brassica rapa

<220>

35 <221> экзон

<222> (1)..(171)

<223> экзон 1

<220>

40 <221> экзон



<222> (244)..(340)

<223> экзон 2

<220>

5 <221> экзон

<222> (421)..(646)

<223> экзон 3

<220>

10 <221> экзон

<222> (737)..(857)

<223> экзон 4

<220>

15 <221> экзон

<222> (933)..(1016)

<223> экзон 5

<220>

20 <221> экзон

<222> (1136)..(1255)

<223> экзон 6

<220>

25 <221> экзон

<222> (1339)..(1551)

<223> экзон 7

<220>

30 <221> экзон

<222> (1658)..(1839)

<223> экзон 8

<220>

35 <221> экзон

<222> (1840)..(1898)

<223> экзон 9

<220>

40 <221> экзон

<222> (1968)..(2278)

<223> экзон 10

<400> 57

```

5  atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg      48
   Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg
   1         5         10        15

   ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat      96
10  Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His
   20        25        30

   gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act     144
   Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr
15      35         40         45

   cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactataa ctctctttac           191
   His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu
   50         55

20  atatctctgg ttgtactat tgcttcaaca tttgttgtt tccctttact ag gag gat     249
   Glu Asp

   aca tcc ggc cag gaa aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct     297
25  Thr Ser Gly Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser
   60         65         70         75

   ctt ata gaa aac agt caa gga cag act aat aat aca tgc gct g           340
30  Leu Ile Glu Asn Ser Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala
   80         85

   gtgagtcctt tttccttgcc aaactagaaa tatgaattat gaaactcggg ttgttacatt   400

35  taaaagaata gccaacgcag gg  aag tac gca atg gtg gat gaa gat gag caa   452
   Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu Asp Glu Gln
   90         95        100

   ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat aca ccg cgt     500
40  Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn Thr Pro Arg

```

|    |   |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|
|    | 105   | 110 | 115 |     |
|    | cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca tat ggg gct gga   |     |     | 548 |
|    | Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly   |     |     |     |
| 5  | 120   | 125 | 130 |     |
|    |   |     |     |     |
|    | gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat gta tat gcc   |     |     | 596 |
|    | Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala   |     |     |     |
|    | 135   | 140 | 145 |     |
| 10 | aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc cca atg gat ttc   |     |     | 644 |
|    | Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met Asp Phe   |     |     |     |
|    | 150   | 155 | 160 |     |
|    |   |     |     |     |
| 15 | ag gttcactttg atactcaatc aatcatctgt agcctgtttg ttaagtttct         |     |     | 696 |
|    | Arg   |     |     |     |
|    | 165   |     |     |     |
|    |   |     |     |     |
|    | ttccagttaa gtaactcacc aacaacgtgt cactacctag g att tgt gct ggc tgc |     |     | 752 |
| 20 | Ile Cys Ala Gly Cys   |     |     |     |
|    | 170   |     |     |     |
|    |   |     |     |     |
|    | aat atg gag att gga cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta   |     |     | 800 |
|    | Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu   |     |     |     |
| 25 | 175   | 180 | 185 |     |
|    |   |     |     |     |
|    | tgg cat cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc att tct   |     |     | 848 |
|    | Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser   |     |     |     |
|    | 190   | 195 | 200 |     |
| 30 | gag tac gag gtgaagtcaa gctttcttat tcttttgatt gtagataacc           |     |     | 897 |
|    | Glu Tyr Glu   |     |     |     |
|    | 205   |     |     |     |
|    |   |     |     |     |
| 35 | ttcaaaacta acgcataaca tgttttcctt tatag ttc tca acg tct ggg aac    |     |     | 950 |
|    | Phe Ser Thr Ser Gly Asn   |     |     |     |
|    | 210   |     |     |     |
|    |   |     |     |     |
|    | tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca aaa tgt   |     |     | 998 |
| 40 | Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys   |     |     |     |

|    |   |     |         |      |
|----|---|-----|---------|------|
|    | 215   | 220 | 225     |      |
|    | gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaatt ctttagcctt ttttcatttt         |     |         | 1046 |
|    | Asp Val Cys Ser Leu Phe   |     |         |      |
| 5  | 230   |     |         |      |
|    | taaagtgcct atatatgcct tgtttccttc ggatattgca cttatctttt gttgattttc |     |         | 1106 |
|    | ttgtttcgaa tgcaaatttg ttgtgacag att cca aca aac cat gct ggt ctt   |     |         | 1159 |
| 10 | Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu                                   |     |         |      |
|    | 235   | 240 |         |      |
|    | att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct tct   |     |         | 1207 |
|    | Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser   |     |         |      |
| 15 | 245   | 250 | 255     |      |
|    | cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg gag   |     |         | 1255 |
|    | His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu   |     |         |      |
|    | 260   | 265 | 270     |      |
| 20 | gttgagtttt tctcccctaa gtgtcccaca acaaacatct tcccaaagtc aatactaatt |     |         | 1315 |
|    | tgccaacttt cgtttatgtg cag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt aac |     |         | 1368 |
|    | Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn                           |     |         |      |
| 25 | 275   | 280 |         |      |
|    | gat gga cgg aaa ctt tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg gac   |     |         | 1416 |
|    | Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp   |     |         |      |
|    | 285   | 290 | 295     |      |
| 30 | act ttt caa tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac gaa   |     |         | 1464 |
|    | Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu   |     |         |      |
|    | 300   | 305 | 310 315 |      |
|    | ggt ctt ttc atg aag gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag   |     |         | 1512 |
| 35 | Gly Leu Phe Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu   |     |         |      |
|    | 320   | 325 | 330     |      |
|    | agg caa gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat gtgagtaaac    |     |         | 1561 |
| 40 | Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn               |     |         |      |

|    |  |     |      |
|----|--|-----|------|
|    | 335  | 340 |      |
|    | aacatacagt tgcaagtaa ttatttgaa tatatcactt ttttttgt ttatccgaa     |     | 1621 |
|    | gtgtttaac ttttggtgt gttctctct tcttag ggt cac tat cac atg cca     |     | 1675 |
| 5  | Gly His Tyr His Met Pro  |     |      |
|    | 345  | 350 |      |
|    | gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gaa gag caa act gtt agc act gta  |     | 1723 |
|    | Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val  |     |      |
| 10 | 355  | 360 | 365  |
|    | aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att  |     | 1771 |
|    | Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile  |     |      |
|    | 370  | 375 | 380  |
| 15 |  |     |      |
|    | aca gag cct tac aag ttg aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc  |     | 1819 |
|    | Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu  |     |      |
|    | 385  | 390 | 395  |
| 20 |  |     |      |
|    | atc ttg ttt ggg ctc cct ag g cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat |     | 1867 |
|    | Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His  |     |      |
|    | 400  | 405 | 410  |
|    | gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag g gtgagttct tagttcactg   |     | 1918 |
| 25 | Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys                          |     |      |
|    | 415  | 420 |      |
|    | cttctcttt ttttcacat tgttgaatct ctattgttgt ctgaaaag ga ttc cgg    |     | 1975 |
|    | Gly Phe Arg  |     |      |
| 30 | 425  |     |      |
|    | acg ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat  |     | 2023 |
|    | Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His  |     |      |
|    | 430  | 435 | 440  |
| 35 |  |     |      |
|    | aag tgg ttg gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt  |     | 2071 |
|    | Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val  |     |      |
|    | 445  | 450 | 455  |
| 40 |  |     |      |
|    | gcg tca tct tca tct tct aga gga gtg aag aag gga cca aga tcg cag  |     | 2119 |

Ala Ser Ser Ser Ser Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln  
 460 465 470 475

tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat 2167  
 5 Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp  
 480 485 490

gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt 2215  
 10 Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val  
 495 500 505

aac aag tat ggt ttg cca aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc ggt 2263  
 Asn Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly  
 510 515 520

15 aga ttc ccg gtt taa 2278  
 Arg Phe Pro Val  
 525

20 <210> 58  
 <211> 1584  
 <212> ДНК  
 <213> Brassica rapa

25 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1584)

<400> 58

30 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48  
 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96  
 35 Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144  
 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr  
 40 35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gaa 192  
His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu  
50 55 60

5 aac gaa gac ata gat cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240  
Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser  
65 70 75 80

10 caa gga cag act aat aat aca tgc gct ggg aag tac gca atg gtg gat 288  
Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp  
85 90 95

15 gaa gat gag caa ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg 336  
Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly  
100 105 110

aat aca ccg cgt cag aag cat gga agt agt tat gat att ggg aat gca 384  
Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala  
20 115 120 125

tat ggg gct gga gac gtt tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga 432  
Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly  
130 135 140

25 aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca aga cct act gct ttc 480  
Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe  
145 150 155 160

30 cca atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att gga cat 528  
Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His  
165 170 175

gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta tgg cat cca gaa tgt ttt 576  
35 Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe  
180 185 190

cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc att tct gag tac gag ttc tca acg 624  
Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr  
40 195 200 205

tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat 672  
 Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His  
 210 215 220

5 cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat gct ggt 720  
 Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly  
 225 230 235 240

10 ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct 768  
 Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro  
 245 250 255

tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg 816  
 15 Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met  
 260 265 270

gag cca cgc aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt 864  
 Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu  
 20 275 280 285

tgc ctt gaa tgt ctg gac tca gcg gtg atg gac act ttt caa tgc caa 912  
 Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln  
 290 295 300

25 cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tac gaa ggt ctt ttc atg aag 960  
 Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys  
 305 310 315 320

30 gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctc aac 1008  
 Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn  
 325 330 335

gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca gag aca 1056  
 35 Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr  
 340 345 350

aga gga ctc tgc ctt tca gaa gag caa act gtt agc act gta aga aag 1104  
 Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys  
 40 355 360 365



aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att aca gag 1152  
 Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu  
 370 375 380

5 cct tac aag ttg aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc atc ttg 1200  
 Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
 385 390 395 400

10 ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg 1248  
 Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
 405 410 415

atg cac gcg tgg atg cgg ctc aag gga ttc cgg acg ctg agc caa gac 1296  
 15 Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp  
 420 425 430

gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg ttg gaa gca 1344  
 Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala  
 20 435 440 445

gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gcg tca tct tca tct 1392  
 Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser  
 450 455 460

25 tct aga gga gtg aag aag gga cca aga tcg cag tac gag agg aag ctt 1440  
 Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
 465 470 475 480

30 ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt tat 1488  
 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
 485 490 495

gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg 1536  
 35 Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
 500 505 510

cca aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc ggt aga ttc ccg gtt taa 1584  
 Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 40 515 520 525

<210> 59

<211> 527

5 <212> PRT

<213> Brassica rapa

<400> 59

10 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

15

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

20 50 55 60

Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

65 70 75 80

25 Gln Gly Gln Thr Asn Asn Thr Cys Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp

85 90 95

Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly

100 105 110

30

Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala

115 120 125

Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly

35 130 135 140

Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe

145 150 155 160

40 Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His

|    |   |     |     |
|----|---|-----|-----|
|    | 165   | 170 | 175 |
|    | Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |
| 5  | Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe Ser Thr |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |
|    | Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His |     |     |
|    | 210   | 215 | 220 |
| 10 | Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His Ala Gly |     |     |
|    | 225   | 230 | 235 |
|    | Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro |     |     |
| 15 | 245   | 250 | 255 |
|    | Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met |     |     |
|    | 260   | 265 | 270 |
| 20 | Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu |     |     |
|    | 275   | 280 | 285 |
|    | Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln |     |     |
|    | 290   | 295 | 300 |
| 25 | Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys |     |     |
|    | 305   | 310 | 315 |
|    | Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn |     |     |
| 30 | 325   | 330 | 335 |
|    | Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr |     |     |
|    | 340   | 345 | 350 |
| 35 | Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys |     |     |
|    | 355   | 360 | 365 |
|    | Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu |     |     |
|    | 370   | 375 | 380 |
| 40 |   |     |     |

Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
385 390 395 400

5 Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
405 410 415

Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp  
420 425 430

10 Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala  
435 440 445

Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser  
450 455 460

15 Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
465 470 475 480

20 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
485 490 495

Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu  
500 505 510

25 Pro Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
515 520 525

30 <210> 60  
<211> 2250  
<212> ДНК  
<213> Brassica oleracea

35 <220>  
<221> экзон  
<222> (1)..(165)  
<223> экзон 1

40 <220>

<221> экзон  
 <222> (333)..(435)  
 <223> экзон 2

5 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (547)..(736)  
 <223> экзон 3

10 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (823)..(943)  
 <223> экзон 4

15 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (1034)..(1117)  
 <223> экзон 5

20 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (1200)..(1532)  
 <223> экзон 6-7

25 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (1622)..(1853)  
 <223> экзон 8-9

30 <220>  
 <221> экзон  
 <222> (1943)..(2250)  
 <223> экзон 10

35 <400> 60  
 atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg ccc ccc 48  
 Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro  
 1 5 10 15

40

gtg ggg aat gag cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac 96  
Val Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr  
20 25 30

5 ccg cac gaa cat tct gag cct agt gca gag aca gat gct gat cat acg 144  
Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr  
35 40 45

cag gaa cca tct act tct gag gttactatat gctgattgag tatttgatag 195  
10 Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu  
50 55

ctttgtttt atagttttt ttttctgatt taggagatct caaaaatagt caaataaatc 255

15 atattagtct ccatttatca gataatgggt ttagtgtaa cctcaaaatt ttgtgtgt 315

tttttactt ttactag gaa gag aca tgg aat ggg aag gaa aat gaa gaa 365  
Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn Glu Glu  
60 65

20 gta gac cgt gca att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat caa gga 413  
Val Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn Gln Gly  
70 75 80

25 cca gag act aat aca ggc gcc t gtgagttaca ttactgat tgttttagcc 465  
Pro Glu Thr Asn Thr Gly Ala  
85

caaacagaa taatatgaag aaaaaaaga tagtttgtt tcatacatt tgaaaaaat 525  
30 aaaataaaaa atgaaaagca g gg aaa cac gca atg atg gat gac gat gag 575  
Trp Lys His Ala Met Met Asp Asp Asp Glu  
90 95

35 caa ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gtt agg aat gga act 623  
Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Val Arg Asn Gly Thr  
100 105 110 115

act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg cat gga gga 671  
40 Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly

|    |   |     |     |      |
|----|---|-----|-----|------|
|    | 120   | 125 | 130 |      |
|    | ggc aat gta tat gac agt ggt gat att tat tat cca aga cct att gct   |     |     | 719  |
|    | Gly Asn Val Tyr Asp Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Ala   |     |     |      |
| 5  | 135   | 140 | 145 |      |
|    | ttc tca atg gac ttc ag gtttcaactta gatggccttt taattttggt          |     |     | 766  |
|    | Phe Ser Met Asp Phe Arg   |     |     |      |
|    | 150   |     |     |      |
| 10 |   |     |     |      |
|    | tgatctgtta tagtttcttt tagcttttta tcaacaactt gtcactgctg gcatag g   |     |     | 823  |
|    | att tgt gct ggc tgc aat atg gag att ggc cat gga aga tat ctg aat   |     |     | 871  |
|    | Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn   |     |     |      |
| 15 | 155   | 160 | 165 |      |
|    | tgc ctc aac gca cta tgg cat cca caa tgt ttt cga tgt tat ggc tgc   |     |     | 919  |
|    | Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Gln Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys   |     |     |      |
|    | 170   | 175 | 180 | 185  |
| 20 |   |     |     |      |
|    | agt cac cca atc tct gag tac gag gtgaactcaa attcattctt tccgtttag   |     |     | 973  |
|    | Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu                                   |     |     |      |
|    | 190   |     |     |      |
| 25 |   |     |     |      |
|    | tttaaccttt gaatcaatgt aataacatgt ttctcttctt tttttttgg tcttaaataag |     |     | 1033 |
|    | ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg gag   |     |     | 1081 |
|    | Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu   |     |     |      |
|    | 195   | 200 | 205 |      |
| 30 |   |     |     |      |
|    | agg ttt cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt gtatgtaaaa        |     |     | 1127 |
|    | Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe                   |     |     |      |
|    | 210   | 215 | 220 |      |
| 35 |   |     |     |      |
|    | tctttacccc ttttccgttg ttttcttcg gatattgcac ttatcttatg ttactttctt  |     |     | 1187 |
|    | ttctgtgac ag att cca acg aac cgt gct ggt ctt ata gag tat aga gca  |     |     | 1238 |
|    | Ile Pro Thr Asn Arg Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala               |     |     |      |
|    | 225   | 230 |     |      |
| 40 |   |     |     |      |

cat cct ttc tgg gtc cag aag tat tgc cca tct cac gaa cac gat gct 1286  
His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala  
235 240 245 250

5 act cct aga tgt tgc agt tgt gaa aga atg gag tca cgg aat aca gga 1334  
Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu Ser Arg Asn Thr Gly  
255 260 265

tat ttt gaa ctc aac gat gga cgg aag ctt tgc ctt gag tgt cta gac 1382  
10 Tyr Phe Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp  
270 275 280

tca tcg gtg atg gac act ttt caa tgc cag cct ctg tac ttg cag ata 1430  
Ser Ser Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile  
15 285 290 295

caa gag ttc tac gaa gga ctt aac atg acg gta gag cag gag gtt cca 1478  
Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro  
300 305 310

20 ctt ctc ttg gtt gag agg caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa 1526  
Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu  
315 320 325 330

25 agg aat gtgagtagaa caaaaaaat acaaattac ttagtaact attgagaat 1582  
Arg Asn

gtgtcacatt tatatttgtt cattgtgtgc ttctttag ggt cac tat cac atg 1636  
30 Gly His Tyr His Met  
335

cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gag gaa caa act gtt aga act 1684  
Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr  
35 340 345 350

gtg aga aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca gag 1732  
Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr Glu  
355 360 365

40



caa ttc aag cta act cgc cgg tgc gag gtt act gcc att ctc atc tta 1780  
 Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu  
 370 375 380 385

5 ttt ggt ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg 1828  
 Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met  
 390 395 400

atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa g gtgagtttct tgcttctgt 1873  
 10 Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys  
 405

ttcttatcta actgcttctc ttgtttcacg ttgttgaac cggtactaca atgtgtggtc 1933

ttgaaaaag gg ttc cgg aca ctg agc caa gat gtt gaa gag ggg ata tgt 1983  
 15 Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys  
 410 415 420

caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa gtt gag ttg gct gct ggg tct 2031  
 Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser  
 20 425 430 435

aga aac agc aac gct gca tca tct tct tat gga gga gtg aag aag gga 2079  
 Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly  
 440 445 450 455

25 cca aag tcg cag tac gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac cag 2127  
 Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln  
 460 465 470

30 ata gag tct gat gct tct ccg gtt tat gga gat ggg ttc agg gcc ggg 2175  
 Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly  
 475 480 485

agg tta gca gtt agc aag tat ggt ttg agg aga aca ctt gag cat ata 2223  
 35 Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile  
 490 495 500

caa atg act ggg aga ttc ccg gtt taa 2250  
 Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 40 505 510

<210> 61

<211> 1536

5 <212> ДНК

<213> Brassica oleracea

<220>

10 <221> CDS

<222> (1)..(1536)

<400> 61

atg ggt tgg tta aac aag atc ttc aaa ggc tct aac caa agg ccc ccc 48

15 Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro

1 5 10 15

gtg ggg aat gag cac tat cat cat aat ggc ggc tat tac gag aac tac 96

Val Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr

20 20 25 30

ccg cac gaa cat tct gag cct agt gca gag aca gat gct gat cat acg 144

Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr

35 40 45

25

cag gaa cca tct act tct gag gaa gag aca tgg aat ggg aag gaa aat 192

Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn

50 55 60

30 gaa gaa gta gac cgt gca att gca ttg tct att tta gaa gaa gag aat 240

Glu Glu Val Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Ile Leu Glu Glu Glu Asn

65 70 75 80

caa gga cca gag act aat aca ggc gcc tgg aaa cac gca atg atg gat 288

Gln Gly Pro Glu Thr Asn Thr Gly Ala Trp Lys His Ala Met Met Asp

35 85 90 95

gac gat gag caa ctt gct aga gcc ata caa gag agt atg ata gtt agg 336

Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Val Arg

100 105 110

40

aat gga act act tat gac ttt ggg aat gca tat ggg aat gga cat atg 384  
 Asn Gly Thr Thr Tyr Asp Phe Gly Asn Ala Tyr Gly Asn Gly His Met  
 115 120 125

5 cat gga gga ggc aat gta tat gac agt ggt gat att tat tat cca aga 432  
 His Gly Gly Gly Asn Val Tyr Asp Ser Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg  
 130 135 140

cct att gct ttc tca atg gac ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg 480  
 10 Pro Ile Ala Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met  
 145 150 155 160

gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgc ctc aac gca cta tgg cat 528  
 Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His  
 15 165 170 175

cca caa tgt ttt cga tgt tat ggc tgc agt cac cca atc tct gag tac 576  
 Pro Gln Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr  
 180 185 190

20 gag ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg 624  
 Glu Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg  
 195 200 205

25 gag agg ttt cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca acg 672  
 Glu Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr  
 210 215 220

aac cgt gct ggt ctt ata gag tat aga gca cat cct ttc tgg gtc cag 720  
 30 Asn Arg Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln  
 225 230 235 240

aag tat tgc cca tct cac gaa cac gat gct act cct aga tgt tgc agt 768  
 Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser  
 35 245 250 255

tgt gaa aga atg gag tca cgg aat aca gga tat ttt gaa ctc aac gat 816  
 Cys Glu Arg Met Glu Ser Arg Asn Thr Gly Tyr Phe Glu Leu Asn Asp  
 260 265 270

40

gga cgg aag ctt tgc ctt gag tgt cta gac tca tcg gtg atg gac act 864  
 Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ser Val Met Asp Thr  
 275 280 285

5 ttt caa tgc cag cct ctg tac ttg cag ata caa gag ttc tac gaa gga 912  
 Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly  
 290 295 300

ctt aac atg acg gta gag cag gag gtt cca ctt ctc ttg gtt gag agg 960  
 10 Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg  
 305 310 315 320

caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggt gaa agg aat ggt cac tat cac 1008  
 Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His  
 15 325 330 335

atg cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gag gaa caa act gtt aga 1056  
 Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg  
 340 345 350

20 act gtg aga aag aga tcg aag gga aac tgg agt ggg aat atg att aca 1104  
 Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr  
 355 360 365

25 gag caa ttc aag cta act cgc cgg tgc gag gtt act gcc att ctc atc 1152  
 Glu Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile  
 370 375 380

tta ttt ggt ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag 1200  
 30 Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu  
 385 390 395 400

atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa ggg ttc cgg aca ctg agc caa 1248  
 Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln  
 35 405 410 415

gat gtt gaa gag ggg ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg tta gaa 1296  
 Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu  
 420 425 430

40

ggt gag ttg gct gct ggg tct aga aac agc aac gct gca tca tct tct 1344  
Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser  
435 440 445

5 tat gga gga gtg aag aag gga cca aag tcg cag tac gag agg aag ctt 1392  
Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu  
450 455 460

ggt gag ttt ttc aag cac cag ata gag tct gat gct tct ccg gtt tat 1440  
10 Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr  
465 470 475 480

gga gat ggg ttc agg gcc ggg agg tta gca gtt agc aag tat ggt ttg 1488  
Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu  
15 485 490 495

agg aga aca ctt gag cat ata caa atg act ggg aga ttc ccg gtt taa 1536  
Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val  
500 505 510

20

<210> 62

<211> 511

<212> PRT

25 <213> Brassica oleracea

<400> 62

Met Gly Trp Leu Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Asn Gln Arg Pro Pro  
30 1 5 10 15

Val Gly Asn Glu His Tyr His His Asn Gly Gly Tyr Tyr Glu Asn Tyr  
20 25 30

35 Pro His Glu His Ser Glu Pro Ser Ala Glu Thr Asp Ala Asp His Thr  
35 40 45

Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Glu Thr Trp Asn Gly Lys Glu Asn  
50 55 60

40

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

|    |   |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|
|    | 275   | 280 | 285 |     |
|    | Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly |     |     |     |
|    | 290   | 295 | 300 |     |
| 5  | Leu Asn Met Thr Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg |     |     |     |
|    | 305   | 310 | 315 | 320 |
|    | Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Arg Asn Gly His Tyr His |     |     |     |
| 10 | 325   | 330 | 335 |     |
|    | Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg |     |     |     |
|    | 340   | 345 | 350 |     |
| 15 | Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys Gly Asn Trp Ser Gly Asn Met Ile Thr |     |     |     |
|    | 355   | 360 | 365 |     |
|    | Glu Gln Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile |     |     |     |
| 20 | 370   | 375 | 380 |     |
|    | Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu |     |     |     |
|    | 385   | 390 | 395 | 400 |
| 25 | Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln |     |     |     |
|    | 405   | 410 | 415 |     |
|    | Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu |     |     |     |
|    | 420   | 425 | 430 |     |
| 30 | Val Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser |     |     |     |
|    | 435   | 440 | 445 |     |
|    | Tyr Gly Gly Val Lys Lys Gly Pro Lys Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu |     |     |     |
| 35 | 450   | 455 | 460 |     |
|    | Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr |     |     |     |
|    | 465   | 470 | 475 | 480 |
| 40 | Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Ser Lys Tyr Gly Leu |     |     |     |

485

490

495

Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val

500

505

510

5

<210> 63

<211> 2258

<212> ДНК

10 <213> Brassica oleracea

<220>

<221> екзон

15 <222> (1)..(171)

<223> екзон 1

<220>

<221> екзон

20 <222> (247)..(340)

<223> екзон 2

<220>

<221> екзон

25 <222> (416)..(650)

<223> екзон 3

<220>

<221> екзон

30 <222> (735)..(855)

<223> екзон 4

<220>

<221> екзон

35 <222> (939)..(1022)

<223> екзон 5 ізоформа 1 і 3

<220>

<221> variation

<222> (939)..(1002)

40 <223> екзон 5 ізоформа 2



<220>  
 <221> екзон  
 <222> (1122)..(1241)  
 5 <223> екзон 6 ізоформа 1 і 3  
  
 <220>  
 <221> variation  
 <222> (1157)..(1241)  
 10 <223> екзон 6 ізоформа 2  
  
 <220>  
 <221> екзон  
 <222> (1328)..(1540)  
 15 <223> екзон 7  
  
 <220>  
 <221> екзон  
 <222> (1634)..(1874)  
 20 <223> екзон 8-9  
  
 <220>  
 <221> екзон  
 <222> (1942)..(2197)  
 25 <223> екзон 10 ізоформа 1  
  
 <220>  
 <221> variation  
 30 <222> (1942)..(2258)  
 <223> екзон 10 ізоформа 2 і 3  
  
 <400> 63  
 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48  
 35 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 1 5 10 15  
  
 ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96  
 Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 40 20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144  
 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr  
 35 40 45

5 cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactataa ctgtctttac 191  
 His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu  
 50 55

10 atatctctgg ctgctgtac tgttgctca acatttttt gttcccttt actag gag 249  
 Glu

gat aca tcc ggc cag gag aat gaa gac att gac cgt gca atc gca ttg 297  
 15 Asp Thr Ser Gly Gln Glu Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu  
 60 65 70

tct ctt ata gaa aac agt caa gga cat act aac aca ggc gcc g 340  
 Ser Leu Ile Glu Asn Ser Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala  
 20 75 80 85

gtgagtcctt tttccttgcc aaactagaaa gaaatatgaa ttatgaaact cggtttgta 400

catttaacag aatag tg aac gca ggg aag tac gca atg gtg gat gaa gat 450  
 25 Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Glu Asp  
 90 95 100

gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta gtt ggg aat aca 498  
 Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val Val Gly Asn Thr  
 30 105 110 115

ccg cgt cag aag cat gga agc agt tat gat att ggg aac gca tat ggg 546  
 Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly Asn Ala Tyr Gly  
 120 125 130

35 tct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat gga ggt gga aat gtt 594  
 Ser Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly Gly Gly Asn Val  
 135 140 145

40 tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act gct ttt cct atg 642

|    |  |  |
|----|--|--|
|    | Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met        |  |
|    | 150 155 160  |  |
|    | gat ttc ag gttcactttt gatactcaat taatcatctg tagcctgttt 690             |  |
| 5  | Asp Phe Arg  |  |
|    | 165  |  |
|    | aacttggttg agatgtgtta aataacttat caagaacacc ttag g att tgt gct 744     |  |
|    | Ile Cys Ala  |  |
| 10 | 170  |  |
|    | ggc tgc aat atg gag att ggg cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat 792    |  |
|    | Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn        |  |
|    | 175 180 185  |  |
| 15 |  |  |
|    | gca ctg tgg cat ccg gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc 840    |  |
|    | Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro        |  |
|    | 190 195 200  |  |
| 20 |  |  |
|    | att tct gag tac gag gtgaaatcaa gctttctcat tctttctatt gtagttaacc 895    |  |
|    | Ile Ser Glu Tyr Glu  |  |
|    | 205  |  |
|    | tttgatgtaa tgaataacat gtttccttt ttttcttaa tag ttc tca aca tct 950      |  |
| 25 | Phe Ser Thr Ser  |  |
|    | 210  |  |
|    | ggt aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga tac cat cca 998    |  |
|    | Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Tyr His Pro        |  |
| 30 | 215 220 225  |  |
|    | aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt gtagtaaat ctttagtctt tttttccat 1052    |  |
|    | Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe  |  |
|    | 230 235  |  |
| 35 |  |  |
|    | cattaaagtg cctatttatt atatctctg ttgattttct tgttttcgaa tgtaaatttg 1112  |  |
|    | ttgtgacag att cca aca aac cat gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat 1163 |  |
|    | Ile Pro Thr Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His                |  |
| 40 | 240 245  |  |

cct ttt tgg gtc cag aag tac tgc cct tct cac gaa cac gat gct acc 1211  
 Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr  
 250 255 260 265

5

cca aga tgt tgc agt tgc gaa aga atg gag gtgagtttt ctccccaaaa 1261  
 Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu  
 270 275

10

tgtgtccac aacaacatc tgctcaaagt cgaaatgtca actttcgctt ttttttct 1321  
 ttgtag cca cgg aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa 1369  
 Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys  
 280 285

15

ctt tgc ctg gag tgt ctg gac tca gcg gtc atg gac act ttt caa tgc 1417  
 Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys  
 290 295 300 305

20

caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tat gaa ggg ctt ttc atg 1465  
 Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met  
 310 315 320

25

aag gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctc 1513  
 Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu  
 325 330 335

30

aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat gtgagtagca aaaataaaaa 1560  
 Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn  
 340 345

35

cacaattata cttcagtaaa tatatctcct ttttcacaa gtgtttaag ctttcattg 1620  
 tgtgttcct tag ggt cac tat cac atg cca gag acg aga gga ctc tgc 1669  
 Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys  
 350 355

40

ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gtg aga aag aga tcg aag cat 1717  
 Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His  
 360 365 370

ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att aca gag cct tac aag tta 1765  
 Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu  
 375 380 385 390

5

aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc atc ttg ttt ggg ctc cct 1813  
 Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro  
 395 400 405

10

agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat gag atg atg cac gcg tgg 1861  
 Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His Ala Trp  
 410 415 420

atg cgg ctc aaa g gtgagtttct tagttcactg cttctctttt tttcacattg 1914  
 15 Met Arg Leu Lys  
 425

ttgaatctct attgtggtct tgaaaag ga ttc cgg acg ctg agc caa gac gtt 1967  
 Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val  
 20 430 435

gaa gaa gga ata tgt caa gta atg gct cat aag tgg ttg gaa gca gag 2015  
 Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu  
 440 445 450

25

tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gca tca tca tct tct 2063  
 Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser Ser Ser Ser  
 455 460 465

30

tct tct gga gga ttg aag aag gga cca aga tcg caa tac gag agg aag 2111  
 Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys  
 470 475 480

ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct tct ccg gtt 2159  
 35 Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val  
 485 490 495

tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aa caagtatggt 2207  
 Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val  
 40 500 505 510

ttgccgaaaa cacttgagca tatacatatg accggtatg tcccggttta a 2258

5 <210> 64

<211> 1571

<212> ДНК

<213> Brassica oleracea

10

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1560)

15 <400> 64

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

20 ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

25 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gag 192

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

30 50 55 60

aat gaa gac att gac cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240

Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

65 70 75 80

35

caa gga cat act aac aca ggc gcc gtg aac gca ggg aag tac gca atg 288

Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met

85 90 95

40 gtg gat gaa gat gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta 336

Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val  
100 105 110

ggt gga aat gtt tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act 480  
Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr  
145 150 155 160

gct ttt cct atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att 528  
Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile  
165 170 175

ggg cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca ctg tgg cat ccg gaa 576  
Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu  
180 185 190

tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc att tct gag tac gag ttc 624  
Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe  
195 200 205

tca aca tct ggt aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga 672  
Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg  
210 215 220

tac cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat 720  
Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His  
225 230 235 240

gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tac 768  
Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr  
245 250 255

tgc cct tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa 816

Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu  
260 265 270

aga atg gag cca cgg aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg 864  
5 Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg  
275 280 285

aaa ctt tgc ctg gag tgt ctg gac tca gcg gtc atg gac act ttt caa 912  
Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln  
10 290 295 300

tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tat gaa ggg ctt ttc 960  
Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe  
305 310 315 320  
15

atg aag gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca 1008  
Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala  
325 330 335

ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca 1056  
Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro  
340 345 350

gag acg aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gtg 1104  
25 Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val  
355 360 365

aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att 1152  
Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile  
30 370 375 380

aca gag cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc 1200  
Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu  
385 390 395 400  
35

atc ttg ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat 1248  
Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His  
405 410 415

gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa gga ttc cgg acg ctg agc 1296  
40



Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser  
420 425 430

caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gta atg gct cat aag tgg ttg 1344  
5 Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu  
435 440 445

gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gca tca tca 1392  
Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser  
10 450 455 460

tca tct tct tct tct gga gga ttg aag aag gga cca aga tcg caa tac 1440  
Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr  
465 470 475 480

15 gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct 1488  
Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala  
485 490 495

20 tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac 1536  
Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn  
500 505 510

aaa ttc aga gat ggt cca acc taa atcgaaccgt a 1571  
25 Lys Phe Arg Asp Gly Pro Thr  
515

<210> 65  
30 <211> 519  
<212> PRT  
<213> Brassica oleracea

<400> 65  
35 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
40 20 25 30

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

|    |   |             |
|----|---|-------------|
|    | Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr |             |
|    | 245   | 250 255     |
| 5  | Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu |             |
|    | 260   | 265 270     |
|    | Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg |             |
|    | 275   | 280 285     |
| 10 | Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln |             |
|    | 290   | 295 300     |
|    | Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe |             |
| 15 | 305   | 310 315 320 |
|    | Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala |             |
|    | 325   | 330 335     |
| 20 | Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro |             |
|    | 340   | 345 350     |
|    | Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val |             |
| 25 | 355   | 360 365     |
|    | Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile |             |
|    | 370   | 375 380     |
| 30 | Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu |             |
|    | 385   | 390 395 400 |
|    | Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His |             |
|    | 405   | 410 415     |
| 35 | Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser |             |
|    | 420   | 425 430     |
|    | Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu |             |
| 40 | 435   | 440 445     |

Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser  
450 455 460

5 Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr  
465 470 475 480

Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala  
485 490 495

10 Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn  
500 505 510

Lys Phe Arg Asp Gly Pro Thr  
15 515

<210> 66

<211> 1541

20 <212> ДНК

<213> Brassica oleracea

<220>

25 <221> CDS

<222> (1)..(909)

<400> 66

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48  
30 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96  
Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
35 20 25 30

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144  
Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr  
35 40 45

40

cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gag 192  
His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu  
50 55 60

5 aat gaa gac att gac cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240  
Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser  
65 70 75 80

caa gga cat act aac aca ggc gcc gtg aac gca ggg aag tac gca atg 288  
10 Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met  
85 90 95

gtg gat gaa gat gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta 336  
Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val  
15 100 105 110

gtt ggg aat aca ccg cgt cag aag cat gga agc agt tat gat att ggg 384  
Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly  
115 120 125

20 aac gca tat ggg tct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat gga 432  
Asn Ala Tyr Gly Ser Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly  
130 135 140

25 ggt gga aat gtt tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act 480  
Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr  
145 150 155 160

gct ttt cct atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att 528  
30 Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile  
165 170 175

ggg cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca ctg tgg cat ccg gaa 576  
Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu  
35 180 185 190

tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc att tct gag tac gag ttc 624  
Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe  
195 200 205

40

tca aca tct ggt aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga 672  
 Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg  
 210 215 220

5 tac cat cca aaa tgg cac atc ctt ttt ggg tcc aga agt act gcc ctt 720  
 Tyr His Pro Lys Trp His Ile Leu Phe Gly Ser Arg Ser Thr Ala Leu  
 225 230 235 240

ctc acg aac acg atg cta ccc caa gat gtt gca gtt gcg aaa gaa tgg 768  
 10 Leu Thr Asn Thr Met Leu Pro Gln Asp Val Ala Val Ala Lys Glu Trp  
 245 250 255

agc cac gga ata cag gat atg ttg aac tta acg atg gac gga aac ttt 816  
 Ser His Gly Ile Gln Asp Met Leu Asn Leu Thr Met Asp Gly Asn Phe  
 15 260 265 270

gcc tgg agt gtc tgg act cag cgg tca tgg aca ctt ttc aat gcc aac 864  
 Ala Trp Ser Val Trp Thr Gln Arg Ser Trp Thr Leu Phe Asn Ala Asn  
 275 280 285

20 ctc tgt atc tgc aga tac aag aat tct atg aag ggc ttt tca tga 909  
 Leu Cys Ile Cys Arg Tyr Lys Asn Ser Met Lys Gly Phe Ser  
 290 295 300

25 aggtagagca ggacgttcca cttcttttag ttgagaggca agcactcaac gaagccagag 969  
 aagggtgaaaa gaatggtcac tatcacatgc cagagacgag aggactctgc ctttcagaag 1029

aacaaactgt tagcactgtg agaaagagat cgaagcatgg cacaggaaac tgggctggga 1089

30 atatgattac agagccttac aagttaacac gtcaatgcga gggtactgcc atttcatct 1149

tgtttgggct ccctaggcta ctcaccggtt cgattctagc tcatgagatg atgcacgcgt 1209

ggatgcggct caaaggattc cggacgctga gccaaagacgt tgaagaagga atatgtcaag 1269

35 taatggctca taagtgggtg gaagcagagt tagctgctgg ttcaagaaac agcaatgttg 1329

catcatcatc atcttcttct tctggaggat tgaagaaggg accaagatcg caatacgaga 1389

40 ggaagcttgg tgagttttc aagcaccaaa tcgagtctga tgcttctccg gtttatggag 1449

acgggttcag ggctgggagg ttagcggta acaagtatgg ttgccgaaa acacttgagc 1509

atatacatat gaccggtaga ttcccggttt aa 1541

5

<210> 67

<211> 302

<212> PRT

10 <213> Brassica oleracea

<400> 67

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

15 1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

20 Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

50 55 60

25

Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

65 70 75 80

Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met

30 85 90 95

Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val

100 105 110

35 Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly

115 120 125

Asn Ala Tyr Gly Ser Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly

130 135 140

40

Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr  
 145                    150                    155                    160  
  
 Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile  
 5                    165                    170                    175  
  
 Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu  
                   180                    185                    190  
  
 10    Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe  
                   195                    200                    205  
  
 Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg  
                   210                    215                    220  
 15  
 Tyr His Pro Lys Trp His Ile Leu Phe Gly Ser Arg Ser Thr Ala Leu  
 225                    230                    235                    240  
  
 Leu Thr Asn Thr Met Leu Pro Gln Asp Val Ala Val Ala Lys Glu Trp  
 20                    245                    250                    255  
  
 Ser His Gly Ile Gln Asp Met Leu Asn Leu Thr Met Asp Gly Asn Phe  
                   260                    265                    270  
  
 25    Ala Trp Ser Val Trp Thr Gln Arg Ser Trp Thr Leu Phe Asn Ala Asn  
                   275                    280                    285  
  
 Leu Cys Ile Cys Arg Tyr Lys Asn Ser Met Lys Gly Phe Ser  
                   290                    295                    300  
 30  
  
 <210> 68  
 <211> 1596  
 <212> ДНК  
 35    <213> Brassica oleracea  
  
  
 <220>  
 <221> CDS  
 40    <222> (1)..(1596)



<400> 68

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggc tct acc caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

5 1 5 10 15

ctt ggg aat gac cat gac cac aat ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

10

gat gag cct agt gct gat act gat cct gat cct gat cct gat gaa act 144

Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr

35 40 45

15 cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcc ggc cag gag 192

His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu

50 55 60

aat gaa gac att gac cgt gca atc gca ttg tct ctt ata gaa aac agt 240

20 Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser

65 70 75 80

caa gga cat act aac aca ggc gcc gtg aac gca ggg aag tac gca atg 288

Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met

25 85 90 95

gtg gat gaa gat gag cag ctt gct aga gcc ata caa gag agc atg gta 336

Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val

100 105 110

30

gtt ggg aat aca ccg cgt cag aag cat gga agc agt tat gat att ggg 384

Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly

115 120 125

35 aac gca tat ggg tct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat gga 432

Asn Ala Tyr Gly Ser Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly

130 135 140

ggt gga aat gtt tat gcc aat gga gac att tat tat cca aga cct act 480

40 Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr

|    |   |     |     |     |     |
|----|---|-----|-----|-----|-----|
|    | 145   | 150 | 155 | 160 |     |
|    | gct ttt cct atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag att |     |     |     | 528 |
|    | Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile |     |     |     |     |
| 5  | 165   | 170 | 175 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
|    | ggg cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca ctg tgg cat ccg gaa |     |     |     | 576 |
|    | Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu |     |     |     |     |
|    | 180   | 185 | 190 |     |     |
| 10 |   |     |     |     |     |
|    | tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac ccc att tct gag tac gag ttc |     |     |     | 624 |
|    | Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe |     |     |     |     |
|    | 195   | 200 | 205 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
| 15 | tca aca tct ggt aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tat agg gag aga |     |     |     | 672 |
|    | Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg |     |     |     |     |
|    | 210   | 215 | 220 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
|    | tac cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc ctc ttt att cca aca aac cat |     |     |     | 720 |
| 20 | Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His |     |     |     |     |
|    | 225   | 230 | 235 | 240 |     |
|    |   |     |     |     |     |
|    | gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat cct ttt tgg gtc cag aag tac |     |     |     | 768 |
|    | Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr |     |     |     |     |
| 25 | 245   | 250 | 255 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
|    | tgc cct tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc gaa |     |     |     | 816 |
|    | Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu |     |     |     |     |
|    | 260   | 265 | 270 |     |     |
| 30 |   |     |     |     |     |
|    | aga atg gag cca cgg aat aca gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg |     |     |     | 864 |
|    | Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg |     |     |     |     |
|    | 275   | 280 | 285 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
| 35 | aaa ctt tgc ctg gag tgt ctg gac tca gcg gtc atg gac act ttt caa |     |     |     | 912 |
|    | Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln |     |     |     |     |
|    | 290   | 295 | 300 |     |     |
|    |   |     |     |     |     |
|    | tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gaa ttc tat gaa ggg ctt ttc |     |     |     | 960 |
| 40 | Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe |     |     |     |     |

|    |   |     |     |     |      |
|----|---|-----|-----|-----|------|
|    | 305   | 310 | 315 | 320 |      |
|    | atg aag gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca |     |     |     | 1008 |
|    | Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala |     |     |     |      |
| 5  |   | 325 | 330 | 335 |      |
|    | ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg cca |     |     |     | 1056 |
|    | Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro |     |     |     |      |
|    |   | 340 | 345 | 350 |      |
| 10 | gag acg aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa caa act gtt agc act gtg |     |     |     | 1104 |
|    | Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val |     |     |     |      |
|    |   | 355 | 360 | 365 |      |
| 15 | aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg gct ggg aat atg att |     |     |     | 1152 |
|    | Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile |     |     |     |      |
|    |   | 370 | 375 | 380 |      |
|    | aca gag cct tac aag tta aca cgt caa tgc gag gtt act gcc att ctc |     |     |     | 1200 |
| 20 | Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu |     |     |     |      |
|    |   | 385 | 390 | 395 | 400  |
|    | atc ttg ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att cta gct cat |     |     |     | 1248 |
|    | Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His |     |     |     |      |
| 25 |   | 405 | 410 | 415 |      |
|    | gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa gga ttc cgg acg ctg agc |     |     |     | 1296 |
|    | Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser |     |     |     |      |
|    |   | 420 | 425 | 430 |      |
| 30 | caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gta atg gct cat aag tgg ttg |     |     |     | 1344 |
|    | Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu |     |     |     |      |
|    |   | 435 | 440 | 445 |      |
| 35 | gaa gca gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gca tca tca |     |     |     | 1392 |
|    | Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser |     |     |     |      |
|    |   | 450 | 455 | 460 |      |
|    | tca tct tct tct tct gga gga ttg aag aag gga cca aga tcg caa tac |     |     |     | 1440 |
| 40 | Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr |     |     |     |      |

|    |   |     |     |     |      |
|----|---|-----|-----|-----|------|
|    | 465   | 470 | 475 | 480 |      |
|    | gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct gat gct |     |     |     | 1488 |
|    | Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala |     |     |     |      |
| 5  |   | 485 | 490 | 495 |      |
|    | tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gct ggg agg tta gcg gtt aac |     |     |     | 1536 |
|    | Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn |     |     |     |      |
|    |   | 500 | 505 | 510 |      |
| 10 | aag tat ggt ttg ccg aaa aca ctt gag cat ata cat atg acc ggt aga |     |     |     | 1584 |
|    | Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile His Met Thr Gly Arg |     |     |     |      |
|    |   | 515 | 520 | 525 |      |
| 15 | ttc ccg gtt taa   |     |     |     | 1596 |
|    | Phe Pro Val   |     |     |     |      |
|    |   | 530 |     |     |      |
| 20 | <210> 69  |     |     |     |      |
|    | <211> 531   |     |     |     |      |
|    | <212> PRT   |     |     |     |      |
|    | <213> Brassica oleracea   |     |     |     |      |
| 25 | <400> 69  |     |     |     |      |
|    | Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg |     |     |     |      |
|    | 1   | 5   | 10  | 15  |      |
| 30 | Leu Gly Asn Asp His Asp His Asn Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His |     |     |     |      |
|    |   | 20  | 25  | 30  |      |
|    | Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro Asp Glu Thr |     |     |     |      |
|    |   | 35  | 40  | 45  |      |
| 35 | His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser Gly Gln Glu |     |     |     |      |
|    |   | 50  | 55  | 60  |      |
|    | Asn Glu Asp Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu Ile Glu Asn Ser |     |     |     |      |
| 40 | 65  | 70  | 75  | 80  |      |

Gln Gly His Thr Asn Thr Gly Ala Val Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Met  
85 90 95

5 Val Asp Glu Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Val  
100 105 110

Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile Gly  
115 120 125

10 Asn Ala Tyr Gly Ser Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His Gly  
130 135 140

Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg Pro Thr  
15 145 150 155 160

Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile  
165 170 175

20 Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro Glu  
180 185 190

Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu Phe  
195 200 205

25 Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg  
210 215 220

Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser Leu Phe Ile Pro Thr Asn His  
30 225 230 235 240

Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys Tyr  
245 250 255

35 Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys Glu  
260 265 270

Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg  
275 280 285

40

Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln  
290 295 300

Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Phe  
5 305 310 315 320

Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala  
325 330 335

10  
Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met Pro  
340 345 350

Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val  
15 355 360 365

Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met Ile  
370 375 380

20 Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu  
385 390 395 400

Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His  
405 410 415

25  
Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr Leu Ser  
420 425 430

Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu  
30 435 440 445

Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala Ser Ser  
450 455 460

35 Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr  
465 470 475 480

Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala  
485 490 495

40

Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala Val Asn  
500 505 510

Lys Tyr Gly Leu Pro Lys Thr Leu Glu His Ile His Met Thr Gly Arg  
5 515 520 525

Phe Pro Val  
530

10

<210> 70  
<211> 2139  
<212> ДНК  
<213> Brassica nigra

15

<220>  
<221> экзон  
<222> (1)..(159)

20

<223> экзон 1

<220>  
<221> экзон  
<222> (240)..(535)

25

<223> экзон 2-3

<220>  
<221> экзон  
<222> (627)..(747)

30

<223> экзон 4

<220>  
<221> экзон  
<222> (836)..(919)

35

<223> экзон 5

<220>  
<221> экзон  
<222> (1013)..(1132)

40

<223> экзон 6

<220>

<221> экзон

<222> (1198)..(1410)

5 <223> экзон 7

<220>

<221> экзон

<222> (1495)..(1735)

10 <223> экзон 8-9

<220>

<221> экзон

<222> (1826)..(2139)

15 <223> экзон 10

<400> 70

atg ggt tgg ttc aac aag atc ttc aaa ggc tcc tct aac caa agg ttc 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Ser Asn Gln Arg Phe

20 1 5 10 15

ccg gtt ggg aat gag cac tat cat aat tac ggc tat tac gat ccc aat 96

Pro Val Gly Asn Glu His Tyr His Asn Tyr Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn

20 25 30

25

gcg cat tct gag cct agt gca gat aca gat gct gat cat acg cag gag 144

Ala His Ser Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu

35 40 45

30 cca tct act tct gag gttgctatat gattgattat ggctattggt agctttgttt 199

Pro Ser Thr Ser Glu

50

tatagttttt ttttctgag tttctgtct tttactatag gat aca tgg aat ggc 254

35 Asp Thr Trp Asn Gly

55

cag gaa aat gaa gaa gtg gac cgt gca att gca atg tct ctt cta gaa 302

Gln Glu Asn Glu Glu Val Asp Arg Ala Ile Ala Met Ser Leu Leu Glu

40 60 65 70



gag aat caa gga cag act aat aaa ggg aag tat gca atg gtg gat gac 350  
 Glu Asn Gln Gly Gln Thr Asn Lys Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Asp  
 75 80 85 90

5  
 gat gag caa ctt gct aga gcc ata caa gaa agt atg ata gct agg aat 398  
 Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn  
 95 100 105

10  
 gga gct act tat gac aat att ggg gct ggt gat ttc tac ggg aat gga 446  
 Gly Ala Thr Tyr Asp Asn Ile Gly Ala Gly Asp Phe Tyr Gly Asn Gly  
 110 115 120  
 cct atg cat gga gga gga gga gga gga aat gta tat gcc aat gga gat 494  
 Pro Met His Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp  
 15 125 130 135

att tat tat cca aaa cct att gct ttc tct atg gac ttc ag 535  
 Ile Tyr Tyr Pro Lys Pro Ile Ala Phe Ser Met Asp Phe Arg  
 140 145 150

20  
 gtacttagat ggctaaacat ctttaaattt tggttgatgt gttatagttt cttttaagg 595

ctttatcaa caactgtcg tcaactgaata g g att tgt gct ggc tgc aat atg 648  
 Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met  
 25 155

gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgt cta aat gcg cta tgg cat 696  
 Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His  
 160 165 170 175

30  
 cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agt cac cct att tct gag tac 744  
 Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr  
 180 185 190

35  
 gag gtgtgaactc aaattctcat tctttccgtt gtagttaacc ttagaatcaa 797  
 Glu

tgtaataaca tgtttctc tcttttttc ttaaataag ttc tca acg tct ggg aac 853  
 40 Phe Ser Thr Ser Gly Asn

195

tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg gag aga ttt cat cca aaa tgt 901  
 Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu Arg Phe His Pro Lys Cys  
 5 200 205 210  
  
 gat gtc tgc agc cac ttt gtagtaaaa tctttacccc tttccatcg 949  
 Asp Val Cys Ser His Phe  
 215 220  
 10  
 ttaatgcgt tggtttgttt ggatattca cttattttcg gttgctttct ttctttgtga 1009  
  
 cag att cca aca aac ctt gct ggt ctt att gaa tac aga gca cat cct 1057  
 Ile Pro Thr Asn Leu Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro  
 15 225 230 235  
  
 ttt tgg gtc cag aag tat tgc cct tct cac gag cac gat gct act cca 1105  
 Phe Trp Val Gln Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro  
 240 245 250  
 20  
 aga tgt tgc agt tgt gaa aga atg gag gtgagtttt cctcctctaa 1152  
 Arg Cys Cys Ser Cys Glu Arg Met Glu  
 255 260  
 25 acaagtttat gggcggaagt taacaagttt tcgtatttt tgcag cca cgg aat acg 1209  
 Pro Arg Asn Thr  
  
 gga tat gtt gaa ctc aac gat gga cgg aaa ctt tgc ctg gag tgt cta 1257  
 30 Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu  
 265 270 275 280  
  
 gac tct gca gtg atg gac act ttt caa tgc caa cct ctg tac ttg cag 1305  
 Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln  
 35 285 290 295  
  
 ata caa gaa ttc tac gaa gga ctt aac atg aag gtg gag cag gaa gtt 1353  
 Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu Asn Met Lys Val Glu Gln Glu Val  
 300 305 310  
 40

cct ctt ctc tta gtt gag agg caa gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt 1401  
Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly  
315 320 325

5 gaa aag aat gtgagtaaaa aaacacacag tttgcttga gaatacatca 1450  
Glu Lys Asn  
330

cattttcca aagtgttta gattttcatt ttgtgctctc ttag ggt cac tat cac 1506  
10 Gly His Tyr His  
335

atg cca gag aca aga gga ctc tgc ctg tct gaa gaa caa act gtt cgc 1554  
Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg  
15 340 345 350

act gta aga aag aga tca aag cat agt aca gga aac tgg gct ggg aac 1602  
Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Ser Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn  
20 355 360 365

atg att aca gag cct ttc aag cta act cgt cga tgc gag gtt act gcc 1650  
Met Ile Thr Glu Pro Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala  
370 375 380

25 att ctc atc ttg ttt ggt ctc cct agg cta ctc act ggt tca att cta 1698  
Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu  
385 390 395

gct cat gag atg atg cat gcg tgg atg cgg ctc aac g gtgagtttct 1745  
30 Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Asn  
400 405 410

tgctctctat ttgactctgc ttcttctct cttgtttcac atttcttaa ccgtttaact 1805

35 acaatgtggt ctgaaaaag gg ttc cgg aca ttg agc caa gac gtt gaa gag 1857  
Gly Phe Arg Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu  
415 420

gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg ttg gaa gct gag tta gat 1905  
40 Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Asp

|    |   |     |     |      |
|----|---|-----|-----|------|
|    | 425   | 430 | 435 |      |
|    | gct ggt tca gga aac agc aat gct gca tca tcg tca tct tct tct aga |     |     | 1953 |
|    | Ala Gly Ser Gly Asn Ser Asn Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Arg |     |     |      |
| 5  | 440   | 445 | 450 |      |
|    | gga gtg aag aag gga cca agg tcg cag tac gag agg aag ctt ggt gag |     |     | 2001 |
|    | Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu |     |     |      |
|    | 455   | 460 | 465 | 470  |
| 10 | ttt ttc aag cac caa att gag tct gat gcg tct ccg gtt tat gga gat |     |     | 2049 |
|    | Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp |     |     |      |
|    | 475   | 480 | 485 |      |
|    | ggg ttc agg gct ggg aag tta gcg gtt aac aag tat ggt ttg aga aga |     |     | 2097 |
| 15 | Gly Phe Arg Ala Gly Lys Leu Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Arg Arg |     |     |      |
|    | 490   | 495 | 500 |      |
|    | aca ctt gag cat ata cag atg act ggg aga ttc ccg gtt taa         |     |     | 2139 |
|    | Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg Phe Pro Val             |     |     |      |
| 20 | 505   | 510 | 515 |      |
|    | <210> 71  |     |     |      |
|    | <211> 1548  |     |     |      |
| 25 | <212> ДНК   |     |     |      |
|    | <213> Brassica nigra  |     |     |      |
|    | <220>   |     |     |      |
| 30 | <221> CDS   |     |     |      |
|    | <222> (1)..(1548)   |     |     |      |
|    | <400> 71  |     |     |      |
|    | atg ggt tgg ttc aac aag atc ttc aaa ggc tcc tct aac caa agg ttc |     |     | 48   |
| 35 | Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Ser Asn Gln Arg Phe |     |     |      |
|    | 1   | 5   | 10  | 15   |
|    | ccg gtt ggg aat gag cac tat cat aat tac ggc tat tac gat ccc aat |     |     | 96   |
|    | Pro Val Gly Asn Glu His Tyr His Asn Tyr Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn |     |     |      |
| 40 | 20  | 25  | 30  |      |

gcg cat tct gag cct agt gca gat aca gat gct gat cat acg cag gag 144  
Ala His Ser Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu  
35 40 45

5  
cca tct act tct gag gat aca tgg aat ggc cag gaa aat gaa gaa gtg 192  
Pro Ser Thr Ser Glu Asp Thr Trp Asn Gly Gln Glu Asn Glu Glu Val  
50 55 60

10  
gac cgt gca att gca atg tct ctt cta gaa gag aat caa gga cag act 240  
Asp Arg Ala Ile Ala Met Ser Leu Leu Glu Glu Asn Gln Gly Gln Thr  
65 70 75 80

aat aaa ggg aag tat gca atg gtg gat gac gat gag caa ctt gct aga 288  
15  
Asn Lys Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg  
85 90 95

gcc ata caa gaa agt atg ata gct agg aat gga gct act tat gac aat 336  
Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Ala Thr Tyr Asp Asn  
20 100 105 110

att ggg gct ggt gat ttc tac ggg aat gga cct atg cat gga gga gga 384  
Ile Gly Ala Gly Asp Phe Tyr Gly Asn Gly Pro Met His Gly Gly Gly  
115 120 125

25  
gga gga gga aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca aaa cct 432  
Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Lys Pro  
130 135 140

30  
att gct ttc tct atg gac ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg gag 480  
Ile Ala Phe Ser Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met Glu  
145 150 155 160

att ggc cat gga aga tat ctg aat tgt cta aat gcg cta tgg cat cca 528  
35  
Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His Pro  
165 170 175

gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agt cac cct att tct gag tac gag 576  
Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Ser His Pro Ile Ser Glu Tyr Glu  
40 180 185 190

ttc tca acg tct ggg aac tac cct ttt cac aaa gct tgt tac agg gag 624  
 Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg Glu  
 195 200 205

5

aga ttt cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc cac ttt att cca aca aac 672  
 Arg Phe His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser His Phe Ile Pro Thr Asn  
 210 215 220

10

ctt gct ggt ctt att gaa tac aga gca cat cct ttt tgg gtc cag aag 720  
 Leu Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys  
 225 230 235 240

15

tat tgc cct tct cac gag cac gat gct act cca aga tgt tgc agt tgt 768  
 Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys  
 245 250 255

20

gaa aga atg gag cca cgg aat acg gga tat gtt gaa ctc aac gat gga 816  
 Glu Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly  
 260 265 270

25

cgg aaa ctt tgc ctg gag tgt cta gac tct gca gtg atg gac act ttt 864  
 Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe  
 275 280 285

30

caa tgc caa cct ctg tac ttg cag ata caa gaa ttc tac gaa gga ctt 912  
 Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Glu Phe Tyr Glu Gly Leu  
 290 295 300

35

aac atg aag gtg gag cag gaa gtt cct ctt ctc tta gtt gag agg caa 960  
 Asn Met Lys Val Glu Gln Glu Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln  
 305 310 315 320

40

gca ctc aac gaa gcc aga gaa ggt gaa aag aat ggt cac tat cac atg 1008  
 Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His Met  
 325 330 335

cca gag aca aga gga ctc tgc ctg tct gaa gaa caa act gtt cgc act 1056  
 Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Arg Thr  
 340 345 350

gta aga aag aga tca aag cat agt aca gga aac tgg gct ggg aac atg 1104  
Val Arg Lys Arg Ser Lys His Ser Thr Gly Asn Trp Ala Gly Asn Met  
355 360 365

5 att aca gag cct ttc aag cta act cgt cga tgc gag gtt act gcc att 1152  
Ile Thr Glu Pro Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile  
370 375 380

10 ctc atc ttg ttt ggt ctc cct agg cta ctc act ggt tca att cta gct 1200  
Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala  
385 390 395 400

cat gag atg atg cat gcg tgg atg cgg ctc aac ggg ttc cgg aca ttg 1248  
15 His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Asn Gly Phe Arg Thr Leu  
405 410 415

agc caa gag gtt gaa gag gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag tgg 1296  
Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp  
420 425 430

20 ttg gaa gct gag tta gat gct ggt tca gga aac agc aat gct gca tca 1344  
Leu Glu Ala Glu Leu Asp Ala Gly Ser Gly Asn Ser Asn Ala Ala Ser  
435 440 445

25 tcg tca tct tct tct aga gga gtg aag aag gga cca agg tcg cag tac 1392  
Ser Ser Ser Ser Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr  
450 455 460

gag agg aag ctt ggt gag ttt ttc aag cac caa att gag tct gat gcg 1440  
30 Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala  
465 470 475 480

tct ccg gtt tat gga gat ggg ttc agg gct ggg aag tta gcg gtt aac 1488  
Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Lys Leu Ala Val Asn  
35 485 490 495

aag tat ggt ttg aga aga aca ctt gag cat ata cag atg act ggg aga 1536  
Lys Tyr Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg  
500 505 510

40

ttc ccg gtt taa 1548

Phe Pro Val

515

5

<210> 72

<211> 515

<212> PRT

<213> Brassica nigra

10

<400> 72

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Ser Asn Gln Arg Phe

1 5 10 15

15

Pro Val Gly Asn Glu His Tyr His Asn Tyr Gly Tyr Tyr Asp Pro Asn

20 25 30

Ala His Ser Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Ala Asp His Thr Gln Glu

20 35 40 45

Pro Ser Thr Ser Glu Asp Thr Trp Asn Gly Gln Glu Asn Glu Glu Val

50 55 60

25 Asp Arg Ala Ile Ala Met Ser Leu Leu Glu Glu Asn Gln Gly Gln Thr

65 70 75 80

Asn Lys Gly Lys Tyr Ala Met Val Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg

85 90 95

30

Ala Ile Gln Glu Ser Met Ile Ala Arg Asn Gly Ala Thr Tyr Asp Asn

100 105 110

Ile Gly Ala Gly Asp Phe Tyr Gly Asn Gly Pro Met His Gly Gly Gly

35 115 120 125

Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Lys Pro

130 135 140

40



|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|    | Ile | Ala | Phe | Ser | Met | Asp | Phe | Arg | Ile | Cys | Ala | Gly | Cys | Asn | Met | Glu |
|    | 145 |     |     | 150 |     |     |     | 155 |     |     |     | 160 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Ile | Gly | His | Gly | Arg | Tyr | Leu | Asn | Cys | Leu | Asn | Ala | Leu | Trp | His | Pro |
| 5  |     |     | 165 |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Glu | Cys | Phe | Arg | Cys | Tyr | Gly | Cys | Ser | His | Pro | Ile | Ser | Glu | Tyr | Glu |
|    |     | 180 |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 10 | Phe | Ser | Thr | Ser | Gly | Asn | Tyr | Pro | Phe | His | Lys | Ala | Cys | Tyr | Arg | Glu |
|    |     | 195 |     |     | 200 |     |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Arg | Phe | His | Pro | Lys | Cys | Asp | Val | Cys | Ser | His | Phe | Ile | Pro | Thr | Asn |
|    |     | 210 |     |     | 215 |     |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |     |
| 15 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Leu | Ala | Gly | Leu | Ile | Glu | Tyr | Arg | Ala | His | Pro | Phe | Trp | Val | Gln | Lys |
|    | 225 |     |     | 230 |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Tyr | Cys | Pro | Ser | His | Glu | His | Asp | Ala | Thr | Pro | Arg | Cys | Cys | Ser | Cys |
| 20 |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Glu | Arg | Met | Glu | Pro | Arg | Asn | Thr | Gly | Tyr | Val | Glu | Leu | Asn | Asp | Gly |
|    |     | 260 |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 25 | Arg | Lys | Leu | Cys | Leu | Glu | Cys | Leu | Asp | Ser | Ala | Val | Met | Asp | Thr | Phe |
|    |     | 275 |     |     | 280 |     |     |     |     |     |     | 285 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Gln | Cys | Gln | Pro | Leu | Tyr | Leu | Gln | Ile | Gln | Glu | Phe | Tyr | Glu | Gly | Leu |
|    |     | 290 |     |     | 295 |     |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |     |
| 30 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Asn | Met | Lys | Val | Glu | Gln | Glu | Val | Pro | Leu | Leu | Leu | Val | Glu | Arg | Gln |
|    | 305 |     |     | 310 |     |     |     |     |     | 315 |     |     | 320 |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Ala | Leu | Asn | Glu | Ala | Arg | Glu | Gly | Glu | Lys | Asn | Gly | His | Tyr | His | Met |
| 35 |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|    | Pro | Glu | Thr | Arg | Gly | Leu | Cys | Leu | Ser | Glu | Glu | Gln | Thr | Val | Arg | Thr |
|    |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |     |     |
|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 40 | Val | Arg | Lys | Arg | Ser | Lys | His | Ser | Thr | Gly | Asn | Trp | Ala | Gly | Asn | Met |

|    |   |     |         |
|----|---|-----|---------|
|    | 355   | 360 | 365     |
|    | Ile Thr Glu Pro Phe Lys Leu Thr Arg Arg Cys Glu Val Thr Ala Ile |     |         |
|    | 370   | 375 | 380     |
| 5  | Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala |     |         |
|    | 385   | 390 | 395 400 |
|    | His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Asn Gly Phe Arg Thr Leu |     |         |
| 10 | 405   | 410 | 415     |
|    | Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys Trp |     |         |
|    | 420   | 425 | 430     |
| 15 | Leu Glu Ala Glu Leu Asp Ala Gly Ser Gly Asn Ser Asn Ala Ala Ser |     |         |
|    | 435   | 440 | 445     |
|    | Ser Ser Ser Ser Ser Arg Gly Val Lys Lys Gly Pro Arg Ser Gln Tyr |     |         |
| 20 | 450   | 455 | 460     |
|    | Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser Asp Ala |     |         |
|    | 465   | 470 | 475 480 |
| 25 | Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Lys Leu Ala Val Asn |     |         |
|    | 485   | 490 | 495     |
|    | Lys Tyr Gly Leu Arg Arg Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr Gly Arg |     |         |
|    | 500   | 505 | 510     |
| 30 | Phe Pro Val   |     |         |
|    | 515   |     |         |
| 35 | <210> 73  |     |         |
|    | <211> 2327  |     |         |
|    | <212> ДНК   |     |         |
|    | <213> Brassica nigra  |     |         |

40

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (1)..(180)  
 <223> екзон 1

5

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (257)..(353)  
 <223> екзон 2

10

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (452)..(680)  
 <223> екзон 3

15

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (749)..(869)  
 <223> екзон 4

20

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (969)..(1052)  
 <223> екзон 5

25

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (1156)..(1275)  
 <223> екзон 6

30

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (1370)..(1582)  
 <223> екзон 7

35

<220>  
 <221> екзон  
 <222> (1683)..(1923)  
 <223> екзон 8-9

40

<220>

<221> экзон

<222> (2011)..(2327)

<223> экзон 10

5 <400> 73

atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggg tct act caa agg ttc cgg 48

Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg

1 5 10 15

10 ctt ggg aat gac cac ggt cac agt ggc tat tac cag agt tat cca cat 96

Leu Gly Asn Asp His Gly His Ser Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His

20 25 30

tct tca cat gat gag cct agt gct gat aca gat cct gat cct gat cct 144

15 Ser Ser His Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro

35 40 45

gat gaa act cat act cag gaa cca tct acc tct gag gttactatga 190

Asp Glu Thr His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu

20 50 55 60

ctgattataa tacattagct ctggtttgca ctgttgcttc aactcttgct gtttctcttt 250

tactag gag gat aca tcg aac gac cag gag aat gaa gaa ata gac cgt 298

25 Glu Asp Thr Ser Asn Asp Gln Glu Asn Glu Glu Ile Asp Arg

65 70

gca atc gca ctg tct cta tta gaa gag agt caa gga cag aca aac aca 346

Ala Ile Ala Leu Ser Leu Leu Glu Glu Ser Gln Gly Gln Thr Asn Thr

30 75 80 85 90

ggc gcc g gtgagtcctt ttccggaca gatgagcaaa gtacatttct tcattttccg 403

Gly Ala

35

gttatatgaa aagatgggtt agttatcaaa ctacattgaa ctttgcag gg aaa tac 459

Gly Lys Tyr

95

40 gca atg gtg gat gat gac gag caa ctt gct aga gcc ata caa gaa agt 507

Ala Met Val Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser  
100 105 110

atg gta gtt ggg aat acg ccg cgt cag aag cat gga agt agt tat gat 555  
5 Met Val Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp  
115 120 125

att ggg aat gca tat ggg gct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg 603  
Ile Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met  
10 130 135 140

cat ggt gga ggt gga aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca 651  
His Gly Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro  
145 150 155

15 aga cct act gct ttt cct atg gat ttc ag gttcacttta attggttga 700  
Arg Pro Thr Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg  
160 165

20 gatgtgttaa gtttctttcc agcttatcaa caacgtgtca atacatag g att tgt 755  
Ile Cys  
170

gct ggc tgc aat atg gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgc ttg 803  
25 Ala Gly Cys Asn Met Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu  
175 180 185

aat gca cta tgg cat cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac 851  
Asn Ala Leu Trp His Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His  
30 190 195 200

cct att tct gag tac gag gtgaaatcaa gctcttccaa tatctcattc 899  
Pro Ile Ser Glu Tyr Glu  
205

35 ttctgttgt agactgttag ttaacctctg aaataatgca taacatgttt ttccttttt 959

tcctaataag ttc tca aca tct gga aat tac cct ttt cac aaa gct tgt tac 1010  
Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr  
40 210 215 220

aga gag aga tac cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc cac ttt 1052  
 Arg Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser His Phe  
 225 230 235

5  
 gtatgtaaat cttttacctt tgctatcggt atatgggtag tttcatcgga tattgcactt 1112

atcttctgtt gcttggtttt tcgaatgcaa atttgttga cag att cca aca aac 1167  
 Ile Pro Thr Asn  
 240

10  
 cat gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat cct ttc tgg gtt cag aag 1215  
 His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln Lys  
 245 250 255

15  
 tat tgc cct tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt tgc 1263  
 Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser Cys  
 260 265 270

20  
 gaa aga atg gag gtgagttttt ctcccctaag tctcccacaa caaacatcat 1315  
 Glu Arg Met Glu  
 275

ctcaaagtca atactttttg ggaggaaagt tgacagcttc tctttatttt gtag cca 1372  
 25 Pro

cgg aat acg gga tat gtt gaa ctt aac gat gga cgg aaa ctt tgt ctc 1420  
 Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp Gly Arg Lys Leu Cys Leu  
 30 280 285 290

gag tgt ctg gac tca gcg gtc atg gac act ttt caa tgc caa cct ctg 1468  
 Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr Phe Gln Cys Gln Pro Leu  
 295 300 305 310

35  
 tat ctg cag ata caa gca ttc tat gaa ggg ctt ttc atg aag gta gag 1516  
 Tyr Leu Gln Ile Gln Ala Phe Tyr Glu Gly Leu Phe Met Lys Val Glu  
 315 320 325

40  
 cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg caa gca ctt aac gaa gcc 1564

Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg Gln Ala Leu Asn Glu Ala  
330 335 340

aga gaa ggg gaa aag aat gtgagtaaaa aaaaaaaciaa ttattcttca 1612  
5 Arg Glu Gly Glu Lys Asn  
345

gtgaacatat cacatttttg cttcttttt tttccaaag tgttttagct tttggtgtg 1672

10 tgattcttag ggt cac tat cac atg cca gag aca aga gga ctc tgc ctt 1721  
Gly His Tyr His Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu  
350 355 360

tca gaa gaa cag act gtt agc acc gta aga aag aga tcg aag cat ggc 1769  
15 Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly  
365 370 375

aca gga aac tgg ggt ggg aat atg att aca gag cct tac aag cta aca 1817  
Thr Gly Asn Trp Gly Gly Asn Met Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr  
20 380 385 390

cgt cag tgc gag gtc act gcc att ctc atc tta ttt ggg ctc cct agg 1865  
Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg  
395 400 405

25 cta ctc acc ggt tcg att ctg gct cat gag atg atg cac gcg tgg atg 1913  
Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met  
410 415 420 425

30 cgg ctc aaa g gtgagtttct tgttccttc ttagttcact gcttcttctc 1963  
Arg Leu Lys

ttgttacaca ttgtgaatc gtgttattac aatgtggtcg tggaaag ga ttc cgg 2018  
35 Gly Phe Arg  
430

aca ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat 2066  
Thr Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His  
40 435 440 445

aag tgg tta gaa gcc gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt 2114  
 Lys Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val  
 450 455 460

5 gca tca tca tct tct tct tct gga gga gga ttg aag aag gga cca aga 2162  
 Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg  
 465 470 475

10 tcg cag tac gag agg aag ctc ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag 2210  
 Ser Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu  
 480 485 490 495

tct gat gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gcg ggg agg tta 2258  
 15 Ser Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu  
 500 505 510

gcg gtt aac aag tat ggt ttg ggg aaa aca ctt gag cat ata cag atg 2306  
 Ala Val Asn Lys Tyr Gly Leu Gly Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met  
 20 515 520 525

acc ggt aga ttc ccg gtt taa 2327  
 Thr Gly Arg Phe Pro Val  
 530

25 <210> 74  
 <211> 1602  
 <212> ДНК  
 30 <213> Brassica nigra

<220>  
 <221> CDS  
 35 <222> (1)..(1602)

<400> 74  
 atg ggt tgg ttt aac aag atc ttc aaa ggg tct act caa agg ttc cgg 48  
 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 40 1 5 10 15



ctt ggg aat gac cac ggt cac agt ggc tat tac cag agt tat cca cat 96  
 Leu Gly Asn Asp His Gly His Ser Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 20 25 30

5

tct tca cat gat gag cct agt gct gat aca gat cct gat cct gat cct 144  
 Ser Ser His Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro  
 35 40 45

10

gat gaa act cat act cag gaa cca tct acc tct gag gag gat aca tcg 192  
 Asp Glu Thr His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser  
 50 55 60

15

aac gac cag gag aat gaa gaa ata gac cgt gca atc gca ctg tct cta 240  
 Asn Asp Gln Glu Asn Glu Glu Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu  
 65 70 75 80

20

tta gaa gag agt caa gga cag aca aac aca ggc gcc ggg aaa tac gca 288  
 Leu Glu Glu Ser Gln Gly Gln Thr Asn Thr Gly Ala Gly Lys Tyr Ala  
 85 90 95

25

atg gtg gat gat gac gag caa ctt gct aga gcc ata caa gaa agt atg 336  
 Met Val Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met  
 100 105 110

30

gta gtt ggg aat acg ccg cgt cag aag cat gga agt agt tat gat att 384  
 Val Val Gly Asn Thr Pro Arg Gln Lys His Gly Ser Ser Tyr Asp Ile  
 115 120 125

35

ggg aat gca tat ggg gct gga gac gta tac ggg aat gga cat atg cat 432  
 Gly Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Asp Val Tyr Gly Asn Gly His Met His  
 130 135 140

40

ggt gga ggt gga aat gta tat gcc aat gga gat att tat tat cca aga 480  
 Gly Gly Gly Gly Asn Val Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Tyr Tyr Pro Arg  
 145 150 155 160

cct act gct ttt cct atg gat ttc agg att tgt gct ggc tgc aat atg 528  
 Pro Thr Ala Phe Pro Met Asp Phe Arg Ile Cys Ala Gly Cys Asn Met  
 165 170 175

gag att ggc cat gga aga tat ctg aat tgc ttg aat gca cta tgg cat 576  
 Glu Ile Gly His Gly Arg Tyr Leu Asn Cys Leu Asn Ala Leu Trp His  
 180 185 190

5 cca gaa tgt ttt cga tgt tat ggc tgt agg cac cct att tct gag tac 624  
 Pro Glu Cys Phe Arg Cys Tyr Gly Cys Arg His Pro Ile Ser Glu Tyr  
 195 200 205

10 gag ttc tca aca tct gga aat tac cct ttt cac aaa gct tgt tac aga 672  
 Glu Phe Ser Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Phe His Lys Ala Cys Tyr Arg  
 210 215 220

gag aga tac cat cca aaa tgt gat gtc tgc agc cac ttt att cca aca 720  
 15 Glu Arg Tyr His Pro Lys Cys Asp Val Cys Ser His Phe Ile Pro Thr  
 225 230 235 240

aac cat gct ggt ctt att gaa tat agg gca cat cct ttc tgg gtt cag 768  
 Asn His Ala Gly Leu Ile Glu Tyr Arg Ala His Pro Phe Trp Val Gln  
 20 245 250 255

aag tat tgc cct tct cac gaa cac gat gct acc cca aga tgt tgc agt 816  
 Lys Tyr Cys Pro Ser His Glu His Asp Ala Thr Pro Arg Cys Cys Ser  
 260 265 270

25 tgc gaa aga atg gag cca cgg aat acg gga tat gtt gaa ctt aac gat 864  
 Cys Glu Arg Met Glu Pro Arg Asn Thr Gly Tyr Val Glu Leu Asn Asp  
 275 280 285

30 gga cgg aaa ctt tgt ctc gag tgt ctg gac tca gcg gtc atg gac act 912  
 Gly Arg Lys Leu Cys Leu Glu Cys Leu Asp Ser Ala Val Met Asp Thr  
 290 295 300

ttt caa tgc caa cct ctg tat ctg cag ata caa gca ttc tat gaa ggg 960  
 35 Phe Gln Cys Gln Pro Leu Tyr Leu Gln Ile Gln Ala Phe Tyr Glu Gly  
 305 310 315 320

ctt ttc atg aag gta gag cag gac gtt cca ctt ctt tta gtt gag agg 1008  
 Leu Phe Met Lys Val Glu Gln Asp Val Pro Leu Leu Leu Val Glu Arg  
 40 325 330 335

caa gca ctt aac gaa gcc aga gaa ggg gaa aag aat ggt cac tat cac 1056  
Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His  
340 345 350

5 atg cca gag aca aga gga ctc tgc ctt tca gaa gaa cag act gtt agc 1104  
Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser  
355 360 365

10 acc gta aga aag aga tcg aag cat ggc aca gga aac tgg ggt ggg aat 1152  
Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Gly Gly Asn  
370 375 380

atg att aca gag cct tac aag cta aca cgt cag tgc gag gtc act gcc 1200  
15 Met Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala  
385 390 395 400

att ctc atc tta ttt ggg ctc cct agg cta ctc acc ggt tcg att ctg 1248  
Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu  
20 405 410 415

gct cat gag atg atg cac gcg tgg atg cgg ctc aaa gga ttc cgg aca 1296  
Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr  
420 425 430

25 ctg agc caa gac gtt gaa gaa gga ata tgt caa gtg atg gct cat aag 1344  
Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys  
435 440 445

tgg tta gaa gcc gag tta gct gct ggt tca aga aac agc aat gtt gca 1392  
30 Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala  
450 455 460

tca tca tct tct tct tct gga gga gga ttg aag aag gga cca aga tcg 1440  
Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser  
35 465 470 475 480

cag tac gag agg aag ctc ggt gag ttt ttc aag cac caa atc gag tct 1488  
Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser  
485 490 495

40

gat gct tct ccg gtt tat gga gac ggg ttc agg gcg ggg agg tta gcg 1536  
 Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala  
 500 505 510

5 gtt aac aag tat ggt ttg ggg aaa aca ctt gag cat ata cag atg acc 1584  
 Val Asn Lys Tyr Gly Leu Gly Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr  
 515 520 525

ggg aga ttc ccg gtt taa 1602  
 10 Gly Arg Phe Pro Val  
 530

<210> 75

<211> 533

15 <212> PRT

<213> Brassica nigra

<400> 75

20 Met Gly Trp Phe Asn Lys Ile Phe Lys Gly Ser Thr Gln Arg Phe Arg  
 1 5 10 15

Leu Gly Asn Asp His Gly His Ser Gly Tyr Tyr Gln Ser Tyr Pro His  
 20 25 30

25

Ser Ser His Asp Glu Pro Ser Ala Asp Thr Asp Pro Asp Pro Asp Pro  
 35 40 45

Asp Glu Thr His Thr Gln Glu Pro Ser Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ser  
 30 50 55 60

Asn Asp Gln Glu Asn Glu Glu Ile Asp Arg Ala Ile Ala Leu Ser Leu  
 65 70 75 80

35 Leu Glu Glu Ser Gln Gly Gln Thr Asn Thr Gly Ala Gly Lys Tyr Ala  
 85 90 95

Met Val Asp Asp Asp Glu Gln Leu Ala Arg Ala Ile Gln Glu Ser Met  
 100 105 110

40

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

|    |   |     |         |
|----|---|-----|---------|
|    | 325   | 330 | 335     |
|    | Gln Ala Leu Asn Glu Ala Arg Glu Gly Glu Lys Asn Gly His Tyr His |     |         |
|    | 340   | 345 | 350     |
| 5  | Met Pro Glu Thr Arg Gly Leu Cys Leu Ser Glu Glu Gln Thr Val Ser |     |         |
|    | 355   | 360 | 365     |
|    | Thr Val Arg Lys Arg Ser Lys His Gly Thr Gly Asn Trp Gly Gly Asn |     |         |
| 10 | 370   | 375 | 380     |
|    | Met Ile Thr Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Arg Gln Cys Glu Val Thr Ala |     |         |
|    | 385   | 390 | 395 400 |
| 15 | Ile Leu Ile Leu Phe Gly Leu Pro Arg Leu Leu Thr Gly Ser Ile Leu |     |         |
|    | 405   | 410 | 415     |
|    | Ala His Glu Met Met His Ala Trp Met Arg Leu Lys Gly Phe Arg Thr |     |         |
|    | 420   | 425 | 430     |
| 20 | Leu Ser Gln Asp Val Glu Glu Gly Ile Cys Gln Val Met Ala His Lys |     |         |
|    | 435   | 440 | 445     |
|    | Trp Leu Glu Ala Glu Leu Ala Ala Gly Ser Arg Asn Ser Asn Val Ala |     |         |
| 25 | 450   | 455 | 460     |
|    | Ser Ser Ser Ser Ser Ser Gly Gly Gly Leu Lys Lys Gly Pro Arg Ser |     |         |
|    | 465   | 470 | 475 480 |
| 30 | Gln Tyr Glu Arg Lys Leu Gly Glu Phe Phe Lys His Gln Ile Glu Ser |     |         |
|    | 485   | 490 | 495     |
|    | Asp Ala Ser Pro Val Tyr Gly Asp Gly Phe Arg Ala Gly Arg Leu Ala |     |         |
|    | 500   | 505 | 510     |
| 35 | Val Asn Lys Tyr Gly Leu Gly Lys Thr Leu Glu His Ile Gln Met Thr |     |         |
|    | 515   | 520 | 525     |
|    | Gly Arg Phe Pro Val   |     |         |
| 40 | 530   |     |         |

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Рослина *Brassica*, яка містить щонайменше два DA1 гени, де щонайменше один алель першого ендегенного DA1 гена є індукованим мутантним DA1 алелем, зазначений мутантний DA1 алель кодує мутантний DA1 білок, що містить в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну, і де мутантний DA1 алель вказаного першого DA1 гена вибирають з групи, що складається з:
  - а) мутантного DA1 алеля, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6 або SEQ ID NO: 12; і
  - б) мутантного DA1 алеля, який кодує мутантний DA1 білок, який має щонайменше 95 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 8 або SEQ ID NO: 14, де зазначена рослина є гомозиготною за вказаним мутантним DA1 алелем, і де другий DA1 ген містить алель дикого типу.
2. Рослина *Brassica* за п. 1, де зазначена рослина містить чотири DA1 гени, і де щонайменше один алель першого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, що кодує мутантний DA1 білок, який містить в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну, і де щонайменше один алель другого DA1 гена є мутантним DA1 алелем, вибраним з групи, яка складається з:
  - а) мутантного алеля DA1, що кодує мутантний DA1 білок, який містить в положенні, яке відповідає положенню 358 послідовності SEQ ID NO: 2, амінокислоту, відмінну від аргініну; та
  - б) повністю нокаутного DA1 алеля.
3. Рослина *Brassica* за п. 1 або 2, де зазначена амінокислота, що є відмінною від аргініну, являє собою лізин.
4. Рослина *Brassica* за п. 2 або 3, де мутантний DA1 алель вказаного другого DA1 гена вибирають з групи, що складається з:
  - а) мутантного DA1 алеля, який має щонайменше 80 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12; і
  - б) мутантного DA1 алеля DA1 гена, де зазначений DA1 ген кодує DA1 білок, який має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 14.
5. Рослина *Brassica* за п. 4, де зазначений перший DA1 ген має щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 6, і де зазначений другий DA1 ген містить щонайменше 91 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 12.
6. Рослина *Brassica* за будь-яким із пп. 2-5, де мутантний DA1 алель зазначеного другого DA1 гена є повністю нокаутним DA1 алелем.
7. Рослина *Brassica* за будь-яким із пп. 4-6, де мутантний DA1 алель зазначеного першого DA1 гена кодує білок SEQ ID NO: 17.
8. Рослина *Brassica* за будь-яким із пп. 4-7, де мутантний DA1 алель зазначеного другого DA1 гена є повністю нокаутним DA1 алелем, зазначений нокаутний DA1 алель містить послідовність SEQ ID NO: 12 із заміщенням С на Т у положенні 2011.
9. Рослина *Brassica* за будь-яким із пп. 1-8, яку вибирають з групи, що складається з *Brassica rapa*, *Brassica oleracea* та *Brassica napus*.
10. Рослина *Brassica* за будь-яким із пп. 1-9, де вага тисячі насінин істотно підвищується у порівнянні з вагою тисячі насінин відповідної рослини, яка не містить мутантного DA1 алеля.
11. Насіння рослини *Brassica* за будь-яким із пп. 1-10, де вказане насіння містить мутантний DA1 алель першого DA1 гена, як вказано в п. 1.
12. Насіння за п. 11, що є насінням рослини *Brassica* за п. 7 або 8, зразок якого депоновано в NCIMB під інвентарним номером NCIMB 42114.
13. Спосіб збільшення ваги тисячі насінин насіння *Brassica*, де зазначений спосіб включає введення мутантного DA1 алеля першого DA1 гена, як вказано в п. 1, у рослину *Brassica*.
14. Спосіб за п. 13, який додатково включає введення мутантного DA1 алеля другого DA1 гена, як вказано в п. 2, у зазначену рослину *Brassica*.

```

SEQ
ID NO
2      1 MGWFNKIFKGS-NQRLRVGNKHNHNV-YYDNYPTASHD-DEPSAADTDA
5      1 MGWLNKIFKGS-NQRHPMGNEHYHHNGGYENYP---HEHSEP----TDA
8      1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HDHNG-YYQSY-----H-DEPS-ADTDP
11     1 MGWLNKIFKGS-NQRPPVGNEYHHNGGYENYP---HE-HSEPSAETDA
14     1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HDHNG-YYQSY-----H-DEPS-ADTDP
56     1 MGWLNKIFKGS-NQRHPMGNEHYHHNGGYDNYP---HEHSEP----TDA
59     1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HDHNG-YYQSY-----H-DEPS-ADTDP
62     1 MGWLNKIFKGS-NQRPPVGNEHYHHNGGYENYP---HE-HSEPSAETDA
65     1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HDHNG-YYQSY-----H-DEPS-ADTDP
69     1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HDHNG-YYQSY-----H-DEPS-ADTDP
72     1 MGWFNKIFKGSSNQRFPVGN-EHYHNYGYD--PNA--H-SEPS-ADTDA
75     1 MGWFNKIFKGS-TQRFRLGND-HGHSG-YYQSYPHSSH--DEPSA-DTDP

                                UIM1
2      48 DND-EPHHTQEPSTSEDNTSNDQENEDIDRAIALSLLEE-NQEQTS--I-
5      43 D-----HTQEPSTSEEETWNGKENEEVDRAIALSILEEENQGPET--N-
8      42 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSG-QENEDIDRAIALSLIEN-SQGQTNNTC-
11     46 D-----HTQEPSTSEEETWNGQENEEVDRAIALSILEEENQGPET--N-
14     42 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSG-QENDDIDRAIALSLIEN-SQGHTN--TG
56     43 D-----HTQEPSTSEEETWNGKENEEVDRAIALSILEEENQGPET--N-
59     42 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSG-QENEDIDRAIALSLIEN-SQGQTNNTC-
62     46 D-----HTQEPSTSEEETWNGKENEEVDRAIALSILEEENQGPET--N-
65     42 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSG-QENEDIDRAIALSLIEN-SQGHTN--TG
69     42 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSG-QENEDIDRAIALSLIEN-SQGHTN--TG
72     44 D-----HTQEPSTSED-TWNGQENEEVDRAIALSLLEE-NQGQTN----
75     45 DPDPDEHTQEPSTSEEDTSNDQENEEIDRAIALSLLEE-SQGQTN--TG

                                UIM2
2      93 ---SG--KYSMPVDEDEQLARAIQESMVVGNSPRHKSGSTYDNGNAYGAG
5      84 ---TGAWKHAM-MDDDEQLARAIQESMIARN-----GTTYDFGNA----
8      89 ---AG--KYAM-VDEDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGAG
11     87 ---TGAWKHAM-MDDDEQLARAIQESMIVRN-----GTTYDFGNA----
14     88 ---AG--KYAM-VDEDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGAG
56     84 ---TGAWKHAM-MDDDEQLARAIQESMIARN-----GTTYDFGNA----
59     89 ---AG--KYAM-VDEDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGAG
62     87 ---TGAWKHAM-MDDDEQLARAIQESMIVRN-----GTTYDFGNA----
65     88 AVNAG--KYAM-VDEDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGSG
69     88 AVNAG--KYAM-VDEDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGSG
72     82 ---KG--KYAM-VDDDEQLARAIQESMIARN-----GATYDN---IGAG
75     92 ---AG--KYAM-VDDDEQLARAIQESMVVGNTPRQKHGSSYDIGNAYGAG

```

Φir. 1



| SEQ | IDNO |  | LIM                   |
|-----|------|--|-----------------------|
| 2   | 138  | DLYGNHMYGGG---NVYANGDIYYPRPITFQMDFR            | <u>ICAGCNMEIGHGRF</u> |
| 5   | 120  | --YGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPIAFSMDFR            | CAGCNMEIGQGRY         |
| 8   | 133  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 11  | 123  | --YGNHMHGGG---NVYDSGDIYYPRPIAFSMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 14  | 132  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 56  | 120  | --YGNHMHGGG---NVYDNGDIYYPRPIAFSMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 59  | 133  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 62  | 123  | --YGNHMHGGG---NVYDSGDIYYPRPIAFSMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 65  | 135  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 69  | 135  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| 72  | 117  | DFYGNHMHGGGGGNVYANGDIYYPKPIAFSMDFR             | CAGCNMEIGHGRY         |
| 75  | 136  | DVYGNHMHGGG---NVYANGDIYYPRPTAFPMDFR            | CAGCNMEIGHGRY         |
| LIM |      |  |                       |
| 2   | 185  | <u>LNCLNALWHPECFRCYGCSHPISEYEFSTSGNYPFHKAC</u> | YRERYHPKCDV           |
| 5   | 165  | LNCLNALWHPQCFCRCYGCSPHISEYEFSTSGNYPFHKAC       | YRERFHPKCDV           |
| 8   | 180  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 11  | 168  | LNCINALWHPQCFCRCYGCSPHISEYEFSTSGNYPFHKAC       | YRERFHPKCDV           |
| 14  | 179  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 56  | 165  | LNCLNALWHPQCFCRCYGCSPHISEYEFSTSGNYPFHKAC       | YRERFHPKCDV           |
| 59  | 180  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 62  | 168  | LNCLNALWHPQCFCRCYGCSPHISEYEFSTSGNYPFHKAC       | YRERFHPKCDV           |
| 65  | 182  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 69  | 182  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 72  | 167  | LNCLNALWHPECFRCYGCSPHISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERFHPKCDV           |
| 75  | 184  | LNCLNALWHPECFRCYGCRHPISEYEFSTSGNYPFHKAC        | YRERYHPKCDV           |
| 2   | 235  | CSHFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTRY                |
| 5   | 215  | CSLFISTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME    | PRNTGY                |
| 8   | 230  | CSHFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 11  | 218  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | SRNTGY                |
| 14  | 229  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 56  | 215  | CSLFISTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME    | PRNTGY                |
| 59  | 230  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 62  | 218  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | SRNTGY                |
| 65  | 232  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 69  | 232  | CSLFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 72  | 217  | CSHFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |
| 75  | 234  | CSHFIPNTNAGLIEYRAHPFWVQKYCPSHEHDATPRCCSCERME   | PRNTGY                |

Фиг. 1, продолжения

| SEQ<br>ID NO |     |  |
|--------------|-----|--|
| 2            | 285 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTMQCQPLYLQIQNFYEGLNMKVEQEVPLLL |
| 5            | 265 | FELNDGRKLCLECLDSSVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLNMTVEQEVPLLL |
| 8            | 280 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLFMKVEQDVPLLL |
| 11           | 268 | FELNDGRKLCLECLDSSVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLNMTVEQEVPLLL |
| 14           | 279 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLFMKVEQDVPLLL |
| 56           | 265 | FELNDGRKLCLECLDSSVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLNMTVEQEVPLLL |
| 59           | 280 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLFMKVEQDVPLLL |
| 62           | 268 | FELNDGRKLCLECLDSSVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLNMTVEQEVPLLL |
| 65           | 282 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLFMKVEQDVPLLL |
| 69           | 282 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLFMKVEQDVPLLL |
| 72           | 267 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQEFYEGLNMKVEQEVPLLL |
| 75           | 284 | VELNDGRKLCLECLDSAVMDTFQCQPLYLQIQAFYEGLFMKVEQDVPLLL |
|              |     |  |
| 2            | 335 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 5            | 315 | VERQALNEAREGERNGHYHMPETRGLCLSEEQTVRTVRKRSK---GNWSG |
| 8            | 330 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 11           | 318 | VERQALNEAREGERNGHYHMPETRGLCLSEEQTVRTVRKRSK---GNWSG |
| 14           | 329 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 56           | 315 | VERQALNEAREGERNGHYHMPETRGLCLSEEQTVRTVRKRSK---GNWSG |
| 59           | 330 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 62           | 318 | VERQALNEAREGERNGHYHMPETRGLCLSEEQTVRTVRKRSK---GNWSG |
| 65           | 332 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 69           | 332 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWAG |
| 72           | 317 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVRTVRKRSKHSTGNWAG |
| 75           | 334 | VERQALNEAREGEKNGHYHMPETRGLCLSEEQTVSTVRKRSKHGTGNWGG |
|              |     |  |
| 2            | 385 | N-ITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 5            | 362 | NMITEQFKLTRRCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRL  |
| 8            | 380 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 11           | 365 | NMITEQFKLTRRCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 14           | 379 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 56           | 362 | NMITEQFKLTRRCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRL  |
| 59           | 380 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 62           | 365 | NMITEQFKLTRRCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 65           | 382 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 69           | 382 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |
| 72           | 367 | NMITEPFKLTRRCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLNGFRTL |
| 75           | 384 | NMITEPYKLTRQCEVTAILILFGLPRLLTGSILAHEMMHAWMRLKGFRTL |

Фиг. 1, продовження

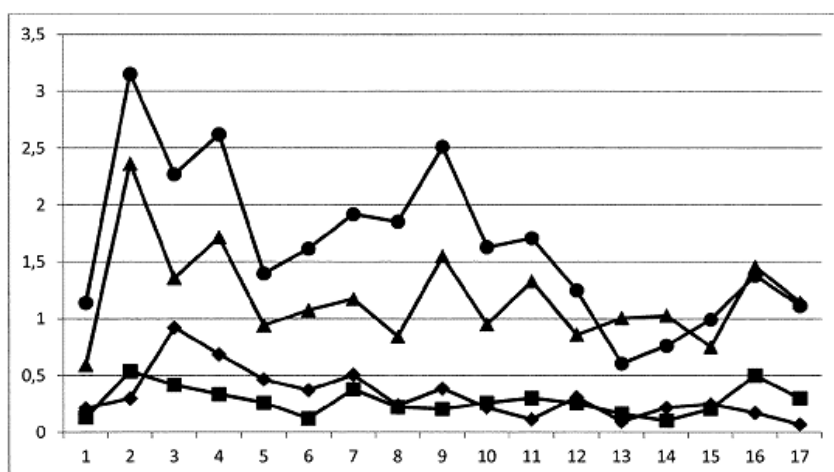
```

SEQ
ID NO
2 434 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSTNSNAASSSSSSSQG-LKKGPRSQYE
5 412 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNAASSSSSSSYGGVKKGPRSQYE
8 430 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVA-SSSSSRG-VKKGPRSQYE
11 415 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNAASSSYG--G-VKKGPKSQYE
14 429 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVASSSSSSSGGLKKGPRSQYE
56 412 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNAASSSSSSSYGGVKKGPRSQYE
59 430 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVA-SSSSSRG-VKKGPRSQYE
62 415 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNAASSSYG--G-VKKGPKSQYE
65 432 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVASSSSSSSGGLKKGPRSQYE
69 432 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVASSSSSSSGGLKKGPRSQYE
72 417 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELDAGSGNSNAASSSSSSRG-VKKGPRSQYE
75 434 SQDVEEGICQVMAHKWLEAELAAGSRNSNVASSSSSSSGGLKKGPRSQYE

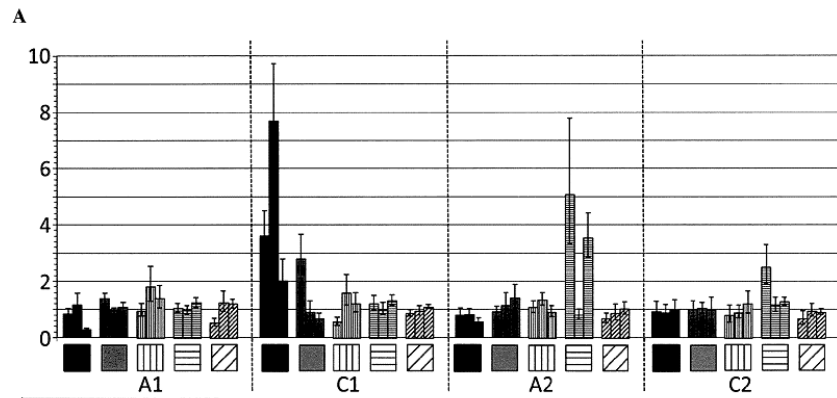
2 483 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVHKYGLRKTLEHIQMTGRFPV
5 462 RKLGEFFKHQIEADASPVG DGFRAGRLAVNKYGLRRTLEHIQMTGRFPV
8 478 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLPKTLEHIQMTGRFPV
11 462 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVSKYGLRRTLEHIQMTGRFPV
14 479 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLPKTLEHIHMTGRFPV
56 462 RKLGEFFKHQIEADASPVG DGFRAGRLAVNKYGLRRTLEHIQMTGRFPV
59 478 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLPKTLEHIQMTGRFPV
62 462 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVSKYGLRRTLEHIQMTGRFPV
65 482 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKFRDGPT-----
69 482 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLPKTLEHIHMTGRFPV
72 466 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLRRTLEHIQMTGRFPV
75 484 RKLGEFFKHQIESDASPVG DGFRAGRLAVNKYGLGKTLEHIQMTGRFPV

```

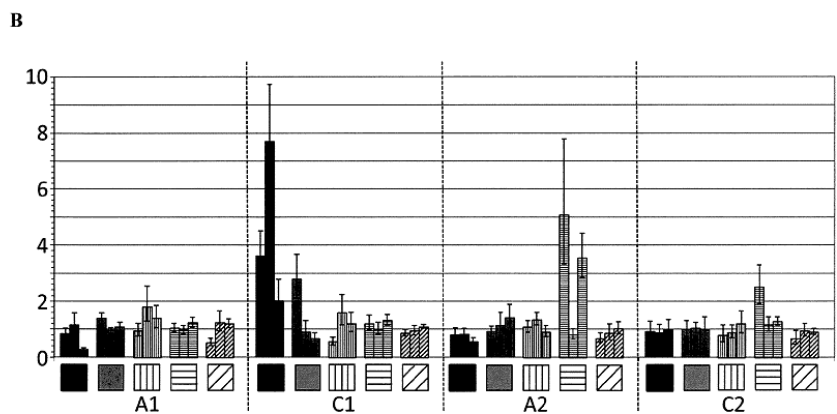
Фиг. 1, продовження



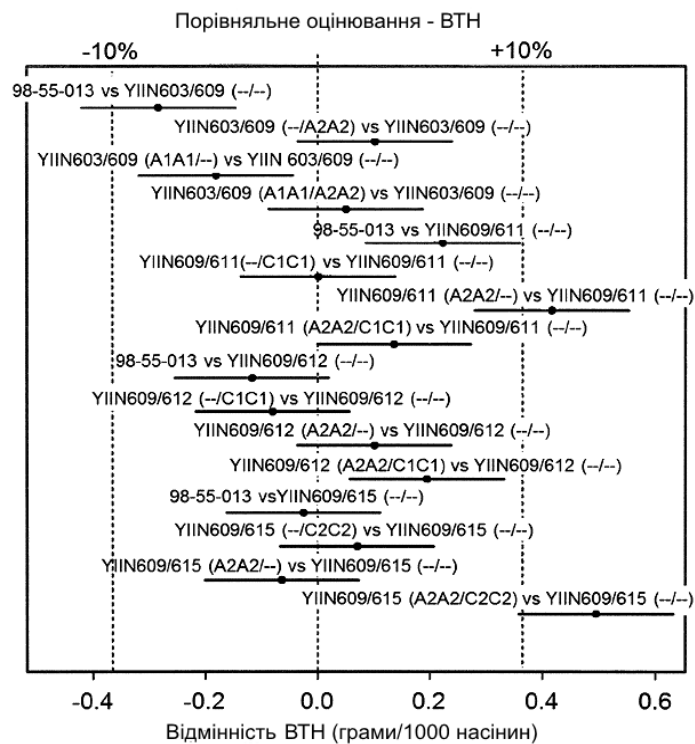
Фиг. 2



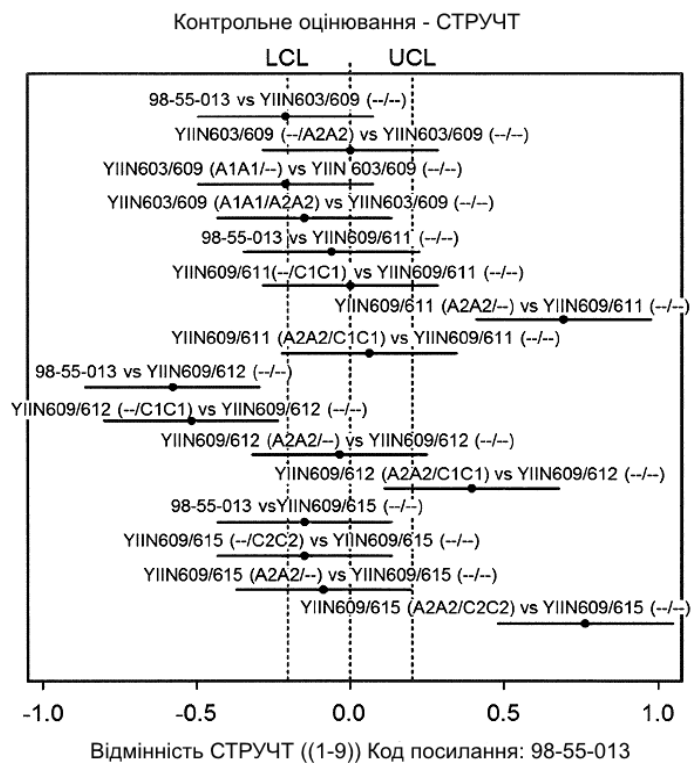
Фиг. 3



Фиг. 3, продовження



Фиг. 4A



Фіг. 4В

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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