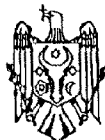




MD 4683 C1 2020.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4683** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *A01H 1/00* (2013.01)
A01H 5/00 (2013.01)
C07K 14/195 (2013.01)
C12N 15/09 (2013.01)
C12N 15/10 (2013.01)
C12N 15/82 (2013.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2015 0003 (22) Data depozit: 2013.06.19 (31) Nr.: 61/661364; 12172557.6 (32) Data: 2012.06.19; 2012.06.19 (33) Țara: US; EP (41) Data publicării cererii: 2015.06.30, BOPI nr. 6/2015	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.03.31, BOPI nr. 3/2020 (85) 2015.01.16 (86) PCT/EP2013/062744, 2013.06.19 (87) WO 2013/189984 A3, 2013.12.27
(71) Solicitant: BASF AGRO B.V., NL (72) Inventatori: APONTE Raphael, DE; TRESCH Stefan, DE; WITSCHHEL Matthias, DE; LERCHL Jens, DE; PAULIK Jill Marie, US; BROMMER Chad, US; SEISER Tobias, DE; MASSA Dario, DE (73) Titular: BASF AGRO B.V., NL (74) Mandatar autorizat: SKIDAN Natalia	

(54) Plante cu toleranță sporită la erbicide

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la un procedeu de combatere a vegetației nedorite pe un teren de cultivare a plantelor. Procedeu dat include etapa de furnizare pe terenul respectiv a unei plante care conține cel puțin un acid nucleic, ce cuprinde o secvență de nucleotide care codifică protoporfirinogen oxidaza (PPO) mutantă, planta menționată fiind rezistentă sau tolerantă la un erbicid care inhibă PPO, și

2

etapa de aplicare pe terenul respectiv a unei cantități eficiente de erbicid menționat.

De asemenea, invenția se referă la plante care cuprind enzime PPO de tip sălbatic sau mutante și la procedee de obținere a unor astfel de plante.

Secvențe: 46

Revendicări: 13

Figuri: 4

MD 4683 C1 2020.12.31

(54) Plants having increased tolerance to herbicides**(57) Abstract:**

1

The invention relates to a method for controlling undesired vegetation at a plant cultivation site. The method comprises the steps of providing, at said site, a plant that comprises at least one nucleic acid comprising a nucleotide sequence encoding a mutated protoporphyrinogen oxidase (PPO) which is resistant or tolerant to a PPO-inhibiting

2

herbicide, and of applying to said site an effective amount of said herbicide.

The invention further relates to plants comprising wild-type or mutated PPO enzymes, and methods of obtaining such plants.

Sequences: 46

Claims: 13

Fig.: 4

(54) Растения с повышенной толерантностью к гербицидам**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к способу борьбы с сорной растительностью на территории культивирования растений. Данный способ включает этап доставки на указанный участок растения, которое содержит, по меньшей мере, одну нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность нуклеотидов, которая кодирует мутантный тип протопорфириноген оксидазы (PPO), упомянутое растение является

2

резистентным или толерантным к PPO-ингибирующему гербициду, и этап применения на этом участке эффективного количества указанного гербицида.

Также, изобретение относится к растениям, включающим дикий тип или мутантные PPO энзимы и к методам получения таких растений.

Последовательности: 46

П. формулы: 13

Фиг.: 4

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

Prezenta invenție se referă, în general, la procedee de conferire plantelor a unei toleranțe la nivel agricol la un erbicid. În special, invenția se referă la plante cu toleranță sporită la erbicidele care inhibă PPO. În mod mai special, prezenta invenție se referă la procedee și plante obținute prin mutageneză și încrucișare, și transformare, care au toleranță sporită la erbicidele ce inhibă PPO.

Erbicidele care inhibă protoporfirinogen oxidaza (în continuare denumită Protox sau PPO; EC:1.3.3.4), o enzimă cheie în biosinteza protoporfirinei IX, sunt utilizate pentru controlul selectiv al buruienilor din anii 1960. PPO catalizează ultima etapă obișnuită în biosinteza clorofilului și a hemului, care reprezintă oxidarea protoporfirinogenului IX în protoporfirina IX. (Matringe et al. 1989. Biochem. J. 260: 231). Erbicidele care inhibă PPO includ mai multe clase structurale diferite de molecule (Duke et al. 1991. Weed Sci. 39: 465; Nandihalli et al. 1992. Pesticide Biochem. Physiol. 43: 193; Matringe et al. 1989. FEBS Lett. 245: 35; Yanase and Andoh. 1989. Pesticide Biochem. Physiol. 35: 70). Acești compuși erbicizi includ difenileteri {de ex. lactofen, (+)-2-etoxi-1-metil-2-oxoetil 5-{2-clor-4-(trifluormetil)fenoxi}-2-nitrobenzoat; acifluorfen, acid 5-{2-cloro-4-(trifluormetil)fenoxi}-2-nitrobenzoic; esterul său metilic; sau oxifluorfen, 2-clor-1-(3-etoxi-4-nitrofenoxi)-4-(trifluorobenzen)}, oxidiazoli (de ex. oxidazon, 3-{2,4-diclor-5-(1-metiletoxi)fenil}-5-(1,1-dimetiletil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-onă), imide ciclice (de ex. S-23142, N-(4-clor-2-fluor-5-propargiloxifenil)-3,4,5,6-tetrahidroftalimidă; clorofthalim, N-(4-clorfenil)-3,4,5,6-tetrahidroftalimidă), pirazoli de fenil (de ex. TNPP-etil, etil 2-{1-(2,3,4-triclorofenil)-4-nitropirazolil-5-oxi}propionat; M&B 39279), derivați ai piridinei (de ex., LS 82-556), și fenopilat și analogii săi O-fenilpirolidino- și piperidinocarbamat. Majoritatea acestor compuși inhibă competitiv reacția normală catalizată de enzimă, care acționează aparent ca analogi de substrat.

Aplicarea erbicidelor care inhibă PPO are drept rezultat acumularea protoporfirinogenului IX în cloroplast și mitocondrii, care se consideră că se scurge în citosol, unde este oxidat de o peroxidază. Atunci când este expusă la lumină, protoporfirina IX cauzează formarea oxigenului singlet în citosol și formarea altor specii de oxigen reactiv, care pot cauza peroxidarea lipidică și distrugerea membranei, conducând la moartea rapidă a celulelor (Lee et al. 1993. Rev. Plant Physiol. 102: 881).

Nu toate enzimele PPO sunt susceptibile la erbicidele care inhibă enzimele PPO ale plantelor. Atât enzimele PPO ale *Escherichia coli*, cât și ale *Bacillus subtilis* (Sasarmen et al. 1993. Can. J. Microbiol. 39: 1155; Dailey et al. 1994. J. Biol. Chem. 269: 813) sunt rezistente la acești inhibitori erbicizi. Au fost raportați mutanți ai algei unicelulare *Chlamydomonas reinhardtii* rezistenți la erbicidul fenilimidă S-23142 (Kataoka et al. 1990. J. Pesticide Sci. 15: 449; Shibata et al. 1992. In Research in Photosynthesis, Vol. III, N. Murata, ed. Kluwer: Netherlands. pp. 567-70). Cel puțin unul dintre acești mutanți pare să aibă o activitate modificată a PPO care este rezistentă nu numai la inhibitorul erbicid pe care mutantul a fost selectat, ci și la alte clase de inhibitori protox (Oshio et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c: 339; Sato et al. 1994. In ACS Symposium on Porphyrin Pesticides, S. Duke, ed. ACS Press: Washington, D.C.). O linie celulară mutantă de tutun a fost, de asemenea, descrisă, care este rezistentă la inhibitorul S-21432 (Che et al. 1993. Z. Naturforsch. 48c: 350). Mutanții auxotrofi *E. coli* au fost utilizați pentru confirmarea rezistenței erbicide a erbicidelor care inhibă PPO a plantelor clonate.

Trei strategii principale sunt disponibile pentru a face plantele tolerante la erbicide, și anume (1) detoxifierea erbicidului cu o enzimă care transformă erbicidul, sau metabolitul său activ, în produse netoxice, cum ar fi, de exemplu, enzimele de toleranță la bromoxinil sau basta (EP 242236, EP 337899); (2) transformarea enzimei țintă într-o enzimă funcțională care este mai puțin susceptibilă la erbicid, sau la metabolitul său activ, cum ar fi, de exemplu, enzimele de toleranță la glifosat (EP 293356, Padgett S. R. et al., J. Biol. Chem, 266, 33, 1991); sau (3) supraexprimarea enzimei susceptibile astfel încât să producă cantități de enzimă țintă în plantă care să fie suficiente în raport cu erbicidul, în vederea constantelor cinetice ale acestei enzime, astfel încât să aibă suficientă enzimă funcțională disponibilă în ciuda prezenței inhibitorului său. Strategia a treia a fost descrisă pentru obținerea cu succes a plantelor care au fost tolerante la inhibitori PPO (a se vedea de ex. US 5,767,373 [1] sau US 5,939,602, precum și membrii familiei de brevete ale acestora). În plus, SUA 2010/0100988 și WO 2007/024739 [2] dezvăluie secvențe de nucleotide care codifică secvențele de aminoacizi având o activitate enzimatică, astfel încât secvențele de aminoacizi să fie rezistente la substanțele chimice erbicide ale inhibitorului PPO, în

special mutanții inhibitorului 3-feniluracil specific PPO.

Până în prezent, stadiul tehnic nu a descris plante tolerante la erbicidele care inhibă PPO conținând cel puțin un acid nucleic al PPO de tip sălbatic sau mutant conform prezentei invenții. De asemenea, în stadiul tehnic nu au fost descrise plante de cultură tolerante la erbicidele care inhibă PPO conținând mutații pe genomuri, alții decât genomul din care este obținută gena PPO. Prin urmare, în domeniu este necesară identificarea genelor cu toleranță la erbicidele care inhibă PPO din genomurile și speciile suplimentare. De asemenea, în domeniu este nevoie de plante de cultură și plante de cultură cu toleranță sporită la erbicide, cum ar fi erbicid care inhibă PPO și conținând cel puțin un acid nucleic al PPO de tip sălbatic și/sau mutant. De asemenea, sunt necesare procedee pentru combaterea creșterii buruienilor din vecinătatea acestor plante de cultură sau plantelor de cultură. Aceste compoziții și procedee vor permite utilizarea unor tehnici de pulverizare în timpul aplicării erbicidelor pe zone, care conțin plante de cultură sau pe plantele de cultură.

Problema este soluționată de prezenta invenție care se referă la un procedeu de combatere a vegetației nedorite pe un teren de cultivare a plantelor, unde procedeul dat cuprinde etapele de:

a) furnizare, pe terenul respectiv, a unei plante care cuprinde cel puțin un acid nucleic cuprinzând o secvență de nucleotide care codifică o protoporfirinogen oxidază mutantă (mut-PPO), care este rezistentă sau tolerantă la un "erbicid care inhibă PPO" și

b) aplicare pe terenul respectiv a unei cantități eficiente de erbicid menționat.

Totodată, secvența de nucleotide:

a) cuprinde secvența SEQ ID NO: 1, sau 3, sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3,

și unde mut-PPO a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4 cuprinde următoarele:

a) aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln; și

b) aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Val sau Met.

Intr-o variantă preferențială de executare a invenției, planta cuprinde cel puțin un acid nucleic heterolog suplimentar care cuprinde o secvență de nucleotide ce codifică o enzimă tolerantă la erbicid și erbicidul care inhibă PPO se aplică împreună cu unul sau mai multe erbicide suplimentare.

Un alt obiect se referă la o casetă de expresie care cuprinde un acid nucleic izolat ce codifică o polipeptidă mut-PPO, unde acidul nucleic are o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide a SEQ ID NO: 1 sau 3, și unde mut-PPO codificată este o variantă a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Met sau Val, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, He, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln, unde polipeptida menționată mut-PPO conferă rezistență sau toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO într-o plantă comparativ cu o plantă sălbatică.

În plus, prezenta invenție se referă la o polipeptidă mut-PPO ce cuprinde o secvență, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Met sau Val, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln, unde polipeptida mut-PPO menționată conferă rezistență sau toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO într-o plantă comparativ cu o plantă sălbatică.

Un alt obiect se referă la o celulă de plantă transgenică transformată de un acid nucleic ce codifică o polipeptidă mut-PPO, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, unde expresia acidului nucleic în celula de plantă duce la rezistență sau toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO, comparativ cu un soi sălbatic de celulă de plantă, unde mut-PPO codificată este o variantă a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, care include aminoacidul ce corespunde poziției 397 și care este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, He, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln, și aminoacidul ce corespunde poziției 420 care este Met sau Val.

Intr-o variantă preferențială de executare a invenției, celula de plantă transgenică, unde acidul nucleic ce codifică polipeptida mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupul ce constă dintr-o: a) polinucleotidă prezentată în SEQ ID NO: 1 sau 3, sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3; b) polinucleotidă ce codifică o polipeptidă, care este în măsură de cel puțin 80%

identică cu SEQ ID NO:2 sau 4; c) polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau b); d) polinucleotidă complementară polinucleotidei a oricăreia dintre a) - c).

5 In plus, prezenta invenție se referă la planta transgenică conform prezentei invenții care cuprinde o celulă de plantă conform prezentei invenții, unde expresia acidului nucleic care codifică polipeptida mut-PPO în plantă duce la sporirea rezistenței plantei la un erbicid care inhibă PPO comparativ cu o plantă sălbatică.

10 Un alt obiect se referă la o plantă care exprimă o polipeptidă mut-PPO supusă mutagenzei sau recombinantă ce cuprinde o secvență care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Met sau Val, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln, unde mut-PPO menționată conferă plantei toleranță sporită la erbicid comparativ cu soiul de plantă sălbatică corespunzător, atunci când este exprimată în aceasta.

15 Într-o altă variantă preferențială de executare a invenției, invenția se referă la o sămânță produsă de o plantă transgenică care cuprinde o celulă de plantă conform prezentei invenții, unde sămânța este o specie pură pentru rezistență sporită la un erbicid care inhibă PPO, comparativ cu un soi de sămânță de tip sălbatic.

20 Un alt obiect se referă la un procedeu de producere a unei plante transgenice care cuprinde (a) transformarea unei celule de plantă cu o casetă de expresie cuprinzând un acid nucleic ce codifică o polipeptidă mut-PPO, care cuprinde o secvență, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO:2 sau SEQ ID NO:4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Val sau Met, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln, și (b) generarea unei plante cu rezistență sporită la erbicidul care inhibă PPO din celula de plantă.

25 Într-o variantă preferențială de executare a invenției, acidul nucleic al mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupul ce constă dintr-o: a) polinucleotidă prezentată în SEQ ID NO: 1 sau 3, sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO:1 sau 3; b) polinucleotidă ce codifică o polipeptidă, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO:2 sau 4; c) polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau b); și d) polinucleotidă complementară polinucleotidei a oricăreia dintre a) - c).

30 De preferință, caseta de expresie cuprinde suplimentar o regiune de reglare a inițierii transcripției și o regiune de reglare a inițierii translației care sunt funcționale în plantă.

35 Într-o altă variantă de executare, invenția se referă la utilizarea mut-PPO din invenție ca marker de selecție. Invenția prezintă un procedeu de identificare sau selectare a unei celule de plantă transformate, a unui țesut de plantă, a unei plante sau părți a acesteia care cuprinde a) furnizarea unei celule de plantă transformate, unui țesut de plantă, unei plante sau părți a acesteia, unde celula de plantă transformată, țesutul de plantă, planta sau o parte a acesteia cuprinde un acid nucleic izolat care codifică o polipeptidă a mut-PPO a invenției, așa cum este descris în continuare, în care polipeptida este utilizată ca un marker de selecție, și în care celula de plantă transformată, țesutul de plantă, planta sau o parte a acesteia pot cuprinde opțional un alt acid nucleic izolat relevant; b) tratarea celulei de plantă transformate, țesutului de plantă, plantei sau părții acesteia cu cel puțin un compus ce inhibă PPO; c) determinarea dacă celula de plantă, țesutul de plantă, planta sau o parte a acesteia este afectată de inhibitor sau compusul de inhibare; și d) identificarea sau selectarea celulei de plantă transformate, țesutului de plantă, plantei sau unei părți a acesteia.

45 Invenția este, de asemenea, încorporată în proteine purificate ale mut-PPO ce conțin mutațiile descrise aici, care sunt utile în studii de modelare moleculară pentru elaborarea altor îmbunătățiri la toleranța erbicidă. Metode de purificare a proteinelor sunt bine cunoscute, și pot fi ușor realizate folosind produse disponibile în comerț sau metode special concepute prezentate, de exemplu, în Biotehnologia proteinelor, Walsh and Headon (Wiley, 1994).

DESCRIEREA SUCCINTĂ A DESENELOR

55 **Figura 1** prezintă o aliniere a secvențelor de aminoacizi ale secvențelor PPO de *Amaranthus tuberculatus* (*A.tuberculatus*), *Amaranthus tuberculatus* rezistent (*A.tuberculatus_R*), *Arabidopsis thaliana* lung (*A.thaliana_2*), *Spinacia oleracea* scurt (*S.oleracea_2*), *Nicotiana tabacum* scurt (*N.tabacum_2*), *Glycine max* (*Glycine_max*), *Arabidopsis thaliana* scurt

(*A.thaliana_1*), *Nicotiana tabacum lung* (*N.tabacum_1*), *Chlamydomonas reinhardtii lung* (*C.reinhardtii_1*), *Zea mays* (*Z.mays*), *Oryza sativa* (*O.sativa1*), *Solanum tuberosum* (*S.tuberosum*), *Cucumis sativus* (*C.sativus*), *Cichorium intybus* (*C.intybus_1*), *Spinacia oleracea lung* (*S.oleracea_1*), *Polytomella sp. Pringsheim 198.80* (*Polytomella*). Regiunile conservate sunt indicate cu culoare gri deschisă, gri și neagră.

Figura 2 prezintă selectarea tulpinilor de *Chlamydomonas reinhardtii* rezistente la erbicidul ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4). (A) Celule supuse mutagenzei plasate pe un mediu solid fără un agent de selecție. (B) Celule supuse mutagenzei plasate pe un mediu solid conținând 1×10^{-7} M erbicid ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4). Celulele care sunt rezistente la erbicidul ce inhibă PPO formează colonii (încercuite și numerotate 31 și 32), în timp ce celulele susceptibile nu cresc. Numărul mai mare de colonii pe placa A față de B, indică că coloniile de pe placa B sunt rezistente la erbicidul ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4).

Figura 3 prezintă caracteristicile de creștere ale tulpinilor *Chlamydomonas reinhardtii* selectate după cum se arată în Figura 2, rezistente la erbicidul ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4). (A) Curba doză-răspuns a celulelor de tip sălbatic tratate cu erbicid ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4) cu CI_{50} respectiv. (B) Curba doză-răspuns a celulelor supuse mutagenzei (tulpina 17) tratate cu erbicid ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4) cu CI_{50} respectiv. Tulpina 17 (B), rezistentă la erbicidul ce inhibă PPO 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), arată un CI_{50} mult mai mic, comparativ cu celulele de tip sălbatic.

Figura 4 prezintă plante de soia de tip sălbatic și transgenice T1 tratate cu rata de pulverizare indicată (g ia/ha) a erbicidelor ce inhibă PPO cu MSO de 1%.

A înseamnă plantă de soia de tip sălbatic.

B înseamnă plantă de soia transformată cu un acid nucleic care codifică o mut-PPO a SECV ID nr. 2, în care leucina la poziția 397 este înlocuită cu acidul aspartic, și fenilalanin la poziția 420 este substituit cu valină.

1 înseamnă nepulverizat.

2 înseamnă 150 g de Saflufenacil.

3 înseamnă 100 g de 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4).

4 înseamnă 150 g de flumioxazin.

5 înseamnă 600 g de fomesafen.

Tabelul 1

SECV. ID Nr.:	Descrierea	Organismul	Gena	Nr. de acces:
1	Acidul nucleic al PPO	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_WC	DQ386114
2	Aminoacidul PPO	<i>Amaranthus</i>	ABD52326	
3	Acidul nucleic al PPO	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_AC	DQ386117
4	Aminoacidul PPO	<i>Amaranthus</i>	ABD52329	
5	Acidul nucleic al PPO	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_CC_R	DQ386118
6	Aminoacidul PPO	<i>Amaranthus</i>	ABD52330	
7	Acidul nucleic al PPO	<i>Amaranthus</i>	PPX2L_AC_R	DQ386116
8	Aminoacidul PPO	<i>Amaranthus</i>	ABD52328	
9	Acidul nucleic al PPO	<i>Arabidopsis</i>	PPX	AB007650

10	Aminoacidul PPO	<i>Arabidopsis</i>	BAB08301	
11	Acidul nucleic al PPO	<i>Nicotiana</i>	ppxI	AF044128
12	Aminoacidul PPO	<i>Nicotiana</i>	AAD02290	
13	Acidul nucleic al PPO	<i>Cichorium</i>	PPX1	AF160961
14	Aminoacidul PPO	<i>Cichorium</i>	AF160961_1	
15	Acidul nucleic al PPO	<i>Spinacia</i>	SO-POX1	AB029492
16	Aminoacidul PPO	<i>Spinacia</i>	BAA96808	
17	Acidul nucleic al PPO	<i>Spinacia</i>	SO-POX2	AB046993
18	Aminoacidul PPO	<i>Spinacia</i>	BAB60710	
19	Acidul nucleic al PPO	<i>Solanum</i>	PPOX	AJ225107
20	Aminoacidul PPO	<i>Solanum</i>	CAA12400	
21	Acidul nucleic al PPO	<i>Zea</i>	ZM_BFc0091B03	BT063659
22	Aminoacidul PPO	<i>Zea</i>	ACN28356	
23	Acidul nucleic al PPO	<i>Zea</i>	prpo2	NM_001111534
24	Aminoacidul PPO	<i>Zea</i>	NP_001105004	
25	Acidul nucleic al PPO	<i>Chlamydomonas</i>	Ppx1	AF068635
26	Aminoacidul PPO	<i>Chlamydomonas</i>	AAC79685	
27	Acidul nucleic al PPO	<i>Polytomella</i>	PPO	AF332964
28	Aminoacidul PPO	<i>Polytomella</i>	AF332964_1	
29	Acidul nucleic al PPO	<i>Sorghum</i>	Hyp. Proteina hyp.	XM_002446665
30	Aminoacidul PPO	<i>Sorghum</i>	XP_002446710	
31	Acidul nucleic al PPO	<i>Chlorella</i>		
32	Aminoacidul PPO	<i>Chlorella</i>		51538
33	Acidul nucleic al PPO	<i>Oryza</i>	PPOX1	AB057771
34	Aminoacidul PPO	<i>Oryza</i>	BAB39760	
35	Acidul nucleic al PPO	<i>Amaranthus</i>	PPX2	DQ386113
36	Aminoacidul PPO	<i>Amaranthus</i>	ABD52325	
37	Acidul nucleic al PPO	<i>Arabidopsis</i>	PPOX	NM_178952
38	Aminoacidul PPO	<i>Arabidopsis</i>	NP_849283	
39	Acidul nucleic al PPO	<i>Nicotiana</i>	ppxII	AF044129
40	Aminoacidul PPO	<i>Nicotiana</i>	AAD02291	
41	Acidul nucleic al PPO	<i>Glicină</i>	hemG	AB025102
42	Aminoacidul PPO	<i>Glicină</i>	BAA76348	
43	Acidul nucleic al PPO	<i>Cucumis</i>	CsPPO	AB512426
44	Aminoacidul PPO	<i>Cucumis</i>	BAH84864.1	
45	Acidul nucleic al PPO	<i>Oryza</i>	Hyp. Proteina hyp.	AL606613
46	Aminoacidul PPO	<i>Oryza</i>	CAE01661	

Articolele "un" și "o" sunt utilizate în prezenta pentru a face referință la unul sau mai multe (și anume, la cel puțin unul) din obiectele gramaticale ale articolului. Cu titlu de exemplificare, "un element" înseamnă unul sau mai multe elemente.

5

După cum este utilizat în prezenta, cuvântul "cuprinzând" sau variațiile acestuia, cum ar fi "cuprinde" sau "cuprind" implică includerea unui element, număr întreg sau etapă menționată, sau grup de elemente, numere întregi sau etape, dar nu excluderea oricărui element, număr întreg

sau etapă, sau grup de elemente, numere întregi sau etape.

Prezenta invenție se referă la un procedeu de combatere a vegetației nedorite pe un teren de cultivare a plantelor, procedeul dat cuprinzând etapele de:

- a) furnizare, pe terenul respectiv, a unei plante care conține cel puțin un acid nucleic constând dintr-o secvență de nucleotide care codifică o protoporfirinogen oxidază de tip sălbatic sau o protoporfirinogen oxidază mutantă (mut-PPO), care este rezistentă sau tolerantă la un erbicid care inhibă PPO,

- b) aplicarea pe terenul respectiv a unei cantități eficiente de erbicidul menționat.

Termenul "combaterea vegetației nedorite" trebuie înțeles ca însemnând distrugerea buruienilor și/sau provocarea întârzierii sau inhibarea în alt mod a creșterii normale a buruienilor. Prin buruieni, în sensul cel mai larg, se va înțelege toate acele plante care cresc pe terenurile unde acestea nu sunt dorite. Buruienile din prezenta invenție includ, de exemplu, buruieni dicotiledonate și monocotiledonate. Buruienile dicotiledonate includ, dar nu se limitează la buruienile din genurile: *Sinapis*, *Lepidium*, *Galium*, *Stellaria*, *Matricaria*, *Anthemis*, *Galinsoga*, *Chenopodium*, *Urtica*, *Senecio*, *Amaranthus*, *Portulaca*, *Xanthium*, *Convolvulus*, *Ipomoea*, *Polygonum*, *Sesbania*, *Ambrosia*, *Cirsium*, *Carduus*, *Sonchus*, *Solanum*, *Rorippa*, *Rotala*, *Lindernia*, *Lamium*, *Veronica*, *Abutilon*, *Emex*, *Datura*, *Viola*, *Galeopsis*, *Papaver*, *Centaurea*, *Trifolium*, *Ranunculus*, și *Taraxacum*. Buruienile monocotiledonate includ, dar nu se limitează la buruienile din genurile: *Echinochloa*, *Setaria*, *Panicum*, *Digitaria*, *Phleum*, *Poa*, *Festuca*, *Eleusine*, *Brachiaria*, *Lolium*, *Bromus*, *Avena*, *Cyperus*, *Sorghum*, *Agropyron*, *Cynodon*, *Monochoria*, *Fimbristylis*, *Sagittaria*, *Eleocharis*, *Scirpus*, *Paspalum*, *Ischaemum*, *Sphenoclea*, *Dactyloctenium*, *Agrostis*, *Alopecurus*, și *Apera*. În plus, buruienile din prezenta invenție pot include, de exemplu, plante de cultură care cresc pe un teren nedorit. De exemplu, o plantă de porumb spontană care se află pe un câmp unde se cultivă predominant plante de soia poate fi considerată o buruienă, în cazul în care planta de porumb nu este dorită pe câmpul cu plante de soia.

Termenul "plantă" este folosit în sensul său cel mai larg, deoarece se referă la un material organic și se intenționează să cuprindă organisme eucariote care sunt membre ale Regnului vegetal, exemple ale cărora includ dar nu sunt limitate la plante vasculare, legume, cereale, flori, copaci, ierburi, arbuști, iarbă, viță de vie, ferigi, mușchi, ciuperci și alge, etc. precum și clone, vârstari, și părți de plante utilizate pentru înmulțirea asexuată (de ex., butași, lăstari, rizomi, tulpini subterane, tufe, coroane, bulbi, cepe, tuberculi, rizomi, plante/țesuturi produse în cultura de țesuturi, etc.). Termenul "plantă" cuprinde, de asemenea, plante întregi, strămoși și descendenți ai plantelor și părților de plante, inclusiv semințe, lăstari, tulpini, frunze, rădăcini (inclusiv tuberculi), flori, mănunchiuri de flori, fructe, pedunculi, stamine, antere, stigme, stil, ovar, petală, sepală, carpelă, vârf radicular, înveliș radicular, fibre radiculare, fibre de frunză, fibre de sămânță, granule de polen, microspor, cotiledon hipocotil, epicotil, xilem, floem, parenchim, endosperm, o celulă însoțitor, o celulă de apărare, precum și orice alte organe, țesuturi, și celule cunoscute ale unei plante, și țesuturi și organe, în care fiecare dintre cele sus-menționate cuprind gena/acidul nucleic relevant. Termenul "plantă" cuprinde, de asemenea, celule de plante, culturi în suspensie, țesut calus, embrioni, regiuni meristematice, gametofiti, sporofiti, polen și microspori, din nou, unde fiecare dintre cele sus-menționate cuprind gena/acidul nucleic relevant.

Plantele care sunt în special utile în procedeele invenției includ toate plantele care fac parte din superfamilia Viridiplantae, în special plantele monocotiledonate și dicotiledonate, inclusiv plantele furajere sau leguminoase furajere, plantele decorative, plantele alimentare, arborii sau arbuștii selectați din lista ce include *Acer spp.*, *Actinidia spp.*, *Abelmoschus spp.*, *Agave sisalana*, *Agropyron spp.*, *Agrostis stolonifera*, *Allium spp.*, *Amaranthus spp.*, *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Annona spp.*, *Apium graveolens*, *Arachis spp.*, *Artocarpus spp.*, *Asparagus officinalis*, *Avena spp.* (de ex., *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*), *Averrhoa carambola*, *Bambusa sp.*, *Benincasa hispida*, *Bertholletia excelsa*, *Beta vulgaris*, *Brassica spp.* (e.g. *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [*canola*, *oilseed rape*, *turnip rape*]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum spp.*, *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macrocarpa*, *Carya spp.*, *Carthamus tinctorius*, *Castanea spp.*, *Ceiba pentandra*, *Cichorium endivia*, *Cinnamomum spp.*, *Citrullus lanatus*, *Citrus spp.*, *Cocos spp.*, *Coffea spp.*, *Colocasia esculenta*, *Cola spp.*, *Corchorus sp.*, *Coriandrum sativum*, *Corylus spp.*, *Crataegus spp.*, *Crocus sativus*, *Cucurbita spp.*, *Cucumis spp.*, *Cynara spp.*, *Daucus carota*, *Desmodium spp.*, *Dimocarpus longan*, *Dioscorea spp.*, *Diospyros spp.*, *Echinochloa spp.*, *Elaeis* (e.g. *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus sp.*,

Eriobotrya japonica, *Eucalyptus* spp., *Eugenia uniflora*, *Fagopyrum* spp., *Fagus* spp., *Festuca arundinacea*, *Ficus carica*, *Fortunella* spp., *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (e.g. *Glycine max*, *Soja hispida* or *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (e.g. *Helianthus annuus*), *Hemerocallis fulva*, *Hibiscus* spp., *Hordeum* spp. (e.g. *Hordeum vulgare*), *Ipomoea batatas*, *Juglans* spp., *Lactuca sativa*, *Lathyrus* spp., *Lens culinaris*, *Linum usitatissimum*, *Litchi chinensis*, *Lotus* spp., *Luffa acutangula*, *Lupinus* spp., *Luzula sylvatica*, *Lycopersicon* spp. (e.g. *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*), *Macrotyloma* spp., *Malus* spp., *Malpighia emarginata*, *Mammea americana*, *Mangifera indica*, *Manihot* spp., *Manilkara zapota*, *Medicago sativa*, *Melilotus* spp., *Mentha* spp., *Miscanthus sinensis*, *Momordica* spp., *Morus nigra*, *Musa* spp., *Nicotiana* spp., *Olea* spp., *Opuntia* spp., *Ornithopus* spp., *Oryza* spp. (e.g. *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Passiflora edulis*, *Pastinaca sativa*, *Pennisetum* spp., *Persea* spp., *Petroselinum crispum*, *Phalaris arundinacea*, *Phaseolus* spp., *Phleum pratense*, *Phoenix* spp., *Phragmites australis*, *Physalis* spp., *Pinus* spp., *Pistacia vera*, *Pisum* spp., *Poa* spp., *Populus* spp., *Prosopis* spp., *Prunus* spp., *Psidium* spp., *Punica granatum*, *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Raphanus sativus*, *Rheum rhabarbarum*, *Ribes* spp., *Ricinus communis*, *Rubus* spp., *Saccharum* spp., *Salix* spp., *Sambucus* spp., *Secale cereale*, *Sesamum* spp., *Sinapis* spp., *Solanum* spp. (e.g. *Solanum tuberosum*, *Solanum integrifolium* or *Solanum lycopersicum*), *Sorghum bicolor*, *Spinacia* spp., *Syzygium* spp., *Tagetes* spp., *Tamarindus indica*, *Theobroma cacao*, *Trifolium* spp., *Tripsacum dactyloides*, *Triticosecale rimpaui*, *Triticum* spp. (e.g. *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum*, *Triticum monococcum* or *Triticum vulgare*), *Tropaeolum minus*, *Tropaeolum majus*, *Vaccinium* spp., *Vicia* spp., *Vigna* spp., *Viola odorata*, *Vitis* spp., *Zea mays*, *Zizania palustris*, *Ziziphus* spp., amarant, anghinare, sparanghel, broccoli, varză de Bruxelles, varză, canola, morcov, conopidă, țelină, salată, in, varză furajeră, linte, rapiță, bamă, ceapă, cartof, orez, soia, căpșun, sfeclă de zahăr, trestie de zahăr, floarea-soarelui, roșii, dovleac, ceai și alge, printre altele. Conform unei variante de executare preferențială a prezentei invenții, planta este o plantă de cultură. Exemple de plante de cultură includ, printre altele, soia, floarea-soarelui, canola, lucerna, semințe de rapiță, bumbacul, tomatele, cartoful sau tutunul. De preferință, planta este o plantă monocotiledonată, cum ar fi trestia de zahăr. De preferință, planta este o cereală, cum ar fi orezul, porumbul, grâul, orzul, meiul, secara, sorgul sau ovăzul.

Intr-o variantă de executare preferențială, planta a fost produsă în prealabil printr-un procedeu care cuprinde recombinant prepararea unei plante prin introducerea și supra-exprimarea unei transgene a PPO de tip sălbatic sau mut-PPO în conformitate cu prezenta invenție, așa cum se descrie mai detaliat în continuare.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, planta a fost produsă în prealabil printr-un procedeu care cuprinde in situ celulele de plantă supuse mutagenzei, pentru a obține celule de plantă care exprimă o mut-PPO.

Așa cum este descris în prezenta, acizii nucleici ai invenției își găsesc utilizare în sporirea toleranței la erbicide a plantelor care cuprind în genomurile lor o genă ce codifică o proteină de tip sălbatic sau o mut-PPO tolerantă la erbicide. O astfel de genă poate fi o genă endogenă sau o transgenă, după cum este descris în continuare. În plus, în anumite variante de executare, acizii nucleici din prezenta invenție pot fi aranjați cu orice combinație de secvențe de polinucleotide relevante cu scopul de a crea plante cu un fenotip dorit. De exemplu, acizii nucleici din prezenta invenție pot fi aranjați cu orice alte polinucleotide care codifică polipeptidele, având o activitate pesticidă și/sau insecticidă, cum ar fi, de exemplu, proteinele toxinei *Bacillus thuringiensis* (descrise în brevetele USA nr. 5,366,892; 5,747,450; 5,737,514; 5,723,756; 5,593,881; și Geiser et al (1986) Gene 48: 109), 5-enolpiruvilsichimat-3-fosfat sintaza (EPSPS), glifosat acetil transferaza (GAT), citocrom P450 monooxygenaza, fosfinotricin acetiltransferaza (PAT), acetohidroxiacid sintaza (AHAS; EC 4.1.3.18, cunoscute, de asemenea, sub denumirea de acetolactat sintaza sau ALS), hidroxifenil piruvat dioxigenaza (HPPD), fitoen desaturaza (PD) și enzime de degradare a dicambei descrise în WO 02/068607, sau enzime de degradare a derivaților fenoxiaceticacidului și fenoxipropionicacidului descrise în WO 2008141154 sau WO 2005107437. Combinațiile obținute pot include, de asemenea, copii multiple ale oricăreia dintre polinucleotidele relevante.

În general, termenul "erbicid" este utilizat aici pentru a semnifica un ingredient activ care distruge, combate sau modifică nefavorabil creșterea plantelor. Cantitatea sau concentrația preferată de erbicid este o "cantitate eficientă" sau o "concentrație eficientă". Prin "cantitate eficientă" și "concentrație eficientă" se are în vedere o cantitate și, respectiv, o concentrație care

55 Erbicidele care inhibă PPO A și/sau compușii erbicizi B descriși aici având o grupă carboxil pot fi utilizate sub formă de acid, sub formă de o sare adaptată pentru utilizarea în agricultură după cum s-a menționat mai sus sau în altă parte sub formă de un derivat acceptabil în

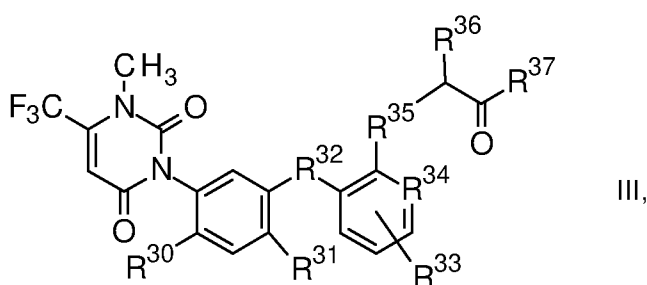
agricultură, de exemplu ca amidele, cum ar fi mono- și di-C₁-C₆-alchilamidele sau arilamidele, ca esterii, de exemplu ca esterii alil, esterii propargil, esterii C₁-C₁₀-alchil, esterii alcoialchilici, esterii tefuril ((tetrahidrofuran-2-il)metil) și, de asemenea, ca tioesterii, de exemplu ca esterii C₁-C₁₀-alchiltio. Mono- și di-C₁-C₆-alchilamidele preferate sunt metilul și dimetilamidele.

5 Arilamidele preferate sunt, de exemplu, anilidele și 2-cloroanilidele. Esteri alchilici preferați sunt, de exemplu, metilul, etilul, propilul, izopropilul, butilul, izobutilul, pentilul, mexilul (1-metilhexil), meptilul (1-metilheptil), heptilul, octilul sau esterii izooctil (2-etilhexil). Esterii preferați C₁-C₄-alcoxi-C₁-C₄-alchil sunt esterii etilici liniari sau ramificați C₁-C₄-alcoxi, de exemplu esterul 2-metoxietil, 2-etoxietil, 2-butoxietil (butotil), 2-butoxipropil sau 3-butoxipropil.

10 Un exemplu de ester liniar sau ramificat C₁-C₁₀-alchiltio este esterul etiltio.

Exemple de erbicide care inhibă PPO care pot fi utilizate conform prezentei invenții sunt acifluorfen, acifluorfen-sodiu, azafenidin, bencarbazon, benzfendizon, bifenox, butafenacil, carfentrazon, carfentrazon-etil, clometoxifen, cinidon-etil, fluazolat, flufenpir, flufenpir-etil, flumiclorac, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen, fluoroglicofen-etil, flutiacet, flutiacet-metil, fomesafen, halosafen, lactofen, oxadiargil, oxadiazon, oxifluorfen, pentoxazon, profluazol, piraclonil, piraflufen, piraflufen-etil, saflufenacil, sulfentrazon, tidiazimin, tiafenacil, clornitrofen, flumipropin, fluoronitrofen, flupropacil, furiloxifen, nitrofluorfen, etil [3-[2-cloro-4-fluoro-5-(1-metil-6-trifluorometil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100), N-etil-3-2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1 *H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9), N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1 *H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9), N-etil-3-(2-cloro-6-fluoro-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7), N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7), 3-[7-fluoro-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-

25 [1,3,5]triazinan-2,4-dionă (CAS 451484-50-7), 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoidol-1,3-dionă (CAS 1300118-96-0), 1-metil-6-trifluorometil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1*H*-pirimidină-2,4-dione, metil (*E*)-4-[2-clor-5-[4-cloro-5-(difluoromethoxi)-1*H*-metil-pirazol-3-il]-4-fluor-fenoxi]-3-metoxi-but-2-enoat [CAS 948893-00-3], 3-[7-clor-5-fluor-2-(trifluorometil)-1*H*-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluorometil)-1*H*-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4), și uracili cu formula III



III,

35

unde

R³⁰ și R³¹ independent unul de altul sunt F, Cl sau CN;R³² este O sau S;R³³ este H, F, Cl, CH₃ sau OCH₃;

40

R³⁴ este CH sau N;R³⁵ este O sau S;R³⁶ este H, CN, CH₃, CF₃, OCH₃, OC₂H₅, SCH₃, SC₂H₅, (CO)OC₂H₅ sau CH₂R³⁸, unde R³⁸ este F, Cl, OCH₃, SCH₃, SC₂H₅, CH₂F, CH₂Br sau CH₂OH;

și

45

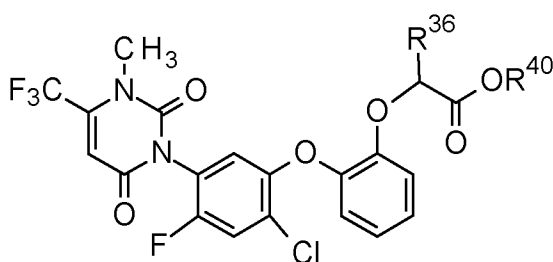
R³⁷ este (C₁-C₆-alchil)amino, (C₁-C₆-dialchil)amino, (NH)OR³⁹, OH, OR⁴⁰ sau SR⁴⁰unde R³⁹ este CH₃, C₂H₅ sau fenil; șiR⁴⁰ este independent unul de altul C₁-C₆-alchil, C₂-C₆-alchenil, C₃-C₆-alchinil, C₁-C₆-haloalchil, C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, C₁-C₆-

- alkoxi-C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, C₂-C₆-cianoalchil, C₁-C₄-alkoxi-carbonil-C₁-C₄-alchil, C₁-C₄-alchil-carbonil-amino, C₁-C₆-alchilsulfinil-C₁-C₆-alchil, C₁-C₆-alchil-sulfonil-C₁-C₆-alchil, C₁-C₆-dialkoxi-C₁-C₆-alchil, C₁-C₆-alchil-carboniloxi-C₁-C₆-alchil, fenil-carbonil-C₁-C₆-alchil, tri(C₁-C₃-alchil)-silil-C₁-C₆-alchil, tri(C₁-C₃-alchil)-silil-C₁-C₆-alchenil, tri(C₁-C₃-alchil)-silil-C₁-C₆-alchil, tri(C₁-C₃-alchil)-silil-C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, dimetilamino, tetrahidropirani, tetrahidrofuranil-C₁-C₃-alchil, fenil-C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, fenil-C₁-C₃-alchil, piridil-C₁-C₃-alchil, piridil, fenil,
- acești piridili și fenili independent unul de altul sunt substituiți cu 1-5 substituenți selectați din grupul ce constă din halogen, C₁-C₃-alchil sau C₁-C₂-haloalchil;
- C₃-C₆-cicloalchil sau C₃-C₆-cicloalchil-C₁-C₄-alchil,
- acești cicloalchili independent unul de altul sunt substituiți cu 1-5 substituenți selectați din grupul ce constă din halogen, C₁-C₃-alchil și C₁-C₂-haloalchil;

inclusiv sărurile lor metalice alcaline acceptabile în agricultură sau sărurile de amoniu.

Erbicide preferate care inhibă PPO și care pot fi utilizate conform prezentei invenții sunt:

- Acifluorfen, acifluorfen-sodiu, azafenidin, bencarbazon, benzfendizon, butafenacil, carfentrazon-etil, cinidon-etil, flufenpir-etil, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen-etil, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxadiazon, oxifluorfen, pentoxazon, pirafufen-etil, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9), N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9), N-etil-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7), N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă (CAS 451484-50-7), 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă (CAS 1300118-96-0), 1-metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 1304113-05-0), 3-[7-clor-5-fluor-2-(trifluormetil)-1H-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluormetil)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4) uracilii cu formula III.1 (care corespund uracililor cu formula III, unde R³⁰ este F, R³¹ este Cl, R³² este O; R³³ este H; R³⁴ este CH; R³⁵ este O și R³⁷ este OR⁴⁰)

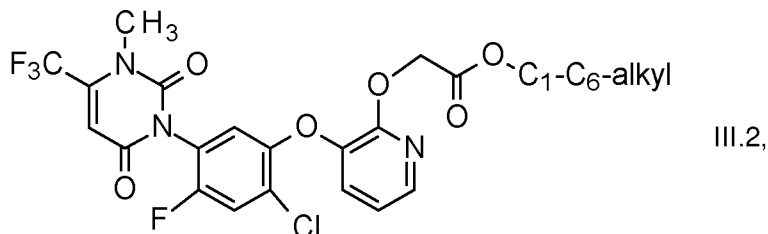


III.1,

- unde
R³⁶ reprezintă OCH₃, OC₂H₅, SCH₃ sau SC₂H₅;
și
R⁴⁰ reprezintă C₁-C₆-alchil, C₂-C₆-alchenil, C₃-C₆-alchil, C₁-C₆-haloalchil, C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alkoxi-C₁-C₆-alchil, C₁-C₃-cianoalchil, fenil-C₁-C₃-alchil, piridil-C₁-C₃-alchil, C₃-C₆-cicloalchil sau C₃-C₆-cicloalchil-C₁-C₄-alchil,
- acești cicloalchili sunt nesubstituiți sau substituiți cu 1 - 5 substituenți selectați din gruparea ce constă din halogen, C₁-C₃-alchil și C₁-C₂-haloalchil;

și

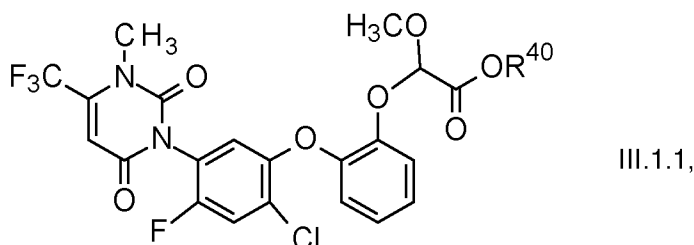
uracili cu formula III.2 (care corespund uracililor cu formula III, unde R^{30} este F, R^{31} este Cl, R^{32} este O; R^{33} este H; R^{34} este N; R^{35} este O și R^{37} este OR^{40} cu R^{40} fiind C_1 - C_6 -alchil)



5

Erbicide îndeosebi preferate care inhibă PPO și care pot fi utilizate conform prezentei invenții sunt: acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, carfentrazon-etil, cinidon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă (CAS 451484-50-7), 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), și 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoinol-1,3-dionă (CAS 1300118-96-0), 1-Metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 1304113-05-0), uracili cu formula III.1.1 (care corespund uracililor cu formula III, unde R^{30} este F, R^{31} este Cl, R^{32} este O; R^{33} este H; R^{34} este CH; R^{35} este O, R^{36} este OCH_3 și R^{37} este OR^{40})

20



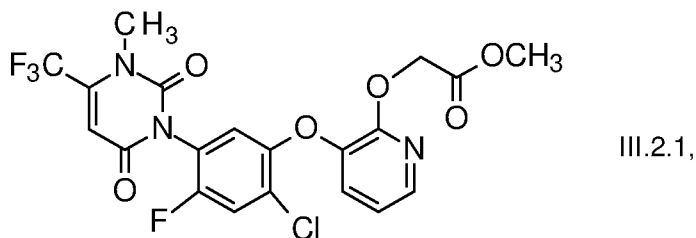
unde

R^{40} este C_1 - C_6 -alchil, C_2 - C_6 -alchenil, C_3 - C_6 -alchinil, C_1 - C_6 -haloalchil, C_1 - C_6 -alcoxi- C_1 - C_6 -alchil, C_1 - C_6 -alcoxi- C_1 - C_6 -alcoxi- C_1 - C_6 -alchil, C_1 - C_3 -cianoalchil, fenil- C_1 - C_3 -alchil, piridil- C_1 - C_3 -alchil, C_3 - C_6 -cicloalchil sau C_3 - C_6 -cicloalchil- C_1 - C_4 -alchil, acești cicloalchili fiind nesubstituiți sau substituiți cu 1 - 5 substituenți selectați din gruparea ce constă din halogen, C_1 - C_3 -alchil și C_1 - C_2 -haloalchil; este, de preferință, CH_3 , $CH_2CH_2OC_2H_5$, CH_2CHF_2 , ciclohexil, (1-metilciclopropil)metil sau CH_2 (piridină-4-il);

25

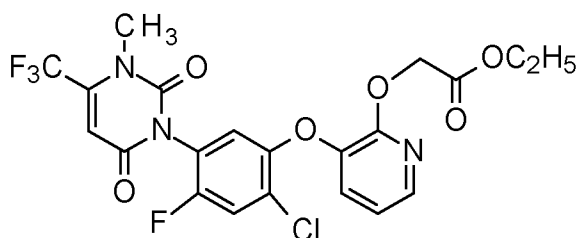
uracili cu formula III.2.1 (care corespund uracililor cu formula III, unde R^{30} este F; R^{31} este Cl, R^{32} este O; R^{33} este H; R^{34} este N; R^{35} este O și R^{37} este OR^{40} cu R^{40} fiind CH_3)

30



și

uracili cu formula III.2.2 (care corespund uracililor cu formula III, unde R^{30} este F; R^{31} este Cl; R^{32} este O; R^{33} este H; R^{34} este N; R^{35} este O și R^{37} este OR^{40} cu R^{40} fiind C_2H_5)



III.2.2,

- 5 Erbicidele care inhibă PPO, în special preferate, sunt erbicidele care inhibă PPO A.1 - A.14 enumerate mai jos în tabelul A:

Tabelul A

A.1	acifluorfen
A.2	butafenacil
A.3	carfentrazon-etil
A.4	cinidon-etil
A.5	flumioxazin
A.6	flutiacet-metil
A.7	fomesafen
A.8	lactofen
A.9	oxadiargil
A.10	oxifluorfen
A.11	saflufenacil
A.12	sulfentrazon
A.13	etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6)
A.14	1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4)

- 10 Erbicidele care inhibă PPO descrise mai sus, și care sunt utile pentru realizarea prezentei invenții sunt adesea aplicate cel mai bine împreună cu unul sau mai multe alte erbicide pentru a obține combaterea unei varietăți mai mari de vegetație nedorită. De exemplu, erbicidele care inhibă PPO pot fi utilizate, de asemenea, împreună cu erbicide suplimentare față de care planta de cultură este tolerantă, în mod natural, sau față de care este rezistentă prin expresia uneia sau mai multor transgene suplimentare sus-menționate. Atunci când sunt utilizați împreună cu alte erbicide țintă, compușii revendicați în prezenta pot fi preparați cu un alt erbicid sau erbicide, amestecate în rezervor cu un alt erbicid sau erbicide, sau aplicate succesiv cu un alt erbicid sau erbicide.

Componentele adecvate pentru amestecuri sunt, de exemplu, selectate din erbicidele din clasa b1) - b15)

- 20 B) erbicidele din clasa b1) - b15):

- b1) inhibitori ai biosintezei lipidelor;
- b2) inhibitori ai acetolactat sintazei (inhibitori ALS);
- b3) inhibitori ai fotosintezei;
- b4) inhibitori ai protoporfirinogen-IX oxidazei,
- 25 b5) erbicide de înalbur;
- b6) inhibitori ai enolpiruvilsichimat 3-fosfat sintazei (inhibitori EPSP);
- b7) inhibitori ai glutamin sintetazei;
- b8) inhibitori ai 7,8-dihidropteroat sintazei (inhibitori DHP);

- b9) inhibitori ai mitozei;
 b10) inhibitori ai sintezei acizilor grași cu catena foarte lungă (inhibitori VLCFA);
 b11) inhibitori ai biosintezei celulozei;
 5 b12) erbicide de decuplare;
 b13) erbicide auxinice;
 b14) inhibitori de transport a auxinelor; și
 b15) alte erbicide selectate din grupul ce constă din bromobutid, clorflurenol, clorflurenol-metil, cinmetilin, cumiluron, dalapon, dazomet, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfat, dimetipin, DSMA, dimron, endotal și sărurile sale, etobenzanid, flamprop, flamprop-izopropil, flamprop-metil, flamprop-M-izopropil, flamprop-M-metil, flurenol, flurenol-butil, flurprimidol, fosamină, fosamină-amoniu, indanofan, indaziflam, hidrazidă maleică, mefluididă, metam, metiozolin (CAS 403640-27-7), azidă de metil, bromură de metil, metil-dimron, iodură de metil, MSMA, acid oleic, oxaziclomefonă, acid pelargonic, piributicarb, chinoclamina, triaziflam, tridifan și 6-cloro-3- (2-ciclopropil-6-metilfenoxi) -4-piridazinol (CAS 499223-49-3) și sărurile și esterii acestora;
 15 inclusiv sărurile sau derivații lor acceptabili în agricultură.

Exemple de erbicide B, care pot fi utilizate în combinație cu erbicidele care inhibă PPO conform prezentei invenții sunt:

- b1) din grupa inhibitorilor biosintezei lipidelor:
 erbicidele ACC cum sunt aloxidim, aloxidim-sodiu, butroxidim, cletodim, clodinafop, clodinafop-propargil, cicloxidim, cihalofop, cihalofop-butil, diclofop, diclofop-metil, fenoxaprop, fenoxaprop-etil, fenoxaprop-P, fenoxaprop-P-etil, fluazifop, fluazifop-butil, fluazifop-P, fluazifop-P-butil, haloxifop, haloxifop-metil, haloxifop-P, haloxifop-P-metil, metamifop, pinoxaden, profoxidim, propaquizafop, quizalofop, quizalofop-etil, quizalofop-tefuril, quizalofop-P, quizalofop-P-etil, quizalofop-P-tefuril, setoxidim, tepraloxidim, tralcoxidim, 4-(4'-Clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3,5(4H,6H)-dionă (CAS 1312340-84-3); 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312337-48-6); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-ciclopropil-[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă; 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312340-82-1); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil-[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester; 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1033760-58-5); și erbicidele non-ACC cum sunt benfuresat, butilat, cicloat, dalapon, dimepiperat, EPTC, esprocarb, etofumesat, flupropanat, molinat, orbencarb, pebulat, prosulfocarb, TCA, tiobencarb, tiocarbazil, trialate și vernolat;

- b2) din grupa inhibitorilor ALS:
 sulfoniluree, cum sunt amidosulfuron, azimsulfuron, bensulfuron, bensulfuron-metil, clorimuron, clorimuron-etil, clorsulfuron, cinosulfuron, ciclosulfamuron, etametsulfuron, etametsulfuron-metil, etoxisulfuron, flazasulfuron, flucetosulfuron, flupirsulfuron, flupirsulfuron-metil-sodiu, foramsulfuron, halosulfuron, halosulfuron -metil, imazosulfuron, iodosulfuron, iodosulfuron-metil-sodiu, iofensulfuron, iofensulfuron-sodiu, mezosulfuron, metazosulfuron, metsulfuron, metsulfuron-metil, nicosulfuron, ortosulfamuron, oxasulfuron, primisulfuron, primisulfuron-metil, propirisulfuron, prosulfuron, pirazosulfuron, pirazosulfuron-etil, rimsulfuron, sulfometuron, sulfometuron-metil, sulfosulfuron, tifensulfuron, tifensulfuron-metil, triasulfuron, tribenuron, tribenuron-metil, trifloxisulfuron, triflusulfuron, triflusulfuron-metil și tritosulfuron, imidazolinone cum sunt imazametabenz, imazametabenz-metil, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquin și imazetapir, erbicide triazolopirimidină și sulfonanilide cum sunt cloransulam,

cloransulam-metil, diclosulam, flumetsulam, florasulam, metosulam, penoxsulam, pyrimisulfan și piroxsulam, pirimidinilbenzoate cum sunt bispiribac, bispiribac-sodiu, piribenzoxim, piritalid, piriminobac, piriminobac-metil, piritiobac, piritiobac-sodiu, 4-[[[2-[(4,6-dimetoxi-2-pirimidinil)oxi]fenil]metil]amino]-acid benzoic -1-metiletil ester (CAS 420138-41-6), 4-[[[2-[(4,6-dimetoxi-2-pirimidinil)oxi]fenil]metil]amino]-acid benzoic propil ester (CAS 420138-40-5), N-(4-bromofenil)-2-[(4,6-dimetoxi-2-pirimidinil)oxi]benzenmetanamină (CAS 420138-01-8), erbicide sulfonilaminocarbonil-triazolinone erbicide, cum sunt flucarbazon, flucarbazon-sodiu, propoxycarbazon, propoxycarbazon-sodiu, tiencarbazon și tiencarbazon-metil; și triafamonă; printre acestea, o variantă de executare preferențială a invenției se referă la acele compoziții care cuprind, cel puțin, un erbicid imidazolinonă;

b3) din grupa inhibitorilor fotosintezei: amicarbazon, inhibitori ai fotosistemului II, de ex. erbicide triazinice, inclusiv ai clorotriazinei, triazinonelor, triazindionelor, metiltiotriazinelor și piridazinonelor, cum sunt ametrin, atrazin, clordazonă, cianazină, desmetrin, dimetametrin, hexazinonă, metribuzin, prometon, prometrin, propazină, simazină, simetrin, terbutometon, terbutilazin, terbutrin și trietazin, aril uree cum sunt clorbromuron, clortoluron, clorxuron, dimefuron, diuron, fluometuron, izoproturon, izouron, linuron, metamitron, metabenzthiazuron, metobenzuron, metoxuron, monolinuron, neburon, siduron, tebutiuron și tiadiazuron, carbamați de fenil, cum sunt desmedifam, karbutilat, fenmedifam, fenmedifam-etil, erbicide nitril cum sunt bromofenoxim, bromoxinil și sărurile și esterii săi, ioxinil și sărurile și esterii săi, uracil cum sunt bromacil, lenacil și terbacil, și bentazon și bentazon-sodiu, piridat, piridafol, pentanoclor și propanil și inhibitori ai fotosistemului I, cum sunt diquat, diquat-dibromură, paraquat, paraquat diclorură și paraquat-dimetilsulfat. Printre acestea, o variantă de executare preferențială a invenției se referă la acele compoziții care cuprind, cel puțin, un erbicid de aril uree. Printre acestea, o variantă de executare preferențială a invenției se referă, de asemenea, la acele compoziții care cuprind, cel puțin, un erbicid triazinic. Printre acestea, o variantă de executare preferențială a invenției se referă, de asemenea, la acele compoziții care cuprind, cel puțin, un erbicid nitrilic;

b4) din grupa inhibitorilor protoporfirinogen-IX oxidazei: acifluorfen, acifluorfen-sodiu, azafenidin, bencarbazon, benzfenidion, bifenox, butafenacil, carfentrazon, carfentrazon-etil, clometoxifen, cinidon-etil, fluazolat, flufenpir, flufenpir-etil, flumiclorac, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen, fluoroglicofen-etil, flutiacet, flutiacet-metil, fomesafen, halosafen, lactofen, oxadiargil, oxadiazon, oxifluorfen, pentoxazon, profluazol, piracolonil, piraflufen, piraflufen-etil, saflufenacil, sulfentrazon, tidiazimin, tiafenacil, etil [3-[2-cloro-4-fluoro-5-(1-metil-6-trifluorometil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9), N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9), N-etil-3-(2-cloro-6-fluor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7), N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluorometilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă, 1-metil-6-trifluorometil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 1304113-05-0), metil (E)-4-[2-cloro-5-[4-clor-5-(difluormethoxi)-1H-metil-pirazol-3-il]-4-fluor-fenoxi]-3-metoxi-but-2-enoat [CAS 948893-00-3], și 3-[7-clor-5-fluor-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluorometil)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4);

b5) din grupa inhibitorilor de înalțire: inhibitori PDS: beflubutamid, diflufenican, fluridonă, flurocloridonă, flurtamonă, norflurazon, picolinafen, și 4-(3-trifluorometilfenoxi)-2-(4-trifluorometilfenil)pirimidină (CAS 180608-33-7), inhibitori HPPD: benzobiclon, benzofenap, clomazon, izoxaflutol, mezotrion, pirasulfotol, pirazolinat, pirazoxifen, sulcotrion, tefuriltrion, tembotrion, topramezon și biciclopiron, înalțitor, țintă necunoscută: aclonifen, amitrol și flumeturon;

b6) din grupa inhibitorilor EPSP sintezei: glifosat, glifosat-izopropilamoniu, glifosat-potasiu și glifosat-trimesium (sulfosat);

b7) din grupa inhibitorilor glutamin sintezei:

bilanafos (bialafos), bilanafos-sodiu, glufosinat, glufosinat-P și glufosinat-amoniu;

b8) din grupa inhibitorilor DHP sintezei:

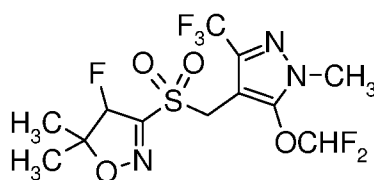
asulam;

b9) din grupa inhibitorilor mitozei:

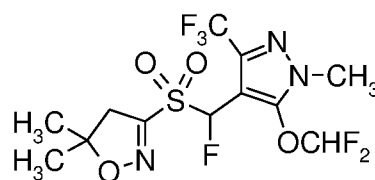
- 5 compuși din grupa K1: dinitroaniline cum sunt benfluralin, butralin, dinitramină, etalfluralin, flucloralin, orizalin, pendimetalin, prodiamină și trifluralin, fosforamidați cum sunt amiprofos, amiprofos-metil, și butamifos, erbicide cu acid benzoic cum sunt clortal, clortal-dimetil, piridine cum sunt ditiopir și tiazopir, benzamide cum sunt propizamidă și tebutam; compuși din grupa K2: clorprofam, profam și carbetamidă, printre acestea, compuși din grupa K1, în special se preferă
- 10 dinitroanilinele;

b10) din grupa inhibitorilor VLCFA:

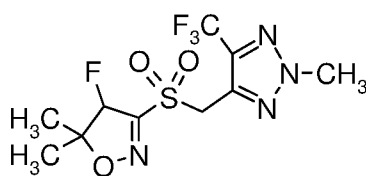
- cloracetamide, cum sunt acetoclor, alaclor, butaclor, dimetaclor, dimetenamid, dimetenamid-P, metazaclor, metolaclor, metolaclor-S, petoxamid, pretilaclor, propaclor, propisoclor și tenilclor, oxiacetanilide, cum sunt flufenacet și mefenacet, acetanilide, cum sunt difenamid, naproanilid și napropamid, tetrazolinone, cum sunt fentrazamidă, și alte erbicide, cum sunt anilofos, cafenstrol, fenoxasulfon, ipfencarbazon, piperofos, piroxasulfon și compuși izoxazolinei cu formulele II.1,
- 15 II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 și II.9



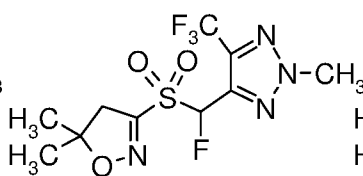
II.1



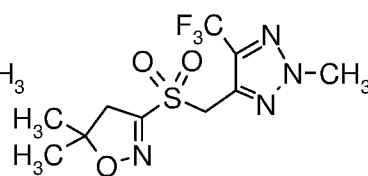
II.2



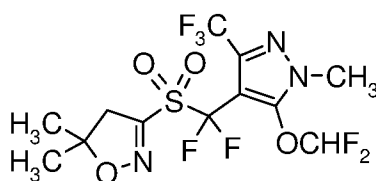
II.3



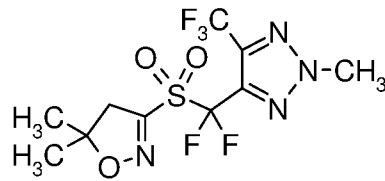
II.4



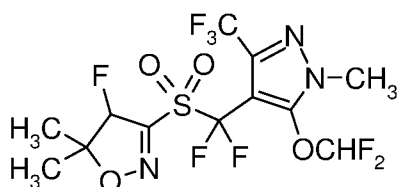
II.5



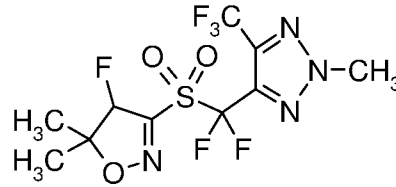
II.6



II.7



II.8



II.9

compuşii izoxazolinei cu formula (I)I sunt cunoscuţi în domeniu, de ex. din WO 2006/024820, WO 2006/037945, WO 2007/071900 şi WO 2007/096576;

printre inhibitorii VLCFA, se acordă preferinţă cloracetamidele şi oxiacetamidele;

b11) din grupa inhibitorilor biosintezei celulozei:

- 5 clortiamid, diclobenil, flupoxam, indaziflam, triaziflam, izoxaben şi 1-Ciclohexil-5-pentafluorfeniloxi-1⁴-[1,2,4,6]tiatriazin-3-ilamină;

b12) din grupa erbicidelor de decuplare:

dinoseb, dinoterb şi DNOC şi sărurile sale;

b13) din grupa erbicidelor auxinice:

- 10 2,4-D şi sărurile şi esterii săi, cum sunt clacifo, 2,4-DB şi sărurile şi esterii săi, aminociclopiraclor şi sărurile şi esterii săi, aminopirialid şi sărurile sale, cum sunt aminopirialid-tris(2-hidroxiopropil)amoniu şi esterii săi, benazolin, benazolin-etil, cloramben şi sărurile şi esterii săi, clomeprop, clopiralid şi sărurile şi esterii săi, dicamba şi sărurile şi esterii săi, diclorprop şi sărurile şi esterii săi, diclorprop-P şi sărurile şi esterii săi, fluroxipir, fluroxipir-butometil, fluroxipir-meptil, halauxifen şi sărurile şi esterii săi(CAS 943832-60-8); MCPA şi sărurile şi esterii săi, MCPA-tioetil, MCPB şi sărurile şi esterii săi, mecoprop şi sărurile şi esterii săi, mecoprop-P şi sărurile şi esterii săi, picloram şi sărurile şi esterii săi, quinclorac, quinmerac, TBA (2,3,6) şi sărurile şi esterii săi şi triclopir şi sărurile şi esterii săi;

- 15 b14) din grupa inhibitorilor de transport a auxinelor: diflufenzopir, diflufenzopir-sodiu, naptalam şi naptalam-sodiu;

- 20 b15) din grupa altor erbicide: bromobutid, clorflurenol, clorflurenol-metil, cinmetilin, cumiluron, ciclopirimorat (CAS 499223-49-3) şi sărurile şi esterii săi, dalapon, dazomet, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfat, dimetipin, DSMA, dimron, endotal şi sărurile sale, etobenzanid, flamprop, flamprop-izopropil, flamprop-metil, flamprop- M-izopropil, flamprop-M-metil, flurenol, flurenol-butil, flurprimidol, fosamină, fosamină-amoniu, indanofan, indaziflam, hidrazidă maleică, mefluididă, metam, metiozolin (CAS 403640-27-7), azidă de metil, bromură de metil , metil-dimron, iodură de metil, MSMA, acid oleic, oxaziclomefonă, acid pelargonic, piributicarb, quinoclamină, triaziflam şi tridifan.

- 25 Erbicide B preferate, care pot fi utilizate în combinaţie cu erbicidele care inhibă PPO conform prezentei invenţii sunt:

b1) din grupa inhibitorilor biosintezei lipidelor:

- 30 cletodim, clodinafop-propargil, cicloxidim, cihalofop-butil, diclofop-metil, fenoxaprop-P-etil, fluazifop-P-butil, haloxifop-P-metil, metamifop, pinoxaden, profoxidim, propaquizafop, quizalofop-P-etil, quizalofop- P-tefuril, setoxidim, tepraloxidim, tralcoxidim, 4-(4'-Clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3,5(4H,6H)-dionă (CAS 1312340-84-3); 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312337-48-6); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-ciclopropil- [1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă; 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312340-82-1); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil- [1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester; 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1033760-58-5); benfuresat, dimepiperat, EPTC, esprocarb, etofumesat, molinat, orbencarb, prosulfocarb, tiobencarb, şi trialat;

b2) din grupa inhibitorilor ALS:

- 55 amidosulfuron, azimsulfuron, bensulfuron-metil, bispiribac-sodiu, clorimuron-etil, clorsulfuron, cloransulam-metil, ciclosulfamuron, diclosulam, etametsulfuron-metil, etoxisulfuron, flazasulfuron, florasulam, flucarbazon-sodiu, flucetosulfuron, flumetsulam, flupirsulfuron-metil-sodiu, foramsulfuron, halosulfuron-metil, imazametabenz-metil, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquin, imazetapir, imazosulfuron, iodosulfuron, iodosulfuron-metil-sodiu, iofensulfuron,

iofensulfuron-sodiu, mezosulfuron, metazosulfuron, metosulam, metsulfuron-metil, nicosulfuron, ortosulfamuron, oxasulfuron, penoxsulam, primisulfuron-metil, propoxycarbazon-sodiu, propirisulfuron, prosulfuron, pirazosulfuron-etil, piribenzoxim, pirimisulfan, pirifitalid, piriminobac-metil, piritiobac-sodiu, piroxsulam, rimsulfuron, sulfometuron-metil, sulfosulfuron, tiencarbazon-metil, tifensulfuron-metil, triasulfuron, tribenuron-metil, trifloxisulfuron, triflusulfuron-metil, tritosulfuron și triafamon;

b3) din grupa inhibitorilor fotosintezei:

ametrin, amicarbazon, atrazin, bentazon, bentazon-sodiu, bromoxinil și sărurile și esterii săi, cloridazon, clorotoluron, cianazină, desmedifam, diquat-dibromură, diuron, fluometuron, hexazinonă, ioxinil și sărurile și esterii săi, izoproturon, lenacil, linuron, metamitron, metabenzotiazuron, metribuzin, paraquat, paraquat-diclorură, fenmedifam, propanil, piridat, simazin, terbutrin, terbutilazină și tidiazuron;

b4) din grupa inhibitorilor protoporfirinogen-IX oxidazei:

acifluorfen, acifluorfen-sodiu, azafenidin, bencarbazon, benzfendizon, butafenacil, carfentrazon-etil, cinidon-etil, flufenpir-etil, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen-etil, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxadiazon, oxifluorfen, pentoxazon, piraflufen-etil, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxi-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100), N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9), N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9), N-etil-3-(2-cloro-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7), N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxi-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă, 1,5-dimetil-6-tioxi-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă; 1-metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1*H*-pirimidină-2,4-dionă, și 3-[7-Clor-5-fluor-2-(trifluormetil)-1*H*-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluormetil)-1*H*-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4);

b5) din grupa inhibitorilor de înalțire:

aclonifen, beflubutamid, benzobiclon, clomazon, diflufenican, flurocloridonă, flurtamonă, izoxaflutol, mezotrion, norflurazon, picolinafen, pirasulfotol, pirazolinat, sulcotrion, tefuriltrionă, tembotrionă, topramezonă, biciclopiron, 4-(3-trifluormetilfenoxi)-2-(4-trifluorometilfenil)pirimidină (CAS 180608-33-7), amitrol și flumeturon;

b6) din grupa inhibitorilor EPSP sintezei:

glifosat, glifosat-izopropilamoniu, glifosat-potasiu și glifosat-trimesium (sulfosat);

b7) din grupa inhibitorilor glutamin sintezei:

glufosinat, glufosinat-P, glufosinat-amoniu;

b8) din grupa inhibitorilor DHP sintezei: asulam;

b9) din grupa inhibitorilor mitozei:

benfluralin, ditiopir, etalfluralin, orizalin, pendimetalin, tiazopir și trifluralin;

b10) din grupa inhibitorilor VLCFA:

acetoclor, alaclor, anilofos, butaclor, cafenstrol, dimetenamid, dimetenamid-P, fentrazamidă, flufenacet, mefenacet, metazaclor, metolaclor, S-metolaclor, naproanilid, napropamid, pretilaclor, fenoxasulfonă, ipfencarbazon, piroxasulfon tenilclor și compuși izoxazolinei cu formulele II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 și II.9 după cum s-a menționat mai sus;

b11) din grupa de inhibitori ai biosintezei celulozei: diclobenil, flupoxam, izoxaben și 1-ciclohexil-5-pentafluorfeniloxi-1⁴-[1,2,4,6]tiatriazin-3-ilamină;

b13) din grupa erbicidelor auxinice:

2,4-D și sărurile și esterii săi, aminociclopirachor și sărurile și esterii săi, aminopirialid și sărurile sale, cum ar fi aminopirialid-tris (2-hidroxipropil)amoniu și esterii săi, clopirialid și sărurile și esterii săi, dicamba și sărurile și esterii săi, diclorprop-P și sărurile și esterii săi, fluroxipir-meptil, halauxifen și sărurile și esterii săi (CAS 943832-60-8), MCPA și sărurile și esterii săi, MCPB și sărurile și esterii săi, mecoprop-P și sărurile și esterii săi, picloram și sărurile și esterii săi, quinclorac, quinmerac și triclopir și sărurile și esterii săi;

b14) din grupa inhibitorilor de transport a auxinei: diflufenzopir și diflufenzopir-sodiu;

b15) din grupa altor erbicide: bromobutid, cinmetilin, cumiluron, ciclopirimorat (CAS 499223-49-3) și sărurile și esterii săi, dalapon, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfat, DSMA, dimron (= daimuron), flamprop, flamprop-izopropil, flamprop-metil, flamprop-M-izopropil, flamprop-M-metil, indanofan, indaziflam, metam, metilbromură, MSMA, oxaziclonefonă, piributicarb, triaziflam și tridifan.

Erbicide B îndeosebi preferate, care pot fi utilizate în combinație cu erbicidele ce inhibă PPO conform prezentei invenții sunt:

b1) din grupa inhibitorilor biosintezei lipidelor: clodinafop-propargil, cicloxidim, cihalofop-butil, fenoxaprop-P-etil, pinoxaden, profoxidim, tepraloxidim, tralcoxidim, 4-(4'-Clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-72-6); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1312337-45-3); 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3(6H)-onă (CAS 1033757-93-5); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3,5(4H,6H)-dionă (CAS 1312340-84-3); 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312337-48-6); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-ciclopropil- [1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă; 5-(Acetiloxi)-4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1312340-82-1); 5-(Acetiloxi)-4-(2',4'-diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-3,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-3-onă (CAS 1033760-55-2); 4-(4'-clor-4-ciclopropil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312337-51-1); 4-(2',4'-Diclor-4-ciclopropil- [1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester; 4-(4'-clor-4-etil-2'-fluor[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1312340-83-2); 4-(2',4'-Diclor-4-etil[1,1'-bifenil]-3-il)-5,6-dihidro-2,2,6,6-tetrametil-5-oxo-2H-piran-3-il acid carbonic metil ester (CAS 1033760-58-5); esprocarb, prosulfocarb, tiobencarb, și trialat;

b2) din grupa inhibitorilor ALS: bensulfuron-metil, bispiribac-sodiu, ciclosulfamuron, diclosulam, flumetsulam, flupirsulfuron-metil-sodiu, foramsulfuron, imazamox, imazapir, imazapir, imazaquin, imazetapir, imazosulfuron, iodosulfuron, iodosulfuron-metil-sodiu, iofensulfuron, iofensulfuron-sodiu, mezosulfuron, metazosulfuron, nicosulfuron, penoxsulam, propoxycarbazon-sodiu, propirisulfuron, pirazosulfuron-etil, piroxsulam, rimsulfuron, sulfosulfuron, tiencarbazon-metil, tritosulfuron și triafamon;

b3) din grupa inhibitorilor fotosintezei: ametrin, atrazin, diuron, fluometuron, hexazinonă, izoproturon, linuron, metribuzin, paraquat, diclorură de paraquat, propanil, terbutrin și terbutilazină;

b4) din grupa inhibitorilor protoporfirinogen-IX oxidazei: acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6, S-3100), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), și 2-(2,2,7-Trifluoro-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă, și 1-Metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă;

b5) din grupa erbicidelor de înălbire: clomazon, diflufenican, flurocloridon, isoxaflutol, mesotrion, picolinafen, sulcotrion, tefuriltrion, tembotrion, topramezon, biciclopiron, amitrol și flumeturon;

b6) din grupa inhibitorilor EPSP sintazei: glifosat, glifosat-izopropilamoniu și glifosat-trimesium (sulfosat);

b7) din grupa inhibitorilor glutamin sintazei: glufosinat, glufosinat-P și glufosinat-amoniu;

b9) din grupa inhibitorilor mitozei: pendimetalin și trifluralin;

b10) din grupa inhibitorilor VLCFA: acetoclor, cafenstrol, dimetenamid-P, fentrazamidă, flufenacet, mefenacet, metazaclor, metolaclor, S-metolaclor, fenoxasulfon, ipfencarbazon și piroxasulfon; de asemenea, se dă preferință compușilor de izoxazolină cu formulele II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 și II.9 după cum s-a menționat mai sus;

b11) din grupa inhibitorilor biosintezei celulozei: izoxaben;

b13) din grupa erbicidelor auxinice: 2,4-D și sărurile și esterii săi, cum ar fi clacifos și aminociclopiraclor și sărurile și esterii săi, aminopirialid și sărurile și esterii săi, clopiralid și sărurile și esterii săi, dicamba și sărurile și esterii săi, fluroxipir-meptil, quinclozac și quinmerac;

b14) din grupa inhibitorilor de transport a auxinelor: diflufenzopir și diflufenzopir-sodiu;

5 b15) din grupa altor erbicide: dimron (= daimuron), indanofan, indaziflam, oxaziclomefon și triaziflam.

10 Mai mult decât atât, poate fi util de a aplica erbicidele care inhibă PPO, atunci când sunt utilizate în combinație cu un compus B descrise mai sus, în combinație cu agenți fitoprotectori. Agenții fitoprotectori sunt compuși chimici care împiedică sau reduc deteriorarea plantelor utile, fără a avea un impact major asupra acțiunii erbicide a erbicidelor față de plantele nedorite. Ele pot fi aplicate fie înainte de însămânțării (de ex., în tratamentul semințelor, pe muguri sau răsaduri) sau în aplicarea înainte de răsărire sau după răsărire a plantei utile.

Totodată, agenții fitoprotectori C, erbicidele care inhibă PPO și/sau erbicidele B pot fi aplicate simultan sau succesiv.

15 Agenți fitoprotectori adecvați sunt de ex. acizii acetici (quinolin-8-oxi), acizii carboxilici 1-fenil-5-haloalchil-1H-1,2,4-triazol-3, acizii dicarboxilici 1-fenil-4,5-dihidro-5-alchil-1H-pirazol-3,5, acizii carboxilici 4,5-dihidro-5,5-diaril-3-izoxazol, dicloracetamidele, alfa-oximinofenilacetoneitrilele, acetofenonoximele, 4,6-dihalo-2-fenilpirimidinele, amidele N-[[4-(aminocarbonil)fenil] sulfonil]-2-benzoice, anhidrida 1,8-naftalică, acizii carboxilici 2-halo-4-
20 (haloalchil)-5-tiazol, fosfortiolatele și N-alchil-O-fenilcarbamatele și sărurile lor acceptabile în agricultură și derivații acestora acceptabili în agricultură cum sunt amidele, esterii, tioesterii, cu condiția ca ele au o grupare acidă.

Exemple de agenți fitoprotectori C preferați sunt benoxacor, cloquintocet, ciometrinil, ciprosumamidă, diclormid, diciclonon, dietolat, fenclorazol, fenclorim, flurazol, fluxofenim, furilazol, izoxadifen, mefenpir, mefenat, anhidridă naftalică, oxabetrinil, 4-(dicloracetil)-1-oxa 4-
25 azaspiro[4.5]decan (MON4660, CAS 71526-07-3) și 2,2,5-trimetil-3-(dicloracetil)-1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4).

30 Agenți fitoprotectori C preferați în mod special sunt benoxacor, cloquintocet, ciprosumamidă, diclormid, fenclorazol, fenclorim, flurazol, fluxofenim, furilazol, izoxadifen, mefenpir, anhidridă naftalică, oxabetrinil, 4-(dicloracetil) -1-oxa-4-azaspiro[4.5] decan (MON4660, CAS 71526-07-3) și 2,2,5-trimetil-3-(dicloracetil) -1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4).

35 Agenți fitoprotectori C îndeosebi preferați sunt benoxacor, cloquintocet, ciprosumamidă, diclormid, fenclorazol, fenclorim, furilazol, izoxadifen, mefenpir, anhidridă naftalică, 4-(dicloracetil)-1-oxa-4-azaspiro[4.5] decan (MON4660, CAS 71526-07-3), și 2,2,5-trimetil-3-(dicloracetil) -1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4).

40 De asemenea, agenți fitoprotectori C preferați sunt benoxacor, cloquintocet, ciprosumamidă, diclormid, fenclorazol, fenclorim, furilazol, izoxadifen, mefenpir, 4-(dicloracetil)-1-oxa-4-azaspiro[4.5] decan (MON4660, CAS 71526-07-3), și 2,2,5-trimetil-3-(dicloracetil) -1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4).

45 Agenți fitoprotectori C îndeosebi preferați, care, în calitate de componenta C, sunt formați din compoziția conform invenției, sunt agenții fitoprotectori C definiți mai sus; în special agenții fitoprotectori C.1 - C.12 enumerați mai jos în tabelul C:

45 **Tabelul C**

Agentul fitoprotector C
C.1 benoxacor
C.2 cloquintocet
C.3 ciprosumamidă
C.4 diclormid
C.5 fenclorazol
C.6 fenclorim
C.7 furilazol
C.8 izoxadifen
C.9 mefenpir
C.10 anhidrida acidului naftalic

	C.11	4-(dicloroacetil)-1-oxa-4-azaspiro[4.5]decan (MON4660, CAS 71526-07-3)
	C.12	2,2,5-trimetil-3-(dicloroacetil)-1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4)

Erbicidele care inhibă PPO și compușii activi B) din grupele b1) - b15) și compușii activi C sunt erbicide și agenți fitoprotectori cunoscuți, a se vedea, de exemplu, The Compendium of Pesticide Common Names (Compendiul denumirilor comune de pesticide) (<http://www.alanwood.net/pesticides/>); Farm Chemicals Handbook 2000 volume 86 (Manualul produselor chimice agricole 2000 volumul 86), Meister Publishing Company, 2000; B. Hock, C. Fedtke, R. R. Schmidt, Herbicide (Erbicide), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995; W. H. Ahrens, Herbicide Handbook, 7th edition (Manualul Erbicidelor, ediția a 7-a), Weed Science Society of America, 1994; și K. K. Hatzios, Herbicide Handbook, Supplement for the 7th edition (Manualul Erbicidelor, supliment la ediția a 7-a), Weed Science Society of America, 1998. 2,2,5-Trimetil-3-(dicloroacetil)-1,3-oxazolidină [CAS nr. 52836-31-4] este denumit, de asemenea, R-29148. 4-(Dicloroacetil)-1-oxa-4-azaspiro[4.5]decan [CAS nr. 71526-07-3] este denumit, de asemenea, AD-67 și MON 4660.

Atribuirea compușilor activi mecanismelor respective de acțiune se bazează pe cunoștințele curente. În cazul în care mai multe mecanisme de acțiune se aplică unui compus activ, substanța respectivă a fost atribuită doar unui singur mecanism de acțiune.

Compușii activi B și C având o grupare carboxil pot fi utilizați sub formă de acid, sub forma unei sări adecvate pentru agricultură după cum s-a menționat mai sus sau în altă parte sub forma unui derivat acceptabil în agricultură în compozițiile conform invenției.

În cazul dicambei, sărurile adecvate includ acelea, în care contraionul este un cation acceptabil în agricultură. De exemplu, săruri adecvate de dicamba sunt dicamba-sodiu, dicamba-potasiu, dicamba-metilamoniu, dicamba-dimetilamoniu, dicamba-izopropilamoniu, dicamba-diglicolamină, dicamba-olamină, dicamba-diolamină, dicamba-trolamină, dicamba-N,N-bis-(3-aminopropil)metilamină și dicamba-dietilentriamină. Exemple de ester adecvat sunt dicamba-metil și dicamba-butolil.

Săruri adecvate ale 2,4-D sunt 2,4-D-amoniu, 2,4-D-dimetilamoniu, 2,4-D-dietilamoniu, 2,4-D-dietanolamoniu (2,4-D-diolamină), 2,4-D-trietanolamoniu, 2,4-D-izopropilamoniu, 2,4-D-triizopropanolamoniu, 2,4-D-heptilamoniu, 2,4-D-dodecilamoniu, 2,4-D-tetradecilamoniu, 2,4-D-trietilamoniu, 2,4-D-tris(2-hidroxipropil)amoniu, 2,4-D-tris(izopropil)amoniu, 2,4-D-trolamină, 2,4-D-litiu, 2, 4-D-sodiu. Exemple de esteri adecvați ai 2,4-D sunt 2,4-D-butolil, 2,4-D-2-butoxipropil, 2,4-D-3-butoxipropil, 2,4-D-butil, 2,4-D-etil, 2,4-D-etilhexil, 2,4-D-izobutil, 2,4-D-izooctil, 2,4-D-izopropil, 2,4-D-meptil, 2,4-D-metil, 2,4-D-octil, 2,4-D-pentil, 2,4-D-propil, 2,4-D-tefuril și clacifos.

Săruri adecvate ale 2,4-DB sunt, de exemplu 2,4-DB-sodiu, 2,4-DB-potasiu și 2,4-DB-dimetilamoniu. Esteri adecvați ai 2,4-DB sunt, de exemplu 2,4-DB-butil și 2,4-DB-izooctil.

Săruri adecvate ale dicloroprop sunt, de exemplu dicloroprop-sodiu, dicloroprop-potasiu și dicloroprop-dimetilamoniu. Exemple de esteri adecvați ai dicloroprop sunt dicloroprop-butolil și dicloroprop-izooctil.

Săruri și esteri adecvați ai MCPA includ MCPA-butolil, MCPA-butil, MCPA-dimetilamoniu, MCPA-diolamină, MCPA-etil, MCPA-tioetil, MCPA-2-etilhexil, MCPA-izobutil, MCPA-izooctil, MCPA-izopropil, MCPA-izopropilamoniu, MCPA-metil, MCPA-olamină, MCPA-potasiu, MCPA-sodiu și MCPA-trolamină.

O sare adecvată a MCPB este MCPB sodiu. Un ester adecvat al MCPB este MCPB-etil.

Săruri adecvate ale clopiralidului sunt clopiralid-potasiu, clopiralid-olamină și clopiralid-tris-(2-hidroxipropil)amoniu. Exemplu de esteri adecvați ai clopiralidului este clopiralid-metil.

Exemple de un ester adecvat al fluroxipirului sunt fluroxipir-meptil și fluroxipir-2-butoxi-1-metiletil, în care fluroxipir-meptilul este preferat.

Sărurile adecvate ale picloramului sunt picloram-dimetilamoniu, picloram-potasiu, picloram-triisopropanolamoniu, picloram-triisopropilamoniu și picloram-trolamină. Un ester adecvat al picloramului este picloram-izooctil.

O sare adecvată a triclorpirului este triclorpir-trietilamoniu. Esterii adecvați ai triclorpirului sunt, de exemplu, triclorpir-etil și triclorpir-butolil.

Săruri și esteri adecvați ai clorambenului includ cloramben-amoniu, cloramben-diolamină, cloramben-metil, cloramben-metilamoniu și cloramben-sodiu. Săruri și esteri adecvați ai 2,3,6-TBA includ 2,3,6-TBA-dimetilamoniu, 2,3,6-TBA-litiu, 2,3,6-TBA-potasiu și 2,3,6-TBA-sodiu.

Săruri și esteri adecvați ai aminopiralidului includ aminopiralid-potasiu și aminopiralid-tris

(2-hidroxipropil)amoniu.

Sărurile adecvate ale glifosatului sunt, de exemplu glifosat-amoniu glifosat-diamoni, glifoste-dimetilamoniu, glifosat-izopropilamoniu, glifosat-potasiu, glifosat-sodiu, glifosat-trimesium, precum sărurile etanolaminei și dietanolaminei, preferabil glifosat-diamoni, glifosat-izopropilamoniu și glifosat-trimesium (sulfosat).

O sare adecvată a glufosinatului este, de exemplu, glufosinat-amoniu.

O sare adecvată a glufosinatului-P este, de exemplu, glufosinat-P-amoniu.

Săruri și esteri adecvați ai bromoxinilului sunt, de exemplu, bromoxinil-butirat, bromoxinil-heptanoat, bromoxinil-octanoat, bromoxinil-potasiu și bromoxinil-sodiu.

Săruri și esteri adecvați ai ioxonilului sunt, de exemplu ioxonil-octanoat, ioxonil-potasiu și ioxonil-sodiu.

Săruri și esteri adecvați ai mecopropului includ mecoprop-butolil, mecoprop-dimetilamoniu, mecoprop-diolamină, mecoprop-etadil, mecoprop-2-etilhexil, mecoprop-izocetil, mecoprop-metil, mecoprop-potasiu, mecoprop-sodiu și mecoprop-trolamină.

Sărurile adecvate ale mecopropului-P sunt, de exemplu, mecoprop-P-butolil, mecoprop-P-dimetilamoniu, mecoprop-P-2-etilhexil, mecoprop-P-izobutil, mecoprop-P-potasiu și mecoprop-P-sodiu.

O sare adecvată a diflufenzopirului este, de exemplu diflufenzopir-sodiu.

O sare adecvată a naftalamului este, de exemplu, naftalam-sodiu.

Săruri și esteri adecvați ai aminociclopiraclorului sunt, de exemplu, aminociclopiraclor-dimetilamoniu, aminociclopiraclor-metil, aminociclopiraclor-triizopropanolamoniu, aminociclopiraclor-sodiu și aminociclopiraclor-potasiu.

O sare adecvată a quincloclorului este, de exemplu, quincloclor-dimetilamoniu.

O sare adecvată a quinmeracului este, de exemplu, quincloclor-dimetilamoniu.

O sare adecvată a imazamoxului este de exemplu, imazamox-amoni.

Săruri adecvate ale imazapicului sunt, de exemplu, imazapic-sodiu și imazapic-izopropilamoniu.

Săruri adecvate ale imazapirului sunt, de exemplu, imazapir-amoni și imazapir-izopropilamoniu.

O sare adecvată a imazaquinului este, de exemplu, imazaquin-amoni.

Săruri adecvate ale imazetapirului sunt, de exemplu, imazetapir-amoni și imazetapir-izopropilamoniu.

O sare adecvată a topramezonului este, de exemplu, topramezon-sodiu.

Variantele preferențiale de executare a invenției, menționate în continuare, trebuie să fie înțelese ca fiind preferate fie independent una de alta sau combinate între ele.

Conform unei variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține în calitate de componenta B, cel puțin unul, de preferință exact un erbicid B.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține cel puțin două, de preferință exact două, erbicide B diferite una de alta.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține cel puțin trei, de preferință exact trei, erbicide B diferite una de alta.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține în calitate de componenta A, cel puțin una, de preferință exact o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100; 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), și în calitate de componenta B cel puțin unul, de preferință exact un erbicid B.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține în calitate de componenta A, cel puțin una, de preferință exact o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100; 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-

benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), și cel puțin două, de preferință exact două, erbicide B diferite una de alta.

5 Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține în calitate de componenta A, cel puțin una, de preferință exact o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), și cel puțin trei, de preferință exact trei, erbicide B diferite una de alta.

15 Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus activ erbicid din grupa b1), în special selectat din grupa ce constă din cletodim, clodinafop-propargil, cicloxidim, cihalofop-butil, fenoxaprop-P-etil, fluazifop, pinoxaden, profoxidim, quizalofop, setoxidim, tepraloxidim, tralcoxidim, esprocarb, prosulfocarb, tiobencarb și trialat.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b2), selectat în special din grupa ce constă din bensulfuron-metil, bispiribac-sodiu, cloransulam-metil, ciclosulfamuron, diclosulam, flumetsulam, flupirsulfuron-metil-sodiu, foramsulfuron, halosulfuron-metil, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquin, imazetapir, imazosulfuron, iodosulfuron, iodosulfuron-metil-sodiu, mezosulfuron-metil, metazosulfuron, nicosulfuron, penoxsulam, propoxycarbazon-sodiu, pirazosulfuron-etil, piritiobac-sodiu, piroxsulam, rimsulfuron, sulfosulfuron, tiencarbazon-metil, tifensulfuron-metil, trifloxisulfuron și tritosulfuron.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b3), în special selectat din grupa ce constă din ametrin, atrazin, bentazon, bromoxinil, diuron, fluometuron, hexazinon, izoproturon, linuron, metribuzin, paraquat, paraquat-diclorură, prometrin, propanil, terbutrin și terbutilazină.

55 Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil,

sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b4), selectat în special din grupa ce constă din acifluorfen, acifluorfen-sodiu, azafenidin, bencarbazon, benzfendizon, bifenox, butafenacil, carfentrazon, carfentrazon-etil, clometoxifen, cinidon-etil, fluazolat, flufenpir, flufenpir-etil, flumiclorac, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen, fluoroglicofen-etil, flutiacet, flutiacet-metil, fomesafen, halosafen, lactofen, oxadiargil, oxadiazon, oxifluorfen, pentoxazon, profluazol, pyraclonil, piraflufen, piraflufen-etil, saflufenacil, sulfentrazon, tidiazimin, tiafenacil, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100), N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9), N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9), N-etil-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7), N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7), 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoinol-1,3-dionă, 1-Metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă, metil (E)-4-[2-clor-5-[4-clor-5-(difluormetoxi)-1H-metil-pirazol-3-il]-4-fluor-fenoxi]-3-metoxi-but-2-enoat [CAS 948893-00-3], 3-[7-Clor-5-fluor-2-(trifluormetil)-1H-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluorometil)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4).

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b5), selectat în special din grupa ce constă din clomazon, diflufenican, fluorecloridon, izoxaflutol, mezotrion, picolinafen, sulcotrion, tefuriltrion, tembotrion, topramezon, biciclopiron, amitrol și flumeturon.

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b6), selectat în special din grupa ce constă din glifosat, glifosat-izopropilamoniu și glifosat-trimesium (sulfosat).

Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-

triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b7), selectat în special din grupa ce constă din glufosinat, glufosinat-P și glufosinat-amoniu.

- Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b9), selectat în special din grupa ce constă din pendimetalin și trifluralin.

- Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b10), selectat în special din grupa ce constă din acetoclor, cafenstrol, dimetenamid-P, fentrazamidă, flufenacet, mefenacet, metazaclo, metolaclo, S-metolaclo, fenoxasulfon și piroxasulfon. De asemenea, sunt preferate compozițiile care conțin, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b10), în special selectat din grupa ce constă din compuși ai izoxazolinei cu formulele II.1, II.2, II.3, II.4, II.5, II.6, II.7, II.8 și II.9, precum s-a definit mai sus.

- Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100); 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b13), selectat în special din grupa ce constă din 2,4-D și sărurile și esterii săi, aminociclopiraclor și sărurile și esterii săi, aminopirialid și sărurile sale, cum sunt aminopirialid-tris(2-hidroxiopropil)amoniu și esterii săi, clopiralid și sărurile și esterii săi, dicamba și sărurile și esterii săi, fluoxipir-meptil, quinclorac și quinmerac.

- Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ

din grupa b14), selectat în special din grupa ce constă din diflufenzopir și diflufenzopir-sodiu.

- Conform unei alte variante preferențiale de executare a invenției, compoziția conține, pe lângă o PPO A, de preferință acifluorfen, acifluorfen-sodiu, butafenacil, cinidon-etil, carfentrazon-etil, flumioxazin, flutiacet-metil, fomesafen, lactofen, oxadiargil, oxifluorfen, saflufenacil, sulfentrazon, etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), se preferă în mod special saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4), cel puțin un și în special exact un compus erbicid activ din grupa b15), selectat în special din grupa ce constă din dimron (= daimuron), indanofan, indaziflam, oxaziclomefon și triaziflam.

- Aici și în continuare, termenul "compoziții binare" include compoziții care conțin unul sau mai mulți, de exemplu 1, 2 sau 3, compuși activi ai PPO A și unul sau mai multe, de exemplu 1, 2 sau 3, erbicide B.

- În compozițiile binare care conțin cel puțin o PPO A în calitate de componenta A și cel puțin un erbicid B, raportul de greutate al compușilor activi A:B este cuprins, în general, în intervalul de 1:1000...1000:1, de preferință 1:500...500:1, în special 1:250...250:1 și mai preferabil 1:75...75:1.

- Erbicide indeosebi preferate B sunt erbicidele B sus-menționate; în special erbicidele B.1 - B.229 prezentate mai jos în tabelul B:

Tabelul B

	Erbicidul B
B.1	cletodim
B.2	clodinafop-propargil
B.3	cicloxidim
B.4	cihalofop-butil
B.5	fenoxaprop-etil
B.6	fenoxaprop-P-etil
B.7	fluazifop
B.8	metamifop
B.9	pinoxaden
B.10	profoxidim
B.11	quizalofop
B.12	setoxidim
B.13	tepraloxidim
B.14	tralkoxidim
B.15	esprocarb
B.16	etofumesat
B.17	molinat
B.18	prosulfocarb
B.19	tiobencarb
B.20	trialat
B.21	bensulfuron-metil
B.22	bispiribac-sodiu
B.23	cloransulam-metil

	Erbicidul B
B.24	clorsulfuron
B.25	clorimuron
B.26	ciclosulfamuron
B.27	diclosulam
B.28	florasulam
B.29	flumetsulam
B.30	flupirsulfuron-metil-sodiu
B.31	foramsulfuron
B.32	halosulfuron-metil
B.33	imazamox
B.34	imazamox-amoniu
B.35	imazapic
B.36	imazapic-amoniu
B.37	imazapic-izopropilamoni
B.38	imazapir
B.39	imazapir-amoni
B.40	imazapir-izopropilamoni
B.41	imazaquin
B.42	imazaquin-amoni
B.43	imazetapir
B.44	imazetapir-amoni
B.45	imazetapir-izopropilamoni
B.46	imazosulfuron

MD 4683 C1 2020.12.31

28

	Erbicidul B
B.47	iodosulfuron-metil-sodiu
B.48	iofensulfuron
B.49	iofensulfuron-sodiu
B.50	mezosulfuron-metil
B.51	metazosulfuron
B.52	metsulfuron-metil
B.53	metosulam
B.54	nicosulfuron
B.55	penoxsulam
B.56	propoxcarbazon-sodiu
B.57	pirazosulfuron-etil
B.58	piribenzoxim
B.59	piriftalid
B.60	piritiobac-sodiu
B.61	piroxsulam
B.62	propirisulfuron
B.63	rimsulfuron
B.64	sulfosulfuron
B.65	tiencarbazon-metil
B.66	tifensulfuron-metil
B.67	tribenuron-metil
B.68	trifloxisulfuron
B.69	tritosulfuron
B.70	triafamon
B.71	ametrină
B.72	atrazină
B.73	bentazon
B.74	bromoxinil
B.75	bromoxinil-octanoat
B.76	bromoxinil-heptanoat
B.77	bromoxinil-potasiu
B.78	diuron
B.79	fluometuron
B.80	hexazinon
B.81	izproturon
B.82	linuron
B.83	metamitron
B.84	metribuzin
B.85	prometrin

	Erbicidul B
B.86	propanil
B.87	simazin
B.88	terbutilazin
B.89	terbutrin
B.90	paraquat-diclorură
B.91	acifluorfen
B.92	acifluorfen-sodiu
B.93	azafenidin
B.94	bencarbazon
B.95	benzfendizon
B.96	bifenox
B.97	butafenacil
B.98	carfentrazon
B.99	carfentrazon-etil
B.100	clometoxifen
B.101	cinidon-etil
B.102	fluazolat
B.103	flufenpir
B.104	flufenpir-etil
B.105	flumiclorac
B.106	flumiclorac-pentil
B.107	flumioxazin
B.108	fluoroglicofen
B.109	fluoroglicofen-etil
B.110	flutiacet
B.111	flutiacet-metil
B.112	fomesafen
B.113	halosafen
B.114	lactofen
B.115	oxadiargil
B.116	oxadiazon
B.117	oxifluorfen
B.118	pentoxazon
B.119	profluazol
B.120	piraclonil
B.121	piraflufen
B.122	piraflufen-etil
B.123	saflufenacil
B.124	sulfentrazon

	Erbicidul B
B.125	tidiazimin
B.126	tiafenacil
B.127	etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6)
B.128	1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4)
B.129	N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9)
B.130	N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9)
B.131	N-etil-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7)
B.132	N-tetrahidrofurfuril-3-(2-cloro-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7)
B.133	3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă
B.134	2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă
B.135	1-Metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2H-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1H-pirimidină-2,4-dionă
B.136	metil (E)-4-[2-clor-5-[4-clor-5-(difluormetoxi)-1H-metil-pirazol-3-il]-4-fluor-fenoxi]-3-metoxi-but-2-enoat [CAS 948893-00-3]
B.137	3-[7-Clor-5-fluor-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluormetil)-1H-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4)
B.138	benzobiciclon
B.139	clomazon
B.140	diflufenican
B.141	flurocloridonă
B.142	izoxaflutol

	Erbicidul B
B.143	mezotrion
B.144	norflurazon
B.145	picolinafen
B.146	sulcotrion
B.147	tefurlitrion
B.148	tembotrion
B.149	topramezon
B.150	topramezon-sodiu
B.151	biciclopiron
B.152	amitrol
B.153	fluometuron
B.154	glifosat
B.155	glifosat-amoniu
B.156	glifosat-dimetilamoni
B.157	glifosat-izopropzlamoni
B.158	glifosat-trimesium (sulfosat)
B.159	glifosat-potasiu
B.160	glufosinat
B.161	glufosinat-amoni
B.162	glufosinat-P
B.163	glufosinat-P-amoni
B.164	pendimetalin
B.165	trifluralin
B.166	acetoclor
B.167	butaclor
B.168	cafenstrol
B.169	dimetenamid-P
B.170	fentrazamidă
B.171	flufenacet
B.172	mefenacet
B.173	metazaclor
B.174	metolaclor
B.175	S-metolaclor
B.176	pretilaclor
B.177	fenoxasulfon
B.178	izoxaben
B.179	ipfencarbazon
B.180	piroxasulfon
B.181	2,4-D

MD 4683 C1 2020.12.31

30

	Erbicidul B
B.182	2,4-D-izobutil
B.183	2,4-D-dimetilamoniu
B.184	2,4-D-N,N,N-trimetiletanolamoniu
B.185	aminopirialid
B.186	aminopirialid-metil
B.187	aminopirialid-tris(2-hydroxipropil)amoniu
B.188	clopirialid
B.189	clopirialid-metil
B.190	clopirialid-olamină
B.191	dicamba
B.192	dicamba-butotil
B.193	dicamba-diglicolamină
B.194	dicamba-dimetilamoniu
B.195	dicamba-diolamină
B.196	dicamba-izopropzlamoni
B.197	dicamba-potasiu
B.198	dicamba-sodiu
B.199	dicamba-trolamină
B.200	dicamba-N,N-bis-(3-aminopropil)metilamină
B.201	dicamba-dietilentriamină
B.202	fluroxipir
B.203	fluroxipir-meptil
B.204	MCPA
B.205	MCPA-2-etilhexil
B.206	MCPA-dimetilamoniu
B.207	quinclorac
B.208	quinclorac-dimetilamoniu
B.209	quinmerac
B.210	quinmerac-dimetilamoniu
B.211	aminociclopiraclor
B.212	aminociclopiraclor-potasiu
B.213	aminociclopiraclor-metil
B.214	diflufenzopir
B.215	diflufenzopir-sodiu
B.216	dimron
B.217	indanofan
B.218	indaziflam
B.219	oxaziclomefon

	Erbicidul B
B.220	triaziflam
B.221	II.1
B.222	II.2
B.223	II.3
B.224	II.4
B.225	II.5
B.226	II.6
B.227	II.7
B.228	II.8
B.229	II.9

MD 4683 C1 2020.12.31

31

În special sunt preferate compozițiile 1.1 - 1.229, care conțin acifluorfen și substanța(e) definită(e) în rândul respectiv din tabelul B-1:

Tabelul B-1 (compozițiile 1.1 - 1.229):

5

nr. comp.	erbicidu l B
1.1	B.1
1.2	B.2
1.3	B.3
1.4	B.4
1.5	B.5
1.6	B.6
1.7	B.7
1.8	B.8
1.9	B.9
1.10	B.10
1.11	B.11
1.12	B.12
1.13	B.13
1.14	B.14
1.15	B.15
1.16	B.16
1.17	B.17
1.18	B.18
1.19	B.19
1.20	B.20
1.21	B.21
1.22	B.22
1.23	B.23
1.24	B.24
1.25	B.25
1.26	B.26
1.27	B.27
1.28	B.28
1.29	B.29
1.30	B.30
1.31	B.31
1.32	B.32
1.33	B.33
1.34	B.34
1.35	B.35
1.36	B.36

nr. comp.	erbicidu l B
1.37	B.37
1.38	B.38
1.39	B.39
1.40	B.40
1.41	B.41
1.42	B.42
1.43	B.43
1.44	B.44
1.45	B.45
1.46	B.46
1.47	B.47
1.48	B.48
1.49	B.49
1.50	B.50
1.51	B.51
1.52	B.52
1.53	B.53
1.54	B.54
1.55	B.55
1.56	B.56
1.57	B.57
1.58	B.58.
1.59	B.59
1.60	B.60
1.61	B.61
1.62	B.62
1.63	B.63
1.64	B.64
1.65	B.65
1.66	B.66
1.67	B.67
1.68	B.68
1.69	B.69
1.70	B.70
1.71	B.71
1.72	B.72
1.73	B.73

nr. comp.	erbicidu l B
1.74	B.74
1.75	B.75
1.76	B.76
1.77	B.77
1.78	B.78
1.79	B.79
1.80	B.80
1.81	B.81
1.82	B.82
1.83	B.83
1.84	B.84
1.85	B.85
1.86	B.86
1.87	B.87
1.88	B.88
1.89	B.89
1.90	B.90
1.91	B.91
1.92	B.92
1.93	B.93
1.94	B.94
1.95	B.95
1.96	B.96
1.97	B.97
1.98	B.98
1.99	B.99
1.100	B.100
1.101	B.101
1.102	B.102
1.103	B.103
1.104	B.104
1.105	B.105
1.106	B.106
1.107	B.107
1.108	B.108
1.109	B.109
1.110	B.110

MD 4683 C1 2020.12.31

32

nr. comp.	erbicidu l B
1.111	B.111
1.112	B.112
1.113	B.113
1.114	B.114
1.115	B.115
1.116	B.116
1.117	B.117
1.118	B.118
1.119	B.119
1.120	B.120
1.121	B.121
1.122	B.122
1.123	B.123
1.124	B.124
1.125	B.125
1.126	B.126
1.127	B.127
1.128	B.128
1.129	B.129
1.130	B.130
1.131	B.131
1.132	B.132
1.133	B.133
1.134	B.134
1.135	B.135
1.136	B.136
1.137	B.137
1.138	B.138
1.139	B.139
1.140	B.140
1.141	B.141
1.142	B.142
1.143	B.143
1.144	B.144
1.145	B.145
1.146	B.146
1.147	B.147
1.148	B.148
1.149	B.149
1.150	B.150

nr. comp.	erbicidu l B
1.151	B.151
1.152	B.152
1.153	B.153
1.154	B.154
1.155	B.155
1.156	B.156
1.157	B.157
1.158	B.158
1.159	B.159
1.160	B.160
1.161	B.161
1.162	B.162
1.163	B.163
1.164	B.164
1.165	B.165
1.166	B.166
1.167	B.167
1.168	B.168
1.169	B.169
1.170	B.170
1.171	B.171
1.172	B.172
1.173	B.173
1.174	B.174
1.175	B.175
1.176	B.176
1.177	B.177
1.178	B.178
1.179	B.179
1.180	B.180
1.181	B.181
1.182	B.182
1.183	B.183
1.184	B.184
1.185	B.185
1.186	B.186
1.187	B.187
1.188	B.188
1.189	B.189
1.190	B.190

nr. comp.	erbicidu l B
1.191	B.191
1.192	B.192
1.193	B.193
1.194	B.194
1.195	B.195
1.196	B.196
1.197	B.197
1.198	B.198
1.199	B.199
1.200	B.200
1.201	B.201
1.202	B.202
1.203	B.203
1.204	B.204
1.205	B.205
1.206	B.206
1.207	B.207
1.208	B.208
1.209	B.209
1.210	B.210
1.211	B.211
1.212	B.212
1.213	B.213
1.214	B.214
1.215	B.215
1.216	B.216
1.217	B.217
1.218	B.218
1.219	B.219
1.220	B.220
1.221	B.221
1.222	B.222
1.223	B.223
1.224	B.224
1.225	B.225
1.226	B.226
1.227	B.227
1.228	B.228
1.229	B.229

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 2.1 - 2.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A acifluorfen-sodiu.

5 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 3.1 - 3.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A azafenidin.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 4.1 - 4.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A bencarbazon.

10 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 5.1 - 5.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A benzendizon.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 6.1 - 6.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A bifenox.

15 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 7.1 - 7.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.227 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A butafenacil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 8.1 - 8.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A carfentrazon.

20 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 9.1 - 9.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A carfentrazon-etil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 10.1 - 10.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A clometoxifen.

25 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 11.1 - 11.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A cinidon-etil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 12.1 - 12.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A fluazolat.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 13.1 - 13.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flufenpir.

35 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 14.1 - 14.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flufenpir-etil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 15.1 - 15.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flumiclorac.

40 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 16.1 - 16.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flumiclorac-pentil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 17.1 - 17.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flumioxazin.

45 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 18.1 - 18.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A fluoroglicofen.

50 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 19.1 - 19.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A fluoroglicofen-etil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 20.1 - 20.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flutiacet.

55 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 21.1 - 21.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A flutiacet-metil.

60 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 22.1 - 22.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

fomesafen.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 23.1 - 23.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A halosafen.

5 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 24.1 - 24.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A lactofen.

10 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 25.1 - 25.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A oxadiargil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 26.1 - 26.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A oxadiazon.

15 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 27.1 - 27.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A oxifluorfen.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 28.1 - 28.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A pentoxazon.

20 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 29.1 - 29.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A profluazol.

25 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 30.1 - 30.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A piraclonil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 31.1 - 31.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A piraflufen.

30 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 32.1 - 32.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A piraflufen-etil.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 33.1 - 33.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A saflufenacil.

35 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 34.1 - 34.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A sulfentazon.

40 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 35.1 - 35.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A tidiazimin.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 36.1 - 36.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A tiafenacil.

45 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 37.1 - 37.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A etil [3-[2-clor-4-fluor-5-(1-metil-6-trifluormetil-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-3-il)fenoxi]-2-piridiloxi]acetat (CAS 353292-31-6; S-3100).

50 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 38.1 - 38.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4).

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 39.1 - 39.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A N-etil-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452098-92-9).

55 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 40.1 - 40.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A N-tetrahidrofurfuril-3-(2,6-diclor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1H-pirazol-1-carboxamidă (CAS 915396-43-9).

60 De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 41.1 - 41.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

N-etil-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452099-05-7).

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 42.1 - 42.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

5 N-tetrahidrofurfuril-3-(2-clor-6-fluor-4-trifluormetilfenoxi)-5-metil-1*H*-pirazol-1-carboxamidă (CAS 452100-03-7).

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 43.1 - 43.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

10 3-[7-fluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il]-1,5-dimetil-6-tioxo-[1,3,5]triazinan-2,4-dionă.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 44.1 - 44.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A metil (*E*)-4-[2-clor-5-[4-clor-5-(difluormetoxi)-1*H*-metil-pirazol-3-il]-4-fluor-fenoxi]-3-metoxibut-2-enoat (CAS 948893-00-3).

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 45.1 - 45.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

15 3-[7-Clor-5-fluor-2-(trifluormetil)-1*H*-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluormetil)-1*H*-pirimidină-2,4-dionă (CAS 212754-02-4).

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 46.1 - 46.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

20 2-(2,2,7-Trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-4,5,6,7-tetrahidro-izoindol-1,3-dionă.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 47.1 - 47.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin în calitate de componenta A

25 1-Metil-6-trifluormetil-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-prop-2-inil-3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-6-il)-1*H*-pirimidină-2,4-dionă

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 48.1 - 48.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar benoxacor în calitate de agent fitoprotector C.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 49.1 - 49.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar cloquintocet în calitate de agent fitoprotector C.

30

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 50.1 - 50.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar ciprosulfamidă în calitate de agent fitoprotector C.

35

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 51.1 - 51.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar diclormid în calitate de agent fitoprotector C.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 52.1 - 52.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar fenclorazol în calitate de agent fitoprotector C.

40

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 53.1 - 53.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar fenclorim în calitate de agent fitoprotector C.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 54.1 - 54.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar furilazol în calitate de agent fitoprotector C.

45

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 55.1 - 55.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar izoxadifen în calitate de agent fitoprotector C.

50

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 56.1 - 56.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar mefenpir în calitate de agent fitoprotector C.

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 57.1 - 57.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar 4-(dicloracetil)-1-oxa-4-azaspiro[4.5]decan (MON4660, CAS 71526-07-3) în calitate de agent fitoprotector C.

55

De asemenea, îndeosebi preferate sunt compozițiile 58.1 - 58.229, care diferă de compozițiile corespunzătoare 1.1 - 1.229 doar prin faptul că ele conțin suplimentar 2,2,5-trimetil-3-(dicloracetil)-1,3-oxazolidină (R-29148, CAS 52836-31-4) în calitate de agent fitoprotector C.

În general, se preferă utilizarea compușilor invenției în combinație cu erbicide care sunt selective pentru cultura tratată și care completează spectrul de buruieni combătute cu acești compuși la rata de aplicare folosită. În continuare, se preferă, în general, aplicarea compușilor invenției și altor erbicide complementare în același timp, fie ca un preparat combinat sau ca un amestec în rezervor.

Este recunoscut faptul că moleculele de polinucleotide și polipeptidele invenției cuprind molecule de polinucleotide și polipeptide care conțin o secvență de nucleotide sau de aminoacizi care este suficient de identică cu secvențele de nucleotide prezentate în SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, sau cu secvențele de aminoacizi prezentate în SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46. Termenul "suficient identic" este utilizat aici cu referire la o primă secvență de aminoacizi sau nucleotide care conține un număr suficient sau minim de reziduuri de aminoacizi sau nucleotide identice sau echivalente (de ex., cu o catenă laterală similară) cu o a doua secvență de aminoacizi sau nucleotide, astfel încât prima și a doua secvență de aminoacizi sau nucleotide au un domeniu structural comun și/sau o activitate funcțională comună.

În general, "identitatea secvențelor" se referă la gradul în care două secvențe de ADN sau de aminoacizi optim aliniate sunt constante pe parcursul unei ferestre de aliniere a componentelor, de ex., a nucleotidelor sau aminoacizilor. O "fracție de identitate" pentru segmentele aliniate ale unei secvențe de testare și ale unei secvențe de referință este numărul componentelor identice care sunt comune celor două secvențe aliniate împărțit la numărul total al componentelor din segmentul secvenței de referință, adică întreaga secvență de referință sau o parte mai mică definită a secvenței de referință. "Identitate procentuală" este fracțiunea de identitate înmulțită cu 100. Alinierea optimă a secvențelor pentru alinierea unei ferestre de comparație este bine cunoscută de specialiștii din domeniu și poate fi realizată prin instrumente, cum ar fi algoritmul de omologie locală al lui Smith și Waterman, algoritmul de aliniere a omologiei al lui Needleman și Wunsch, metoda de căutare a similitudinii a lui Pearson și Lipman, și preferabil prin implementări computerizate ale acestor algoritmi cum ar fi GAP, BESTFIT, FASTA și TFASTA disponibile ca parte a GCG. Wisconsin Package. (Accelrys Inc. Burlington, Mass.)

Polynucleotides and Oligonucleotides

Printr-o "polinucleotidă izolată", inclusiv ADN, ARN, sau o combinație a acestora, cu catenă simplă sau dublă, în orientare sens sau antisens sau o combinație a acestora, ARNs sau altfel, se are în vedere o polinucleotidă care este cel puțin parțial separată de secvențele de polinucleotide cu care este asociată sau legată în stare nativă. Preferabil, polinucleotida izolată este în măsură de, cel puțin 60%, preferabil, cel puțin, 75%, și cel mai preferabil, cel puțin, 90% lipsită de alte componente cu care este asociată în mod natural. După cum vor cunoaște specialiștii în domeniu, o polinucleotidă izolată poate fi o polinucleotidă exogenă prezentă, de exemplu, într-un organism transgenic care nu cuprinde în mod natural polinucleotida. În plus, termenii "polinucleotidă(e)", "secvență(e) de acid nucleic", "secvență(e) de nucleotide (s)", "acid(zi) nucleic(i)", "moleculă de acid nucleic" sunt utilizați interschimbabil în prezenta și se referă la nucleotide, fie ribonucleotide sau dezoxiribonucleotide sau o combinație a acestora, într-o formă polimerică neramificată de orice lungime.

Termenul "acid nucleic al mut-PPO" se referă la un acid nucleic al PPO având o secvență care este transformată dintr-un acid nucleic al PPO de tip sălbatic și care conferă toleranță sporită la erbicidul care inhibă PPO unei plante în care este exprimat. În plus, termenul "protoporfirinogen oxidază mutantă (mut-PPO)" se referă la înlocuirea unui aminoacid din secvențele primare de tip sălbatic SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46, sau o variantă, un derivat, ortolog, sau paralog al acesteia, cu un alt aminoacid. Expresia "aminoacid mutant" va fi folosită în continuare pentru a desemna aminoacidul care este înlocuit cu un alt aminoacid, desemnând astfel segmentul mutației în secvența primară a proteinei.

Intr-o variantă de executare preferențială, secvența de nucleotide a PPO cuprinde secvența SECV ID nr.: 1, 25, 37 sau 39 sau o variantă sau un derivat al acesteia.

În plus, se va înțelege de către un specialist în domeniu că secvențele de nucleotide ale PPO cuprind omologi, paralogi și ortologi ai SECV ID nr.: 1, 25, 37 sau 39 precum se va descrie în continuare.

Prin termenul "variantă" cu privire la o secvență (de ex., o polipeptidă sau o secvență de acid nucleic, cum ar fi - de exemplu - o secvență de nucleotide care reglează transcripția conform invenția) se are în vedere secvențe substanțial similare. Pentru secvențele de nucleotide care cuprind un cadru de citire deschis, variantele includ acele secvențe care, datorită degenerării codului genetic, codifică secvența de aminoacizi identică a proteinei native. Variantele alelice de

origine naturală cum ar fi acestea pot fi identificate prin utilizarea tehnicilor de biologie moleculară bine cunoscute, ca, de exemplu, reacția în lanț a polimerazei (PCR) și tehnicile de hibridizare. Variante de secvențe de nucleotide includ, de asemenea, secvențe de nucleotide derivate sintetic, cum ar fi cele generate, de exemplu, prin utilizarea mutagenzei situs-direcționată și pentru cadre de citire deschise, codifică proteina nativă, precum și cele care codifică o polipeptidă care are substituții de aminoacizi în raport cu proteină nativă. În general, variantele de secvențe ale nucleotidelor conform invenției vor prezenta o "identitate a secvențelor" nucleotidelor de, cel puțin, 30, 40, 50, 60, și 70%, de ex., de preferință 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, până la 79%, în general cel puțin 80%, de ex., 81% -84%, cel puțin 85%, de ex., 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, până la 98% și 99% cu secvența de nucleotide a SECV ID nr.: SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45. Identitatea procentuală a unei polinucleotide este determinată prin analiza GAP (Needleman și Wunsch, 1970) (programul GCG) cu o penalizare de creare a diferențelor = 5, și o penalizare de extindere a diferențelor = 0,3. Dacă nu se specifică altfel, secvența de interogare este de, cel puțin, 45 de nucleotide în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 45 de nucleotide. De preferință, secvența de interogare este de, cel puțin, 150 de nucleotide în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 150 de nucleotide. Mai preferabil, secvența de interogare este de, cel puțin, 300 de nucleotide în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 300 de nucleotide. Chiar mai preferabil, analiza GAP aliniaza cele două secvențe pe întreaga lor lungime.

Polipeptide

Prin "polipeptidă substanțial purificată" sau "polipeptidă purificată" se va înțelege că a fost separată de una sau mai multe lipide, acizi nucleici, alte polipeptide, sau alte molecule contaminante cu care este asociată în starea sa nativă. Se preferă ca polipeptida purificată substanțial să fie în măsură de, cel puțin 60%, mai preferabil, cel puțin, 75%, și mai preferabil, cel puțin, 90% lipsită de alte componente cu care este asociată în mod natural. După cum vor aprecia specialiștii din domeniu, polipeptida purificată poate fi o polipeptidă produsă recombinant. Termenii "polipeptidă" și "proteină" sunt folosiți, în general, interschimbabil și se referă la un singur lanț polipeptidic, care poate sau nu poate fi modificat prin adăugarea grupelor de non-aminoacizi. Se va înțelege că astfel de lanțuri polipeptidice se pot asocia cu alte polipeptide sau proteine sau alte molecule, cum ar fi co-factori. Termenii "proteine" și "polipeptide" așa cum sunt folosiți în prezenta includ, de asemenea, variante, mutanți, modificări, analogi și/sau derivați ai polipeptidelor invenției așa cum este descris aici.

Identitatea procentuală a unei polipeptide este determinată prin analiza GAP (Needleman și Wunsch, 1970) (programul GCG) cu o penalizare de creare a diferențelor = 5, și o penalizare de extindere a diferențelor = 0,3. Secvența de interogare este de, cel puțin, 25 de aminoacizi în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 25 de aminoacizi. Mai preferabil, secvența de interogare este de, cel puțin, 50 de aminoacizi în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 50 de aminoacizi. Mai preferabil, secvența de interogare este de, cel puțin, 100 de aminoacizi în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 100 de aminoacizi. Chiar mai preferabil, secvența de interogare este de, cel puțin, 250 de aminoacizi în lungime, iar analiza GAP aliniaza cele două secvențe peste o regiune de, cel puțin, 250 de aminoacizi. Chiar mai preferabil, analiza GAP aliniaza cele două secvențe pe întreaga lor lungime.

Cu privire la o polipeptidă definită, se va aprecia ca cifrele identității procentuale mai mari decât cele prezentate mai sus să cuprindă variante de executare preferențiale. Astfel, dacă este cazul, în lumina cifrelor identității procentuale minime, se preferă ca polipeptida PPO a invenției să cuprindă o secvență de aminoacizi, care este în măsură de, cel puțin, 40%, mai preferabil cel puțin 45%, mai preferabil cel puțin 50%, mai preferabil cel puțin 55%, mai preferabil cel puțin 60%, mai preferabil cel puțin 65%, mai preferabil cel puțin 70%, mai preferabil cel puțin 75%, mai preferabil cel puțin 80%, mai preferabil cel puțin 85%, mai mult preferabil cel puțin 90%, mai preferabil cel puțin 91%, mai preferabil cel puțin 92%, mai preferabil cel puțin 93%, mai preferabil cel puțin 94%, mai preferabil cel puțin 95%, mai preferabil cel puțin 96%, mai preferabil cel puțin 97%, mai preferabil cel puțin 98%, mai preferabil cel puțin 99%, mai preferabil cel puțin 99,1%, mai preferabil cel puțin 99,2%, mai preferabil cel puțin 99,3%, mai preferabil cel puțin 99,4%, mai preferabil cel puțin 99,5%, mai preferabil cel puțin 99,6%, mai preferabil cel puțin 99,7%, mai preferabil cel puțin 99,8%, și chiar mai preferabil cel puțin 99,9% identică cu SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42,

44, sau 46.

Prin polipeptidă "variantă" se are în vedere o polipeptidă derivată din proteina SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46 prin deleția (așa-numita trunchiere) sau adăugarea unuia sau mai multor aminoacizi la capătul N-terminal și/sau C-terminal al proteinei native; deleția sau adăugarea unuia sau mai multor aminoacizi la unul sau mai multe situsuri în proteina nativă; sau substituția unuia sau mai multor aminoacizi la unul sau mai multe situsuri din proteina nativă. Astfel de variante pot rezulta, de exemplu, din polimorfism genetic sau din manipulare umană. Metode pentru astfel de manipulări sunt, în general, cunoscute în domeniu.

"Derivați" ai unei proteine cuprind peptide, oligopeptide, polipeptide, proteine și enzime având substituții, deleții și/sau inserții de aminoacizi în raport cu proteina nemodificată în cauză și având o activitate biologică și funcțională similară ca și proteina nemodificată din care sunt obținuți.

"Omologi" ai unei proteine cuprind peptide, oligopeptide, polipeptide, proteine și enzime având substituții, deleții și/sau inserții de aminoacizi în raport cu proteina nemodificată în cauză și având o activitate biologică și funcțională similară ca și proteina nemodificată din care sunt obținuți.

O deleție se referă la îndepărtarea unuia sau mai multor aminoacizi dintr-o proteină.

O inserție se referă la unul sau mai multe reziduuri de aminoacizi introduși într-un situs predeterminat într-o proteină. Inserțiile pot cuprinde fuziuni N-terminale și/sau C-terminale, precum și inserții între secvențele de aminoacizi unici sau multipli. În general, inserțiile în secvența de aminoacizi vor fi mai mici decât fuziunile N- sau C-terminale, de ordinul de circa 1 - 10 reziduuri. Exemple de proteine sau peptide cu fuziuni N- sau C-terminale includ domeniul de legare sau domeniul de activare a unui activator transcripțional precum este utilizat în sistemul bihibrid de drojdie, proteinele de fagi, (histidină)-6-tag, glutathionul S-transferază-tag, proteina A, proteina de legare a maltozei, dihidrofolatul reductază, epitopul Tag-100, epitopul c-myc, epitopul FLAG®, lacZ, CMP (peptidă de legare a calmodulinei), epitopul HA, epitopul proteinei C și epitopul VSV.

O substituție se referă la înlocuirea aminoacizilor proteinei cu alți aminoacizi având proprietăți similare (cum ar fi hidrofobie, hidrofilie, antigenitate predilecție similară pentru a forma sau distruge structurile α -elicooidale sau structurile β -coli). Substituțiile de aminoacizi sunt, de regulă, cu reziduuri unice, dar pot fi grupate în funcție de constrângerile funcționale impuse polipeptidei și pot varia între 1 - 10 aminoacizi; inserțiile vor fi de obicei de ordinul a circa 1 - 10 reziduuri de aminoacizi. Substituțiile de aminoacizi sunt, de preferință, substituții de aminoacizi conservatoare. Tabele cu substituții conservatoare sunt bine cunoscute în domeniu (a se vedea, de exemplu Creighton (1984) Proteine. W.H. Freeman and Company (Eds).

Exemple de substituții de aminoacizi conservate

Tabelul 2

Reziduul	Substituții conservatoare	Reziduul	Substituții conservatoare
Ala	Ser	Leu	Ile; Val
Arg	Lys	Lys	Arg; Gln
Asn	Gln; His	Met	Leu; Ile
Asp	Glu	Phe	Met; Leu; Tyr
Gln	Asn	Ser	Thr; Gly
Cys	Ser	Thr	Ser; Val
Glu	Asp	Trp	Tyr
Gly	Pro	Tyr	Trp; Phe
His	Asn; Gln	Val	Ile; Leu
Ile	Leu; Val		

Substituții, deleții și/sau inserții de aminoacizi pot fi ușor preparate folosind tehnicile de sinteză a peptidelor bine cunoscute în domeniu, cum ar fi sinteza peptidelor în fază solidă și altele, sau prin manipularea ADN-ului recombinant. Metode pentru manipularea secvențelor de ADN cu scopul de a produce variante de substituție, inserție sau deleție a unei proteine sunt bine cunoscute în domeniu. De exemplu, tehnicile pentru prepararea mutațiilor de substituție la situsuri predeterminate în ADN sunt bine cunoscute de către specialiștii în domeniu și includ mutageneza M13, mutageneza T7-Gen in vitro (USB, Cleveland, OH), mutageneza situs-direcționată QuickChange (Stratagene, San Diego, CA), mutageneza situs-direcționată mediată de PCR sau

alte protocoale de mutageneză situs-direcționată.

"Derivații" includ, de asemenea, peptide, oligopeptide, polipeptide care pot, comparativ cu secvența de aminoacizi de formă naturală a proteinei, cum ar fi proteina relevantă, cuprinde substituții de aminoacizi cu reziduuri de aminoacizi de origine nenaturală, sau aditii de reziduuri de aminoacizi de origine nenaturală. "Derivații" unei proteine cuprind, de asemenea, peptide, oligopeptide, polipeptide care cuprind reziduuri de aminoacizi de origine naturală modificate (glicozilate, acilate, prenilate, fosforilate, miristoilate, sulfatate, etc.) sau de origine nenaturală modificate comparate cu secvența de aminoacizi a unei polipeptide cu forma de origine naturală. Un derivat poate cuprinde, de asemenea, unul sau mai mulți substituenți sau aditii de non-aminoacizi în comparație cu secvența de aminoacizi din care este obținut, de exemplu o moleculă raportor sau un alt ligand, legat covalent sau necovalent de secvența de aminoacizi, cum ar fi o moleculă raportor, care este legată pentru a facilita detectarea acesteia, și reziduurile de aminoacizi de origine nenaturală în raport cu secvența de aminoacizi a unei proteine de origine naturală. În plus "derivații" includ, de asemenea, fuziuni de formă naturală a proteinei cu peptide de marcă, cum ar fi FLAG, HIS6 sau tioredoxină (o analiză a peptidelor de marcă este prezentată în Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60, 523-533, 2003).

"Ortologi" și "paralogi" cuprind concepte evolutive utilizate pentru a descrie relațiile ancestrale ale genelor. Paralogii sunt gene din aceeași specie care au provenit prin dublarea unei gene ancestrale; ortologii sunt gene de la diferite organisme, care au provenit prin speciație, și, de asemenea, derivă dintr-o genă comună ancestrală. În Tabelul 1 este prezentată o listă nelimitativă de exemple de astfel de ortologi.

Este bine cunoscut faptul în domeniu că paralogii și ortologii pot avea domenii distincte comune care conțin reziduuri de aminoacizi adecvați la anumite situsuri, cum ar fi buzunare de legare pentru anumite substraturi sau motive de legare pentru interacțiunea cu alte proteine.

Termenul "domeniu" se referă la un set de aminoacizi conservați la poziții specifice de-a lungul unei alinieri a secvențelor proteinelor legate evolutiv. În timp ce aminoacizii la alte poziții pot varia de la un omolog la altul, aminoacizii care sunt puternic conservați la poziții specifice indică aminoacizi care sunt posibil esențiali în structura, stabilitatea sau funcția unei proteine. Fiind identificați de gradul lor înalt de conservare în secvențele aliniate ale unei familii de omologi de proteine, aceștia pot fi folosiți ca identificatori pentru a determina dacă vreo polipeptidă în cauză aparține unei familii de polipeptide identificate anterior.

Termenul "motiv" sau "secvență consens" se referă la o regiune conservată pe o perioadă scurtă în secvența proteinelor legate evolutiv. Motive sunt adesea părți de domenii puternic conservate, dar pot include, de asemenea, doar o parte a domeniului, sau pot fi localizate în afara domeniului conservat (dacă toți aminoacizii motivului sunt în afara unui domeniu definit).

Există baze de date specializate pentru identificarea domeniilor, de exemplu, SMART (Schultz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 5857-5864; Letunic et al. (2002) Nucleic Acids Res 30, 242-244), InterPro (Mulder et al., (2003) Nucl. Acids. Res. 31, 315-318), Prosite (Bucher and Bairoch (1994), O sintaxă a profilurilor generalizate pentru motivele secvențelor biomoleculare și funcția sa în interpretarea automată a secvențelor. (In) ISMB-94; Procedurile Conferinței Internaționale Ediția a 2-a privind Sistemele Inteligente pentru Biologia Moleculară. Altman R., Brutlag D., Karp P., Lathrop R., Searls D., Eds., pp53-61, AAI Press, Menlo Park; Hulo et al., Nucl. Acids. Res. 32:D134-D137, (2004)), sau Pfam (Bateman et al., Nucleic Acids Research 30(1): 276-280 (2002)). Un set de instrumente pentru analiza in silico a secvențelor de proteine este disponibil pe serverul proteomic ExPASy (Institutul Elvețian de Bioinformatică (Gasteiger et al., ExPASy: serverul proteomic pentru cunoștințe și analiza mai amănunțită a proteinelor, Acizi Nucleici Res. 31:3784-3788(2003)). Domeniile sau motivele pot fi, de asemenea, identificate folosind tehnici curente, cum ar fi prin alinierea secvențelor.

Metode pentru alinierea secvențelor pentru comparație sunt bine cunoscute în domeniu, astfel de metode includ GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA și TFASTA. GAP folosește algoritmul Needleman și Wunsch ((1970) J Mol Biol 48: 443-453) pentru a depista alinierea globală (de ex., cuprinzând secvențele complete) a două secvențe care maximizează numărul de potriviri și minimizează numărul de diferențe. Algoritmul BLAST (Altschul et al. (1990) J Mol Biol 215: 403-10) calculează identitatea procentuală a secvențelor și efectuează o analiză statistică a similitudinii dintre cele două secvențe. Software-ul pentru efectuarea analizei BLAST este disponibil publicului prin intermediul Centrului Național de Informații Biotehnologice (NCBI). Omologii pot fi ușor identificați folosind, de exemplu, algoritmul de aliniere a secvențelor multiple ClustalW (versiunea 1.83), cu parametri de aliniere implicită a perechilor și o metodă de punctare în procente. Procentele globale de similitudine și identitate pot fi, de asemenea, determinate

folosind una dintre metodele disponibile în pachetul software MatGAT (Campanella et al., BMC Bioinformatics. 2003 Jul 10;4:29. MatGAT: o aplicație care generează matricele de similitudine/identitate folosind secvențele de proteine sau ADN). Editarea manuală minoră poate fi efectuată pentru a optimiza alinierea între motivele conservate, după cum va fi evident unui specialist în domeniu. În plus, pot fi utilizate, de asemenea, domenii specifice în loc de utilizarea secvențelor cu lungimea completă pentru identificarea omologilor. Valorile de identitate a secvențelor pot fi determinate pe întreaga secvență de acizi nucleici sau de aminoacizi sau pe domenii selectate sau motiv(e) conservat(e), cu ajutorul programelor sus-menționate folosind parametrii implicați. Pentru alinieri locale, algoritmul Smith-Waterman este deosebit de util (Smith TF, Waterman MS (1981) J. Mol. Biol 147(1);195-7).

Inventatorii prezentei invenții au constatat că prin substituirea unuia sau mai multor reziduuri de aminoacizi cheie, toleranța sau rezistența la erbicide poate fi sporită în mod remarcabil, comparativ cu activitatea enzimelor PPO de tip sălbatic a SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46. Substituții preferate ale mut-PPO sunt cele care sporesc toleranța la erbicide a plantei, însă nu afectează semnificativ activitatea biologică a activității oxidazei.

Prin urmare, într-un alt aspect al prezentei invenții reziduurile de aminoacizi cheie ale unei enzime PPO, unei variante, unui derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, sunt substituite cu orice alt aminoacid.

Intr-o variantă de executare preferențială, reziduurile de aminoacizi cheie ale unei enzime PPO, unei variante, unui derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, sunt substituite cu un aminoacid conservat prezentat în Tabelul 2.

Se va înțelege de către un specialist în domeniu că aminoacizii situați în imediata apropiere de pozițiile aminoacizilor menționați mai jos pot fi, de asemenea, substituiți. Astfel, într-o altă variantă de executare varianta SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia cuprinde o mut-PPO, în care un aminoacid ± 3 , ± 2 sau ± 1 pozițiile aminoacizilor dintr-un aminoacid cheie este substituit cu orice alt aminoacid.

Pe baza tehnicilor bine cunoscute în domeniu, poate fi elaborat un șablon de secvențe extrem de caracteristic, prin intermediul căruia pot fi căutați alți candidați mut-PPO cu activitatea dorită.

Căutarea altor candidați mut-PPO prin aplicarea unui model de secvențe adecvat va fi, de asemenea, cuprins de prezenta invenție. Se va înțelege de către un specialist că modelul prezent de secvențe nu este limitat de distanțele exacte dintre două reziduuri de aminoacizi adiacenți din modelul respectiv. Fiecare distanță dintre doi vecini din modelele de mai sus poate, de exemplu, varia în mod independent una de alta cu până la ± 10 , ± 5 , ± 3 , ± 2 sau ± 1 poziție de aminoacizi, fără a afecta în mod substanțial activitatea dorită.

În plus, prin aplicarea metodei de mutagenză situs-direcționată, inventatorii prezentei invenții au identificat combinații specifice de mutații, această combinație referindu-se la o substituție a reziduurilor de Fenilalanină la poziția 420 în SECV ID nr.: 2 sau 4, combinată cu o a doua substituție a Leucinei la poziția 397 în SECV ID nr.: 2 sau 4.

Astfel, într-o variantă de executare îndeosebi preferată, varianta sau derivatul mut-PPO a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 este selectat din substituțiile combinate de aminoacizi din următorul Tabel 3a.

SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 (substituții combinate de aminoacizi obținuți prin mutagenza situs-direcționată)

Tabelul 3a

Numărul combinației	SECV ID nr.:	Combinația pozițiilor aminoacizilor cheie	Substituția preferată
1	2 sau 4	Leu397	Gly
		Phe420	Met
2	2 sau 4	Leu397	Ala
		Phe420	Met
3	2 sau 4	Leu397	Ser

MD 4683 C1 2020.12.31

41

		Phe420	Met
4	2 sau 4	Leu397	Thr
		Phe420	Met
5	2 sau 4	Leu397	Cys
		Phe420	Met
6	2 sau 4	Leu397	Val
		Phe420	Met
7	2 sau 4	Leu397	Ile
		Phe420	Met
8	2 sau 4	Leu397	Met
		Phe420	Met
9	2 sau 4	Leu397	Pro
		Phe420	Met
10	2 sau 4	Leu397	Phe
		Phe420	Met
11	2 sau 4	Leu397	Tyr
		Phe420	Met
12	2 sau 4	Leu397	Trp
		Phe420	Met
13	2 sau 4	Leu397	Asp
		Phe420	Met
14	2 sau 4	Leu397	Glu
		Phe420	Met
15	2 sau 4	Leu397	Asn
		Phe420	Met
16	2 sau 4	Leu397	Gln
		Phe420	Met
17	2 sau 4	Leu397	His
		Phe420	Met
18	2 sau 4	Leu397	Lys
		Phe420	Met
19	2 sau 4	Leu397	Arg
		Phe420	Met
20	2 sau 4	Leu397	Gly
		Phe420	Val
21	2 sau 4	Leu397	Ala
		Phe420	Val
22	2 sau 4	Leu397	Ser
		Phe420	Val
23	2 sau 4	Leu397	Thr
		Phe420	Val
24	2 sau 4	Leu397	Cys
		Phe420	Val
25	2 sau 4	Leu397	Val

		Phe420	Val
26	2 sau 4	Leu397	Ile
		Phe420	Val
27	2 sau 4	Leu397	Met
		Phe420	Val
28	2 sau 4	Leu397	Pro
		Phe420	Val
29	2 sau 4	Leu397	Phe
		Phe420	Val
30	2 sau 4	Leu397	Tyr
		Phe420	Val
31	2 sau 4	Leu397	Trp
		Phe420	Val
32	2 sau 4	Leu397	Asp
		Phe420	Val
33	2 sau 4	Leu397	Glu
		Phe420	Val
34	2 sau 4	Leu397	Asn
		Phe420	Val
35	2 sau 4	Leu397	Gln
		Phe420	Val
36	2 sau 4	Leu397	His
		Phe420	Val
37	2 sau 4	Leu397	Lys
		Phe420	Val
38	2 sau 4	Leu397	Arg
		Phe420	Val

Intr-o altă variantă de executare îndeosebi preferată, varianta sau derivatul mut-PPO a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 este selectat din substituțiile combinate de aminoacizi din următorul Tabel 3b.

- 5 SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 (substituții combinate ale aminoacizilor)

Tabelul 3b

Numărul combinației	SECV ID nr.:	Combinația pozițiilor aminoacizilor cheie	Substituția preferată
39	2 sau 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
40	2 sau 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
41	2 sau 4	Phe204	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
42	2 sau 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
43	2 sau 4	Leu400	Ala
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val

MD 4683 C1 2020.12.31

43

44	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
45	2 sau 4	The208	Ser
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
46	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
47	2 sau 4	Phe204	Ile
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
48	2 sau 4	Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu
49	2 sau 4	Phe204	Ile
		Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu
50	2 sau 4	Phe420	Val, Met, Ala, Ile, Leu
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
51	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
52	2 sau 4	Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
53	2 sau 4	Phe204	Ile
		The208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
54	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
55	2 sau 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
56	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
57	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
58	2 sau 4	Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
59	2 sau 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
60	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
61	2 sau 4	Phe204	Ile

MD 4683 C1 2020.12.31

44

		Thr208	Ser
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
62	2 sau 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
63	2 sau 4	Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
64	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
65	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
66	2 sau 4	Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
67	2 sau 4	Phe204	Ile
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
68	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
69	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
70	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
71	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
72	2 sau 4	Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
73	2 sau 4	Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
74	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
75	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met

		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
76	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
77	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
78	2 sau 4	Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
79	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu397	Asp, Glu, Gln, Asn
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
80	2 sau 4	Phe204	Ile
		Thr208	Ser
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val
81	2 sau 4	Arg128	Ala, Leu, Ile, Val
		Phe204	Ile
		Leu400	Ala, Ile, Val, Met
		Phe420	Met, Ala, Leu, Ile, Val
		Phe457	Met, Ala, Leu, Ile, Val

Se va înțelege că orice aminoacid, pe lângă cele menționate în tabelele 3 de mai sus, poate fi folosit în calitate de un substituent. Analizele privind testul de funcționalitate a acestor mutanți sunt disponibile pe larg în domeniu, și respectiv, sunt descrise în secțiunea Exemple din prezenta invenție.

Intr-o variantă de executare preferențială, secvența de aminoacizi diferă de o secvență de aminoacizi a SECV ID Nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 la una sau mai multe din următoarele poziții: 128, 204, 208, 397, 400, 420, 457.

Exemple de deosebiri la aceste poziții ale aminoacizilor includ, dar nu sunt limitate la, una sau mai multe dintre următoarele:

aminoacidul la poziția 128 este altul decât Arginină;
aminoacidul la poziția 204 este altul decât Fenilalanină;
aminoacidul la poziția 208 este altul decât Treonină;
aminoacidul la poziția 397 este altul decât Leucină;
aminoacidul la poziția 400 este altul decât Leucină;
aminoacidul la poziția 420 este altul decât Fenilalanină,
aminoacidul la poziția 457 este altul decât Fenilalanină.

În unele variante de executare, enzima mut-PPO a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 cuprinde una sau mai multe dintre următoarele:

aminoacidul la poziția 128 este Leu, Ala, Val, sau Ile;
aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val;
aminoacidul la poziția 208 este Ser;
aminoacidul la poziția 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys,

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Thr, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Cys, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Cys, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Cys, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acestora, în care: aminoacidul la poziția 397 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 397 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acestora, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acestora, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Pro, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Pro, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Pro, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 397 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Trp, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Trp, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Trp, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este His, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este His, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Lys, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Lys, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Lys, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Arg, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 397 este Arg, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, Glu, Gln, Asn, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 204 este Ala, Leu, Ile, Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp, Glu, Gln, Asn.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Glu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Asn.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Glu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Asn.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Glu.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Asn.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Glu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Asn.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, Met.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 208 este Ser.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la pozitia 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care:aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 60 poziția 420 este Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Asn.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ser, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ser, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Thr, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Thr, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Thr, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Cys, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 397 este Cys, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Pro, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Pro, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Trp, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Trp, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este His, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este His, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este His, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Lys, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 397 este Lys, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Arg, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Arg, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Arg, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, Glu, Gln, Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asp, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 204 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, Met.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 400 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 208 este Ser.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID 60 nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ala, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 400 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Val, iar aminoacidul la poziția 420 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 400 este Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Leu.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ile, iar aminoacidul la poziția 420 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 420 este Met, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Met, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Met, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Ala, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Ile, iar aminoacidul la poziția 457 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 40 poziția 420 este Val, iar aminoacidul la poziția 457 este Met.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Val, iar aminoacidul la poziția 457 este Leu.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 420 este Val, iar aminoacidul la poziția 457 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Ala, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Ile, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Asp.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la 40 poziția 128 este Val, iar aminoacidul la poziția 397 este Gln.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Tyr, Trp, Asp, Glu, Asn, Gln, His, Lys, Arg, iar aminoacidul la poziția 392 este Met, Ala, Leu, Ile, Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Gly, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Gly, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ala, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ala, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ala, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ser, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ser, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 369 este Thr, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Thr, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Thr, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Cys, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Cys, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Val, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Val, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Val, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ile, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Ile, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 369 este Met, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Met, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Met, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Pro, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Pro, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Tyr, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Trp, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Trp, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 369 este Asp, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Asp, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Asp, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Glu, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Glu, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Asn, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Asn, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Asn, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Gln, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Gln, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la 35 poziția 369 este His, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este His, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

45 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este His, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Lys, iar aminoacidul la poziția 392 este Ala.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Lys, iar aminoacidul la poziția 392 este Ile.

60 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Arg, iar aminoacidul la poziția 392 este Met.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Arg, iar aminoacidul la poziția 392 este Leu.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 40, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 369 este Arg, iar aminoacidul la poziția 392 este Val.

Intr-o variantă de executare îndeosebi preferată, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Glu, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o variantă de executare îndeosebi preferată, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau 4, o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 397 este Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care:

35 aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 50 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, sau Met.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, iar

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acestora, în care: aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, sau Met, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care:

20 aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, iar aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu.

35 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, in care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, Ala, Val, sau Ile, aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu, sau Gln, iar aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu.

50 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, Ala, Val, sau Ile, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.: 4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care:

aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, sau Met, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

5 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, sau Met, iar aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu.

10 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val, sau Met, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

15 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile, sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

20 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, Ala, Val, sau Ile, aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile, sau Val, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

25 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile sau Val, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val sau Met, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile, sau Val.

30 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acestora, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 397 este Asn, Asp, Glu sau Gln, iar aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val sau Met.

35 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile sau Val, aminoacidul la poziția 208 este Ser, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val sau Met, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile sau Val.

40 Intr-o altă variantă de executare preferențială, mut-PPO cuprinde o secvență a SECV ID nr.: 2 sau SECV ID nr.:4 o variantă, un derivat, ortolog, paralog sau omolog al acesteia, în care: aminoacidul la poziția 128 este Leu, Ala, Val sau Ile, aminoacidul la poziția 204 este Ala, Leu, Ile sau Val, aminoacidul la poziția 400 este Ala, Ile, Val sau Met, aminoacidul la poziția 420 este Val, Met, Ala, Ile sau Leu, iar aminoacidul la poziția 457 este Met, Ala, Leu, Ile sau Val.

45 Specialistul în domeniu va fi în stare să identifice regiunile conservate și motivele pe care le au în comun omologii, ortologii și paralogii codificați de SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, ca și cele prezentate în Tabelul 1. Prin identificarea unor astfel de regiuni conservate care pot reprezenta motive adecvate de legare, aminoacizii ce corespund aminoacizilor prezentați în Tabelul 3a și 3b, pot fi selectați pentru a fi substituiți cu orice alt aminoacid, preferabil cu aminoacizi conservați așa cum s-a prezentat în tabelul 2, și mai preferabil cu aminoacizii din tabele 3a și 3b.

50 În plus, prezenta invenție se referă la un procedeu de identificare a unui erbicid care inhibă PPO prin utilizarea unei mut-PPO codificată de un acid nucleic care cuprinde secvența de nucleotide a SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, sau o variantă sau un derivat al acestora.

Procedeu menționat cuprinde următoarele etape:

- 55 a) producerea unei celule sau plante transgenice care conține un acid nucleic ce codifică o mut-PPO, în care mut-PPO este exprimată;
- b) aplicarea unui erbicid care inhibă PPO pe celula sau planta transgenică din etapa a) și într-o celulă sau plantă de control din același soi;
- c) determinarea creșterii sau viabilității celulei sau plantei transgenice și celulei sau plantei de control după aplicarea erbicidului care inhibă PPO menționat, și

d) selectarea "erbicidelor ce inhibă PPO" care conferă o creștere redusă celulei sau plantei de control în comparație cu creșterea celulei sau plantei transgenice.

Prin "celulă de control" sau "plantă, țesut de plantă, celulă de plantă sau celulă gazdă similară, de tip sălbatic" se înțelege o plantă, țesut de plantă, celulă de plantă sau, respectiv, o celulă gazdă, care nu posedă caracteristicile de rezistență la erbicid și/sau polinucleotida particulară a invenției, care sunt descrise în prezenta. Prin urmare, folosirea termenului "de tip sălbatic" nu are ca scop să se înțeleagă că o plantă, țesut de plantă, celulă de plantă, sau o altă celulă gazdă nu posedă ADN recombinant în genomul său, și/sau nu posedă caracteristici rezistente la erbicid care diferă de cele descrise în prezenta.

Un alt obiect se referă la un procedeu de identificare a unei secvențe de nucleotide care codifică o mut-PPO, care este rezistentă sau tolerantă la un erbicid ce inhibă PPO, procedeul cuprinzând:

- a) generarea unei bănci de acizi nucleici care codifică mut-PPO,
- b) screening-ul unei populații de acizi nucleici rezultați care codifică mut-PPO prin exprimarea fiecăruia dintre acizii nucleici menționați într-o celulă sau plantă și tratarea celulei sau plantei respective cu un erbicid ce inhibă PPO,
- c) compararea nivelurilor de toleranță la erbicidul care inhibă PPO oferite de populația menționată de acizi nucleici care codifică mut-PPO cu nivelul de toleranță la erbicidul care inhibă PPO oferit de un acid nucleic de control care codifică PPO,
- d) selectarea, cel puțin, unui acid nucleic ce codifică mut-PPO, care oferă un nivel de toleranță mult mai mare la erbicidul ce inhibă PPO în comparație cu cel oferit de acidul nucleic de control ce codifică PPO.

Intr-o variantă de executare preferențială, acidul nucleic ce codifică mut-PPO selectat în etapa d) oferă cel puțin o rezistență sau toleranță dublă a unei celule sau plante la un erbicid ce inhibă PPO în comparație cu cea oferită de acidul nucleic de control ce codifică PPO.

Intr-o altă variantă preferențială, acidul nucleic care codifică mut-PPO selectat în etapa d) oferă cel puțin o rezistență sau toleranță de 2 ori, cel puțin de 5 ori, cel puțin de 10 ori, cel puțin de 20 ori, cel puțin de 50 ori, cel puțin de 100 ori, cel puțin de 500 ori a unei celule sau plante la un erbicid care inhibă PPO în comparație cu cea oferită de acidul nucleic de control care codifică PPO.

Rezistența sau toleranța poate fi determinată prin generarea unei plante transgenice sau celule gazdă, preferabil unei celule de plantă, care cuprinde o secvență de acid nucleic din banca din etapa a) și compararea plantei transgenice respective cu o plantă sau celulă gazdă de control, preferabil o celulă de plantă.

Un alt obiect se referă la un procedeu de identificare a unei plante sau alge care conține un acid nucleic ce cuprinde o secvență de nucleotide care codifică o PPO de tip sălbatic sau mut-PPO, care este rezistentă sau tolerantă la un erbicid ce inhibă PPO, procedeul cuprinzând:

- a) identificarea unei cantități eficiente de erbicid care inhibă PPO într-o cultură de celule de plantă sau alge verzi care duce la moartea celulelor respective.
- b) tratarea celulelor de plantă sau algelor verzi menționate cu un agent mutagen,
- c) tratarea populației de celule mutagene menționate cu o cantitate eficientă de erbicid care inhibă PPO, identificate în etapa a),
- d) selectarea a, cel puțin, unei celule supraviețuitoare acestor condiții de testare,
- e) amplificarea prin PCR și secvențierea genelor PPO din celulele selectate în etapa d) și, respectiv, compararea acestor secvențe cu secvențele genelor PPO de tip sălbatic.

Intr-o variantă de executare preferențială, agentul mutagen respectiv este etilmetansulfonat (EMS).

Numeroase metode bine cunoscute de specialiștii în domeniu sunt disponibile pentru obținerea acizilor nucleici adecvați pentru identificarea unei secvențe de nucleotide care codifică o mut-PPO dintr-o varietate de diferite organisme potențiale surse, inclusiv microbi, plante, fungi, alge, culturi mixte etc., precum și surse de mediu ale ADN-ului, cum ar fi solul. Aceste metode includ, printre altele, prepararea ADNc sau bazelor de ADN genomic, folosirea amorsoarelor de oligonucleotide degenerate adecvat, folosirea sondelor pe bază de secvențe cunoscute sau teste de complementare (de exemplu, pentru creșterea pe tirozină), precum și folosirea mutagenizei și amestecarea în scopul de a oferi secvențe care codifică mut-PPO recombinat sau amestecat.

Acizii nucleici care cuprind secvențe ce codifică PPO candidat și de control pot fi exprimate în drojdie, într-o tulpină gazdă bacteriană, într-o algă sau într-o plantă mai înaltă, cum ar fi tutunul sau Arabidopsis și nivelurile relative ale toleranței inerente a secvențelor care codifică PPO selectate conform unui fenotip indicator vizibil al tulpinei sau plantei transformate în prezența

a diferitor concentrații ale erbicidului selectat care inhibă PPO. Răspunsurile dozei și devierile relative în răspunsurile dozei asociate cu aceste fenotipuri indicatoare (formarea culorii maro, inhibarea creșterii, efectul erbicid etc.) sunt exprimate în mod convenabil, de exemplu, în valorile GR50 (concentrația pentru reducerea de 50% a creșterii) sau MIC (concentrația minimă de inhibare), unde creșterile valorilor corespund creșterilor toleranței inerente a PPO exprimate. De exemplu, într-un sistem de analiză relativ rapidă bazată pe transformarea unei bacterii cum ar fi *E. coli*, fiecare secvență care codifică mut-PPO poate fi exprimată, de exemplu, ca o secvență de ADN sub controlul de expresie a unui promotor controlabil cum ar fi promotorul lacZ și ținând cont, de exemplu prin utilizarea ADN-ului sintetic, de astfel de aspecte cum ar fi utilizarea codonului pentru a obține un nivel de expresie cât mai comparabil posibil de diverse secvențe PPO. Astfel de tulpini ce exprimă acizi nucleici care cuprind secvențe de PPO candidate alternative pot fi plasate pe diverse concentrații de erbicid selectat care inhibă PPO, opțional, pe un mediu suplimentat de tirozină și nivelurile relative ale toleranței inerente a enzimelor PPO exprimate estimate pe baza nivelului și MIC pentru inhibarea formării pigmentului maro, ocronotic.

Intr-o altă variantă de executare, acizii nucleici candidați sunt transformați în materialul de plantă pentru a genera o plantă transgenică, regenerată în plante fertile morfologic normale care sunt apoi măsurate cu privire la toleranța diferențială față de erbicidele care inhibă PPO selectate. Numeroase metode adecvate pentru transformare folosind markeri de selecție adecvați, cum ar fi kanamicina, vectori binari cum ar fi din *Agrobacterium* și regenerarea plantelor cum ar fi, de exemplu, din discuri de frunze de tutun sunt bine cunoscute în domeniu. Opțional, o populație de control a plantelor este, de asemenea, transformată cu un acid nucleic care exprimă PPO de control. Alternativ, o plantă dicotiledonată netransformată, cum ar fi *Arabidopsis* sau tutunul pot fi utilizate în calitate de control, deoarece aceasta, în orice caz, exprimă propria sa PPO endogenă. Media, și distribuția, nivelurilor de toleranță la erbicide a unei serii de evenimente de transformare a plantelor primare sau descendenților lor față de erbicidele care inhibă PPO descrise mai sus sunt evaluate în mod obișnuit pe baza daunelor cauzate plantelor, simptomele de înălbire meristematică etc., la concentrații diferite ale erbicidelor. Aceste date pot fi exprimate, de exemplu, în valorile GR50 obținute din curbele doză/răspuns având "doza" reprezentată pe axa x și "procentul de distrugere", "efectul erbicid", "numerele plantelor verzi emergente" etc. reprezentate pe axa y, unde valorile sporite GR50 corespund nivelurilor sporite de toleranță inherentă a PPO exprimată. Erbicidele pot fi aplicate în mod adecvat înainte sau după apariție.

Un alt obiect se referă la un acid nucleic izolat care codifică o mut-PPO, unde acidul nucleic poate fi identificat printr-un procedeu definit mai sus.

Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la o celulă de plantă transformată de un acid nucleic al PPO de tip sălbatic sau mut-PPO sau o celulă de plantă care a fost transformată pentru a obține o plantă care exprimă un acid nucleic al PPO de tip sălbatic sau mut-PPO, în care expresia acidului nucleic în celula de plantă duce la sporirea rezistenței sau toleranței la un erbicid care inhibă PPO, comparativ cu un soi de tip sălbatic al celei de plantă.

Termenul "expresie/exprimare" sau "expresia genelor" înseamnă transcripția unei gene specifice sau unor gene specifice sau structuri genetice specifice. Termenul "expresia" sau "expresia genelor" înseamnă, în special, transcripția unei gene sau unor gene sau structuri genetice în ARN structural (ARNr, ARNt) sau ARNm cu sau fără translația ulterioară a acestuia din urmă într-o proteină. Procedul include transcripția ADN-ului și prelucrarea produsului ARNm rezultat.

Pentru a obține efectul dorit, și anume plantele care sunt tolerante sau rezistente la erbicidul care inhibă PPO al prezentei invenții, se va înțelege că, cel puțin, un acid nucleic este "supra-exprimat" prin metodele și mijloacele cunoscute unui specialist în domeniu.

Prin termenul "expresie sporită" sau "supraexpresie" după cum este utilizat în prezenta se înțelege orice formă de expresie, care este suplimentară față de nivelul inițial de expresie de tip sălbatic. Metode pentru sporirea expresiei genelor sau produselor de gene sunt bine documentate în domeniu și includ, de exemplu, supraexpresia condusă de promotori corespunzători, utilizarea potențiatorilor de transcripție sau potențiatorilor de translație. Acizi nucleici izolați care servesc în calitate de elemente promotore sau potențitoare pot fi introduse într-o poziție corespunzătoare (de obicei în sens ascendent) a unei forme neheterologe a unei polinucleotide, astfel încât să supraregleze expresia unui acid nucleic care codifică polipeptida relevantă. De exemplu, promotorii endogeni pot fi modificați in vivo prin mutație, deleție și/sau substituție (a se vedea, Kmiec, SUA 5565350; Zarling et al., WO9322443), sau promotori izolați pot fi introduși într-o celulă de plantă în orientarea corectă și la o distanță de la o genă a prezentei invenții, astfel încât să controleze expresia genei.

Dacă se dorește expresia polipeptidelor, este, în general, dezirabil includerea unei regiuni de poliadenilare la capătul 3' al unei regiuni de codificare a polinucleotidelor. Regiunea de poliadenilare poate fi obținută din gena naturală, dintr-o varietate de alte gene de plantă, sau din T-ADN. Secvența la capătul 3' ce trebuie adăugată poate fi obținută, de exemplu, din genele de nopalină-sintaza sau octopină-sintaza gene, sau alternativ de la o altă genă de plantă, sau mai puțin preferabil de la orice altă genă eucariotă.

O secvență intron poate fi, de asemenea, adăugată la regiunea 5' netranslată (UTR) sau secvența de codificare a secvenței de codificare parțială pentru a spori cantitatea mesajului matur care se acumulează în citosol. Includerea unui intron, care poate fi îmbinat, în unitatea de transcripție atât în structurile plantelor, cât și ale animalelor s-a dovedit că sporește expresia genelor atât la nivelul ARNm, cât și la cel proteic până la 1000 ori (Buchman and Berg (1988) *Mol. Cell Biol.* 8: 4395-4405; Callis et al. (1987) *Genes Dev* 1:1183-1200). O astfel de sporire a intronilor de expresie a genei este de obicei cea mai mare atunci când este plasată în apropierea capătului 5' a unității de transcripție. Utilizarea intronilor de porumb Adh1-S intronul 1, 2, și 6, intronul Bronze-1 este cunoscută în domeniu. Informații generale sunt prezentate în: *The Maize Handbook*, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994)

Termenul "introducere" sau "transformare", așa cum se menționează în prezenta cuprinde transferul unei polinucleotide exogene într-o celulă gazdă, indiferent de metoda utilizată pentru transfer. Țesutul de plantă capabil de propagare clonală ulterioară, fie prin organogeneză sau embriogeneză, poate fi transformat cu o structură genetică conform prezentei invenții și o plantă întreagă regenerată din acestea. Țesutul selectat va varia în funcție de sistemele de propagare clonală disponibile, și cele mai potrivite, pentru specia respectivă care este supusă transformării. Exemple de țesuturi țintă includ discuri ale frunzei, polen, embrioni, cotiledoane, hipocotile, megagametofite, țesut de calus, țesut meristematic existent (de ex., meristem apical, muguri axilari și meristeme radiculare) și țesut meristem îndus (de ex., meristem de cotiledoane și meristem de hipocotile). Polinucleotida poate fi introdusă tranzitoriu sau stabil într-o celulă gazdă și poate fi menținută neintegrată, de exemplu, ca o plasmidă. Alternativ, ea poate fi integrată în genomul gazdă. Celula plantei transformată rezultată poate fi apoi utilizată pentru a regenera o plantă transformată într-o manieră cunoscută specialiștilor în domeniu.

Transferul genelor străine în genomul unei plante este numit transformare. Transformarea speciei de plantă este astăzi o tehnică de rutină. În mod avantajos, oricare din câteva metode de transformare poate fi utilizată pentru a introduce gena relevantă într-o celulă ancestrală adecvată. Metodele descrise pentru transformarea și regenerarea plantelor din țesuturi de plante sau celule de plante pot fi utilizate pentru transformarea tranzitorie sau stabilă. Metodele de transformare includ utilizarea lipozomilor, electroporării, substanțelor chimice care sporesc absorbția ADN-ului liber, injectarea ADN-ului direct în plantă, bombardamentul cu particule, transformarea folosind virusuri sau polen și microproiectare. Metodele pot fi selectate dintre metoda calciului/polietilenglicol pentru protoplaști (Krens, F.A. et al., (1982) *Nature* 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) *Plant Mol Biol* 8: 363-373); electroporarea protoplaștilor (Shillito R.D. et al. (1985) *Bio/Technol* 3, 1099-1102); microinjectarea în materialul de plante (Crossway A et al., (1986) *Mol. Gen Genet* 202: 179-185); bombardamentul cu particule acoperite cu ADN sau ARN (Klein TM et al., (1987) *Nature* 327: 70) infecția cu virusi (non-integrativi) și altele. Plantele transgenice, inclusiv plantele de cultură transgenice, sunt obținute, de preferință, prin transformarea mediată de *Agrobacterium*. O metodă de transformare avantajoasă este transformarea în câmp. În acest scop, este posibil, de exemplu, de a permite agrobacteriilor să acționeze pe semințele de plante sau să inoculeze meristemul plantei cu agrobacterii. S-a dovedit a fi deosebit de eficient în conformitate cu invenția de a permite o suspensie de agrobacterii transformate să acționeze pe planta intactă sau cel puțin pe primordii de flori. Planta este crescută ulterior până la obținerea semințelor plantei tratate (Clough and Bent, *Plant J.* (1998) 16, 735-743). Metode pentru transformarea mediată de *Agrobacterium* a orezului includ metode bine cunoscute pentru transformarea orezului, cum ar fi cele descrise în oricare dintre următoarele: cererea de brevet european EP 1198985 A1, Aldemita and Hodges (*Planta* 199: 612-617, 1996); Chan et al. (*Plant Mol Biol* 22 (3): 491-506, 1993), Hiei et al. (*Plant J* 6 (2): 271-282, 1994), descrierile căreia sunt incluse prin referință în prezenta ca și cum ar fi expuse în întregime. În cazul transformării porumbului, metoda preferată este așa cum a fost descrisă fie în Ishida et al. (*Nat. Biotechnol* 14(6): 745-50, 1996) sau Frame et al. (*Plant Physiol* 129(1): 13-22, 2002), descrierile căreia sunt incluse prin referință în prezenta ca și cum ar fi expuse în întregime. Metodele sus-menționate sunt descrise, de asemenea, cu titlu de exemplificare în B. Jeness et al., *Techniques for Gene Transfer* (Tehnici de transfer al genelor), în: *Transgenic Plants*, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 și în

Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205-225). Acizii nucleici sau constructul care urmează să fie exprimat este, de preferință, clonat într-un vector, care este potrivit pentru transformarea *Agrobacterium tumefaciens*, de exemplu pBIN19 (Bevan et al., Nucl. Acids Res. 12 (1984) 8711). *Agrobacteriile* transformate de un astfel de vector pot fi apoi utilizate în modul cunoscut pentru transformarea plantelor, cum ar fi plantele folosite în calitate de model, ca *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* în domeniul de aplicare al prezentei invenții nu este considerată o cultură de plante), sau plantele de cultură cum ar fi, cu titlu de exemplificare, plantele de tutun, de exemplu, prin imersarea frunzelor zdrobite sau mărunțite într-o soluție agrobacteriană și apoi cultivarea acestora pe medii adecvate. Transformarea plantelor cu ajutorul *Agrobacterium tumefaciens* este descrisă, de exemplu, de Höfgen și Willmitzer în Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 sau este cunoscută, printre altele, din F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung and R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 15-38.

Pe lângă transformarea celulelor somatice, care apoi trebuie să fie regenerare în plante intacte, este posibil, de asemenea, de a transforma celulele meristemelor de plante și, în special, celule care se dezvoltă în gameți. În acest caz, gameții transformați urmează dezvoltarea naturală a plantelor, dând naștere plantelor transgenice. Astfel, de exemplu, semințele de *Arabidopsis* sunt tratate cu agrobacterii și semințele sunt obținute din plantele în dezvoltare, din care o anumită parte este transformată și, astfel sunt transgenice [Feldman, KA și Marks MD (1987). Mol Gen Genet 208:274-289; Feldmann K (1992). In: C Konecz, N-H Chua and J Shell, eds, Methods in *Arabidopsis* Research. Word Scientific, Singapore, pp. 274-289]. Metodele alternative se bazează pe eliminarea repetată a fluorescențelor și incubarea porțiunii de excizie în centrul rozetei cu agrobacterii transformate, prin care semințele transformate pot fi, de asemenea, obținute mai târziu (Chang (1994). Plant J. 5: 551-558; Katavic (1994). Mol Gen Genet, 245: 363-370). Cu toate acestea, o metodă deosebit de eficientă este metoda de infiltrare în vid cu modificările sale cum ar fi metoda "floral dip". În cazul infiltrării în vid a *Arabidopsis*, plantele intacte sub presiune redusă sunt tratate cu o suspensie agrobacteriană [Bechthold, N (1993). C R Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1194-1199], în timp ce în cazul metodei "floral dip", țesutul floral în curs de dezvoltare este incubat pe o perioadă scurtă de timp cu o suspensie agrobacteriană tratată cu surfactant [Clough, SJ and Bent AF (1998) The Plant J. 16, 735-743]. O anumită proporție de semințe transgenice sunt recoltate în ambele cazuri, și aceste semințe pot fi deosebite de semințele non-transgenice prin cultivarea în condițiile selective descrise mai sus. În plus, transformarea stabilă a plastidelor prezintă avantaje deoarece plastidele sunt moștenite pe linie maternă în majoritatea culturilor, reducând sau eliminând riscul de curgere transgenă prin polen. Transformarea genomului cloroplastului este realizată, în general, printr-un procedeu care a fost expus schematic în Klaus et al., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225-229]. Pe scurt, secvențele care trebuie transformate sunt clonate împreună cu o genă marker selectată între secvențele de flancare omoloage cu genomul cloroplastului. Aceste secvențe de flancare omoloage sunt direcționate integrării specifice site-ului în plastom. Transformarea plastidă a fost descrisă pentru mai multe specii de plante diferite și o prezentare generală este oferită în Bock (2001) Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. J Mol Biol. 2001 Sep 21; 312 (3):425-38 or Maliga, P (2003) Progress towards commercialization of plastid transformation technology. Trends Biotechnol. 21, 20-28. Recent s-a raportat un alt progres biotehologic sub formă de transformanți de plastide fără markeri, care pot fi produși de o genă marker co-integrată tranzitoriu (Klaus et al., 2004, Nature Biotechnology 22(2), 225-229). Celulele de plantă modificate genetic pot fi regenerare prin toate metodele care sunt cunoscute lucrătorului calificat. Metode adecvate pot fi găsite în publicațiile sus-menționate scrise de SD Kung and R. Wu, Potrykus or Höfgen and Willmitzer.

În general, după transformare, celule de plante sau grupările de celule sunt selectate în vederea prezenței unuia sau mai multor markeri care sunt codificați de genele ce pot exprimate în plante co-transferate cu gena de interes, după care materialul transformat este regenerat în toată planta. Pentru a selecta plantele transformate, materialul de plantă obținut în urma transformării este, de regulă, supus condițiilor selective, astfel încât plantele transformate pot fi deosebite de cele netransformate. De exemplu, semințele obținute în modul descris mai sus pot fi plantate și, după o perioadă de creștere inițială, supuse unei selecții adecvate prin pulverizare. O altă posibilitate constă în creșterea semințelor, dacă este cazul după sterilizare, pe plăci cu agar, folosind un agent de selecție adecvat, astfel încât numai semințele transformate pot crește în plante. Alternativ, plantele transformate sunt sortate pentru prezența unui marker de selecție, cum ar fi cei descriși mai sus.

După transferul și regenerarea ADN-ului, plantele transformate prezumtiv pot fi, de

asemenea, evaluate, de exemplu, folosind analiza Southern, pentru prezența genei de interes, numărul de copii și/sau organizarea genomică. Alternativ sau suplimentar, nivelurile de expresie ale ADN-ului nou introdus pot fi monitorizate folosind analizele Northern și/sau Western, ambele tehnici fiind bine cunoscute persoanelor cu pregătire medie în domeniu.

5 Plantele transformate obținute pot fi cultivate printr-o varietate de mijloace, cum ar fi înmulțirea clonală sau tehnicile clasice de reproducere. De exemplu, o plantă transformată de primă generație (sau T1) poate fi auto-polenizată și transformanții homozigoți de a doua generație (sau T2) selectați, iar plantele T2 pot fi apoi cultivate prin tehnici clasice de reproducere. Organismele transformate obținute pot lua forme variate. De exemplu, ele pot fi himere ale
10 celulelor transformate și netransformate; transformanți clonali (de ex., toate celulele transformate să conțină caseta de expresie); grefe de țesuturi transformate și netransformate (de ex., în plante, un portaltoi transformat altoit pe un altoi netransformat).

De preferință, acidul nucleic al PPO de tip sălbatic sau mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupa ce constă dintr-o: a) polinucleotidă prezentată în SECV ID nr.:
15 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, sau o variantă sau un derivat al acesteia; b) polinucleotidă care codifică o polipeptidă prezentată în SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46, sau o variantă sau un derivat al acesteia; c) polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau b); și d) o polinucleotidă complementară polinucleotidei oricăreia dintre
20 a) - c).

De preferință, expresia acidului nucleic în plantă duce la creșterea rezistenței plantei la erbicidul care inhibă PPO comparativ cu un soi de tip sălbatic al plantei.

Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la o plantă, preferabil o plantă transgenică, care conține o celulă de plantă conform prezentei invenții, în care expresia acidului
25 nucleic în plantă duce la creșterea rezistenței plantei la erbicidul care inhibă PPO comparativ cu un soi de tip sălbatic al plantei.

Plantele descrise în prezenta pot fi plante de cultură transgenice sau plante non-transgenice.

Pentru scopurile invenției, "transgenic", "transgenă" sau "recombinant" înseamnă în ceea ce privește, de exemplu, unei secvențe de acizi nucleici, o casetă de expresie, o structură de gene sau
30 un vector care cuprinde secvența de acizi nucleici sau un organism transformat cu secvențe de acizi nucleici, casete de expresie sau vectori conform invenției, toate aceste structuri realizate prin metode recombinante în care:

(a) secvențele de acizi nucleici care codifică proteinele utile în procedeele invenției, sau
(b) secvența(ele) de control genetic, care este legată(e) în mod funcțional cu secvența de acizi
35 nucleici conform invenției, de exemplu un promotor, sau

(c) a) și b),
nu se află în mediul lor genetic natural sau au fost modificate prin metode recombinante, fiind
posibil ca modificarea să ia forma, de exemplu, unei substituții, adității, deleții, inversii sau inserții a
unuia sau mai multor reziduuri de nucleotide. Prin mediul genetic natural se înțelege locusul
40 genomic sau cromozomial natural în planta de origine sau prezența într-o bază genomică. În cazul unei baze genomice, mediul genetic natural al secvenței de acizi nucleici este preferabil menținut, cel puțin în parte. Mediul protejează secvența de acizi nucleici, cel puțin, pe o parte și are o lungime a secvenței de cel puțin 50 pb, preferabil cel puțin 500 pb, îndeosebi preferabil cel puțin 1000 pb, cel mai preferabil cel puțin 5000 pb. O casetă de expresie naturală - de exemplu,
45 combinația naturală a promotorului natural al secvențelor de acizi nucleici cu secvența corespunzătoare de acid nucleic care codifică o polipeptidă utilă în metodele din prezenta invenție, așa cum este definit mai sus - devine o casetă de expresie transgenică când aceasta casetă de expresie este modificată prin metode nenaturale, sintetice ("artificiale"), cum ar fi, de exemplu, tratamentul mutagen. Metode adecvate sunt descrise, de exemplu în US 5,565,350 sau WO
50 00/15815.

Prin plantă transgenică pentru scopurile invenției se înțelege astfel, ca și mai sus, că acizii nucleici utilizați în metoda invenției nu sunt la locusul lor natural în genomul plantei respective, fiind posibil ca acizii nucleici să fie exprimați în mod omolog sau heterolog. Cu toate acestea, după cum s-a menționat, transgenic înseamnă, de asemenea, că, în timp ce acizii nucleici conform
55 invenției sau utilizați în metoda invenției sunt în poziția lor naturală în genomul unei plante, secvența a fost modificată în ceea ce privește secvența naturală, și/sau că secvențele reglatoare ale secvențelor naturale au fost modificate. Transgenic este preferabil înțeles ca semnificând expresia acizilor nucleici conform invenției la un locus nenatural în genom, adică are loc expresia omoloagă sau, de preferință, heteroloagă a acizilor nucleici. Plante transgenice preferate sunt menționate în

prezenta. În plus, termenul "transgenic" se referă la orice plantă, celulă de plantă, calus, țesut de plantă, sau parte de plantă, care conține toate sau o parte de cel puțin o polinucleotidă recombinantă. În majoritatea cazurilor, toată sau o parte a polinucleotidei recombinantă este integrată stabil într-un cromozom sau un element extra-cromozomial stabil, astfel încât este transmis generațiilor succesive. Pentru scopurile invenției, termenul "polinucleotidă recombinantă" se referă la o polinucleotidă care a fost modificată, rearanjată, sau modificată prin ingineria genetică. Exemple includ orice polinucleotidă clonată, sau polinucleotide, care sunt legate sau unite cu secvențele heterologe. Termenul "recombinant" nu se referă la modificări de polinucleotide care rezultă din evenimentele naturale, cum ar fi mutațiile spontane, sau din mutageniza nespontane urmată de reproducerea selectivă.

Plantele care conțin mutații apărute ca urmare a mutagenizei nespontane și reproducerii selective sunt denumite în prezenta ca plante netransgenice și sunt incluse în prezenta invenție. În variantele de executare în care planta este transgenică și cuprinde numeroși acizi nucleici ai mut-PPO, acizii nucleici pot fi obținuți din diferite genomuri sau din același genom. Alternativ, în variantele de executare în care planta nu este transgenică și cuprinde numeroși acizi nucleici ale mut-PPO, acizii nucleici sunt amplasați pe diverse genomuri sau pe același genom.

În anumite variante de executare, prezenta invenție include plante rezistente la erbicide care sunt produse prin reproducere mutațională. Astfel de plante cuprind o polinucleotidă care codifică o mut-PPO și sunt tolerante la una sau mai multe erbicide care inhibă PPO. Astfel de metode pot implica, de exemplu, expunerea plantelor sau semințelor la un mutagen, în special un mutagen chimic, cum ar fi, de exemplu, etil metansulfonat (EMS) și selectarea plantelor care au o toleranță sporită la, cel puțin, unul sau mai multe erbicide care inhibă PPO.

Cu toate acestea, prezenta invenție nu se limitează la plantele tolerante la erbicide, care sunt produse printr-o metodă de mutagenză ce implică mutagenul chimic EMS. Orice metodă de mutagenză cunoscută în domeniu poate fi utilizată pentru a produce plantele rezistente la erbicide din prezenta invenție. Astfel de metode de mutagenză pot implica, de exemplu, utilizarea unuia sau mai multora dintre următorii agenți mutageni: radiația, cum ar fi razele X, razele Gamma (de ex., cobalt 60 sau cesiu 137), neutroni, (de ex., produs de fisiune nucleară cu uraniu 235 într-un reactor atomic), radiația beta (de ex., emisă din radioizotopi, cum ar fi fosforul 32 sau carbonul 14), și radiația ultravioletă (preferabil între 2500 și 2900 nm), și mutageni chimici, cum ar fi analogi de bază (de ex., 5-bromo-uracil), compuși înrudiți (de ex., cafeină 8-etoxi), antibiotice (de ex., streptonigrin), agenți de alchilare (de ex., iverite cu sulf, iverite cu azot, epoxizi, etilenamine, sulfati, sulfonați, sulfone, lactone), azidă, hidroxilamină, acid de azot, sau acridine. Plante rezistente la erbicide pot fi produse, de asemenea, prin aplicarea metodelor de cultivare a țesutului pentru a selecta celulele de plante care cuprind mutații rezistente la erbicide și apoi regenerarea plantelor rezistente la erbicide din acestea. A se vedea, de exemplu, Brevetul SUA nr. 5,773,702 și 5,859,348, ambele fiind incluse în prezenta în totalitate prin referință. Mai multe detalii privind reproducerea mutațională pot fi găsite în "Principals of Cultivar Development" Fehr, 1993 Macmillan Publishing Company, descrierea căreia este inclusă în prezenta prin referință.

Pe lângă definiția de mai sus, termenul "plantă" cuprinde plantele de cultură la orice etapă de maturitate sau de dezvoltare, precum și orice țesuturi sau organe (părți de plante) prelevate sau obținute din orice astfel de plantă, dacă contextul nu indică altfel în mod expres. Părțile de plantă includ, dar nu se limitează la, tulpini, rădăcini, flori, ovule, stamine, frunze, embrioni, regiuni meristematice, țesutul calus, culturi de antere, gametofiți, sporofiți, polen, microspori, protoplaste, și altele.

Planta din prezenta invenție cuprinde, cel puțin, un acid nucleic al mut-PPO sau acid nucleic al PPO supra-exprimat de tip sălbatic, și a sporit toleranța la un erbicid care inhibă PPO în comparație cu un soi de tip sălbatic al plantei. Este posibil ca plantele din prezenta invenție să aibă numeroși acizi nucleici cu PPO de tip sălbatic sau mut-PPO din diferite genomuri, deoarece aceste plante pot conține mai mult de un genom. De exemplu, o plantă conține două genomuri, denumite, de obicei, genomurile A și B. Dat fiind că PPO este o enzimă metabolică necesară, se presupune că fiecare genom are cel puțin o genă care codifică enzima PPO (adică cel puțin o genă PPO). Așa cum se folosește în prezenta, termenul "locusul genei PPO" se referă la poziția unei gene PPO pe un genom, iar termenii "gena PPO" și "acidul nucleic al PPO" se referă la un acid nucleic care codifică enzima PPO. Acidul nucleic al PPO pe fiecare genom diferă după secvența de nucleotide de un acid nucleic al PPO pe un alt genom. Un specialist în domeniu poate determina genomul de origine a fiecărui acid nucleic al PPO prin încrucișarea genetică și/sau prin metode de secvențiere sau metode de digestie a exonucleazelor cunoscute de specialiștii în domeniu.

Prezenta invenție include plante care cuprind una, două, trei, sau mai multe alele ale mut-

- PPO, în care planta are toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO în comparație cu un soi de tip sălbatic al plantei. Alelele mut-PPO pot cuprinde o secvență de nucleotide selectată din grupa ce constă dintr-o polinucleotidă definită în SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, sau o variantă sau un derivat al acestora, o
- 5 polinucleotidă care codifică o polipeptidă definită în SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46, sau o variantă sau un derivat, omolog, ortolog, paralog al acestora, o polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre polinucleotidele sus-menționate; și o polinucleotidă complementară la oricare dintre polinucleotidele sus-menționate.
- 10 "Alelele" sau "variantele alelice" sunt forme alternative ale unei anumite gene, situată în aceeași poziție cromozomială. Variantele alelice cuprind Polimorfisme Unice ale Nucleotidelor (SNP), precum și Polimorfisme Mici de Inserție/Deleție (INDEL). Dimensiunea INDEL este de obicei mai mică de 100 pb. SNP și INDEL formează cel mai mare set de variante de secvențe în tulpinile polimorfe de origine naturală ale majorității organismelor.
- 15 Termenul "soi" se referă la o grupă de plante din cadrul unei specii definită printr-un set comun de caracteristici sau trăsături acceptate de către specialiștii în domeniu ca fiind suficient pentru a distinge un cultivar sau soi de un alt cultivar sau soi. Nici un termen nu implică faptul că toate plantele dintr-un anumit cultivar sau soi vor fi identice genetic la nivelul întregii gene sau la
- 20 nivel molecular sau că orice plantă anumită va fi homozigotă la toți loci. Un cultivar sau soi este considerat "specie pură" pentru o anumită trăsătură dacă, atunci când cultivarul sau soiul pur este auto-polenizat, toți descendenții conțin trăsătura. Termenii "linia de înmulțire" sau "linie" se referă la o grupă de plante din cadrul unui cultivar definită printr-un set comun de caracteristici sau trăsături acceptate de către specialiștii în domeniu ca fiind suficient pentru a distinge o linie de
- 25 înmulțire sau linie de o altă linie de specie sau linie. Nici un termen nu implică faptul că toate plantele dintr-o anumită linie de înmulțire sau linie vor fi identice genetic la nivelul întregii gene sau la nivel molecular sau că orice plantă anumită va fi homozigotă la toți loci. O linie de înmulțire sau linie este considerată "specie pură" pentru o anumită trăsătură dacă, atunci când linia de înmulțire pură sau linia de înmulțire este auto-polenizată, toți descendenții conțin trăsătura. În prezenta invenție, trăsătura apare dintr-o mutație într-o genă PPO a plantei sau seminței.
- 30 Plantele rezistente la erbicide ale invenției care cuprind polinucleotide care codifică polipeptidele mut-PPO își găsesc, de asemenea, utilizare în metode pentru sporirea rezistenței la erbicide a unei plante prin reproducerea convențională a plantelor, care implică reproducerea sexuală. Metodele cuprind încrucișarea unei prime plante care este o plantă rezistentă la erbicide a
- 35 invenției cu o a doua plantă care poate sau poate să nu fie rezistentă la același erbicid sau erbicide ca și prima plantă sau poate fi rezistentă la un erbicid sau erbicide diferite spre deosebire de prima plantă. A doua plantă poate fi orice plantă care este capabilă să producă plante descendente viabile (și anume, semințe), atunci când este încrucișată cu prima plantă. De obicei, dar nu în mod necesar, prima și a doua plantă sunt din aceeași specie. Metodele pot implica în mod opțional selectarea plantelor descendente care cuprind polipeptidele mut-PPO ale primei plante și caracteristicile de
- 40 rezistență la erbicide ale celei de-a doua plantă. Plantele descendente produse prin metoda dată, conform prezentei invenții, posedă rezistență sporită la un erbicid în comparație cu prima sau a doua plantă sau ambele. Atunci când prima și a doua plantă sunt rezistente la diferite erbicide, plantele descendente vor avea caracteristicile combinate de toleranță la erbicide ale primei și a doua plantă. Metodele invenției pot implica în plus una sau mai multe generații de încrucișare
- 45 inversă a plantelor descendente din prima încrucișare cu o plantă din aceeași linie sau genotip ca și prima sau a doua plantă. Alternativ, plantele descendente din prima încrucișare sau orice încrucișare ulterioară pot fi încrucișate cu o a treia plantă care este dintr-o linie sau genotip diferit decât prima sau a doua plantă. Prezenta invenție oferă, de asemenea, plante, organe de plante, țesuturi de plante, celule de plante, semințe, și celule gazdă neumane, care sunt transformate cu,
- 50 cel puțin, o moleculă de polinucleotidă, o casetă de expresie, sau vectorul de transformare a invenției. Astfel de plante, organe de plante, țesuturi de plante, celule de plante, semințe, și celule gazdă neumane transformate au sporit toleranța sau rezistența la cel puțin un erbicid, la niveluri de erbicid care distrug sau inhibă creșterea unei plante, unui țesut de plantă, unei celule de plantă sau, respectiv, unei celule gazdă neumane netransformate. De preferință, plantele, țesuturile de plante,
- 55 celulele de plante și semințele transformate conform invenției sunt *Arabidopsis thaliana* și plantele de cultură.

Se va înțelege că planta din prezenta invenție poate cuprinde un acid nucleic al PPO de tip sălbatic pe lângă un acid nucleic al mut-PPO. Se are în vedere faptul că liniile tolerante la erbicide care inhibă PPO pot conține o mutație doar într-o singură din mai multe izoenzime ale PPO. Prin

urmare, prezenta invenție include o plantă care cuprinde unul sau mai mulți acizi nucleici ai mut-PPO pe lângă unul sau mai mulți acizi nucleici ai PPO de tip sălbatic.

5 Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la o sămânță produsă de o plantă transgenică care cuprinde o celulă de plantă conform prezentei invenții, în care sămânța este o specie pură pentru rezistența sporită la un erbicid ce inhibă PPO, comparativ cu un soi de tip sălbatic al seminței.

10 Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la un procedeu de producere a unei celule de plantă transgenice cu rezistență sporită la un erbicid ce inhibă PPO, comparativ cu un soi de tip sălbatic al celulei de plantă care cuprinde, transformarea celulei de plantă cu o casetă de expresie cuprinzând un acid nucleic al mut-PPO.

Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la un procedeu de producere a unei plante transgenice cuprinzând, (a) transformarea unei celule de plantă cu o casetă de expresie care cuprinde un acid nucleic al mut-PPO, și (b) generarea unei plante cu rezistență sporită la erbicidul care inhibă PPO din celula de plantă.

15 Prin urmare, acizii nucleici ai mut-PPO ai invenției sunt furnizați în casete de expresie pentru expresia în planta relevantă. Casetă va include secvențe de reglare legate funcțional de o secvență de acizi nucleici ai mut-PPO ai invenției. Termenul "element de reglare" folosit în prezenta se referă la o polinucleotidă care este capabilă să regleze transcripția unei polinucleotide legate funcțional. Acesta include, dar nu se limitează la, promotori, potențiatori, introni, 5' UTR, și 20 3' UTR. Prin "legat în mod funcțional" se are în vedere o legătură funcțională între un promotor și o a doua secvență, în care secvența promotorului inițiază și mediază transcripția secvenței de ADN corespunzătoare celei de a doua secvență. În general, legat în mod funcțional înseamnă că secvențele de acizi nucleici legate sunt adiacente și, dacă este necesar să lege două proteine care codifică regiunile, adiacente și în același cadru de citire. Casetă poate conține în plus cel puțin o 25 genă suplimentară pentru a fi co-transformată în organism. Alternativ, gena(ele) suplimentară poate fi furnizată pe mai multe casete de expresie.

O astfel de casetă de expresie este prevăzută cu o multitudine de situsuri de restricție pentru ca inserția secvenței de acizi nucleici ai mut-PPO să fie sub reglarea transcripțională a regiunilor de reglare. Casetă de expresie poate conține în plus gene marker de selecție.

30 Casetă de expresie din prezenta invenție va include în direcția 5'-3' a transcripției, o regiune de inițiere transcripțională și translațională (adică, un promotor), o secvență de acizi nucleici ai mut-PPO din invenției și o regiune de terminare transcripțională și translațională (de ex., regiunea de terminare) funcțională în plante. Promotorul poate fi nativ sau analog, sau străin sau heterolog, pentru planta gazdă și/sau pentru secvența de acizi nucleici ai mut-PPO a invenției. În plus, 35 promotorul poate fi secvența naturală sau, alternativ, o secvență sintetică. Dacă promotorul este "străin" sau "heterolog" pentru planta gazdă, se are în vedere că promotorul nu se găsește în planta nativă în care este introdus promotorul. Dacă promotorul este "străin" sau "heterolog" pentru secvența de acizi nucleici ai mut-PPO din invenție, se are în vedere că promotorul nu este promotorul nativ sau de origine naturală pentru secvența de acizi nucleici ai mut-PPO legată 40 funcțional din invenție. După cum se folosește în prezenta, o genă himerică cuprinde o secvență de codificare legată operațional de o regiune de inițiere a transcripției care este heterologă pentru secvența de codificare.

45 În timp ce poate fi preferabil de a exprima acizi nucleici ai mut-PPO din invenție folosind promotori heterologi, pot fi utilizate secvențe native ale promotorului. Astfel de structuri vor schimba nivelurile de expresie ale proteinei mut-PPO în plantă sau celula de plantă. Astfel, este modificat fenotipul plantei sau celulei de plantă.

50 Regiunea de terminație poate fi nativă cu regiunea de inițiere a transcripției, poate fi nativă cu secvența relevantă a mut-PPO legată funcțional, poate fi nativă cu gazda plantă, sau poate fi obținută dintr-o altă sursă (și anume, străină sau heterologă promotorului, secvența relevantă de acizi nucleici ai mut-PPO, gazda plantă, sau orice combinație a acestora). Regiuni de terminație convenabile sunt disponibile din Ti-plasmida A. tumefaciens, cum ar fi regiunile de terminație octopină-sintază și nopalina-sintază. A se vedea, de asemenea, Guerineau et al. (1991) Mol. Gen. Genet. 262: 141-144; Proudfoot (1991) Cell 64:671-674; Sanfacon et al. (1991) Genes Dev. 5: 141-149; Mogen et al. (1990) Plant Cell 2: 1261-1272; Munroe et al. (1990) Gene 91: 151-158; 55 Ballas et al. (1989) Nucleic Acids Res. 17:7891-7903; and Joshi et al. (1987) Nucleic Acid Res. 15:9627-9639. După caz, gena(le) poate fi optimizată în vederea unei expresii sporite în planta transformată. Adică, genele pot fi sintetizate folosind codoni preferați de plantă în scopul îmbunătățirii expresiei. A se vedea, de exemplu, Campbell and Gowri (1990) Plant Physiol. 92: 1-11 unde sunt prezentate comentarii privind utilizarea codonilor preferați de plantă. În domeniu

sunt disponibile metode pentru sintetizarea genelor preferate de plante. A se vedea, de exemplu, brevetul SUA nr. 5,380,831, și 5,436,391, și Murray et al. (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:477-498, incluse în prezenta prin referință.

Se cunoaște că modificările suplimentare ale secvențelor sporesc expresia genelor într-o celulă gazdă. Acestea includ eliminarea secvențelor care codifică semnalele de poliadenilare false, semnalele site-ului de matisare exon-intron, repetările similare transpozoniilor, și alte astfel de secvențe bine caracterizate, care pot fi dăunătoare pentru expresia genelor. Conținutul G-C al secvenței poate fi ajustat până la niveluri medii pentru o anumită gazdă de celulă, așa cum este calculat prin referință la genele cunoscute exprimate în celula gazdă. Atunci când este posibil, secvența este modificată pentru a evita structurile ARNm secundare prezise în formă de U. Secvențele de nucleotide pentru sporirea expresiei genelor pot fi utilizate și în vectorii de expresie a plantelor. Aceștia includ intronii de porumb Adhl, gena intron1 (Callis et al. *Genes and Development* 1: 1183-1200, 1987), și secvențele lider, (W- secvența) din virusul Mozaicului Tutunului (TMV), Virusul Pestiș Clorotic al Porumbului și Virusul Mozaicului Lucernei (Gallie et al. *Nucleic Acid Res.* 15:8693-8711, 1987 and Skuzeski et al. *Plant Mol. Biol.* 15:65-79, 1990). Primul intron din locusul de porumb încrêțit- 1, s-a dovedit că sporește expresia genelor în structurile genelor himerice. U.S. Pat. Nr. 5424412 și 5593874 descriu utilizarea intronilor specifici în structurile de expresie a genelor, și Gallie et al. (*Plant Physiol.* 106:929-939, 1994) au arătat, de asemenea, că intronii sunt utili pentru reglarea expresiei genelor pe o bază specifică de țesut. Pentru a spori sau optimiza și mai mult expresia genelor mut-PPO, vectorii de expresie a plantelor din invenție, pot conține, de asemenea, secvențe de ADN care conțin regiuni de atașare a matricei (MARs). Celulele de plante transformate cu astfel de sisteme de expresie modificate, pot manifesta ulterior supraexpresia sau expresia constitutivă a unei secvențe de nucleotide a invenției.

Casetele de expresie din prezenta invenție pot conține în plus secvențe lider 5' în structura casetei de expresie. Astfel de secvențe lider pot acționa pentru a spori translația. Liderii de translație sunt cunoscuți în domeniu și includ: lideri picornavirus, de exemplu, liderul EMCV (regiunea encefalomiocarditei 5' necodificatoare) (Elroy-Stein et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6126-6130); lideri potivirus, de exemplu, lider TEV (Tobacco Etch Virus - Virusul Etch al Tutunului) (Gallie et al. (1995) *Gene* 165(2):233-238), liderul MDMV (Maize Dwarf Mosaic Virus - Virusul Mozaicului la Porumb) (*Virology* 154:9-20), și proteina de legare cu lanț greu a imunoglobulinei umane (BiP) (Macejak et al. (1991) *Nature* 353:90-94); lider netranslat din proteina de acoperire ARNm a virusului mozaicului de lucernă (AMV ARN 4) (Jobling et al. (1987) *Nature* 325:622-625); virusul lider al mozaicului tutunului (TMV) (Gallie et al. (1989) in *Molecular Biology of RNA*, ed. Cech (Liss, New York), pp. 237-256); și virusul lider clorotic pestiș al porumbului (MCMV) (Lommel et al. (1991) *Virology* 81:382-385). A se vedea, de asemenea, Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968. Pot fi utilizate și alte metode cunoscute care sporesc translația, de exemplu, introni și altele.

La prepararea casetei de expresie, diferite fragmente de ADN pot fi manipulate, astfel încât să genereze secvențe ADN în orientarea corectă și, după caz, în cadrul de citire corect. În acest scop, pot fi utilizați adaptorii sau linkerii pentru a uni fragmentele de ADN sau alte manipulări pot fi implicate pentru a genera situsuri de restricție convenabile, eliminarea ADN-ului în exces, eliminarea situsurilor de restricție, sau altele. În acest scop, pot fi incluse mutageniza in vitro, reparația amorsoare, restricția, recoacerea, resubstituțiile, de ex., tranzițiile și versiunile trans.

Mai mulți promotori pot fi utilizați în practica invenției. Promotorii pot fi selectați în funcție de rezultatul dorit. Acizii nucleici pot fi combinați cu promotori constitutivi, preferați de țesut, sau alți promotori pentru expresia în plante. Astfel de promotori constitutivi includ, de exemplu, promotorul principal al promotorului Rsyn7 și alți promotori constitutivi descriși în WO 99/43838 și brevetul USA 6072050; promotorul principal CaMV 35S (Odell et al. (1985) *Nature* 313:810-812); actina de orez (McElroy et al. (1990) *Plant Cell* 2: 163-171); ubicuitina (Christensen et al. (1989) *Plant Mol. Biol.* 12:619-632 and Christensen et al. (1992) *Plant Mol. Biol.* 18:675-689); pEMU (Last et al. (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81:581- 588); MAS (Velten et al. (1984) *EMBO J.* 3:2723-2730); promotorul ALS (brevetul SUA nr. 5659026), și altele. Alți promotori constitutivi includ, de exemplu, brevetul SUA nr. 5,608,149; 5,608,144; 5,604,121; 5,569,597; 5,466,785; 5,399,680; 5,268,463; 5,608,142; și 6,177,611.

Promotori preferați de țesut pot fi utilizați pentru a viza expresia sporită a mut-PPO într-un anumit țesut de plantă. Astfel de promotori preferați de țesut includ, dar nu se limitează la, promotori preferați de frunze, promotori preferați de rădăcină, promotori preferați de semințe, și promotori preferați de tulpină. Promotori preferați de țesut includ Yamamoto et al. (1997) *Plant J.*

12(2):255-265; Kawamata et al. (1997) *Plant Cell Physiol.* 38(7):792-803; Hansen et al. (1997) *Mol. Gen. Genet.* 254(3):337-343; Russell et al. (1997) *Transgenic Res.* 6(2): 157-168; Rinehart et al. (1996) *Plant Physiol.* 112(3): 1331-1341; Van Camp et al. (1996) *Plant Physiol.* 112: 2:525-535; Herr, R.J. et al., *Bioorg.* (1996) *Plant Physiol.* 112(2):513-524; Yamamoto et al. (1994) *Plant Cell Physiol.* 35(5):773-778; Lam (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20: 181- 196; Orozco et al. (1993) *Plant Mol Biol.* 23(6): 1129-1138; Matsuoka et al. (1993) *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90(20):9586-9590; și Guevara-Garcia et al. (1993) *Plant J.* 4(3):495-505. Astfel de promotori pot fi modificați, dacă e necesar, din cauza expresiei slabe. Într-o variantă de executare, acizii nucleici relevanți sunt direcționați spre cloroplast pentru expresie. În acest mod, în cazul în care acidul nucleic relevant nu este inserat direct în cloroplast, caseta de expresie va conține în plus o secvență de direcționare spre cloroplast care cuprinde o secvență de nucleotide ce codifică o peptidă tranzit a cloroplastului pentru a direcționa produsul genei relevant spre cloroplaste. Astfel de peptide de tranzit sunt cunoscute în domeniu. În ce privește secvențele de direcționare spre cloroplast "legat funcțional" înseamnă că secvența de acizi nucleici care codifică o peptidă de tranzit (adică, secvența de direcționare spre cloroplast) este legată de acidul nucleic al mut-PPO a invenției, astfel încât cele două secvențe sunt adiacente și în același cadru de citire. A se vedea, de exemplu, Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104-126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196:1414-1421; and Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481. În timp ce proteinele mut-PPO ale invenției includ o peptidă de tranzit a cloroplastelor native, orice peptidă de tranzit a cloroplastelor cunoscută în domeniu poate fi fuzionată la secvența de aminoacizi a unei proteine mature mut-PPO a invenției, prin legarea funcțională a secvenței de direcționare spre cloroplast spre capătul 5' al unei secvențe de nucleotide care codifică o proteină matură mut-PPO a invenției. Secvențele de direcționare spre cloroplast sunt cunoscute în domeniu și includ subunitatea mică a cloroplastului ribuloză-1,5-bifosfat carboxilază (Rubisco) (de Castro Silva Filho et al. (1996) *Plant Mol. Biol.* 30:769-780; Schnell et al. (1991) *J. Biol. Chem.* 266(5):3335-3342); 5 -(enolpiruvil)sichimat-3-fosfat sintază (EPSPS) (Archer et al. (1990) *J. Bioenerg. Biomemb.* 22(6):789-810); triptofan sintază (Zhao et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270(11):6081-6087); plastocianin (Lawrence et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(33):20357-20363); corismat sintază (Schmidt et al. (1993) *J. Biol. Chem.* 268(36):27447-27457); și proteina ce leagă clorofila a/b care absoarbe lumina (LHBP) (Lamppa et al. (1988) *J. Biol. Chem.* 263: 14996-14999). A se vedea, de asemenea, Von Heijne et al. (1991) *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 104- 126; Clark et al. (1989) *J. Biol. Chem.* 264:17544-17550; Della-Cioppa et al. (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968; Romer et al. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 196: 1414-1421; și Shah et al. (1986) *Science* 233:478-481.

În domeniu sunt cunoscute metode de transformare a cloroplastelor. A se vedea, de exemplu, Svab et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:8526-8530; Svab and Maliga (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:913-917; Svab and Maliga (1993) *EMBO J.* 12:601-606. Metoda se bazează pe furnizarea particulelor de ADN care conțin un marker de selecție și direcționarea ADN-ului spre genomul plastidei prin recombinarea omoloagă. În plus, transformarea plastidelor poate fi realizată prin transactivarea unei transgene tacite ce poartă plastide prin expresia preferată de țesut a unei ARN polimeraze codificată nuclear și direcționată spre plastide. Un astfel de sistem a fost descris în McBride et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:7301-7305. Acizii nucleici relevanți care urmează să fie direcționați spre cloroplast pot fi optimizați pentru expresia în cloroplast pentru a explica diferențele în utilizarea codonilor între nucleul plantei și această organelă. În acest mod, acizii nucleici relevanți pot fi sintetizați folosind codoni preferați de cloroplast. A se vedea, de exemplu, brevetul SUA nr. 5,380,831, inclus în prezenta prin referință.

Într-o variantă de executare preferențială, acidul nucleic al mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupa ce constă din: a) o polinucleotidă prezentată în SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, sau 45, sau o variantă sau un derivat al acestora; b) o polinucleotidă care codifică o polipeptidă prezentată în SECV ID nr.: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, sau 46, sau o variantă sau un derivat al acestora; c) o polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau c); și d) o polinucleotidă complementară la polinucleotida oricăreia dintre a) - c).

De preferință, caseta de expresie din prezenta invenție mai cuprinde o regiune de reglare a inițierii transcripției și o regiune de reglare a inițierii translației care sunt funcționale în plantă.

În timp ce polinucleotidele invenției își găsesc utilizarea ca gene marker de selecție pentru transformarea plantei, casetele de expresie ale invenției pot include o altă genă marker de selecție

pentru selectarea celulelor transformate. Gene marker de selecție, inclusiv cele din prezenta invenție, sunt utilizate pentru selectarea celulelor sau țesuturilor transformate. Genele marker includ, dar nu se limitează la, genele care codifică rezistența la antibiotice, cum ar fi cele care codifică neomicin fosfotransferaza II (NEO) și higromicin fosfotransferaza (HPT), precum și

5 genele care conferă rezistență la compușii erbicizi, cum ar fi amoniu glufosinat, bromoxinil, imidazolinone și 2,4-diclorofenoxiacetat (2,4-D). A se vedea, în general, Yarranton (1992) Curr. Opin. Biotech. 3 :506-511 ; Christophers et al (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6314-6318; Yao et al. (1992) Cell 71:63-72; Reznikoff (1992) Mol Microbiol 6:2419-2422; Barkley et al (1980) in The Operon, pp. 177-220; Hu et al (1987) Cell 48:555-566; Brown et al (1987) Cell

10 49:603-612; Figge et al (1988) Cell 52:713-722; Deuschle et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:5400-5404; Fuerst et al (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:2549-2553; Deuschle et al (1990) Science 248:480-483; Gossen (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Reines et al (1993) Proc. Natl Acad. Sci. USA 90: 1917-1921; Labow et al (1990) Mol Cell Biol 10:3343-3356; Zambretti et al (1992) Proc. Natl Acad. Sci. USA 89:3952-3956; Bairn et al (1991) Proc. Natl Acad. Sci. USA 88:5072-5076; Wyborski et al (1991) Nucleic Acids Res. 19:4647-4653; Hillenand-Wissman (1989) Topics Mol Struct. Biol 10: 143- 162; Degenkolb et al (1991) Antimicrob. Agents Chemother. 35: 1591-1595; Kleinschmidt et al (1988) Biochemistry 27: 1094-1104; Bonin (1993) Ph.D. Thesis, University of Heidelberg; Gossen et al (1992) Proc. Natl Acad. Sci. USA 89:5547- 5551; Oliva et al (1992) Antimicrob. Agents Chemother. 36:913-919; Hlavka et al (1985) Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 78 (Springer-Verlag, Berlin); Gill et al (1988) Nature 334:721-724. Astfel de dezvoltări sunt incluse în prezenta prin referință. Lista de gene marker de selecție prezentată mai sus nu este limitativă. Orice genă marker de selecție poate fi utilizată în prezenta invenție.

Invenția prezintă în plus un vector de expresie recombinantă izolat care cuprinde caseta de expresie ce conține un acid nucleic al mut-PPO așa cum este descris mai sus, în care expresia vectorului într-o celulă gazdă duce la toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO comparativ cu un soi de tip sălbatic a celulei gazdă. Așa cum este utilizat în prezenta, termenul "vector" se referă la o moleculă de acid nucleic capabilă să transporte un alt acid nucleic la care a fost legat. Un tip de vector este o "plasmidă", care se referă la o buclă de ADN dublu-spirală circulară în care pot

30 fi legate segmente suplimentare de ADN. Un alt tip de vector este un vector viral, în care segmentele suplimentare de ADN pot fi legate în genomul viral. Anumiți vectori sunt capabili de replicare autonomă într-o celulă gazdă în care ei sunt introduși (de ex., vectori bacterieni având o origine bacteriană de replicare și vectori epizomali de mamifere). Alți vectori (de ex., vectori de mamifere non-epizomali) sunt integrați în genomul unei celule gazdă după introducerea în celula gazdă, și astfel sunt replicate, împreună cu genomul gazdă. În plus, anumiți vectori sunt capabili să direcționeze expresia genelor de care sunt legați funcțional. Astfel de vectori sunt denumiți în prezenta "vectori de expresie". În general, vectorii de expresie de utilitate în tehnicile de ADN recombinant sunt adesea sub formă de plasmide. În prezenta descriere, "plasmidă" și "vector" pot fi utilizate alternativ, deoarece plasmida este cea mai frecvent utilizată formă a vectorului. Cu toate

40 acestea, invenția are ca scop includerea altor forme de vectori de expresie de acest tip, cum ar fi vectorii virali (de ex., retrovirusuri defectuoși de replicare, adenovirusuri și virusuri adeno-asociate), care au funcții echivalente.

Vectorii de expresie recombinantă ai invenției cuprind un acid nucleic al invenției sub o formă adecvată pentru expresia acidului nucleic într-o celulă gazdă, ceea ce înseamnă că vectorii de expresie recombinantă includ una sau mai multe secvențe de reglare, selectate în funcție de celulele gazdă pentru a fi utilizate pentru expresie, care este legată funcțional de secvența de acid nucleic pentru a fi exprimată. Secvențele de reglare includ cele care direcționează expresia constitutivă a unei secvențe de nucleotide în multe tipuri de celule gazdă și cele care direcționează expresia secvenței de nucleotide numai în anumite celule gazdă sau în anumite condiții. Se va aprecia de către specialiștii în domeniu că modelul vectorului de expresie poate depinde de asemenea factori precum alegerea celulei gazdă care urmează a fi transformată, nivelul de expresie a polipeptidei dorite, etc. Vectorii de expresie ai invenției pot fi introduși în celulele gazdă pentru a produce astfel polipeptide sau peptide, inclusiv polipeptide sau peptide de fuziune, codificate de acizii nucleici așa cum este descris în prezenta (de ex., polipeptide ale mut-PPO, polipeptide de fuziune, etc.).

55

Intr-o variantă de executare preferențială a prezentei invenții, polipeptidele mut-PPO sunt exprimate în plante și celule de plante cum ar fi celulele de plante unicelulare (cum ar fi algele) (a se vedea Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology 1(3):239-251 și referințele din aceasta) și celule de plante din plantele mai înalte (de ex., spermatofite, cum ar fi plantele de cultură). O

polinucleotidă a mut-PPO poate fi "introdusă" într-o celulă de plantă prin orice mijloace, inclusiv transfectare, transformare sau transducție, electroporare, bombardament cu particule, agroinfecție, biolistică, și altele.

5 Metode adecvate pentru transformarea sau transfectarea celulelor gazdă, inclusiv celulelor de plante pot fi găsite în Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) și alte manuale de laborator cum ar fi Methods in Molecular Biology, 1995, Vol. 44, Agrobacterium protocols, ed: Gartland and Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey. Dat fiind
10 cătoleranta sporită la erbicide care inhibă PPO este o trăsătură generală dorită să fie moștenită într-o varietate mare de plante cum ar fi porumbul, grâul, secara, ovăzul, triticala, orezul, orzul, soia, arahidele, bumbacul, rapița și canola, manihotul, piperul, floarea soarelui și crăița, plantele solanacee ca tutunul, cartoful, vinetele, roșiile, specia Vicia, mazărea, lucerna, plantele arbuști (cafea, cacao, ceai), specia de Salix, arbori (uleiul de palmier, cocos), ierburile perene și culturile furajere, aceste plante de cultură sunt, de asemenea, plante țintă preferate pentru ingineria genetică
15 ca o altă variantă de executare a prezentei invenții. Într-o variantă de executare preferențială, planta este o plantă de cultură. Culturile furajere includ, dar nu se limitează la, pir, iarba-cănașului, obsigă, orzișor, firuță, iarba de livadă, lucernă, salfoin, ghizdei, trifoi hibrid, trifoi roșu, și trifoi dulce.

Intr-o variantă de executare a prezentei invenții, transfectarea unei polinucleotide a mut-PPO într-o plantă se realizează prin transferul de gene mediat de Agrobacterium. O metodă de transformare cunoscută de specialiștii în domeniu este scufundarea unei plante cu flori într-o soluție de agrobacterii, în care agrobacteriile conțin acidul nucleic al mut-PPO, urmată de reproducerea garneților transformați. Transformarea plantelor mediată de agrobacterii poate fi efectuată folosind, de exemplu, GV3101 (pMP90) (Koncz and Schell, 1986, Mol. Gen. Genet. 204:383-396) or LBA4404 (Clontech) Agrobacterium tumefaciens strain. Transformarea poate fi efectuată prin tehnici standard de transformare și regenerare (Deblaere et al., 1994, Nucl. Acids. Res. 13:4777-4788; Gelvin, Stanton B. and Schilperoort, Robert A, Plant Molecular Biology Manual, 2nd Ed. - Dordrecht : Kluwer Academic Publ., 1995. - in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R. and Thompson, John E., Methods in
20 Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton : CRC Press, 1993 360 S., ISBN 0-8493-5164-2). De exemplu, semințele de rapiță pot fi transformate prin transformarea cotiledonelor sau hipocotilelor (Moloney et al., 1989, Plant Cell Report 8:238-242; De Block et al., 1989, Plant Physiol. 91:694-701). Utilizarea antibioticelor pentru agrobacteriile și selecția plantelor depinde de vectorul binar și tulpina agrobacteriilor utilizată pentru transformare. Selecția semințelor de rapiță
25 este realizată în mod normal folosind kanamicină ca marker de plantă de selecție. Transferul genelor mediat de agrobacterii în in poate fi realizată folosind, de exemplu, o tehnică descrisă de Mlynarova et al., 1994, Plant Cell Report 13:282-285. In plus, transformarea soiei poate fi efectuată folosind, de exemplu, o tehnică descrisă în brevetul european nr. 0424 047, brevetul USA nr. 5 322 783, brevetul european nr. 0397 687, brevetul USA nr. 5,376,543, sau brevetul
30 USA nr. 5 169 770. Transformarea porumbului poate fi realizată prin bombardament cu particule, absorbția ADN-ului mediată de polietilenglicol, sau prin tehnica fibrelor de carbură de siliciu. (A se vedea, de exemplu, Freeling and Walbot "The maize handbook" Springer Verlag: New York (1993) ISBN 3-540-97826-7). Un exemplu specific de transformare a porumbului este prezentat în brevetul USA 5990387, și un exemplu specific de transformare a grâului poate fi găsit în cererea
35 de brevet nr. WO 93/07256.

Conform prezentei invenții, polinucleotida mut-PPO introdusă poate fi menținută stabil în celula de plantă dacă este inclusă într-un replicon autonom non-cromozomial sau integrat în cromozomii de plante. Alternativ, polinucleotida mut-PPO introdusă poate fi prezentă pe un vector extra-cromozomial care nu este capabil de replicare și poate fi exprimată tranzitoriu sau activă
40 tranzitoriu. Într-o variantă de executare, un microorganism recombinant omolog poate fi creat, în care polinucleotida mut-PPO este integrată într-un cromozom, un vector este preparat care conține, cel puțin, o porțiune a unei gene PPO în care a fost introdusă o deleție, adicție sau substituție pentru a modifica astfel, de ex., perturbarea funcțională, gena endogenă a PPO și pentru a crea o genă mut-PPO. Pentru a crea o mutație punctiformă prin recombinarea omoloagă, pot fi utilizați hibridii
45 ADN-ARN într-o tehnică cunoscută ca chimera plastică (Cole-Strauss et al., 1999, Nucleic Acids Research 27(5):1323-1330 and Kmiec, 1999, Gene therapy American Scientist 87(3):240-247). Alte proceduri de recombinare omoloagă în speciile de Triticum sunt, de asemenea, bine cunoscute în domeniu și sunt examinate pentru utilizarea în prezenta.

În vectorul de recombinare omoloagă, gena mut-PPO poate fi flancată la capetele sale 5' și

3' de o moleculă suplimentară de acid nucleic a genei PPO pentru a permite apariția recombinării omoloage între gena exogenă mut-PPO purtată de vector și o genă endogenă PPO, într-un microorganism sau a plantă. Molecula de acid nucleic a PPO de flancare suplimentară are o lungime suficientă pentru recombinația omoloagă de succes cu gena endogenă. De obicei, câteva sute de perechi de bază până la kilobaze de flancare a ADN-ului (atat la capătul 5', cât și 3') sunt incluse în vector (a se vedea de ex. Thomas, K. R., and Capecchi, M. R., 1987, Cell 51:503 pentru o descriere a vectorilor de recombinație omoloagă sau Strepp et al., 1998, PNAS, 95(8):4368-4373 pentru recombinația bazată pe ADNc în *Physcomitrella patens*). Cu toate acestea, dat fiind că gena mut-PPO diferă în mod normal de gena PPO prin foarte puțini aminoacizi, o secvență de flancare nu este întotdeauna necesară. Vectorul de recombinație omoloagă este introdus într-o celulă de microorganism sau de plantă (de ex., prin ADN mediat de polietilenglicol), și celulele în care gena mut-PPO introdusă a recombinat omolog cu gena endogenă PPO sunt selectate folosind tehnici cunoscute în domeniu.

Intr-o altă variantă de executare, microorganisme recombinante pot fi produse ce conțin sisteme selectate care permit expresia reglată a genei introduse. De exemplu, includerea unei gene mut-PPO pe un vector plasand-o sub controlul operonului lac permite expresia genei mut-PPO doar în prezența IPTG. Astfel de sisteme de reglare sunt bine cunoscute în domeniu.

Un alt aspect al invenției se referă la celulele gazdă în care a fost introdus un vector de expresie recombinantă conform invenției. Termenii "celulă gazdă" și "celulă gazdă recombinantă" sunt utilizați în mod interschimbabil în prezenta. Se înțelege că astfel de termeni se referă nu doar la celula unui anumit subiect, ci aceștia se aplică, de asemenea, la descendenții sau descendenții potențiali ai unei astfel de celule. Deoarece anumite modificări pot apărea în generațiile următoare din cauza influențelor de mutație sau de mediu, astfel de descendenți nu pot fi, în realitate, identici cu celula parentală, dar sunt totuși incluși în domeniul de aplicare al termenului așa cum este utilizat în prezenta. O celulă gazdă poate fi orice celulă procariotă sau eucariotă. De exemplu, o polinucleotidă a mut-PPO poate fi exprimată în celulele bacteriene cum ar fi *C. glutamicum*, celulele de insecte, celule fungice, sau celulele de mamifere (cum ar fi celule ovariene de hamster chinezesc (CHO) sau celulele COS), alge, ciliate, celule de plante, ciuperci sau alte microorganisme, cum ar fi *C. glutamicum*. Alte celule gazdă adecvate sunt cunoscute specialiștilor în domeniu.

O celulă gazdă a invenției, cum ar fi o celulă gazdă procariotă sau eucariotă în culturi, poate fi utilizată pentru a produce (de exemplu, exprima) o polinucleotidă a mut-PPO. În consecință, invenția prezintă în continuare metode pentru producerea polipeptidelor mut-PPO folosind celulele gazdă ale invenției. Într-o variantă de executare, metoda cuprinde cultivarea celulei gazdă a invenției (în care a fost introdus un vector de expresie recombinantă care codifică o polipeptidă mut-PPO, sau în genomul căruia a fost introdusă o genă care codifică o polipeptidă a PPO de tip sălbatic sau mut-PPO) într-un mediu adecvat, până când este produsă polipeptida mut-PPO. Într-o altă variantă de executare, metoda cuprinde în plus izolarea polipeptidelor mut-PPO din mediu sau celula gazdă. Un alt aspect al invenției se referă la polipeptide izolate ale mut-PPO, și porțiuni active biologic ale acestora. O polipeptidă "izolată" sau "purificată" sau porțiune biologic activă a acesteia este lipsită de material celular atunci când este produsă prin tehnici de ADN recombinant, sau precursori chimici sau alte substanțe chimice atunci când este sintetizată chimic. Expresia "lipsită substanțial de material celular" include preparate de polipeptide mut-PPO în care polipeptida este separată de unele dintre componentele celulare ale celulelor în care este produsă în mod natural sau prin recombinație. Într-o variantă de executare, expresia "lipsită substanțial de material celular" include preparate de o polipeptidă mut-PPO având mai puțin de circa 30% (în greutate uscată) de material non-mut-PPO (denumită aici și ca "polipeptidă contaminantă"), mai preferabil mai puțin de circa 20% de material non-mut-PPO, încă mai preferabil mai puțin de circa 10% de material non-mut-PPO, și cel mai preferabil mai puțin de circa 5% de material non-mut-PPO.

Atunci când polipeptida mut-PPO, sau porțiunea activă biologic a acesteia, este produsă recombinant, ea, de asemenea, este preferabil lipsită substanțial de mediu de cultură, adică, mediul de cultură constituie mai puțin de circa 20%, mai preferabil mai puțin de circa 10%, și cel mai preferabil mai puțin de circa 5% din volumul preparatului polipeptidic. Expresia "lipsită substanțial de precursori chimici sau alte substanțe chimice" include preparate de polipeptidă mut-PPO în care polipeptida este separată de precursorii chimici sau alte substanțe chimice care sunt implicate în sinteza polipeptidei. Într-o variantă de executare, expresia "lipsită substanțial de precursori chimici sau alte substanțe chimice" include preparate de polipeptidă mut-PPO având mai puțin de circa 30% (în greutate uscată) de precursori chimici sau substanțe chimice non-mut-

PPO, mai preferabil mai puțin de circa 20% de precursori chimici sau substanțe chimice non-mut-PPO, încă mai preferabil mai puțin de circa 10% de precursori chimici sau substanțe chimice non-mut-PPO, și cel mai preferabil mai puțin de circa 5% de precursori chimici sau substanțe chimice non-mut-PPO. În variantele de executare preferențiale, polipeptidele izolate, sau porțiunile biologice active ale acestora, sunt lipsite de polipeptide de contaminare din același organism din care este obținută polipeptida mut-PPO. De obicei, astfel de polipeptide sunt produse prin expresia recombinantă, de exemplu, a unei polipeptide mut-PPO în alte plante decat, sau în microorganisme, cum ar fi *C. glutamicum*, ciliate, alge, ciuperci sau plante.

Așa cum este descris mai sus, prezenta invenție prezintă compoziții și metode pentru sporirea toleranței de inhibare a PPO a unei plante de cultură sau semințe în comparație cu un soi de tip sălbatic al plantei sau seminței. Într-o variantă de executare preferențială, toleranța unei plante de cultură sau semințe de inhibare a PPO este sporită astfel încât planta sau sămânța poate rezista unei aplicări a erbicidului de inhibare a PPO preferabil de circa 1...1000 g ia ha⁻¹, mai preferabil 1...200 g ia ha⁻¹, chiar mai preferabil 5...150 g ia ha⁻¹, și cel mai preferabil 10...100 g ia ha⁻¹. După cum este utilizat în prezenta, pentru a "rezista" unei aplicări a erbicidului de inhibare a PPO înseamnă că planta fie că nu este nimicită sau nu este deteriorată, sau este doar moderat deteriorată de o astfel de aplicare. Se va înțelege de către un specialist în domeniu că ratele de aplicare pot varia, în funcție de condițiile de mediu, cum ar fi temperatura sau umiditatea, și în funcție de tipul de erbicid selectat (ingredient activ ia).

În plus, prezenta invenție furnizează metode care implică utilizarea a cel puțin unui erbicid de inhibare a PPO, opțional în combinație cu unul sau mai mulți compuși erbicizi B, și, opțional, un agent fitoprotector, C, așa cum este descris în detalii mai sus.

În aceste metode, erbicidul de inhibare a PPO poate fi aplicat prin orice metodă cunoscută în domeniu, inclusiv, dar fără a se limita la, tratarea semințelor, tratarea solului, și tratamentul foliar. Înainte de aplicare, erbicidul de inhibare a PPO poate fi transformat în preparate obișnuite, de exemplu soluții, emulsii, suspensii, prafuri, pulberi, paste și granule. Forma de utilizare depinde de scopul propus; în fiecare caz, ea trebuie să asigure o distribuție fină și uniformă a compusului conform invenției.

Prin furnizarea plantelor cu toleranță sporită la erbicidul de inhibare a PPO, o gamă largă de preparate pot fi folosite pentru protecția plantelor de buruieni, astfel încât să sporească creșterea plantelor și să reducă concurența pentru nutrienți. Un erbicid de inhibare a PPO poate fi folosit de unul singur pentru pre-răsărire, post-răsărire, pre-plantare, și controlul buruienilor la plantare în zonele învecinate plantelor de cultură descrise în prezenta, sau poate fi folosit un preparat erbicid de inhibare a PPO care conține alți aditivi. Erbicidul de inhibare a PPO poate fi, de asemenea, utilizat ca tratament pentru semințe. Aditivii depistați într-un preparat erbicid de inhibare a PPO includ alte erbicide, detergenți, adjuvanți, agenți de pulverizare, agenți de lipire, agenți de stabilizare, sau alții. Preparatul erbicid de inhibare a PPO poate fi un preparat umed sau uscat și poate include, dar nu se limitează la, pulberi fluide, concentrate emulsionabile, și concentrate lichide. Erbicidul și preparatele erbicide de inhibare a PPO pot fi aplicate în conformitate cu metodele convenționale, de exemplu, prin pulverizare, irigare, pudrare, sau altele.

Preparatele adecvate sunt descrise detaliat în PCT/EP2009/063387 și PCT/EP2009/063386, care sunt incluse aici prin referință.

De asemenea, se va înțelege că cele sus-menționate se referă la variantele de executare preferențiale ale prezentei invenții și că numeroase modificări pot fi făcute la acestea fără a se îndepărta de la scopul invenției. Invenția este ilustrată în continuare prin următoarele exemple, care nu trebuie să fie interpretate în nici un fel ca impunând limitări asupra domeniului de aplicare a acesteia. Dimpotrivă, trebuie să se înțeleagă în mod clar că se poate recurge la diverse alte variante de executare, modificări și echivalentele acestora, care, după citirea descrierii din prezenta, ar putea să fie sugerate specialiștilor în domeniu, fără îndepărtarea de la esența prezentei invenții și/sau domeniul de aplicare a revendicărilor anexate.

EXAMPLE

EXEMPLUL 1: Mutageneza situs-direcționată a PPO de *Amaranthus*

Clonarea PPO de *Amaranthus*

Secvența de codificare a *Amaranthus tuberculatus* pentru izoforme rezistente și susceptibile la PPO, și toate combinațiile mutante și mutațiile multiple (SECV ID nr.: 1, 3, 5, 7) au fost sintetizate și clonate de Geneart (Geneart AG, Regensburg, Germany).

Plasmidele au fost izolate din *E. coli* TOP10 prin efectuarea unei minpreparări a plasmidelor și confirmată prin secvențierea ADN-ului.

Expresia și purificarea PPO de tip sălbatic recombinant și mutant

(Preluat de la: Franck E. Dayan, Pankaj R. Daga, Stephen O. Duke, Ryan M. Lee, Patrick J. Tranel, Robert J. Doerksen. Consecințele biochimice și structurale ale unei deleții a glicinei în spirala α -8 a protoporfirinogen oxidazei. *Biochimica et Biophysica Acta* 1804, (2010), p. 1548-56).

Clonele în vectorul pRSET au fost transformate în tulpina BL21 (DE3)-pLysS a *E. coli*. Celulele au fost crescute în 250 ml de LB cu 100 μ g/ml-1 de carbenicilină, fiind agitate timp de o noapte la 37°C. Culturile au fost diluate în 1 l de LB cu antibiotic și crescute la 37°C agitând timp de 2 ore, induse cu 1 mM IPTG și cultivate la 25°C, agitând timp de încă 5 ore. Celulele au fost recoltate prin centrifugare la 1600xg, spălate cu 0,09% NaCl și păstrate la -80°C.

Celulele au fost lizate folosind o presă franceză la 140 MPa în 50 mM fosfat de sodiu pH 7,5, 1 M NaCl, 5 mM imidazol, 5% glicerol, și 1 μ g/ml-1 leupeptină. În urma lizei, s-a adăugat 0,5 U de benzonază (Novagen, EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ) și PMSF (concentrația finală de 1 mM). Resturile celulare au fost îndepărtate prin centrifugare la 3000xg. Proteinele PPO marcate His au fost purificate pe o coloană HP Hitrap Chelating activată cu nichel (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, Piscataway, NJ) echilibrată cu 20 mM fosfat de sodiu pH 8,0, 50 mM NaCl, 5 mM imidazol, 5 mM MgCl₂, 0,1 mM EDTA, și 17% glicerol.

PPO a fost eluată cu 250 mM de imidazol. Proteina activă a fost desalinizată pe o coloană PD-10 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, Piscataway, NJ) echilibrată cu o soluție tampon de fosfat de sodiu 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 5 mM, EDTA 1 mM și 17% glicerol. Fiecare litru de cultură a furnizat aproximativ 10 mg de PPO pură, care a fost păstrată la -20°C până la utilizarea în analize.

Analiza activității PPO

Analiza enzimei PPO (nerecombinantă). Proteina PPO (CE 1.3.3.4) a fost extrasă din coleoptile sau lăstari (150 g greutate în stare proaspătă) de răsad de porumb crescut la întuneric, zărnă neagră, volbură, și teișor descrise anterior (Grossmann et al. 2010). Înainte de recoltare, răsadurile au fost lăsate să înverzească timp de 2 ore la lumină pentru a obține cele mai înalte activități enzimatic specifice în fracțiunile tilacoide la concentrații scăzute de clorofilă. La concentrații înalte de clorofilă se produce o extincție semnificativă de fluorescență, care limitează cantitatea de tilacoide verzi care pot fi utilizate în test. Materialele plantei au fost omogenizate la rece cu un blender Braun folosind un raport de greutate proaspătă la volum de 1: 4. Soluția tampon de omogenizare a fost compusă din tris(hidroximetil)aminometan (Tris)-HCl (50 mM; pH 7,3), zaharoză (0,5 M), clorură de magneziu (1 mM), acid etilendiaminetetraacetic (EDTA) (1 mM) și albumină din ser bovin (2 g/l⁻¹). După filtrare prin patru straturi de Miracloth, s-au obținut preparate de plastide brute după centrifugarea la 10000 x g timp de 5 min și resuspendarea în soluție tampon de omogenizare înainte de centrifugare la 150 x g timp de 2 min pentru a îndepărta resturile celulare brute. Supernatantul a fost centrifugat la 4000 x g timp de 15 min și fracțiunea peletului a fost repusă în suspensie în 1 ml de soluție tampon conținând Tris-HCl (50 mM; pH 7,3), EDTA (2 mM), leupeptină (2 μ M), pepstatin (2 μ M) și glicerol (200 ml l⁻¹) și depozitată la -80°C până la utilizare. Proteina a fost determinată în extractul de enzimă cu albumină din ser bovin în calitate de standard. Activitatea PPO a fost analizată fluorometric prin monitorizarea ratei de formare Proto din protoporfirinogen IX redus chimic în condiții inițiale de viteză. Amestecul de analiză a constat din Tris-HCl (100 mM, pH 7,3), EDTA (1 mM), ditiotritol (5 mM), Tween 80 (0,085%), protoporfirinogen IX (2 μ M), și 40 μ g de proteină extrasă într-un volum total de 200 μ l. Reacția a fost inițiată prin adăugarea substratului de protoporfirinogen IX la 22°C. saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ, au fost preparate în soluție de dimetilsulfoxid (DMSO) (concentrația de 0,1 mM de DMSO în test) și s-a adăugat la amestecul de testare în concentrații de 0,005 pM până la 5 μ M înainte de incubare. Fluorescența a fost monitorizată direct din amestecul de testare folosind un Polarstar Optima / Galaxy (BMG) cu excitație la 405 nm și emisie monitorizată la 630 nm. Activitatea non-enzimatică în prezența extractului inactivat termic a fost neînsemnată. Inhibarea activității enzimatic induse de erbicid a fost exprimată ca inhibare procentuală în raport cu controalele netratate. Concentrațiile molare ale compusului necesare pentru inhibarea enzimei în mărime de 50% (valorile CI₅₀) au fost calculate prin ajustarea valorilor ecuației doză-răspuns folosind analiza de regresie neliniară.

Analiza enzimei PPO (recombinantă).

- Proto a fost procurat de la Sigma-Aldrich (Milwaukee,WI). Protogenul a fost preparat conform lui Jacobs and Jacobs (N.J. Jacobs, J.M. Jacobs, Assay for enzymatic protoporphyrinogen oxidation, a late step in heme synthesis, Enzyme 28 (1982) 206–219). Testele au fost realizate în fosfat de sodiu 100 mM pH 7.4 cu EDTA 0,1 mM, 0,1% Tween 20, 5 μ M FAD, și 500mM imidazol. Curbele doză-răspuns cu inhibitori ai PPO saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ și MC-15608 au fost obținute în prezența a 150 μ M Protogen. Lățimile de benzi de excitație și emisie au fost setate la 1,5 și, respectiv, 30 nm.
- Toate testele au fost efectuate de două sau de trei ori și măsurate folosind un Polarstar Optima / Galaxy (BMG) cu excitație la 405 nm și emisie monitorizată la 630 nm. Concentrațiile molare ale compusului necesare pentru inhibarea enzimei în mărime de 50% (valorile CI_{50}) au fost calculate prin ajustarea valorilor ecuației doză-răspuns folosind analiza de regresie neliniară.
- Valorile doză-răspuns (CI_{50}) pentru enzimele substituite ale PPO sunt mai mari decât valoarea CI_{50} pentru enzima PPO de tip sălbatic (ne-substituită) (Tabelul 4a). Acest fapt indică că aceste enzime PPO substituite au o rezistență inerentă la erbicide care inhibă PPO testate. Enzima PPO substituită dG210 și R128L sunt enzime PPO substituite cunoscute găsite în *Amaranthus tuberculatus* și *Ambrosia artemisiifolia*, și s-au dovedit a fi responsabile de rezistența PPO în planta la o varietate de erbicide PPO (Dayan et al., 2010, Biochimica et Biophysica Acta, 1804:1548). Acest lucru indică faptul că celelalte enzime PPO substituite enumerate, având, de asemenea, o valoare CI_{50} mai mare decât dG210 sau R128L, sunt, la fel, enzime PPO substituite care sunt responsabile pentru rezistența în planta împotriva unei varietăți de erbicide PPO (Tabelul 4a). Toate enzimele PPO substituite demonstrează o activitate enzimatică comparabilă, schimbarea unității de fluorescență per minut (FU/min) comparativ cu enzima PPO tip sălbatic (Tabelul 4a). În plus, toate valorile de activitate pentru enzimele PPO substituite sunt mai mari decât enzima PPO substituită dG210 sau R128L. Enzima PPO substituită dG210 și R128L sunt suficient de active pentru funcția în planta așa cum s-a demonstrat deja. Acest lucru indică că toate celelalte enzime PPO substituite indicate sunt, de asemenea, suficient de active pentru funcția în planta.
- Valorile CI_{50} (M) pentru enzima PPO substituită de tip sălbatic și de aminoacizi, pentru inhibitori saflufenacil și 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă.

Tabelul 4

Substituirea aminoacizilor	SECV. ID nr.	Activitatea enzimei (FU/min) relative	Saflufenacil	1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă
			CI_{50} (M)	
PPO2 WC susceptibilă la erbicid PPO	2	1000	1,86E-09	5,17E-10
PPO2 AC susceptibilă la erbicid PPO	4	800	1,78E-10	5,96E-11
dG210	6 & 8	80	1,60E-06	2,12E-09
R128L	2 & 4	700	2,22E-07	7,73E-10
R128A, L397D	2 & 4	100	1,00E-05	5,90E-09
R128L, L397D	2 & 4	ND	ND	
F204I, T208S	2 & 4	745	5,89E-11	1,29E-10
F204I, L397D	2 & 4	ND	ND	
F204I, L400A	2 & 4	150		4,57E-11
F204I, T208S, F420V	2 & 4	265		4,69E-09
F204I, F457M	2 & 4	200	1,89E-11	7,52E-11
T208S, L397D	2 & 4	150	4,08E-07	1,25E-10
T208S, L400A	2 & 4	ND	ND	
T208S, F420V	2 & 4	520	8,48E-07	2,34E-09
T208S, F457M	2 & 4	550	1,02E-10	1,95E-10

MD 4683 C1 2020.12.31

94

L397D, L400A	2 & 4	ND	ND	
L397R, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397N, F420M	2 & 4	90		1,63E-08
L397D, F420M	2 & 4	120	>0,00001	2,95E-08
L397A, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397R, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397N, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397Q, F420V	2 & 4	90	>0,00001	1,01E-07
L397K, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397F, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397P, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397W, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397V, F420V	2 & 4	150		1,21E-08
L397H, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397I, F420M	2 & 4	410		1,98E-10
L397M, F420K	2 & 4	ND	ND	
L397M, F420M	2 & 4	250		2,32E-10
L397F, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397S, F420M	2 & 4	210		3,33E-09
L397W, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397Y, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397I, F420V	2 & 4	100		4,09E-09
L397A, F420M	2 & 4	150		4,53E-09
L397C, F420M	2 & 4	370		1,79E-09
L397D, F420V	2 & 4	60	>0,00001	1,16E-06
L397C, F420V	2 & 4	150		5,54E-08
L397E, F420V	2 & 4	105	>0,00001	1,41E-07
L397G, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397H, F420V	2 & 4	ND	ND	
L397M, F420V	2 & 4	140		8,79E-09
L397S, F420V	2 & 4	110		4,26E-08
L397T, F420V	2 & 4	150		1,31E-08
L397Q, F420M	2 & 4	110	1,00E-06	5,41E-09
L397E, F420M	2 & 4	340	1,00E-06	6,03E-09
L397G, F420M	2 & 4	80		6,06E-08
L397P, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397T, F420M	2 & 4	ND	ND	
L397V, F420M	2 & 4	400		1,05E-09
L397D, F457M	2 & 4	ND	ND	
L400A, F420V	2 & 4	ND	ND	
L400A, F457M	2 & 4	160		1,35E-11
F420V, F457M	2 & 4	105		1,02E-09
R128A, F204I, F420V	2 & 4	ND	ND	
R128A, T208S, F420V	2 & 4	200	>0,00001	1,25E-08
R128A, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND	
R128A, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND	
R128A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND	
F204I, T208S, L397D	2 & 4	100		5,52E-11
F204I, T208S, L400A	2 & 4	105		2,64E-11
F204I, T208S, F420V	2 & 4	80		3,87E-09
F204I, T208S, F457M	2 & 4	200		4,21E-11
F204I, T208S, F457M	2 & 4	470	5,11E-11	1,70E-10

MD 4683 C1 2020.12.31

95

F204I, L397D, L400A	2 & 4	ND	ND
F204I, L397D, L400A	2 & 4	ND	ND
F204I, L397D, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, L400A, F420V	2 & 4	100	8,23E-08
F204I, L400A, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, F420V, F457M	2 & 4	80	2,10E-09
T208S, L397D, L400A	2 & 4	ND	ND
T208S, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND
T208S, L397D, F457M	2 & 4	ND	ND
T208S, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
T208S, L400A, F457M	2 & 4	60	9,68E-12
T208S, F420V, F457M	2 & 4	90	3,41E-09
L397D, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
L397D, L400A, F457M	2 & 4	ND	ND
L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, T208S, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, F420V, F457M	2 & 4	80	4,63E-08
R128A, F204I, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, T208S, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, T208S, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, T208S, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L397D, L400A	2 & 4	80	2,38E-09
F204I, T208S, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L397D, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L400A, F457M	2 & 4	100	2,88E-11
F204I, T208S, F420V, F457M	2 & 4	200	4,72E-09
F204I, L397D, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
F204I, L397D, L400A, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, L400A, F420A, F457M	2 & 4	60	3,69E-08
T208S, L397D, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
T208S, L397D, L400A, F457M	2 & 4	ND	ND
T208S, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
T208S, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
L397D, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, T208S, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, T208S, L397D, F420V	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, T208S, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, F204I, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, T208S, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
R128A, T208S, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L397D, L400A, F420V	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L397D, L400A, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
F204I, T208S, L400A, F420V, F457M	2 & 4	60	9,24E-08
F204I, L397D, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND
T208S, L397D, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND

R128A, F204I, L400A, F420V, F457M	2 & 4	50		4,05E-07
R128A, F204I, T208S, L397D, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND	
R128A, F204I, T208S, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND	
F204I, T208S, L397D, L400A, F420V, F457M	2 & 4	ND	ND	

EXEMPLUL 2

Ingenieria plantelor tolerante la erbicid care inhibă PPO cu secvențe PPO de tip sălbatic sau mutante.

- 5 Plantele de soia (*Glycine max*) sau porumb (*Zea mays*) tolerante la erbicide derivate ai PPO sunt produse printr-o metodă descrisă de Olhoft et al. (US patent 2009/0049567). Pentru transformarea soiei sau *Arabidopsis thaliana*, secvențele PPO de tip sălbatic sau mutante sunt clonate folosind tehnicile de clonare standard descrise în Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) într-un vector binar care conține caseta de gene
- 10 marker de rezistență (AHAS) și secvența de PPO mutantă (marcată GOI) între promotorul ubiquitină (PcUbi) și secvența terminală nopalîn-sintază (NOS). Pentru transformarea porumbului, secvențele PPO de tip sălbatic sau mutante sunt clonate folosind tehnicile de clonare standard descrise în Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press) într-un vector binar care conține caseta de gene marker de rezistență (AHAS) și secvența de PPO
- 15 mutantă (marcată GOI) între promotorul ubiquitină (ZmUbi) și secvența terminală nopalîn-sintază (NOS). Plasmidele binare sunt introduse în *Agrobacterium tumefaciens* pentru transformarea plantei. Structurile plasmide sunt introduse în celulele meristemului axilar al soiei, la nodul principal al explantelor de răsad prin transformarea mediată de agrobacteria. După inoculare și co-
- 20 culturare cu agrobacterii, explantele sunt transferate în medii de introducere a lăstarilor fără selecție timp de o săptămână. Explantele au fost ulterior transferate într-un mediu de inducție s lăstarilor cu 1...3 μM imazapir (Arsenal) timp de 3 săptămâni pentru a selecta celulele transformate. Explantele cu tampoane de calus/lăstari sănătoși la nodul primar sunt apoi transferate în mediu de alungire a lăstarilor conținând 1...3 μM imazapir până când un lăstar alungit sau explantul moare. Plantele transgenice sunt înrădăcinate, supuse analizei TaqMan în vederea
- 25 detectării prezenței transgenei, transferate în sol și crescute până la maturitate în seră. Transformarea plantelor de porumb este realizată printr-o metodă descrisă de McElver and Singh (WO 2008/124495). Structuri de vector pentru transformarea plantelor care conțin secvențe de PPO mutante sunt introduse în embrioni imaturi de porumb prin transformarea mediată de *Agrobacterium*.
- 30 Celulele transformate au fost selectate în medii de selecție la care s-au adăugat 0,5...1,5 μM imazetapir timp de 3...4 săptămâni. Plantele transgenice au fost regenerare pe medii de regenerare a plantelor și după aceea înrădăcinate. Plantele transgenice sunt supuse analizei TaqMan în vederea detectării prezenței transgenei înainte de a fi transplantate în amestecul din
- 35 ghiveci și crescute până la maturitate în seră. *Arabidopsis thaliana* sunt transformate cu secvențe de PPO de tip sălbatic sau mutant prin metoda "floral dip" descrisă de McElver and Singh (WO 2008/124495). Plantele transgenice de *Arabidopsis* au fost supuse analizei TaqMan pentru analiza numărului de loci de integrare. Transformarea *Oryza sativa* (orezului) este efectuată prin transformarea protoplaștilor descrisă de Peng et al. (US 6653529) TEST Planta transgenică T0 sau T1 de soia, porumb, și orez conținând secvențe PPO mutante sunt testate în vederea îmbunătățirii
- 40 toleranței la erbicide derivate ale PPO în studii de seră și studii pe parcele mici cu următoarele erbicide care inhibă PPO: saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ.
- 45 Plantele transgenice *Arabidopsis thaliana* au fost analizate în vederea toleranței îmbunătățite la saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ, în plăci du 48 de godeuri. Prin urmare, semințele T2 sunt sterilizate la suprafață prin
- 50 agitare timp de 5 min în etanol + apă (70 + 30 în volum), fiind clătite o dată cu etanol + apă (70 + 30 în volum) și de două ori cu apă sterilă, deionizată. Semințele sunt repuse în suspensie în 0,1% agar dizolvat în apă (g/v). Patru sau cinci semințe per godeu sunt puse pe mediu nutritiv solid

- format din soluție nutritivă murashige skoog semisolidă, pH 5,8 (Murashige and Skoog (1962) *Physiologia plantarum* 15: 473-497). Compușii sunt dizolvați în dimetilsulfoxid (DMSO) și adăugați la mediu înainte de solidificare (concentrația finală de DMSO 0,1%). Plăcile cu godeuri multiple sunt incubate într-o cameră de creștere la 22°C, 75% umiditate relativă și 110 $\mu\text{mol Phot} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ cu 14 : 10 ore lumină : fotoperioada la întuneric. Inhibarea creșterii este evaluată peste șapte - zece zile după însămânțare, în comparație cu plantele de tip sălbatic. În plus, plantele transgenice T1 *Arabidopsis* au fost testate cu privire la îmbunătățirea toleranței la erbicidele care inhibă PPO în studiile de seră cu următoarele erbicide care inhibă PPO: saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentrazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 5.

Tabelul 5

				Gradul de vătămare 0...100%		
				(0 = nicio vătămare, 100 = control total)		
				300	150	75
Linia	Evaluarea ZDT (ZDT= Zile după tratament)	SECV_ID	Substituția	1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă g/Ha + 1%MSO		
1	7	2 & 4	L397D, F420V	100	30	98
1	19	2 & 4	L397D, F420V	98	65	95
2	7	2 & 4	L397D, F420V	30	98	100
2	19	2 & 4	L397D, F420V	60	100	100
3	7	2 & 4	L397D, F420V	35	98	80
3	19	2 & 4	L397D, F420V	80	100	95

15

EXEMPLUL 3

Condițiile de cultivare a țesuturilor.

- A fost elaborată o analiză de mutagenză a culturii de țesut *in vitro* pentru a izola și caracteriza țesutul plantei (de ex., țesutul de porumb, orez), care este tolerant la erbicidele care inhibă protoporfirinogen oxidaza (PPO) (de ex. saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentrazon). Analiza utilizează variația somaclonală care se găsește în culturile de țesuturi *in vitro*. Mutațiile spontane obținute din variația somaclonală pot fi îmbunătățite treptat prin mutagenză chimică și selecția ulterioară, pe concentrațiile crescute de erbicid.

25

- Prezenta invenție prezintă condițiile de cultivare a țesuturilor pentru stimularea creșterii calusului friabil, embriogen la porumb sau orez, care este regenerabil. Au fost inițiate calusuri de la 4 soiuri diferite de porumb sau orez, inclusiv soiurile *Zea mays* și *Japonica* (*Taipei 309*, *Nipponbare*, *Koshihikari*) și, respectiv, *Indica* (*Indica 1*). Semințele au fost sterilizate la suprafață în 70% etanol timp de aproximativ 1 min, apoi s-au decolorat cu 20% Clorox comercial timp de 20 min. Semințele au fost clătite cu apă sterilă și plasate pe mediu de inducție a calusului. Diferite medii de inducție a calusului au fost testate. Listele de ingrediente pentru mediile testate sunt prezentate în Tabelul 6.

35

Tabelul 6

Ingredientul	Furnizorul	R001M	R025M	R026M	R327M	R008M	MS711R
Vitamine B5	Sigma					1,0 X	
Săruri MS	Sigma			1,0 X	1,0 X	1,0 X	1,0 X
Vitamine MS	Sigma			1,0 X	1,0 X		

Ingredientul	Furnizorul	R001M	R025M	R026M	R327M	R008M	MS711R
Săruri N6	Phytotech	4,0 g/l	4,0 g/l				
Vitamine N6	Phytotech	1,0 X	1,0 X				
L-Prolină	Sigma	2,9 g/l	0,5 g/l				1,2 g/l
Acizi Casamino	BD	0,3 g/l	0,3 g/l	2 g/l			
Caseină hidrolizată	Sigma						1,0 mg/l
L-Asp Monohidrat	Phytotech						150 mg/l
Acid nicotinic	Sigma						0,5 g/l
Hidroclorură de piridoxină	Sigma						0,5 g/l
Hidroclorură de tiamină	Sigma						1,0 mg/l
Mio-inozitol	Sigma						100 mg/l
MES	Sigma	500 mg/l	500 mg/l	500 mg/l	500 mg/l	500 mg/l	500 mg/l
Maltoză	VWR	30 g/l	30 g/l	30 g/l	30 g/l		
Sorbitol	Duchefa			30 g/l			
Zaharoză	VWR					10 g/l	30 g/l
NAA	Duchefa					50 µg/l	
2,4-D	Sigma	2,0mg/l					1,0 mg/l
MgCl ₂ ·6H ₂ O	VWR					750 mg/l	
→pH		5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,7
Gelrite	Duchefa	4,0 g/l				2,5 g/l	
Agaroză Tip 1	Sigma		7,0 g/l	10 g/l	10 g/l		
→Autoclavă		15 min	15 min	15 min	15 min	15 min	20 min
Kinetină	Sigma		2,0 mg/l	2,0 mg/l			
NAA	Duchefa		1,0 mg/l	1,0 mg/l			
ABA	Sigma		5,0 mg/l				
Cefotaxim	Duchefa		0,1 g/l	0,1 g/l	0,1 g/l		
Vancomicin	Duchefa		0,1 g/l	0,1 g/l	0,1 g/l		
G418 Disulfat	Sigma		20 mg/l	20 mg/l	20 mg/l		

Mediul de inducție a calusului R001M a fost selectat după testarea numeroaselor variații. Culturile au fost păstrate la întuneric la 30°C. Calusul embriogenic a fost subcultivat pe mediu proaspăt după 10...14 zile.

5 EXEMPLUL 4

Selectarea calusurilor tolerante la erbicide.

Odată ce condițiile de cultivare a țesuturilor au fost determinate, s-au stabilit condițiile ulterioare de selecție prin analiza supraviețuirii țesuturilor în curbele de distrugere cu saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ. S-a efectuat o analiză minuțioasă a acumulării de erbicid în țesut, precum și rezistența și stabilitatea sa în celule și mediul de cultură. Prin aceste experimente, s-a stabilit o doză sub-letală pentru selecția inițială a materialului mutant.

15 Alternativ, s-au inițiat culturi lichide din calusuri în MS711R cu agitare lentă și subculturi săptămânale. Odată ce au fost stabilite culturile lichide, agentul de selecție a fost adăugat direct în balon la fiecare subcultură. După 2...4 runde de selecție lichidă, culturile au fost transferate în filtre pe medii solide R001M pentru creșterea ulterioară.

20 După stabilirea dozei inițiale de saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentazon, plus diuron inhibitor al fotosintezei, care a fost utilizat ca martor negativ, în mediile de selecție, țesuturile au fost selectate treptat prin creșterea concentrației inhibitorului PPO cu fiecare transfer până la recuperarea celulelor, care au crescut viguros în prezența dozelor toxice. Calusurile rezultate au fost subcultivate ulterior la 25 fiecare 3...4 săptămâni pe R001M cu agent selectiv. Peste 26.000 de calusuri au fost supuse selecției pentru 4...5 subculturi până când presiunea selectivă a depășit nivelurile toxice

determinate de curbele de distrugere și s-au continuat observațiile culturii.

EXEMPLUL 5

Regenerarea plantelor.

- 5 Țesutul tolerant a fost regenerat și caracterizat molecular cu privire la mutațiile secvenței
genei PPO și/sau biochimic pentru activitatea modificată a PPO în prezența agentului selectiv. În
plus, genele implicate direct și/sau indirect în biosinteza tetrapirolică și/sau căile metabolice au
fost, de asemenea, secvenționate pentru a caracteriza mutațiile. În cele din urmă, enzimele care
10 schimbă calea metabolică (de ex., metabolismul, translocția, transportarea) au fost, de asemenea,
secvenționate pentru a caracteriza mutațiile.

- După selecția erbicidelor, calusurile au fost regenerare cu ajutorul unui regim de medii
R025M pentru 10...14 zile, R026M timp de cca 2 săptămâni, R327M până la dezvoltarea lăstarilor
bine formați, și R008S până când lăstarii au fost bine înrădăcinați pentru transferul în seră.
Regenerarea a fost efectuată la lumină. Nici un agent de selecție n-a fost inclus în timpul
15 regenerării.

- După înrădăcinarea puternică, agenții de regenerare M0 au fost transferați în seră în ghivece
de formă pătrată sau rotundă. Transplanturile au fost menținute sub un pahar de plastic transparent
până când au fost adaptate la condițiile din seră. În seră s-a folosit un ciclu zi/noapte de
27°C/21°C (80°F/70°F) cu lumini de sodiu de înaltă presiune de 600W, menținând lumina pe
20 parcursul a 14 ore în timpul zilei. Plantele au fost udate conform necesității, în funcție de vreme și
au fost fertilizate zilnic.

EXEMPLUL 6

Analiza secvențelor.

- 25 Țesutul tisular a fost colectat din plantele clonale separate pentru sădire și analizate ca
indivizi. ADN-ul genomic a fost extras folosind kitul Wizard® 96 Magnetic DNA Plant System
kit (Promega, brevetele SUA nr. 6,027,945 & 6,368,800) conform instrucțiunilor producătorului.
ADN-ul izolat a fost amplificat prin PCR folosind amorsa sens și anti-sens adecvată.

- Amplificarea PCR a fost realizată cu ajutorul polimerazei ADN Hotstar Taq (Qiagen)
30 folosind programul de termociclare la punctul de contact după cum urmează: 96°C timp de 15
min, urmat de 35 de cicluri (96°C, 30 sec; 58°C - 0,2 °C *per* ciclu, 30 sec; 72°C, 3 min și 30 sec),
10 min la 72°C.

- Produsele PCR au fost verificate în ce privește concentrația și mărimea fragmentelor prin
electroforeză pe gel de agaroză. Produsele PCR defosforilate au fost analizate prin secvențierea
35 directă, folosind amorsele PCR (DNA Landmarks, sau Entelechon). Fișierele cromatogramei (scf)
au fost analizate cu privire la mutația în raport cu gena de tip sălbatic folosind Vectorul NTI
Advance 10™ (Invitrogen). Pe baza informațiilor privind secvențele, mutațiile au fost identificate
în mai mulți indivizi. Analiza secvențelor a fost realizată pe cromatogramele reprezentative și
corespunzătoare alinierii AlignX cu setările implicite și editate pentru a apela TEST vârfulurile
40 secundare.

EXEMPLUL 7

Demonstrarea toleranței la erbicide.

- 45 Plantele mutante și cele care au devenit sălbatice selectate au fost transferate în ghivece
mici. Soiuri de tip sălbatic au fost germinate din semințe pentru a servi în calitate de martori.

- Peste circa 3 săptămâni după sădire, agenții de regenerare M0 au fost pulverizați cu ajutorul
unui pulverizator cu saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-
dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă, flumioxazin, butafenacil,
50 acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentrazon (plus diuron) la care s-a adăugat 0,1% ulei de semințe
metilat. După ce plantele s-au adaptat la condițiile de seră, un subset a fost pulverizat cu
saflufenacil suplimentar sau 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-
2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă. După ce a fost pulverizat, plantele nu au
fost udate timp de 24 ore și apoi au fost fertilizate din nou. Plantele pulverizate au fost fotografiate
și evaluate cu privire la daunele cauzate de erbicid după 1 și 3 săptămâni de tratament. Nu s-au
55 observat daune sau un grad redus de daună a fost observat pe plantele ce conțineau mutația
heterozigotă, în timp ce plantele de control și plantele devenite sălbatice în cultivarea țesuturilor
(plante regenerare negative la mutațiile secvenționate) au fost grav deteriorate după tratament.

MD 4683 C1 2020.12.31

100

Ratele de toleranță pentru porumb și soia sunt prezentate în Tabelele 7 a-c.

Porumb

Tabelul 7 a

Substituirea aminoacizilor	SECV ID Nr.	Evenimentul	Saflufenacil (g ai/ha)				1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4) (g ia/ha)
			0	25	50	100	
niciuna	niciuna	1	0	*	*	*	*
		2	3	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	*	*	7	*	*
		9	*	*	7	*	*
		10	*	*	*	7	*
		11	*	*	*	7	*
		12	*	*	*	8	*
		13	*	*	*	7	*
		14	*	*	*	8	*
		15	*	*	*	*	6
		16	*	*	*	*	7
		17	*	*	*	*	6
		18	*	*	*	*	6
		19	*	*	*	*	7
		20	*	*	*	*	6
niciuna	40	1	*	7	*	*	*
		2	*	7	*	*	*
		3	*	*	*	*	*
		4	*	8	*	*	*
		5	*	7	*	*	*
		6	*	*	8	*	*
		7	*	*	8	*	*
		8	*	*	7	*	*
		9	*	*	8	*	*
		1	*	*	8	*	*
		2	*	*	8	*	*
		3	*	*	*	7	*
		4	*	*	*	8	*
		5	*	*	*	8	*
		6	*	*	*	8	*
		7	*	*	*	8	*
		8	*	7	*	*	*
		9	*	7	*	*	*
		10	*	7	*	*	*
		11	*	4	*	*	*
		12	*	5	*	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

101

	13	*	4	*	*	*
	14	*	7	*	*	*
	15	*	*	7	*	*
	16	*	*	7	*	*
	17	*	*	7	*	*
	18	*	*	6	*	*
	19	*	*	7	*	*
	20	*	*	7	*	*
	21	*	*	7	*	*
	22	*	*	7	*	*
	23	*	*	7	*	*
	24	*	*	7	*	*
	25	*	*	6	*	*
	26	*	*	7	*	*
	27	*	*	7	*	*
	28	*	*	*	7	*
	29	*	*	*	7	*
	30	*	*	*	6	*
	31	*	*	*	6	*
	32	*	*	*	7	*
	33	*	*	*	8	*
	34	*	*	*	7	*
	35	*	*	*	7	*
	36	*	*	*	6	*
	37	*	*	*	8	*
	38	*	*	*	7	*
L369D, F392V	40					
	1	*	7	*	*	*
	2	*	4	*	*	*
	3	*	6	*	*	*
	4	*	6	*	*	*
	5	*	7	*	*	*
	6	*	6	*	*	*
	7	*	7	*	*	*
	8	*	*	7	*	*
	9	*	*	6	*	*
	10	*	*	7	*	*
	11	*	*	6	*	*
	12	*	*	8	*	*
	13	*	*	7	*	*
	14	*	*	7	*	*
	15	*	*	8	*	*
	16	*	*	6	*	*
	17	*	*	7	*	*
	18	*	*	7	*	*
	19	*	*	7	*	*
	20	*	*	7	*	*
	21	*	*	8	*	*
	22	*	*	9	*	*
	23	*	*	7	*	*
	24	*	*	4	*	*
	25	*	*	6	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

102

		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	8	*	*
		29	*	*	5	*	*
		30	*	*	*	8	*
		31	*	*	*	8	*
		32	*	*	*	7	*
		33	*	*	*	7	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	8	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	6	*
		38	*	*	*	7	*
		39	*	*	*	7	*
		40	*	*	*	8	*
		41	*	*	*	8	*
		42	*	*	*	8	*
		43	*	*	*	7	*
		44	*	*	*	8	*
		45	*	*	*	7	*
		46	*	*	*	7	*
		47	*	*	*	8	*
niciuna	2	1	*	7	*	*	*
		2	*	7	*	*	*
		3	*	8	*	*	*
		4	*	6	*	*	*
		5	*	6	*	*	*
		6	*	7	*	*	*
		7	*	7	*	*	*
		8	*	7	*	*	*
		9	*	7	*	*	*
		10	*	6	*	*	*
		11	*	*	6	*	*
		12	*	*	6	*	*
		13	*	*	7	*	*
		14	*	*	8	*	*
		15	*	*	7	*	*
		16	*	*	6	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	6	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*
		21	*	*	8	*	*
		22	*	*	8	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	8	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	8	*	*
		27	*	*	*	8	*
		28	*	*	*	7	*
		29	*	*	*	8	*

MD 4683 C1 2020.12.31

103

F420V	2	30	*	*	*	7	*
		31	*	*	*	7	*
		32	*	*	*	8	*
		33	*	*	*	8	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	8	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	7	*
		38	*	*	*	8	*
		39	*	*	*	6	*
		40	*	*	*	7	*
		41	*	*	*	8	*
		42	*	*	*	7	*
		1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	*	6	*	*	*
		4	*	7	*	*	*
		5	*	6	*	*	*
		6	*	7	*	*	*
		7	*	6	*	*	*
		8	*	4	*	*	*
		9	*	6	*	*	*
		10	*	6	*	*	*
		11	*	6	*	*	*
		12	*	7	*	*	*
		13	*	7	*	*	*
		14	*	7	*	*	*
		15	*	*	7	*	*
		16	*	*	8	*	*
		17	*	*	7	*	*
		18	*	*	7	*	*
		19	*	*	7	*	*
		20	*	*	7	*	*
		21	*	*	7	*	*
		22	*	*	7	*	*
		23	*	*	7	*	*
		24	*	*	6	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	8	*	*
		27	*	*	7	*	*
		28	*	*	6	*	*
		29	*	*	7	*	*
		30	*	*	7	*	*
		31	*	*	7	*	*
		32	*	*	7	*	*
		33	*	*	*	7	*
		34	*	*	*	7	*
		35	*	*	*	7	*
		36	*	*	*	7	*
		37	*	*	*	7	*
		38	*	*	*	7	*

MD 4683 C1 2020.12.31

104

L397D	2	39	*	*	*	7	*
		40	*	*	*	8	*
		41	*	*	*	7	*
		42	*	*	*	8	*
		43	*	*	*	7	*
		44	*	*	*	7	*
		45	*	*	*	9	*
		46	*	*	*	8	*
		47	*	*	*	7	*
		48	*	*	*	7	*
		49	*	*	*	8	*
		50	*	*	*	7	*
		51	*	*	*	7	*
		1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	0	*	*	*	*
		13	1	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	0	*	*	*	*
		17	0	*	*	*	*
		18	0	*	*	*	*
		19	0	*	*	*	*
		20	0	*	*	*	*
		21	0	*	*	*	*
		22	0	*	*	*	*
		23	0	*	*	*	*
		24	0	*	*	*	*
		25	0	*	*	*	*
		26	0	*	*	*	*
		27	0	*	*	*	*
		28	0	*	*	*	*
		29	0	*	*	*	*
		30	0	*	*	*	*
		31	0	*	*	*	*
		32	0	*	*	*	*
		33	0	*	*	*	*
		34	0	*	*	*	*
		35	1	*	*	*	*
		36	0	*	*	*	*
		37	*	6	*	*	*
		38	*	6	*	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

105

	39	*	6	*	*	*
	40	*	6	*	*	*
	41	*	6	*	*	*
	42	*	7	*	*	*
	43	*	6	*	*	*
	44	*	5	*	*	*
	45	*	6	*	*	*
	46	*	8	*	*	*
	47	*	7	*	*	*
	48	*	7	*	*	*
	49	*	6	*	*	*
	50	*	4	*	*	*
	51	*	7	*	*	*
	52	*	4	*	*	*
	53	*	4	*	*	*
	54	*	*	6	*	*
	55	*	*	6	*	*
	56	*	*	6	*	*
	57	*	*	6	*	*
	58	*	*	6	*	*
	59	*	*	7	*	*
	60	*	*	6	*	*
	61	*	*	6	*	*
	62	*	*	4	*	*
	63	*	*	7	*	*
	64	*	*	7	*	*
	65	*	*	7	*	*
	66	*	*	7	*	*
	67	*	*	6	*	*
	68	*	*	6	*	*
	69	*	*	5	*	*
	70	*	*	4	*	*
	71	*	*	7	*	*
	72	*	*	7	*	*
	73	*	*	6	*	*
	74	*	*	7	*	*
	75	*	*	6	*	*
	76	*	*	7	*	*
	77	*	*	7	*	*
	78	*	*	7	*	*
	79	*	*	7	*	*
	80	*	*	7	*	*
	81	*	*	5	*	*
L397D, F420V	2					
	1	0	*	*	*	*
	2	0	*	*	*	*
	3	0	*	*	*	*
	4	0	*	*	*	*
	5	0	*	*	*	*
	6	0	*	*	*	*
	7	0	*	*	*	*
	8	0	*	*	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

106

	9	0	*	*	*	*
	10	0	*	*	*	*
	11	0	*	*	*	*
	12	0	*	*	*	*
	13	0	*	*	*	*
	14	0	*	*	*	*
	15	0	*	*	*	*
	16	0	*	*	*	*
	17	0	*	*	*	*
	18	0	*	*	*	*
	19	0	*	*	*	*
	20	0	*	*	*	*
	21	0	*	*	*	*
	22	0	*	*	*	*
	23	0	*	*	*	*
	24	0	*	*	*	*
	25	0	*	*	*	*
	26	*	6	*	*	*
	27	*	5	*	*	*
	28	*	6	*	*	*
	29	*	7	*	*	*
	30	*	7	*	*	*
	31	*	6	*	*	*
	32	*	6	*	*	*
	33	*	*	4	*	*
	34	*	*	6	*	*
	35	*	*	6	*	*
	36	*	*	6	*	*
	37	*	*	6	*	*
	38	*	*	6	*	*
	39	*	*	7	*	*
	40	*	*	6	*	*
	41	*	*	7	*	*
	42	*	*	6	*	*
	43	*	*	7	*	*
	44	*	*	7	*	*
	45	*	*	7	*	*
	46	*	*	7	*	*
	47	*	*	7	*	*
	48	*	*	7	*	*
	49	*	*	7	*	*
	50	*	*	6	*	*
F420L	2	1	0	*	*	*
		2	0	*	*	*
		3	0	*	*	*
		4	0	*	*	*
		5	*	6	*	*
		6	*	7	*	*
		7	*	6	*	*
		8	*	7	*	*
		9	*	7	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

107

10	*	6	*	*	*
11	*	7	*	*	*
12	*	6	*	*	*
13	*	7	*	*	*
14	*	7	*	*	*
15	*	6	*	*	*
16	*	7	*	*	*
17	*	*	7	*	*
18	*	*	8	*	*
19	*	*	7	*	*
20	*	*	7	*	*
21	*	*	7	*	*
22	*	*	7	*	*
23	*	*	7	*	*
24	*	*	7	*	*
25	*	*	7	*	*
26	*	*	7	*	*
27	*	*	7	*	*
28	*	*	7	*	*
29	*	*	8	*	*
30	*	*	7	*	*
31	*	*	6	*	*
32	*	*	7	*	*
33	*	*	7	*	*
34	*	*	7	*	*
35	*	*	6	*	*
36	*	*	7	*	*
37	*	*	7	*	*
38	*	*	7	*	*
39	*	*	7	*	*
40	*	*	*	8	*
41	*	*	*	7	*
42	*	*	*	7	*
43	*	*	*	7	*
44	*	*	*	7	*
45	*	*	*	7	*
46	*	*	*	7	*
47	*	*	*	7	*
48	*	*	*	7	*
49	*	*	*	7	*
50	*	*	*	7	*
51	*	*	*	7	*
52	*	*	*	7	*
53	*	*	*	7	*
54	*	*	*	7	*
55	*	*	*	6	*
56	*	*	*	8	*
57	*	*	*	7	*
58	*	*	*	8	*
59	*	*	*	7	*
60	*	*	*	7	*

MD 4683 C1 2020.12.31

108

F420M	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	1	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	0	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	0	*	*	*	*
		16	*	4	*	*	*
		17	*	6	*	*	*
		18	*	8	*	*	*
		19	*	7	*	*	*
		20	*	7	*	*	*
		21	*	5	*	*	*
		22	*	5	*	*	*
		23	*	6	*	*	*
		24	*	8	*	*	*
		25	*	*	7	*	*
		26	*	*	7	*	*
		27	*	*	6	*	*
		28	*	*	8	*	*
		29	*	*	8	*	*
		30	*	*	7	*	*
		31	*	*	7	*	*
		32	*	*	7	*	*
		33	*	*	7	*	*
		34	*	*	7	*	*
		35	*	*	8	*	*
		36	*	*	8	*	*
		37	*	*	8	*	*
		38	*	*	7	*	*
		39	*	*	7	*	*
L397E, F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	1	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	2	*	*	*	*
		11	0	*	*	*	*
		12	1	*	*	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

109

13	0	*	*	*	*
14	0	*	*	*	*
15	0	*	*	*	*
16	0	*	*	*	*
17	0	*	*	*	*
18	2	*	*	*	*
19	1	*	*	*	*
20	0	*	*	*	*
21	1	*	*	*	*
22	2	*	*	*	*
23	1	*	*	*	*
24	2	*	*	*	*
25	2	*	*	*	*
26	1	*	*	*	*
27	2	*	*	*	*
28	1	*	*	*	*
29	*	1	*	*	*
30	*	0	*	*	*
31	*	0	*	*	*
32	*	3	*	*	*
33	*	1	*	*	*
34	*	0	*	*	*
35	*	1	*	*	*
36	*	*	1	*	*
37	*	*	1	*	*
38	*	*	0	*	*
39	*	*	2	*	*
40	*	*	0	*	*
41	*	*	1	*	*
42	*	*	3	*	*
43	*	*	2	*	*
44	*	*	0	*	*
45	*	*	2	*	*
46	*	*	1	*	*
47	*	*	2	*	*
48	*	*	2	*	*
49	*	*	3	*	*
50	*	*	2	*	*
51	*	*	*	0	*
52	*	*	*	0	*
53	*	*	*	1	*
54	*	*	*	3	*
55	*	*	*	2	*
56	*	*	*	2	*
57	*	*	*	2	*
58	*	*	*	1	*
59	*	*	*	1	*
60	*	*	*	*	3
61	*	*	*	*	1
62	*	*	*	*	2
63	*	*	*	*	2

MD 4683 C1 2020.12.31

110

		64	*	*	*	*	3
L397Q, F420V	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	1	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	*	*	*	4	*
		11	*	*	*	2	*
		12	*	*	*	3	*
		13	*	*	*	2	*
		14	*	*	*	7	*
		15	*	*	*	3	*
		16	*	*	*	3	*
		17	*	*	*	3	*
		18	*	*	*	5	*
		19	*	*	*	*	3
		20	*	*	*	*	2
		21	*	*	*	*	3
		22	*	*	*	*	3
		23	*	*	*	*	2
L397E, F420M	2	1	1	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	*	*	*	1	*
		10	*	*	*	0	*
		11	*	*	*	1	*
		12	*	*	*	0	*
		13	*	*	*	7	*
		14	*	*	*	1	*
		15	*	*	*	0	*
		16	*	*	*	1	*
		17	*	*	*	*	0
		18	*	*	*	*	1
L397Q, F420M	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	1	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

111

		8	0	*	*	*	*
		9	1	*	*	*	*
		10	*	*	*	0	*
		11	*	*	*	0	*
		12	*	*	*	1	*
		13	*	*	*	1	*
		14	*	*	*	1	*
		15	*	*	*	1	*
		16	*	*	*	1	*
		17	*	*	*	*	3
		18	*	*	*	*	3
L397D, F420M	2	1	0	*	*	*	*
		2	0	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	0	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	0	*	*	*	*
		8	0	*	*	*	*
		9	0	*	*	*	*
		10	0	*	*	*	*
		11	1	*	*	*	*
		12	1	*	*	*	*
		13	0	*	*	*	*
		14	0	*	*	*	*
		15	2	*	*	*	*
		16	1	*	*	*	*
		17	1	*	*	*	*
		18	1	*	*	*	*
		19	0	*	*	*	*
		20	1	*	*	*	*
		21	*	2	*	*	*
		22	*	2	*	*	*
		23	*	2	*	*	*
		24	*	3	*	*	*
		25	*	1	*	*	*
		26	*	3	*	*	*
		27	*	3	*	*	*
		28	*	3	*	*	*
		29	*	3	*	*	*
		30	*	3	*	*	*
		31	*	3	*	*	*
		32	*	*	1	*	*
		33	*	*	1	*	*
		34	*	*	2	*	*
		35	*	*	1	*	*
		36	*	*	1	*	*
		37	*	*	3	*	*
		38	*	*	3	*	*
		39	*	*	2	*	*
		40	*	*	0	*	*

		41	*	*	3	*	*
		42	*	*	3	*	*
		43	*	*	2	*	*
		44	*	*	1	*	*
		45	*	*	2	*	*
		46	*	*	2	*	*
		47	*	*	*	7	*
		48	*	*	*	3	*
		49	*	*	*	3	*
		50	*	*	*	3	*
		51	*	*	*	*	3
L397Q	2	1	0	*	*	*	*
		2	1	*	*	*	*
		3	0	*	*	*	*
		4	1	*	*	*	*
		5	0	*	*	*	*
		6	0	*	*	*	*
		7	*	*	*	4	*
		8	*	*	*	4	*
		9	*	*	*	4	*
		10	*	*	*	4	*
		11	*	*	*	4	*
		12	*	*	*	5	*
		13	*	*	*	5	*
		14	*	*	*	5	*
		15	*	*	*	*	6
		16	*	*	*	*	6
		17	*	*	*	*	5
		18	*	*	*	*	7
		19	*	*	*	*	6

Soia
Tabelul 7 b)

Substituirea aminoacizilor	SECV ID Nr.	saflufenacil (g ia/ha)						1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă (CAS 1258836-72-4) (g ia/ha)			
		0	12,5	25	50	100	200	12,5	25	50	75
niciuna	niciuna	0	9	9	9	9	9	7	8	9	9
niciuna	40	1	8	9	8	*	*	8	8	*	*
		1	9	9	*	*	*	8	9	*	*
		0	3	6	9	*	*	6	6	*	*
		2	4	6	8	*	*	6	7	*	*
		1	9	9	9	*	*	7	7	*	*
		0	9	9	9	*	*	8	8	*	*
		0	8	9	8	*	*	8	*	*	*
		0	8	9	9	*	*	7	9	*	*
		0	7	9	9	*	*	8	9	*	*
		0	9	9	9	*	*	8	9	*	*
		0	9	9	9	*	*	9	9	*	*
		0	8	9	8	*	*	7	8	*	*

MD 4683 C1 2020.12.31

113

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

MD 4683 C1 2020.12.31

114

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

Toleranța soiei la compuși inhibitori ai PPO: Indivizi T1 de tip sălbatic și de segregare transgenică din 2 evenimente independente

Tabelul 7 c)

Substituirea aminoacizilor	SECV ID Nr.		saflufenacil	1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă	Fomesafen	Flumioxazin	Sulfentrazon	Sulfentrazon	Oxifluorfen	Oxifluorfen
		Nepulverizat	150 g ai/ha	100 g ai/ha	600 g ai/ha	150 g ai/ha	350 g ai/ha	700 g ai/ha	600 g ai/ha	1200 g ai/ha
niciuna	niciuna	0	9	9	5	9	9	9	8	9
		0	9	9	5	9	9	9	7	9
		0	9	9	4	9	7	9	8	9
		0	9	9	4	9	7	9	9	9
		0	9	9	4	9	8	9	7	8
		1	9	8	5	9	9	9	8	9
		*	9	9	4	9	9	9	9	9
		*	9	9	5	9	9	9	7	8
L397D_F420V 2 Evenimentul A		0	3	9	1	9	9	2	4	5
		0	5	4	2	6	*	3	4	5
		0	3	4	0	6	6	7	5	4
		0	4	4	0	5	3	7	6	4
		0	6	4	1	5	5	4	6	3
		0	4	9	0	4	3	4	9	4
		*	3	4	2	4	5	6	4	4
		*	5	4	4	6	6	4	4	5
L397D_F420V 2 Evenimentul B		1	3	4	2	5	4	4	6	5
		0	2	3	4	6	4	5	4	5
		0	3	3	1	6	4	5	8	4
		0	3	3	3	5	5	4	4	5
		0	4	4	2	6	5	5	4	4
		0	4	3	1	4	4	6	5	6
		*	3	4	3	5	6	6	4	5
		*	4	4	3	4	4	5	6	5

În continuare sunt definite punctajele de vătămare măsurate mai sus:

Punctaj	Descrierea vătămării
0 -	Nicio vătămare
1 -	Vătămare minimă, doar câteva pete de vătămare a frunzei sau cloroză.
5	2 - Vătămare minimă cu cloroză puțin mai puternică. Punctele generale de creștere rămân nevătămate.
	3 - Vătămare puțin mai puternică asupra țesutului secundar al frunzei, dar frunza primară și punctele de creștere sunt încă nevătămate.
10	4 - Morfologia generală a plantei este puțin diferită, o ușoară cloroză și necroză în punctele de creștere secundare și țesutul frunzei. Tulpinile sunt intacte. Regenerarea este foarte probabilă după o săptămână.
	5 - Morfologia generală a plantei este clar diferită, o ușoară cloroză și necroză pe câteva frunze și puncte de creștere, însă punctul de creștere primar este intact. Țesutul tulpinii este încă verde. Regenerarea este foarte probabilă după o săptămână.
15	6 - O vătămare puternică poate fi observată în creșterea frunzei noi. Planta are o probabilitate înaltă de supraviețuire doar prin regenerarea la diferite puncte de creștere. Majoritatea frunzelor sunt clorotice/necrotice, dar țesutul tulpinii este încă verde. Poate avea loc regenerarea dar cu aspect vizibil vătămat.
20	7 - Majoritatea punctelor de creștere activă sunt necrotice. Poate exista un singur punct de creștere care ar putea supraviețui și poate fi parțial clorotic sau verde și parțial necrotic. Două frunze pot fi încă clorotice de nuanță puțin verzuie; restul plantei inclusiv tulpina este necrotică.
	8 - Planta se va usca probabil, și toate punctele de creștere sunt necrotice. O frunză poate fi încă clorotică de nuanță puțin verzuie. În rest planta este necrotică.
	9 - Planta este moartă.
25	* Netestată

EXEMPLUL 8

Selecția erbicidelor folosind cultura de țesut.

Mediul a fost selectat pentru utilizare și curbele de ucidere au fost elaborate conform descrierii de mai sus. Pentru selectare, au fost utilizate diverse tehnici. S-a aplicat o selecție treptată, sau s-a aplicat un nivel letal imediat al erbicidului. În ambele cazuri, toate calusurile au fost transferate pentru fiecare nouă rundă de selecție. Selecția a fost de 4...5 cicluri de cultură cu 3...5 săptămâni pentru fiecare ciclu. Calusurile au fost plasate pe membranele de nylon pentru a facilita transferul (foi cu pori de 200 micrometri, Biotec, Saco, Maine). Membranele au fost tăiate pentru a fi ajustate la vasele Petri de 100x20 mm și au fost sterilizate în autoclavă înainte de utilizare; 25...35 de calusuri (greutate medie/calusuri fiind 22 mg) au fost utilizate în fiecare placă. În plus, un set de calusuri a fost supus selecției în medii de cultură lichidă cu subculturi săptămânale, urmată de selecția ulterioară pe medii semisolide.

Liniiile mutante au fost selectate folosind saflufenacil, 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-ynil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă flumioxazin, butafenacil, acifluorfen, lactofen, bifenox, sulfentrazone. Eficacitatea obținerii mutanților a fost înaltă chiar și pe baza unui procentaj de calusuri care a dat naștere unei linii mutante, regenerabile sau numărului de linii determinat de gramul de țesut utilizat.

EXEMPLUL 9

Screeningul celulelor de alge supuse mutagenzei pentru a identifica clonele tolerante la erbicide și identificarea mutațiilor cauzative în genele PPO

Pentru a genera mutații în genele PPO care conferă rezistență "erbicidelor ce inhibă PPO", poate fi utilizat screeningul cu populații de celule mutante chimice sau UV. În special organismele unicelulare ca *Chlamydomonas reinhardtii* sunt utile pentru identificarea mutațiilor dominante care conferă rezistență la erbicide (Kataoka M, et al.; 1990; J. of Pest. Sci. 15: 449-451; Oshio H, et al.; 1993; Zeitschrift für Naturforschung 48: 339-344).

Celulele de alge ale tulpinilor *Chlamydomonas reinhardtii* CC-503 și CC-1691 (Duke University, Durham, SUA) au fost răspândite în mediul TAP (Gorman and Levine; 1965; PNAS 54: 1665-1669) prin agitare constantă la 100 rpm, 22°C și 30 μmol Phot * m⁻² * s⁻² iluminare. Screeningul compușilor a fost efectuat la 450 μmol Phot * m⁻² * s⁻² iluminare.

Tulpini sensibile de *Chlamydomonas reinhardtii* au fost supuse mutagenzei cu 0,14 M etilmetansulfonat (EMS) timp de 1 oră după cum este descris de Loppes (1969, Mol Gen Genet 104: 172-177). Tulpini tolerante sunt identificate prin screeningul celulelor mutagene pe plăci cu

mediu TAP solid conținând "erbicid care inhibă PPO" ca saflufenacil sau 1,5-dimetil-6-tioxo-3-(2,2,7-trifluor-3-oxo-4-(prop-2-inil)-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-6-il)-1,3,5-triazinan-2,4-dionă în concentrații letale, în funcție de activitatea compusului în tulpina CC-503 sau CC-1691.

- 5 Tehnicile standard au fost utilizate pentru izolarea ARN-ului și sinteza ADNc după cum este descris de Sambrook et al. (Molecular cloning (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press). Amplificarea genelor PPO din *Chlamydomonas reinhardtii* de tip sălbatic și rezistent din ADN genomic sau copie de ADN ca model a fost realizată prin tehnici de PCR standard cu oligonucleotide ADN prezentate în Tabelul 5. Moleculele de ADN rezultate au fost clonate în vectorul de secvențiere standard (pJET1) și secvenționate prin tehnici de secvenționare standard.
- 10 Mutatiile au fost identificate prin compararea secvențelor de PPO de tip sălbatic și mutant prin instrumentul de aliniere a secvențelor Align X (Vector NTI Advance Software Version 10.3, Invitrogen, Carlsbad, CA, SUA).

Amorsa PCR pentru amplificarea CrPPO

15 **Tabelul 8**

Denumirea amorsei	Secvența amorsei (5' – 3')
Cr_PPO1_Fw	ATGATGTTGACCCAGACTCCTGGGAC
Cr_PPO1_Rv	TTAGGCCTTGACTGCGGCCTTGGAC

LISTA DE SECVENȚE

<110> BASF SE

<120> PLANTE CU TOLERANȚĂ SPORITĂ LA ERBICIDE

<130> PF73943

<150> US 61/661364

<151> 2012-06-19

<150> EP12172557.6

<151> 2012-06-19

<160> 46

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1605

<212> DNA

<213> Amaranthus tuberculatus

<400> 1

atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca	60
gtttcaacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc	120
acttctgcta aaaggggttg tgtgttggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat	180
aagctaaaat cccatggttt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc	240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca	300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag	360
ttgccaattt cacaaaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct	420
tcaaattccg ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaatcaaa gctgcaaatt	480
atgttggaac cttttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatgtt	540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga cttttggga aagagtttgt tgattatgtt	600
atcgaccctt ttgttgcggt tacatgtggt ggagatcctc aatcgctttc catgcaccat	660
acatttccag aagtatggaa tattgaaaaa aggtttggct ctgtgtttgc tggactaatt	720
caatcaacat tgttatctaa gaaggaaaag ggtggagaaa atgcttctat taagaagcct	780
cgtgtacgtg gttcattttc atttcaaggt ggaatgcaga cacttggtga cacaatgtgc	840
aaacagcttg gtgaagatga actcaaactc cagtgtgagg tgctgtcctt gtcataaac	900
cagaagggga tccccctatt aggggaattgg tcagtctctt ctatgtcaaa taataccagt	960
gaagatcaat cttatgatgc tgtggttgct actgctccaa ttcgcaatgt caaagaaatg	1020
aagattatga aatttggaat tccattttca cttgacttta ttccagaggt gacgtacgta	1080
cccccttccg ttatgattac tgcattcaaa aaggataaag tgaagagacc tcttgagggc	1140
ttcggagttc ttatccccctc taaagagcaa cataatggac tgaagactct tgggtacttta	1200
ttttcctcca tgatgtttcc tgatcgtgct ccatctgaca tgtgtctctt tactacattt	1260
gtcggaggaa gcagaaatag aaaacttgca aacgcttcaa cggatgaatt gaagcaaata	1320
gtttcttctg accttcagca gctgttgggc actgaggacg aaccttcatt tgtcaatcat	1380

MD 4683 C1 2020.12.31

119

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

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

<400> 2

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

MD 4683 C1 2020.12.31

120

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Cys Gly Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met His His Thr Phe Pro Glu
 210 215 220

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

Gln Ser Thr Leu Leu Ser Lys Lys Glu Lys Gly Gly Glu Asn Ala Ser
 245 250 255

Ile Lys Lys Pro Arg Val Arg Gly Ser Phe Ser Phe Gln Gly Gly Met
 260 265 270

Gln Thr Leu Val Asp Thr Met Cys Lys Gln Leu Gly Glu Asp Glu Leu
 275 280 285

Lys Leu Gln Cys Glu Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Gln Lys Gly Ile
 290 295 300

Pro Ser Leu Gly Asn Trp Ser Val Ser Ser Met Ser Asn Asn Thr Ser
 305 310 315 320

Glu Asp Gln Ser Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro Ile Arg Asn
 325 330 335

Val Lys Glu Met Lys Ile Met Lys Phe Gly Asn Pro Phe Ser Leu Asp
 340 345 350

Phe Ile Pro Glu Val Thr Tyr Val Pro Leu Ser Val Met Ile Thr Ala
 355 360 365

Phe Lys Lys Asp Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu
 370 375 380

Ile Pro Ser Lys Glu Gln His Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu
 385 390 395 400

Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Met Cys Leu
 405 410 415

Phe Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Lys Leu Ala Asn Ala
 420 425 430

Ser Thr Asp Glu Leu Lys Gln Ile Val Ser Ser Asp Leu Gln Gln Leu
 435 440 445

Leu Gly Thr Glu Asp Glu Pro Ser Phe Val Asn His Leu Phe Trp Ser
 450 455 460

Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser Val Leu Arg Ala
 465 470 475 480

Ile Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn
 Seite 3

MD 4683 C1 2020.12.31

121

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
485 490 495

His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser Gly Cys Lys
500 505 510

Ala Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile Tyr Val Lys
515 520 525

Met Asp Glu Lys Thr Ala
530

<210> 3
<211> 1605
<212> DNA
<213> Amaranthus tuberculatus

<400> 3
atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaaccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttcaacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc 120
acttctgcta aaaggggttg tgttggtggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
aagctaaaat cccatggttt gagtgtgaca ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc 240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt atttgggatg agggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaattt cacaaaataa aagatacata gctagagccg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaattccg ctgcactact cagagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt 480
atgttggaac catcttctctg gagaaaacac aatgctactg aactttctga tgagcatgtt 540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga catcttgagg aagagtttgt tgattatgtt 600
attgaccctt ttgttgctgg tacatgtggt ggagatcctc aatcgctttc catgcaccat 660
acatttccag aagtatggaa tattgaaaaa aggtttggct ctgtgtttgc cggactaatt 720
caatcaacat tgttatctaa gaaggaaaag ggtggagaaa atgcttctat taagaagcct 780
cgtgtacgtg gttcatcttc atttcaaggt ggaatgcaga cacttgttga cacaatgtgc 840
aaacagcttg gtgaagatga actcaaactc cagtgtgagg tgctgtcctt gtcatataac 900
cagaagggga tccccctact aggggaattgg tcagtctctt ctatgtcaaa taataccagt 960
gaagatcaat cttatgatgc tgtggttggt actgctccaa ttcgcaatgt caaagaaatg 1020
aagattatga aatttggaat tccattttca cttgacttta ttccagaggt gacgtacgta 1080
cccctttccg ttatgattac tgcattcaaa aaggataaag tgaagagacc tcttgagggc 1140
ttcggagttc ttatccccctc taaagagcaa cataatggac tgaagactct tggactttta 1200
ttttcctcca tgatgtttcc tgatcgtgct ccatctgaca tgtgtctctt tactacattt 1260
gtcggaggaa gcagaaatag aaaacttgca aacgcttcaa cggaatgaatt gaagcaaata 1320
gtttcttctg accttcagca gctgttgggc actgaggacg aaccttcatt tgtcaatcat 1380
ctcttttgga gcaacgcatt cccattgtat ggacacaatt acgattctgt tttagagacc 1440

MD 4683 C1 2020.12.31

122

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 atagacaaga tggaaaagga tcttcctgga ttttttatg caggtaacca taagggtgga 1500
 ctttcagtgg gaaaagcgat ggcctccgga tgcaaggctg cggaacttgt aatatacctat 1560
 ctggactctc atatatacgt gaagatggat gagaagaccg cgtaa 1605

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

<400> 4

Met Val Ile Gln Ser Ile Thr His Leu Ser Pro Asn Leu Ala Leu Pro
 1 5 10 15

Ser Pro Leu Ser Val Ser Thr Lys Asn Tyr Pro Val Ala Val Met Gly
 20 25 30

Asn Ile Ser Glu Arg Glu Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val Ala Val
 35 40 45

Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser
 50 55 60

His Gly Leu Ser Val Thr Leu Phe Glu Ala Asp Ser Arg Ala Gly Gly
 65 70 75 80

Lys Leu Lys Thr Val Lys Lys Asp Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala
 85 90 95

Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ala Glu Val Ser Ser Leu Ile Asp Asp
 100 105 110

Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn Lys Arg
 115 120 125

Tyr Ile Ala Arg Ala Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn Pro Ala
 130 135 140

Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu Gln Ile
 145 150 155 160

Met Leu Glu Pro Phe Leu Trp Arg Lys His Asn Ala Thr Glu Leu Ser
 165 170 175

Asp Glu His Val Gln Glu Ser Val Gly Glu Phe Phe Glu Arg His Phe
 180 185 190

Gly Lys Glu Phe Val Asp Tyr Val Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr
 195 200 205

Cys Gly Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met His His Thr Phe Pro Glu
 210 215 220

MD 4683 C1 2020.12.31

123

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

Gln Ser Thr Leu Leu Ser Lys Lys Glu Lys Gly Gly Glu Asn Ala Ser
245 250 255

Ile Lys Lys Pro Arg Val Arg Gly Ser Phe Ser Phe Gln Gly Gly Met
260 265 270

Gln Thr Leu Val Asp Thr Met Cys Lys Gln Leu Gly Glu Asp Glu Leu
275 280 285

Lys Leu Gln Cys Glu Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Gln Lys Gly Ile
290 295 300

Pro Ser Leu Gly Asn Trp Ser Val Ser Ser Met Ser Asn Asn Thr Ser
305 310 315 320

Glu Asp Gln Ser Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro Ile Arg Asn
325 330 335

Val Lys Glu Met Lys Ile Met Lys Phe Gly Asn Pro Phe Ser Leu Asp
340 345 350

Phe Ile Pro Glu Val Thr Tyr Val Pro Leu Ser Val Met Ile Thr Ala
355 360 365

Phe Lys Lys Asp Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu
370 375 380

Ile Pro Ser Lys Glu Gln His Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu
385 390 395 400

Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Met Cys Leu
405 410 415

Phe Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Lys Leu Ala Asn Ala
420 425 430

Ser Thr Asp Glu Leu Lys Gln Ile Val Ser Ser Asp Leu Gln Gln Leu
435 440 445

Leu Gly Thr Glu Asp Glu Pro Ser Phe Val Asn His Leu Phe Trp Ser
450 455 460

Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser Val Leu Arg Ala
465 470 475 480

Ile Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn
485 490 495

MD 4683 C1 2020.12.31

124

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser Gly Cys Lys
500 505 510

Ala Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile Tyr Val Lys
515 520 525

Met Asp Glu Lys Thr Ala
530

<210>	5
<211>	1602
<212>	DNA
<213>	Amaranthus tuberculatus

<400>	5						
atggttaattc	aatccattac	ccacctttca	ccaaaccttg	cattgccatc	gccattgtca		60
gtttccacca	agaactaccc	agtagctgta	atgggcaaca	tttctgagcg	agaagaaccc		120
acttctgcta	aaaggggttg	tgttgttggt	gctggagtta	gtggacttgc	tgctgcatat		180
aagctaaaat	cccatggttt	gagtgtgaca	ttgtttgaag	ctgattctag	agctggaggc		240
aaacttaaaa	ctgttaaaaa	agatggtttt	at ttgggatg	agggggcaaa	tactatgaca		300
gaaagtgagg	cagaggtctc	gagtttgatc	gatgatcttg	ggcttcgtga	gaagcaacag		360
ttgccaat tt	cacaaaataa	aagatacata	gctagagacg	gtcttcctgt	gctactacct		420
tcaaatcccg	ctgcactact	cacgagcaat	atcctttcag	caaaatcaaa	gctgcaaatt		480
atgttggaac	catttctctg	gagaaaacac	aatgctactg	aactttctga	tgagcatgtt		540
caggaaagcg	ttggtgaatt	ttttgagcga	cattttggga	aagagtttgt	tgattatgtt		600
attgaccctt	ttgttgcggg	tacatgtgga	gatcctcaat	cgctttccat	gcaccataca		660
tttccagaag	tatggaatat	tgaaaaaagg	tttggctctg	tgtttgctgg	actaattcaa		720
tcaacattgt	tatctaagaa	ggaaaagggt	ggagaaaatg	cttctattaa	gaagcctcgt		780
gtacgtgggt	cattttcatt	tcaaggtgga	atgcagacac	ttgttgacac	aatgtgcaaa		840
cagcttggtg	aagatgaact	caaactccag	tgtgaggtgc	tgtccttgtc	atataaccag		900
aaggggatcc	cctcattagg	gaattgggtca	gtctcttcta	tgtcaataaa	taccagtga		960
gatcaatctt	atgatgctgt	ggttgtcact	gtcceaattc	gcaatgtcaa	agaaatgaag		1020
attatgaaat	ttggaaatcc	at tttcactt	gactttattc	cagaggtgac	gtacgtaccc		1080
ctttccgtta	tgattactgc	attcaaaaag	gataaagtga	agagacctct	tgagggcttc		1140
ggagttctta	tcccctctaa	agagcaacat	aatggactga	agactcttgg	tactttat tt		1200
tcctccatga	tgtttcctga	tcgtgctcca	tctgacatgt	gtctctttac	tacatttgtc		1260
ggaggaagca	gaaatagaaa	acttgcaaac	gcttcaacgg	atgaattgaa	gcaaatagtt		1320
tcttctgacc	ttcagcagct	gttgggcact	gaggacgaac	cttcattttgt	caatcatctc		1380
ttttggagca	acgcattccc	attgtatgga	cacaattacg	attgtgtttt	gagagccata		1440
gacaagatgg	aaaaggatct	tcctggat tt	ttttatgcag	gtaaccataa	gggtggactt		1500
tcagtgggaa	aagc gatggc	ctccggatgc	aaggctgcgg	aacttgtaat	atcctatctg		1560

MD 4683 C1 2020.12.31

125

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgcgt aa

1602

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

<400> 6

Met Val Ile Gln Ser Ile Thr His Leu Ser Pro Asn Leu Ala Leu Pro
1 5 10 15

Ser Pro Leu Ser Val Ser Thr Lys Asn Tyr Pro Val Ala Val Met Gly
20 25 30

Asn Ile Ser Glu Arg Glu Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val Ala Val
35 40 45

Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser
50 55 60

His Gly Leu Ser Val Thr Leu Phe Glu Ala Asp Ser Arg Ala Gly Gly
65 70 75 80

Lys Leu Lys Thr Val Lys Lys Asp Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala
85 90 95

Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ala Glu Val Ser Ser Leu Ile Asp Asp
100 105 110

Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn Lys Arg
115 120 125

Tyr Ile Ala Arg Asp Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn Pro Ala
130 135 140

Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu Gln Ile
145 150 155 160

Met Leu Glu Pro Phe Leu Trp Arg Lys His Asn Ala Thr Glu Leu Ser
165 170 175

Asp Glu His Val Gln Glu Ser Val Gly Glu Phe Phe Glu Arg His Phe
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Val Asp Tyr Val Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr
195 200 205

Cys Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met His His Thr Phe Pro Glu Val
210 215 220

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

MD 4683 C1 2020.12.31

126

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Ser Thr Leu Leu Ser₂₄₅ Lys Lys Glu Lys Gly₂₅₀ Gly Glu Asn Ala Ser₂₅₅ Ile
Lys Lys Pro Arg₂₆₀ Val Arg Gly Ser₂₆₅ Phe Ser Phe Gln Gly₂₇₀ Gly Met Gln
Thr Leu Val₂₇₅ Asp Thr Met Cys Lys₂₈₀ Gln Leu Gly Glu Asp₂₈₅ Glu Leu Lys
Leu Gln₂₉₀ Cys Glu Val Leu Ser₂₉₅ Leu Ser Tyr Asn Gln₃₀₀ Lys Gly Ile Pro
Ser₃₀₅ Leu Gly Asn Trp Ser₃₁₀ Val Ser Ser Met Ser₃₁₅ Asn Asn Thr Ser₃₂₀ Glu
Asp Gln Ser Tyr Asp₃₂₅ Ala Val Val Val Thr₃₃₀ Ala Pro Ile Arg Asn₃₃₅ Val
Lys Glu Met Lys₃₄₀ Ile Met Lys Phe Gly₃₄₅ Asn Pro Phe Ser Leu₃₅₀ Asp Phe
Ile Pro Glu₃₅₅ Val Thr Tyr Val Pro₃₆₀ Leu Ser Val Met Ile₃₆₅ Thr Ala Phe
Lys Lys₃₇₀ Asp Lys Val Lys Arg₃₇₅ Pro Leu Glu Gly Phe₃₈₀ Gly Val Leu Ile
Pro Ser Lys Glu Gln His₃₉₀ Asn Gly Leu Lys Thr₃₉₅ Leu Gly Thr Leu Phe₄₀₀
Ser Ser Met Met Phe₄₀₅ Pro Asp Arg Ala Pro₄₁₀ Ser Asp Met Cys Leu₄₁₅ Phe
Thr Thr Phe Val₄₂₀ Gly Gly Ser Arg Asn₄₂₅ Arg Lys Leu Ala Asn₄₃₀ Ala Ser
Thr Asp Glu₄₃₅ Leu Lys Gln Ile Val₄₄₀ Ser Ser Asp Leu Gln₄₄₅ Gln Leu Leu
Gly Thr Glu₄₅₀ Asp Glu Pro Ser₄₅₅ Phe Val Asn His Leu₄₆₀ Phe Trp Ser Asn
Ala₄₆₅ Phe Pro Leu Tyr Gly₄₇₀ His Asn Tyr Asp Cys₄₇₅ Val Leu Arg Ala Ile₄₈₀
Asp Lys Met Glu Lys₄₈₅ Asp Leu Pro Gly Phe₄₉₀ Phe Tyr Ala Gly Asn₄₉₅ His
Lys Gly Gly Leu₅₀₀ Ser Val Gly Lys Ala₅₀₅ Met Ala Ser Gly Cys₅₁₀ Lys Ala

MD 4683 C1 2020.12.31

127

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile Tyr Val Lys Met
515 520 525

Asp Glu Lys Thr Ala
530

<210> 7
<211> 1602
<212> DNA
<213> Amaranthus tuberculatus

<400> 7
atggttaattc aatccattac ccacctttca ccaaacccttg cattgccatc gccattgtca 60
gtttccacca agaactaccc agtagctgta atgggcaaca tttctgagcg ggaagaaccc 120
acttctgcta aaaggggttg tgtgtgtggt gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat 180
aagctaaaat cccatgggtt gagtgtgaca ttgtttgaag ctaattctag agctggaggc 240
aaacttaaaa ctgttaaaaa agatgggttt atttgggatg aggggggcaaa tactatgaca 300
gaaagtgagg cagaggtctc gagtttgatc gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag 360
ttgccaatth cacaataa aagatacata gctagagacg gtcttcctgt gctactacct 420
tcaaattccg ctgcactact cacgagcaat atcctttcag caaaatcaaa gctgcaaatt 480
atgttggaac catthctctg gagaaaacac aatgctactg aactthctga tgagcatgth 540
caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga catthtgga aagagthtgt tgattatgth 600
attgacctth ttgttgcggt tacatgtgga gatcctcaat cgctthccat gtaccataca 660
thtccagaag tatggaatat tgaaaaagg tttggctctg tgthtgctgg actaattcaa 720
tcaacattgt tatctaagaa ggaaaagggt ggagaaaatg ctthtattaa gaagcctcgt 780
gtacgtggtt catthtcatt tcaagggtga atgcagacac ttgttgacac aatgtgcaaa 840
cagcttggtg aagatgaact caaactccag tgtgaggtgc tgccttgctc atataaccag 900
aaggggatcc cctcattagg gaattggtca gtctcttcta tgtcaataa taccagtga 960
gatcaatctt atgatgctgt ggttgctact gctccaattc gcaatgtcaa agaaatgaag 1020
attatgaaat ttggaatcc atthtactt gactthattc cagaggtgac gtacgtaccc 1080
ctthcgtta tgattactgc attcaaaaag gataaagtga agagacctt tgagggttc 1140
ggagthctta tcccccttaa agagcaacat aatggactga agactcttg tactthattt 1200
tcctccatga tgthtctga tcgtgctcca tctgacatgt gtctctthac tacatttgct 1260
ggaggaagca gaaatagaaa acttgcaaac gcttcaacgg atgaattgaa gcaaatagth 1320
tcttctgacc ttcagcagct gttgggact gaggacgaac ctthatttgt caatcatctc 1380
thttggagca acgcattccc attgtatgga cacaattacg attctgttht gagagccata 1440
gacaagatgg aaaaggatct tcctggatth tthtatgcag gtaaccataa ggttggaactt 1500
tcagtgggaa aagcgatggc ctccgatgc aaggctgcgg aacttgtaat atcctatctg 1560
gactctcata tatacgtgaa gatggatgag aagaccgct aa 1602

MD 4683 C1 2020.12.31

128

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

<400> 8

Met Val Ile Gln Ser Ile Thr His Leu Ser Pro Asn Leu Ala Leu Pro
1 5 10 15

Ser Pro Leu Ser Val Ser Thr Lys Asn Tyr Pro Val Ala Val Met Gly
20 25 30

Asn Ile Ser Glu Arg Glu Glu Pro Thr Ser Ala Lys Arg Val Ala Val
35 40 45

Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser
50 55 60

His Gly Leu Ser Val Thr Leu Phe Glu Ala Asn Ser Arg Ala Gly Gly
65 70 75 80

Lys Leu Lys Thr Val Lys Lys Asp Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala
85 90 95

Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ala Glu Val Ser Ser Leu Ile Asp Asp
100 105 110

Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn Lys Arg
115 120 125

Tyr Ile Ala Arg Asp Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn Pro Ala
130 135 140

Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu Gln Ile
145 150 155 160

Met Leu Glu Pro Phe Leu Trp Arg Lys His Asn Ala Thr Glu Leu Ser
165 170 175

Asp Glu His Val Gln Glu Ser Val Gly Glu Phe Phe Glu Arg His Phe
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Val Asp Tyr Val Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr
195 200 205

Cys Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met Tyr His Thr Phe Pro Glu Val
210 215 220

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

Ser Thr Leu Leu Ser Lys Lys Glu Lys Gly Gly Glu Asn Ala Ser Ile
Seite 11

MD 4683 C1 2020.12.31

129

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
245 250 255

Lys Lys Pro Arg Val Arg Gly Ser Phe Ser Phe Gln Gly Gly Met Gln
260 265 270

Thr Leu Val Asp Thr Met Cys Lys Gln Leu Gly Glu Asp Glu Leu Lys
275 280 285

Leu Gln Cys Glu Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Gln Lys Gly Ile Pro
290 295 300

Ser Leu Gly Asn Trp Ser Val Ser Ser Met Ser Asn Asn Thr Ser Glu
305 310 315 320

Asp Gln Ser Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro Ile Arg Asn Val
325 330 335

Lys Glu Met Lys Ile Met Lys Phe Gly Asn Pro Phe Ser Leu Asp Phe
340 345 350

Ile Pro Glu Val Thr Tyr Val Pro Leu Ser Val Met Ile Thr Ala Phe
355 360 365

Lys Lys Asp Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu Ile
370 375 380

Pro Ser Lys Glu Gln His Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe
385 390 395 400

Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Met Cys Leu Phe
405 410 415

Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Lys Leu Ala Asn Ala Ser
420 425 430

Thr Asp Glu Leu Lys Gln Ile Val Ser Ser Asp Leu Gln Gln Leu Leu
435 440 445

Gly Thr Glu Asp Glu Pro Ser Phe Val Asn His Leu Phe Trp Ser Asn
450 455 460

Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser Val Leu Arg Ala Ile
465 470 475 480

Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn His
485 490 495

Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser Gly Cys Lys Ala
500 505 510

Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile Tyr Val Lys Met
515 520 525

MD 4683 C1 2020.12.31

130

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Asp Glu Lys Thr Ala
530

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

<400> 9
atgggcctga ttaaaaacgg taccctttat tgtcgttttg ggataagctg gaattttgcc 60
gctgtgtttt tttctactta tttccgtcac tgctttcgac tggtcagaga ttttgactct 120
gaattgttgc agatagcaat ggcgtctgga gcagtagcag atcatcaa atgaagcgggt 180
tcaggaaaaa gagtcgcagt cgtaggtgca ggtgtaagt gacttgcggc ggcttacaag 240
ttgaaatcga ggggtttgaa tgtgactgtg tttgaagctg atggaagagt aggtgggaag 300
ttgagaagtg ttatgcaaaa tggtttgatt tgggatgaag gagcaaacac catgactgag 360
gctgagccag aagttgggag tttacttgat gatcttgggc ttcgtgagaa acaacaattt 420
ccaatttcac agaaaaagcg gtatattgtg cggaatgggtg tacctgtgat gctacctacc 480
aatcccatag agctgggtcac aagtagtgtg ctctctaccc aatctaagtt tcaaatcttg 540
ttggaaccat ttttatggaa gaaaaagtcc tcaaaagtct cagatgcac tgctgaagaa 600
agtgtgaagcg agttctttca acgccatttt ggacaagagg ttgttgacta tctcatcgac 660
ccttttggtg gtggaacaag tgctgcggac cctgattccc tttcaatgaa gcattctttc 720
ccagatctct ggaatagttt tggctctatt atagtcgggtg caatcagaac aaagtttgct 780
gctaaagggtg gtaaaagtag agacacaaag agttctcctg gcacaaaaaa gggttcgcgt 840
gggtcattct cttttaaggg gggaatgcag attcttcctg atacgttggtg caaaagtctc 900
tcacatgatg agatcaattt agactccaag gtactctctt tgtcttaca ttctggatca 960
agacaggaga actgggtcatt atcttggtgt tgcataatg aaacgcagag acaaaacccc 1020
cattatgatg ctgctcctct gtgcaatgtg aaggagatga aggttatgaa aggaggacaa 1080
ccctttcagc taaactttct ccccgagatt aattacatgc ccctctcggt tttaatcacc 1140
acattcacia aggagaaagt aaagagacct cttgaaggct ttgggggtact cattccatct 1200
aaggagcaaa agcatgggtt caaaactcta ggtacacttt tttcatcaat gatgtttcca 1260
gatcgttccc ctagtgcagt tcatctatat acaactttta ttgggtgggag taggaaccag 1320
gaactagcca aagcttccac tgacgaatta aaacaagttg tgacttctga ccttcagcga 1380
ctgttggggg ttgaagggtg acccgtgtct gtcaaccatt actattggag gaaagcattc 1440
ccgttgatg acagcagcta tgactcagtc atggaagcaa ttgacaagat ggagaatgat 1500
ctacctgggt tcttctatgc aggtaatcat cgaggggggc tctctgttg gaaatcaata 1560
gcatcagggt gcaaagcagc tgacctgtg atctcatacc tggagtcttg ctcaaagac 1620
aagaaaccaa atgacagctt ataa 1644

MD 4683 C1 2020.12.31

131

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

<210> 10
<211> 547
<212> PRT
<213> Arabidopsis thaliana

<400> 10

Met Gly Leu Ile Lys Asn Gly Thr Leu Tyr Cys Arg Phe Gly Ile Ser
1 5 10 15

Trp Asn Phe Ala Ala Val Phe Phe Ser Thr Tyr Phe Arg His Cys Phe
20 25 30

Arg Leu Val Arg Asp Phe Asp Ser Glu Leu Leu Gln Ile Ala Met Ala
35 40 45

Ser Gly Ala Val Ala Asp His Gln Ile Glu Ala Val Ser Gly Lys Arg
50 55 60

Val Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys
65 70 75 80

Leu Lys Ser Arg Gly Leu Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Asp Gly Arg
85 90 95

Val Gly Gly Lys Leu Arg Ser Val Met Gln Asn Gly Leu Ile Trp Asp
100 105 110

Glu Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ala Glu Pro Glu Val Gly Ser Leu
115 120 125

Leu Asp Asp Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Phe Pro Ile Ser Gln
130 135 140

Lys Lys Arg Tyr Ile Val Arg Asn Gly Val Pro Val Met Leu Pro Thr
145 150 155 160

Asn Pro Ile Glu Leu Val Thr Ser Ser Val Leu Ser Thr Gln Ser Lys
165 170 175

Phe Gln Ile Leu Leu Glu Pro Phe Leu Trp Lys Lys Lys Ser Ser Lys
180 185 190

Val Ser Asp Ala Ser Ala Glu Glu Ser Val Ser Glu Phe Phe Gln Arg
195 200 205

His Phe Gly Gln Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Gly
210 215 220

Gly Thr Ser Ala Ala Asp Pro Asp Ser Leu Ser Met Lys His Ser Phe
225 230 235 240

Pro Asp Leu Trp Asn Ser Phe Gly Ser Ile Ile Val Gly Ala Ile Arg
245 250 255

MD 4683 C1 2020.12.31

132

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Thr Lys Phe Ala Ala Lys Gly Gly Lys Ser Arg Asp Thr Lys Ser Ser
260 265 270

Pro Gly Thr Lys Lys Gly Ser Arg Gly Ser Phe Ser Phe Lys Gly Gly
275 280 285

Met Gln Ile Leu Pro Asp Thr Leu Cys Lys Ser Leu Ser His Asp Glu
290 295 300

Ile Asn Leu Asp Ser Lys Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Gly Ser
305 310 315 320

Arg Gln Glu Asn Trp Ser Leu Ser Cys Val Ser His Asn Glu Thr Gln
325 330 335

Arg Gln Asn Pro His Tyr Asp Ala Ala Pro Leu Cys Asn Val Lys Glu
340 345 350

Met Lys Val Met Lys Gly Gly Gln Pro Phe Gln Leu Asn Phe Leu Pro
355 360 365

Glu Ile Asn Tyr Met Pro Leu Ser Val Leu Ile Thr Thr Phe Thr Lys
370 375 380

Glu Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu Ile Pro Ser
385 390 395 400

Lys Glu Gln Lys His Gly Phe Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser
405 410 415

Met Met Phe Pro Asp Arg Ser Pro Ser Asp Val His Leu Tyr Thr Thr
420 425 430

Phe Ile Gly Gly Ser Arg Asn Gln Glu Leu Ala Lys Ala Ser Thr Asp
435 440 445

Glu Leu Lys Gln Val Val Thr Ser Asp Leu Gln Arg Leu Leu Gly Val
450 455 460

Glu Gly Glu Pro Val Ser Val Asn His Tyr Tyr Trp Arg Lys Ala Phe
465 470 475 480

Pro Leu Tyr Asp Ser Ser Tyr Asp Ser Val Met Glu Ala Ile Asp Lys
485 490 495

Met Glu Asn Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn His Arg Gly
500 505 510

Gly Leu Ser Val Gly Lys Ser Ile Ala Ser Gly Cys Lys Ala Ala Asp
515 520 525

MD 4683 C1 2020.12.31

133

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Leu Val Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Cys Ser Asn Asp Lys Lys Pro Asn
530 535 540

Asp Ser Leu
545

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

134

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
tttctgtctc ggtatgcata caaatga

1647

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

<400> 12

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

MD 4683 C1 2020.12.31

135

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Lys Leu Glu Glu Thr Gly Gly Ser Ile
245 250 255

Ile Gly Gly Thr Phe Lys Ala Ile Lys Glu Arg Ser Ser Thr Pro Lys
260 265 270

Ala Pro Arg Asp Pro Arg Leu Pro Lys Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly
275 280 285

Ser Phe Arg Lys Gly Leu Arg Met Leu Pro Asp Ala Ile Ser Ala Arg
290 295 300

Leu Gly Ser Lys Leu Lys Leu Ser Trp Lys Leu Ser Ser Ile Thr Lys
305 310 315

Ser Glu Lys Gly Gly Tyr His Leu Thr Tyr Glu Thr Pro Glu Gly Val
325 330 335

Val Ser Leu Gln Ser Arg Ser Ile Val Met Thr Val Pro Ser Tyr Val
340 345 350

Ala Ser Asn Ile Leu Arg Pro Leu Ser Val Ala Ala Ala Asp Ala Leu
355 360 365

Ser Asn Phe Tyr Tyr Pro Pro Val Gly Ala Val Thr Ile Ser Tyr Pro
370 375 380

Gln Glu Ala Ile Arg Asp Glu Arg Leu Val Asp Gly Glu Leu Lys Gly
385 390 395 400

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

Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn Arg Ala Pro Lys Gly Arg Val
420 425 430

Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ala Lys Asn Pro Glu Ile Leu Ser
435 440 445

Lys Thr Glu Ser Gln Leu Val Glu Val Val Asp Arg Asp Leu Arg Lys
450 455 460

Met Leu Ile Lys Pro Lys Ala Gln Asp Pro Leu Val Val Gly Val Arg
465 470 475 480

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

136

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly Val Ala Leu Gly Arg Cys Val
515 520 525

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

Tyr Ala Tyr Lys
545

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

<400> 13
atgacatctc tcacagacgt ttgttccctc aactgttgcc gtagctggtc ttcccttccg 60
ccaccggttt ctggtgggtc gttgacgtca aagaatccta ggtacctaata cacgtatagt 120
ccggcgcatc gcaaatgcaa taggtggagg ttccgctgct ctatagccaa ggattcccca 180
attactcctc ccatttcaaa tgagttcaac tctcagccat tggtggactg tgtcattgtg 240
ggcgccggca ttagcggcct ttgcattgct caggccctag cgactaaaca cgcctccgtc 300
tctccggatg tgatcgtcac cgaggcacga gacagagtcg ggggtaatat atcaacgggt 360
gaaagggatg gctatctctg ggaagaaggc cctaacagct tccagccatc tgatgccatg 420
ctcaccatgg tgggtggatg tgggttgaag gatgatttgg tggttaggtga cccaacagca 480
ccccgctttg tattatgggg aggtgatttg aaaccgggtc cttccaaacc ggtgacctc 540
cctttctttg acctcatgag ctttcttggg aaactcagag ccggtttttg tgctcttggg 600
ttccgtcctt cacctccaga tcgcaagaa tcggttgagg agtttggttag acgtaatctt 660
ggagatgaag ttttcgaacg cttgatagaa ctttttggct cagggtgtta tgctgggtgat 720
ccatcaaac ttagtatgaa agcagcattt gggaaggctt ggaatctgga gcaaatgggt 780
ggtagcattg ttggtggagc cttcaaggct attcaggaca gaaagaatag tcaaaagcct 840
ccacgggacc cgaggttacc gaaaccaaag ggccaaactg ttggatcttt taggaaagga 900
caagcgatgt tgcctaattg aatctcaacg aggttaggta gcagagtga attgtgttgg 960
aagctcacga gtatttcaaa attggagaat agagggtata atttgacata tgaacacca 1020
caaggatttg aaagtctgca gactaaaact atcgtgatga ctgttccatc ctacgtggcg 1080
agtgacttgt tgcgtccgct ttcgttgggt gcagcagatg cattgtcaaa attttattat 1140
cctccggttg cagctgtatc aatttcatat ccaaaagacg caattcgtgc tgaccggctg 1200
attgatggtc aactcaaagg ttttgggcaa ttgcatccac gaagtcaagg ggtggaaact 1260
ttaggtacga tctacagttc atctcttttc cctaaccgag cgccacctgg aagggttctg 1320
ctcttgaact acatcggagg ggctacaaat cctgaaattc tatcaaagac ggagggcgaa 1380
attgtggatg cggtggaccg ggacctacgg acgatgctga taaggcgtga tgcggaagat 1440
ccattgacgt tgggggtgct ggtgtggcct cgagcaatcc cgcagtttct gatcgggtcat 1500
tatgacattc tagattctgc aaaagctgct ctgagtagcg gtggattcca aggtatgttt 1560

MD 4683 C1 2020.12.31

137

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

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

<400> 14

Met Thr Ser Leu Thr Asp Val Cys Ser Leu Asn Cys Cys Arg Ser Trp
1 5 10 15

Ser Ser Leu Pro Pro Pro Val Ser Gly Gly Ser Leu Thr Ser Lys Asn
20 25 30

Pro Arg Tyr Leu Ile Thr Tyr Ser Pro Ala His Arg Lys Cys Asn Arg
35 40 45

Trp Arg Phe Arg Cys Ser Ile Ala Lys Asp Ser Pro Ile Thr Pro Pro
50 55 60

Ile Ser Asn Glu Phe Asn Ser Gln Pro Leu Leu Asp Cys Val Ile Val
65 70 75 80

Gly Ala Gly Ile Ser Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ala Leu Ala Thr Lys
85 90 95

His Ala Ser Val Ser Pro Asp Val Ile Val Thr Glu Ala Arg Asp Arg
100 105 110

Val Gly Gly Asn Ile Ser Thr Val Glu Arg Asp Gly Tyr Leu Trp Glu
115 120 125

Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Ser Asp Ala Met Leu Thr Met Val
130 135 140

Val Asp Ser Gly Leu Lys Asp Asp Leu Val Leu Gly Asp Pro Thr Ala
145 150 155 160

Pro Arg Phe Val Leu Trp Gly Gly Asp Leu Lys Pro Val Pro Ser Lys
165 170 175

Pro Ala Asp Leu Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Phe Pro Gly Lys Leu
180 185 190

Arg Ala Gly Phe Gly Ala Leu Gly Phe Arg Pro Ser Pro Pro Asp Arg
195 200 205

Glu Glu Ser Val Glu Glu Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Asp Glu Val
210 215 220

MD 4683 C1 2020.12.31

138

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
Phe Glu Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp
225 230 235 240

Pro Ser Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Asn Leu
245 250 255

Glu Gln Asn Gly Gly Ser Ile Val Gly Gly Ala Phe Lys Ala Ile Gln
260 265 270

Asp Arg Lys Asn Ser Gln Lys Pro Pro Arg Asp Pro Arg Leu Pro Lys
275 280 285

Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg Lys Gly Gln Ala Met Leu
290 295 300

Pro Asn Ala Ile Ser Thr Arg Leu Gly Ser Arg Val Lys Leu Cys Trp
305 310 315 320

Lys Leu Thr Ser Ile Ser Lys Leu Glu Asn Arg Gly Tyr Asn Leu Thr
325 330 335

Tyr Glu Thr Pro Gln Gly Phe Glu Ser Leu Gln Thr Lys Thr Ile Val
340 345 350

Met Thr Val Pro Ser Tyr Val Ala Ser Asp Leu Leu Arg Pro Leu Ser
355 360 365

Leu Gly Ala Ala Asp Ala Leu Ser Lys Phe Tyr Tyr Pro Pro Val Ala
370 375 380

Ala Val Ser Ile Ser Tyr Pro Lys Asp Ala Ile Arg Ala Asp Arg Leu
385 390 395 400

Ile Asp Gly Gln Leu Lys Gly Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Ser Gln
405 410 415

Gly Val Glu Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn
420 425 430

Arg Ala Pro Pro Gly Arg Val Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ala
435 440 445

Thr Asn Pro Glu Ile Leu Ser Lys Thr Glu Gly Glu Ile Val Asp Ala
450 455 460

Val Asp Arg Asp Leu Arg Thr Met Leu Ile Arg Arg Asp Ala Glu Asp
465 470 475 480

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

Leu Ile Gly His Tyr Asp Ile Leu Asp Ser Ala Lys Ala Ala Leu Ser
Seite 21

MD 4683 C1 2020.12.31

139

500 PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt 505 510

Ser Gly Gly Phe Gln Gly Met Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly
515 520 525

Val Ala Leu Gly Lys Cys Val Glu Ala Ala Tyr Asp Val Ala Ala Glu
530 535 540

Val Met Asn Phe Leu Ser Gln Gly Val Tyr Lys
545 550 555

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

<400> 15
atgagcgcta tggcgttatc gagtacaatg gccctttcgt tgccgcaatc ttctatgtca 60
ttatccatt gtaggcacaa ccgtatcacc attttgattc catcttcgtc gcttcgaaga 120
cgaggaggaa gctctatccg ctgctctaca atctcaacct ctaattccgc ggctgcagcc 180
aattaccaga acaaaaacat aggcacaaac ggagttgacg gcggcggagg cggaggaggt 240
gtgttagact gtgtgattgt aggaggtgga atcagtggac ttgcatgtgc acaggctcta 300
tctactaaat actccaacct ctccacgaat ttcattgtca ccgaggctaa ggatcgagtt 360
ggcgggaaca tcaactacat ggaagctgat gggatattat gggaagaggg tcctaatagc 420
tttcagccat ctgatgcagt gtcaccatg gctgttgaca gtggtttgaa agaggaattg 480
gtgctgggag atcccaattc gcctcgcttt gtgctgtgga atggcaaatt aaggcctgta 540
ccttccaagc tcaactgacct ccctttcttt gatctcatga gcttccttg aaagattagg 600
gctggtcttg gtgctcttg cttacgacca tctcctccgg ctcatgagga atccgttgaa 660
caatttgctc gtcgtaattc tggtagatg gtctttgaac gcttgatcga acctttttgt 720
tcagggtgtg atgctggtga tccttccaag ttgagtatga aagctgcttt tggcagggtt 780
tgggtcttg agcaaaagg tggtagatc attggtggca ccctcaaaac aatccaggaa 840
agaaaggata atcctaagcc acctcgagac ccgcgcctcc ccaaaccaaa gggccagaca 900
gttgatcct tcaggaaagg actgagtatg ttgccaaccg ccatttctga aaggcttggc 960
aacaagtga aagtatcatg gaccctttct ggtattgcta agtcgtcgaa cggagagtat 1020
aatctgactt atgaaacacc agatggactg gtttccgtta ggacaaaag tgttgtgatg 1080
actgtcccgt catatgttgc aagtagctc cttcgtccac ttccagatgt cgccgcagaa 1140
tctctttcaa aatttcatta tccaccagtt gcagctgtgt cactttccta tcctaaagaa 1200
gcaattagat cagagtgtt gattgacggg gaacttaaag gattcgggca attacattcc 1260
cgcagtcaag gtgtggaac cttggaaca atttatagtt catctctttt ccctgggcga 1320
gcaccacctg gtaggacctt gattttgaac tacattggag gtgatactaa ccctggcata 1380
ttagacaaga cgaaagatga actagctgaa gcagttgaca gggatttgag aagaattctc 1440

MD 4683 C1 2020.12.31

140

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 ataaacccta atgcaaaagc tccccgggtt ttgggtgtga gagtatggcc acaagcaatt 1500
 ccccaatttt taattggcca ctttgatctg ctcatgagc caaaagctgc ttgactgat 1560
 ggtggacaca aaggattgtt tcttggtgga aactatgtat cagggtgttc tttgggccga 1620
 tgtatagagg gtgcttatga atctgcagcc gaggtttag attttctgtc acagtactcg 1680
 gataaatag 1689

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

<400> 16

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

Ser Ser Met Ser Leu Ser His Cys Arg His Asn Arg Ile Thr Ile Leu
 20 25 30

Ile Pro Ser Ser Ser Leu Arg Arg Arg Gly Gly Ser Ser Ile Arg Cys
 35 40 45

Ser Thr Ile Ser Thr Ser Asn Ser Ala Ala Ala Ala Asn Tyr Gln Asn
 50 55 60

Lys Asn Ile Gly Thr Asn Gly Val Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Val Leu Asp Cys Val Ile Val Gly Gly Gly Ile Ser Gly Leu Cys Ile
 85 90 95

Ala Gln Ala Leu Ser Thr Lys Tyr Ser Asn Leu Ser Thr Asn Phe Ile
 100 105 110

Val Thr Glu Ala Lys Asp Arg Val Gly Gly Asn Ile Thr Thr Met Glu
 115 120 125

Ala Asp Gly Tyr Leu Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Ser
 130 135 140

Asp Ala Val Leu Thr Met Ala Val Asp Ser Gly Leu Lys Glu Glu Leu
 145 150 155 160

Val Leu Gly Asp Pro Asn Ser Pro Arg Phe Val Leu Trp Asn Gly Lys
 165 170 175

Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Leu Thr Asp Leu Pro Phe Phe Asp Leu
 180 185 190

Met Ser Phe Pro Gly Lys Ile Arg Ala Gly Leu Gly Ala Leu Gly Leu
 195 200 205

MD 4683 C1 2020.12.31

141

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Arg Pro Ser Pro Pro Ala His Glu Glu Ser Val Glu Gln Phe Val Arg
210 215 220

Arg Asn Leu Gly Asp Glu Val Phe Glu Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys
225 230 235 240

Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala
245 250 255

Phe Gly Arg Val Trp Val Leu Glu Gln Lys Gly Gly Ser Ile Ile Gly
260 265 270

Gly Thr Leu Lys Thr Ile Gln Glu Arg Lys Asp Asn Pro Lys Pro Pro
275 280 285

Arg Asp Pro Arg Leu Pro Lys Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe
290 295 300

Arg Lys Gly Leu Ser Met Leu Pro Thr Ala Ile Ser Glu Arg Leu Gly
305 310 315 320

Asn Lys Val Lys Val Ser Trp Thr Leu Ser Gly Ile Ala Lys Ser Ser
325 330 335

Asn Gly Glu Tyr Asn Leu Thr Tyr Glu Thr Pro Asp Gly Leu Val Ser
340 345 350

Val Arg Thr Lys Ser Val Val Met Thr Val Pro Ser Tyr Val Ala Ser
355 360 365

Ser Leu Leu Arg Pro Leu Ser Asp Val Ala Ala Glu Ser Leu Ser Lys
370 375 380

Phe His Tyr Pro Pro Val Ala Ala Val Ser Leu Ser Tyr Pro Lys Glu
385 390 395 400

Ala Ile Arg Ser Glu Cys Leu Ile Asp Gly Glu Leu Lys Gly Phe Gly
405 410 415

Gln Leu His Ser Arg Ser Gln Gly Val Glu Thr Leu Gly Thr Ile Tyr
420 425 430

Ser Ser Ser Leu Phe Pro Gly Arg Ala Pro Pro Gly Arg Thr Leu Ile
435 440 445

Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Asp Thr Asn Pro Gly Ile Leu Asp Lys Thr
450 455 460

Lys Asp Glu Leu Ala Glu Ala Val Asp Arg Asp Leu Arg Arg Ile Leu
465 470 475 480

MD 4683 C1 2020.12.31

142

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Ile Asn Pro Asn Ala Lys Ala Pro Arg Val Leu Gly Val Arg Val Trp
 485 490 495

Pro Gln Ala Ile Pro Gln Phe Leu Ile Gly His Phe Asp Leu Leu Asp
 500 505 510

Ala Ala Lys Ala Ala Leu Thr Asp Gly Gly His Lys Gly Leu Phe Leu
 515 520 525

Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly Val Ala Leu Gly Arg Cys Ile Glu Gly
 530 535 540

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

Asp Lys

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

143

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

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

<400> 18

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

Leu Val Ser Pro Thr Lys Asn Asn Pro Val Met Gly Asn Val Ser Glu	
20 25 30	

Arg Asn Gln Val Asn Gln Pro Ile Ser Ala Lys Arg Val Ala Val Val	
35 40 45	

Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu Lys Ser Asn	
50 55 60	

Gly Leu Asn Val Thr Leu Phe Glu Ala Asp Ser Arg Ala Gly Gly Lys	
65 70 75 80	

Leu Lys Thr Val Val Lys Asp Gly Leu Ile Trp Asp Glu Gly Ala Asn	
85 90 95	

Thr Met Thr Glu Ser Asp Glu Glu Val Thr Ser Leu Phe Asp Asp Leu	
100 105 110	

Gly Ile Arg Glu Lys Leu Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn Lys Arg Tyr	
115 120 125	

Ile Ala Arg Asp Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn Pro Val Ala	
130 135 140	

Leu Leu Lys Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu Gln Ile Met	
145 150 155 160	

Leu Glu Pro Phe Leu Trp Lys Lys His Asn Gly Ala Lys Val Ser Asp	
165 170 175	

Glu Asn Ala Gln Glu Ser Val Ala Glu Phe Phe Glu Arg His Phe Gly	
180 185 190	

MD 4683 C1 2020.12.31

144

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Lys Glu Phe Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr Ser
195 200 205

Gly Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met Arg His Ala Phe Pro Glu Leu
210 215 220

Trp Asn Ile Glu Asn Arg Phe Gly Ser Val Ile Ser Gly Phe Ile Gln
225 230 235 240

Ser Lys Leu Ser Ser Lys Lys Glu Lys Gly Gly Glu Lys Gln Ser Ser
245 250 255

Asn Lys Lys Pro Arg Val Arg Gly Ser Phe Ser Phe Gln Gly Gly Met
260 265 270

Gln Thr Leu Val Asp Thr Ile Cys Lys Glu Phe Gly Glu Asp Glu Leu
275 280 285

Lys Leu Gln Ser Glu Val Leu Ser Leu Ser Tyr Ser His Asn Gly Ser
290 295 300

Leu Thr Ser Glu Asn Trp Ser Val Ser Ser Met Ser Asn Ser Thr Ile
305 310 315 320

Gln Asp Gln Pro Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro Ile Asn Asn
325 330 335

Val Lys Glu Leu Lys Ile Met Lys Val Glu Asn Pro Phe Ser Leu Asp
340 345 350

Phe Ile Pro Glu Val Ser Cys Leu Pro Leu Ser Val Ile Ile Thr Thr
355 360 365

Phe Lys Lys Thr Asn Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu
370 375 380

Val Pro Ser Asn Glu Gln His Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu
385 390 395 400

Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Val Tyr Leu
405 410 415

Tyr Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Glu Leu Ala Lys Ala
420 425 430

Ser Thr Asp Glu Leu Lys Gln Ile Val Ser Ser Asp Leu Gln Gln Leu
435 440 445

Leu Gly Thr Glu Gly Glu Pro Thr Phe Val Asn His Phe Tyr Trp Ser
450 455 460

MD 4683 C1 2020.12.31

145

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Lys Ala Phe Pro Leu Tyr Gly Arg Asn Tyr Asp Ser Val Leu Arg Ala
465 470 475 480

Ile Glu Lys Met Glu Arg Asp Leu Pro Gly Leu Phe Tyr Ala Gly Asn
485 490 495

His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ser Ile Ala Ser Gly Tyr Lys
500 505 510

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

Glu Thr Ile
530

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

146

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
gaaacactag gaacaatata tagttcatca ctctttccta accgtgctcc aaatggccgg 1320
gtgctactct tgaactacat tggaggagca acaaatactg aaattgtgtc taagacggag 1380
agccaacttg tggaagcagt tgaccgtgac ctcagaaaaa tgcttataaa acccaaagca 1440
caagatccct ttgttacggg tgtgcgagta tggccacaag ctatcccaca gtttttggtc 1500
ggacatctgg atacactagg tactgcaaaa actgctctaa gtgataatgg gcttgacggg 1560
ctattccttg ggggtaatta tgtgtctggt gtagcattgg gaagggtgtg tgaagggtgt 1620
tatgaaatag catctgaggt aactggattt ctgtctcagt atgcatacaa atga 1674

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

<400> 20

Met Thr Thr Thr Ala Val Ala Asn His Pro Ser Ile Phe Thr His Arg
1 5 10 15

Ser Pro Leu Pro Ser Pro Ser Ser Ser Ser Ser Pro Ser Phe Leu
20 25 30

Phe Leu Asn Arg Thr Asn Phe Ile Pro Tyr Phe Ser Thr Ser Lys Arg
35 40 45

Asn Ser Val Asn Cys Asn Gly Trp Arg Thr Arg Cys Ser Val Ala Lys
50 55 60

Asp Tyr Thr Val Pro Pro Ser Glu Val Asp Gly Asn Gln Phe Pro Glu
65 70 75 80

Leu Asp Cys Val Val Val Gly Ala Gly Ile Ser Gly Leu Cys Ile Ala
85 90 95

Lys Val Ile Ser Ala Asn Tyr Pro Asn Leu Met Val Thr Glu Ala Arg
100 105 110

Asp Arg Ala Gly Gly Asn Ile Thr Thr Val Glu Arg Asp Gly Tyr Leu
115 120 125

Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Met Leu Thr
130 135 140

Met Ala Val Asp Cys Gly Leu Lys Asp Asp Leu Val Leu Gly Asp Pro
145 150 155 160

Asp Ala Pro Arg Phe Val Leu Trp Lys Asp Lys Leu Arg Pro Val Pro
165 170 175

Gly Lys Leu Thr Asp Leu Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Pro Gly
180 185 190

MD 4683 C1 2020.12.31

147

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Lys Leu Arg Ala Gly Phe Gly Ala Ile Gly Leu Arg Pro Ser Pro Pro
195 200 205

Gly Tyr Glu Glu Ser Val Glu Gln Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Ala
210 215 220

Glu Val Phe Glu Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala
225 230 235 240

Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ile Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp
245 250 255

Lys Leu Glu Gln Thr Gly Gly Ser Ile Ile Gly Gly Thr Phe Lys Ala
260 265 270

Ile Lys Glu Arg Ser Ser Asn Pro Lys Pro Pro Arg Asp Pro Arg Leu
275 280 285

Pro Thr Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg Lys Gly Leu Arg
290 295 300

Met Leu Pro Asp Ala Ile Cys Glu Arg Leu Gly Ser Lys Val Lys Leu
305 310 315 320

Ser Trp Lys Leu Ser Ser Ile Thr Lys Ser Glu Lys Gly Gly Tyr Leu
325 330 335

Leu Thr Tyr Glu Thr Pro Glu Gly Val Val Ser Leu Arg Ser Arg Ser
340 345 350

Ile Val Met Thr Val Pro Ser Tyr Val Ala Ser Asn Ile Leu Arg Pro
355 360 365

Leu Ser Val Ala Ala Ala Asp Ala Leu Ser Ser Phe Tyr Tyr Pro Pro
370 375 380

Val Ala Ala Val Thr Ile Ser Tyr Pro Gln Glu Ala Ile Arg Asp Glu
385 390 395 400

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

Ser Gln Gly Val Glu Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe
420 425 430

Pro Asn Arg Ala Pro Asn Gly Arg Val Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly
435 440 445

Gly Ala Thr Asn Thr Glu Ile Val Ser Lys Thr Glu Ser Gln Leu Val
450 455 460

MD 4683 C1 2020.12.31

148

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Glu Ala Val Asp Arg Asp Leu Arg Lys Met Leu Ile Lys Pro Lys Ala
 465 470 475 480

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

Gln Phe Leu Val Gly His Leu Asp Thr Leu Gly Thr Ala Lys Thr Ala
 500 505 510

Leu Ser Asp Asn Gly Leu Asp Gly Leu Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val
 515 520 525

Ser Gly Val Ala Leu Gly Arg Cys Val Glu Gly Ala Tyr Glu Ile Ala
 530 535 540

Ser Glu Val Thr Gly Phe Leu Ser Gln Tyr Ala Tyr Lys
 545 550 555

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

149

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

ttaggaacaa tatacagttc ctactcttt ccaaatcgtg ctcctgacgg taggggtgta	1260
cttctaaact acataggagg tgctacaaac acaggaattg tttccaagac tgaaagtgag	1320
ctggtcgaag cagttgaccg tgacctccga aaaatgctta taaattctac agcagtggac	1380
ccttttagtcc ttggtgttcg agtttgcca caagccatac ctgagttcct ggtaggacat	1440
cttgatcttc tggaagccgc aaaagctgcc ctggaccgag gtggctacga tgggctgttc	1500
ctaggaggga actatgttgc aggagttgcc ctgggcagat gcgttgaggg cgcgtatgaa	1560
agtcctcgc aaatatctga cttcttgacc aagtatgcct acaagtga	1608

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

<400> 22

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

Leu Asn Gly Thr Arg Ile Pro Ala Arg Leu Arg His Arg Gly Leu Ser
 20 25 30

Val Arg Cys Ala Ala Val Ala Gly Gly Ala Ala Glu Ala Pro Ala Ser
 35 40 45

Thr Gly Ala Arg Leu Ser Ala Asp Cys Val Val Val Gly Gly Gly Ile
 50 55 60

Ser Gly Leu Cys Thr Ala Gln Ala Leu Ala Thr Arg His Gly Val Gly
 65 70 75 80

Asp Val Leu Val Thr Glu Ala Arg Ala Arg Pro Gly Gly Asn Ile Thr
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Pro Glu Glu Gly Tyr Leu Trp Glu Glu Gly Pro Asn
 100 105 110

Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Val Leu Thr Met Ala Val Asp Ser Gly
 115 120 125

Leu Lys Asp Asp Leu Val Phe Gly Asp Pro Asn Ala Pro Arg Phe Val
 130 135 140

Leu Trp Glu Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Pro Ala Asp Leu
 145 150 155 160

Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Pro Gly Lys Leu Arg Ala Gly Leu
 165 170 175

Gly Ala Leu Gly Ile Arg Pro Pro Pro Gly Arg Glu Glu Ser Val
 180 185 190

MD 4683 C1 2020.12.31

150

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Glu Glu Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Ala Glu Val Phe Glu Arg Leu
195 200 205

Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu
210 215 220

Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Arg Leu Glu Glu Thr Gly
225 230 235 240

Gly Ser Ile Ile Gly Gly Thr Ile Lys Thr Ile Gln Glu Arg Ser Lys
245 250 255

Asn Pro Lys Pro Pro Arg Asp Ala Arg Leu Pro Lys Pro Lys Gly Gln
260 265 270

Thr Val Ala Ser Phe Arg Lys Gly Leu Ala Met Leu Pro Asn Ala Ile
275 280 285

Thr Ser Ser Leu Gly Ser Lys Val Lys Leu Ser Trp Lys Leu Thr Ser
290 295 300

Ile Thr Lys Ser Asp Asp Lys Gly Tyr Val Leu Glu Tyr Glu Thr Pro
305 310 315 320

Glu Gly Val Val Ser Val Gln Ala Lys Ser Val Ile Met Thr Ile Pro
325 330 335

Ser Tyr Val Ala Ser Asn Ile Leu Arg Pro Leu Ser Ser Asp Ala Ala
340 345 350

Asp Ala Leu Ser Arg Phe Tyr Tyr Pro Pro Val Ala Ala Val Thr Val
355 360 365

Ser Tyr Pro Lys Glu Ala Ile Arg Lys Glu Cys Leu Ile Asp Gly Glu
370 375 380

Leu Gln Gly Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Ser Gln Gly Val Glu Thr
385 390 395 400

Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn Arg Ala Pro Asp
405 410 415

Gly Arg Val Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ala Thr Asn Thr Gly
420 425 430

Ile Val Ser Lys Thr Glu Ser Glu Leu Val Glu Ala Val Asp Arg Asp
435 440 445

Leu Arg Lys Met Leu Ile Asn Ser Thr Ala Val Asp Pro Leu Val Leu
450 455 460

MD 4683 C1 2020.12.31

151

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Gly Val Arg Val Trp Pro Gln Ala Ile Pro Gln Phe Leu Val Gly His
465 470 475 480

Leu Asp Leu Leu Glu Ala Ala Lys Ala Ala Leu Asp Arg Gly Gly Tyr
485 490 495

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

Arg Cys Val Glu Gly Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Gln Ile Ser Asp Phe
515 520 525

Leu Thr Lys Tyr Ala Tyr Lys
530 535

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

<400> 23
atgctcgctt tgactgcctc agcctcatcc gcttcgtccc atccttatcg ccacgcctcc 60
gcgcacactc gtcgcccccg cctacgtgcg gtcctcgcga tggcgggctc cgacgacccc 120
cgtgcagcgc ccgccagatc ggtcgccgctc gtcggcgccg gggtcagcgg gctcgcggcg 180
gcgtacaggc tcagacagag cggcgtgaac gtaacggtgt tcgaagcggc cgacagggcg 240
ggaggaaaga tacggaccaaa ttccgagggc gggtttgtct gggatgaagg agctaacacc 300
atgacagaag gtgaatggga ggccagtaga ctgattgatg atcttggctt acaagacaaa 360
cagcagtatc ctaactccca acacaagcgt tacattgtca aagatggagc accagcactg 420
attccttcgg atccccattt gctaataaaa agcagtgttc ttctgacaaa atcaaagatt 480
gcgttatttt ttgaaccatt tctctacaag aaagctaaca caagaaactc tggaaaagtg 540
tctgaggagc acttgagtga gagtgttggg agcttctgtg aacgccactt tggaaagagaa 600
gttgattgact attttgttga tccatttcta gctggaacaa gtgcaggaga tccagagtca 660
ctatctattc gtcattgcatt cccagcattg tggaaatttg aaagaaagta tggttcagtt 720
attgttgggtg ccatcttgct taagctagca gctaaagggtg atccagtaaa gacaagacat 780
gattcatcag ggaaaagaag gaatagacga gtgtcgtttt catttcatgg tggaaatgcag 840
tcactaataa atgcacttca caatgaagtt ggagatgata atgtgaagct tggtagagaa 900
gtgttgtcat tggcatgtac atttgatgga gttcctgcac taggcagggtg gtcaatttct 960
gttgattcga aggatagcgg tgacaaggac cttgctagta accaaacctt tgatgctgtt 1020
ataatgacag ctccattgtc aaatgtccgg aggatgaagt tcaccaaagg tggagctccg 1080
gttgttcttg actttcttcc taagatggat tatctaccac tatctctcat ggtgactgct 1140
tttaagaagg atgatgtcaa gaaacctctg gaaggatttg gggctttaat accttacaag 1200
gaacagcaaa aacatgggtct gaaaaccctt gggactctct ttctctcaat gatgttccca 1260

MD 4683 C1 2020.12.31

152

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
gatcgagctc ctgatgacca atatttatat acaacatttg ttgggggtag ccacaataga 1320
gatcttgctg gagctccaac gtctattctg aaacaacttg tgacctctga ccttaaaaaa 1380
ctcttgggcg tagaggggca accaactttt gtcaagcatg tatactgggg aaatgctttt 1440
cctttgtatg gccatgatta tagttctgta ttggaagcta tagaaaagat ggagaaaaac 1500
cttccagggt tcttctacgc aggaaatagc aaggatgggc ttgctgttgg aagtgttata 1560
gcttcaggaa gcaaggctgc tgaccttgca atctcatatc ttgaatctca caccaagcat 1620
aataattcac attga 1635

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

<400> 24

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

Arg His Ala Ser Ala His Thr Arg Arg Pro Arg Leu Arg Ala Val Leu
20 25 30

Ala Met Ala Gly Ser Asp Asp Pro Arg Ala Ala Pro Ala Arg Ser Val
35 40 45

Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Arg Leu
50 55 60

Arg Gln Ser Gly Val Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Ala Asp Arg Ala
65 70 75 80

Gly Gly Lys Ile Arg Thr Asn Ser Glu Gly Gly Phe Val Trp Asp Glu
85 90 95

Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Gly Glu Trp Glu Ala Ser Arg Leu Ile
100 105 110

Asp Asp Leu Gly Leu Gln Asp Lys Gln Gln Tyr Pro Asn Ser Gln His
115 120 125

Lys Arg Tyr Ile Val Lys Asp Gly Ala Pro Ala Leu Ile Pro Ser Asp
130 135 140

Pro Ile Ser Leu Met Lys Ser Ser Val Leu Ser Thr Lys Ser Lys Ile
145 150 155 160

Ala Leu Phe Phe Glu Pro Phe Leu Tyr Lys Lys Ala Asn Thr Arg Asn
165 170 175

Ser Gly Lys Val Ser Glu Glu His Leu Ser Glu Ser Val Gly Ser Phe
180 185 190

MD 4683 C1 2020.12.31

153

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Cys Glu Arg His Phe Gly Arg Glu Val Val Asp Tyr Phe Val Asp Pro
195 200 205

Phe Val Ala Gly Thr Ser Ala Gly Asp Pro Glu Ser Leu Ser Ile Arg
210 215 220

His Ala Phe Pro Ala Leu Trp Asn Leu Glu Arg Lys Tyr Gly Ser Val
225 230 235 240

Ile Val Gly Ala Ile Leu Ser Lys Leu Ala Ala Lys Gly Asp Pro Val
245 250 255

Lys Thr Arg His Asp Ser Ser Gly Lys Arg Arg Asn Arg Arg Val Ser
260 265 270

Phe Ser Phe His Gly Gly Met Gln Ser Leu Ile Asn Ala Leu His Asn
275 280 285

Glu Val Gly Asp Asp Asn Val Lys Leu Gly Thr Glu Val Leu Ser Leu
290 295 300

Ala Cys Thr Phe Asp Gly Val Pro Ala Leu Gly Arg Trp Ser Ile Ser
305 310 315 320

Val Asp Ser Lys Asp Ser Gly Asp Lys Asp Leu Ala Ser Asn Gln Thr
325 330 335

Phe Asp Ala Val Ile Met Thr Ala Pro Leu Ser Asn Val Arg Arg Met
340 345 350

Lys Phe Thr Lys Gly Gly Ala Pro Val Val Leu Asp Phe Leu Pro Lys
355 360 365

Met Asp Tyr Leu Pro Leu Ser Leu Met Val Thr Ala Phe Lys Lys Asp
370 375 380

Asp Val Lys Lys Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu Ile Pro Tyr Lys
385 390 395 400

Glu Gln Gln Lys His Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser
405 410 415

Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Asp Asp Gln Tyr Leu Tyr Thr Thr
420 425 430

Phe Val Gly Gly Ser His Asn Arg Asp Leu Ala Gly Ala Pro Thr Ser
435 440 445

Ile Leu Lys Gln Leu Val Thr Ser Asp Leu Lys Lys Leu Leu Gly Val
450 455 460

MD 4683 C1 2020.12.31

154

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Glu Gly Gln Pro Thr Phe Val Lys His Val Tyr Trp Gly Asn Ala Phe
 465 470 475 480

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

Met Glu Lys Asn Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn Ser Lys Asp
 500 505 510

Gly Leu Ala Val Gly Ser Val Ile Ala Ser Gly Ser Lys Ala Ala Asp
 515 520 525

Leu Ala Ile Ser Tyr Leu Glu Ser His Thr Lys His Asn Asn Ser His
 530 535 540

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

<400> 25
 atgatgttga cccagactcc tgggaccgcc acggcttcta gccggcggtc gcagatccgc 60
 tcggctgctc acgtctccgc caaggtcgcg cctcggccca cgccattctc ggtcgcgagc 120
 cccgcgaccg ctgcgagccc cgcgaccgcg gcggcccgcc gcacactcca ccgcactgct 180
 gcggcgggcca ctggtgctcc cacggcgctc ggagccggcg tcgccaagac gctcgacaat 240
 gtgtatgacg tgatcgtggt cgggtggagg ctctcgggcc tggtgaccgg ccaggccctg 300
 gcggctcagc acaaaattca gaacttcctt gttacggagg ctgcgagcgc cgtcggcggc 360
 aacattacgt ccatgtcggg cgatggctac gtgtgggagg agggcccgaa cagcttcag 420
 cccaacgata gcatgtcga gattgcggtg gactctggct gcgagaagga cttgtgttc 480
 ggtgaccca cggtcctccg cttcgtgtgg tgggagggca agctgcgccc cgtgccctcg 540
 ggcttgagc ccttcacctt cgacctcatg tccatcccg gcaagatccg cgccgggctg 600
 ggcgccatcg gcctcatcaa cggagccatg cctccttcg aggagagtgt ggagcagttc 660
 atccgccga acctgggcga tgagggttc ttccgcctga tcgagccctt ctgctccggc 720
 gtgtacgcg gcgaccctc caagctgtcc atgaaggcgg cttcaacag gatctggatt 780
 ctggagaaga acggcggcag cctggtggga ggtgccatca agctgttcca ggaacgccag 840
 tccaacccgg ccccgccgcg ggaccgcgc ctgccgcca agcccaaggg ccagacggtg 900
 ggctcgttcc gcaagggcct gaagatgctg ccggacgcca ttgagcgcaa catccccgac 960
 aagatccgcg tgaactggaa gctggtgtct ctgggccgcg aggcggacgg gcggtacggg 1020
 ctggtgtacg acacgcccga gggccgtgtc aagggtgtttg cccgcgccgt ggctctgacc 1080
 gcgcccagct acgtggtggc ggacctggtc aaggagcagg cgcgcgccgc cgccgagggc 1140
 ctgggctcct tcgactacct gccggtgggc gccgtgacgc tgtcgtacct gctgagcgcc 1200
 gtgcgggagg agcgcaaggc ctcgacggg tccgtgccgg gcttcggtca gctgcacccg 1260
 cgcacgcagg gcatcaccac tctgggcacc atctacagct ccagcctgtt ccccgccgcg 1320

MD 4683 C1 2020.12.31

155

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

```
gcgccccgagg gccacatgct gctgctcaac tacatcggcg gcaccaccaa ccgcggcatc 1380
gtcaaccaga ccaccgagca gctggtggag caggtggaca aggacctgcg caacatggtc 1440
atcaagccccg acgcgcccaa gcccctgtgtg gtgggctgtc gcgtgtggcc gcgcgccatc 1500
ccgcagttca acctgggcca cctggagcag ctggacaagg cgcgcaaggc gctggacgcg 1560
gcggggctgc agggcgtgca cctggggggc aactacgtca gcggtgtggc cctgggcaag 1620
gtggtggagc acggctacga gtccgcagcc aacctggcca agagcgtgtc caaggccgca 1680
gtcaaggcct aa 1692
```

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

<400> 26

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

Ser Gln Ile Arg Ser Ala Ala His Val Ser Ala Lys Val Ala Pro Arg
20 25 30

Pro Thr Pro Phe Ser Val Ala Ser Pro Ala Thr Ala Ala Ser Pro Ala
35 40 45

Thr Ala Ala Ala Arg Arg Thr Leu His Arg Thr Ala Ala Ala Ala Thr
50 55 60

Gly Ala Pro Thr Ala Ser Gly Ala Gly Val Ala Lys Thr Leu Asp Asn
65 70 75 80

Val Tyr Asp Val Ile Val Val Gly Gly Gly Leu Ser Gly Leu Val Thr
85 90 95

Gly Gln Ala Leu Ala Ala Gln His Lys Ile Gln Asn Phe Leu Val Thr
100 105 110

Glu Ala Arg Glu Arg Val Gly Gly Asn Ile Thr Ser Met Ser Gly Asp
115 120 125

Gly Tyr Val Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Asn Asp Ser
130 135 140

Met Leu Gln Ile Ala Val Asp Ser Gly Cys Glu Lys Asp Leu Val Phe
145 150 155 160

Gly Asp Pro Thr Ala Pro Arg Phe Val Trp Trp Glu Gly Lys Leu Arg
165 170 175

Pro Val Pro Ser Gly Leu Asp Ala Phe Thr Phe Asp Leu Met Ser Ile
180 185 190

MD 4683 C1 2020.12.31

156

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Pro Gly Lys Ile Arg Ala Gly Leu Gly Ala Ile Gly Leu Ile Asn Gly
195 200 205

Ala Met Pro Ser Phe Glu Glu Ser Val Glu Gln Phe Ile Arg Arg Asn
210 215 220

Leu Gly Asp Glu Val Phe Phe Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly
225 230 235 240

Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Asn
245 250 255

Arg Ile Trp Ile Leu Glu Lys Asn Gly Gly Ser Leu Val Gly Gly Ala
260 265 270

Ile Lys Leu Phe Gln Glu Arg Gln Ser Asn Pro Ala Pro Pro Arg Asp
275 280 285

Pro Arg Leu Pro Pro Lys Pro Lys Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg
290 295 300

Lys Gly Leu Lys Met Leu Pro Asp Ala Ile Glu Arg Asn Ile Pro Asp
305 310 315 320

Lys Ile Arg Val Asn Trp Lys Leu Val Ser Leu Gly Arg Glu Ala Asp
325 330 335

Gly Arg Tyr Gly Leu Val Tyr Asp Thr Pro Glu Gly Arg Val Lys Val
340 345 350

Phe Ala Arg Ala Val Ala Leu Thr Ala Pro Ser Tyr Val Val Ala Asp
355 360 365

Leu Val Lys Glu Gln Ala Pro Ala Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ser Phe
370 375 380

Asp Tyr Pro Pro Val Gly Ala Val Thr Leu Ser Tyr Pro Leu Ser Ala
385 390 395 400

Val Arg Glu Glu Arg Lys Ala Ser Asp Gly Ser Val Pro Gly Phe Gly
405 410 415

Gln Leu His Pro Arg Thr Gln Gly Ile Thr Thr Leu Gly Thr Ile Tyr
420 425 430

Ser Ser Ser Leu Phe Pro Gly Arg Ala Pro Glu Gly His Met Leu Leu
435 440 445

Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Thr Thr Asn Arg Gly Ile Val Asn Gln Thr
450 455 460

MD 4683 C1 2020.12.31

157

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Thr Glu Gln Leu Val Glu Gln Val Asp Lys Asp Leu Arg Asn Met Val
465 470 475 480

Ile Lys Pro Asp Ala Pro Lys Pro Arg Val Val Gly Val Arg Val Trp
485 490 495

Pro Arg Ala Ile Pro Gln Phe Asn Leu Gly His Leu Glu Gln Leu Asp
500 505 510

Lys Ala Arg Lys Ala Leu Asp Ala Ala Gly Leu Gln Gly Val His Leu
515 520 525

Gly Gly Asn Tyr Val Ser Gly Val Ala Leu Gly Lys Val Val Glu His
530 535 540

Gly Tyr Glu Ser Ala Ala Asn Leu Ala Lys Ser Val Ser Lys Ala Ala
545 550 555 560

Val Lys Ala

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

158

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
gctgtaccgc gtacggcgga ggggatgtc gcggcgggg acgaggacgc cgtggtggag 1080
gtggtggcga agaaggtcgt gctgacgacg ccggcattcg acgccgcgga catcttgtcg 1140
cgttcgggct tgggtggcggc ggcgaacccg ttgaaggagg tggattacc gccagtagcg 1200
ttggtcgttc tttcgtacga cgtcgactcg atttcgccca tacaccgcgt gagtcacgtg 1260
gctcatggcc tcagcggtt tggccaactc caccctcgcc cagaggggtc ccgtacatta 1320
ggaaccattt acggcagtac attatttccc aaccgttccc ccgtagctcg tacgacgctt 1380
ttaaatttcg ttggtggatc caccgaccgt gcagtggggg ccgcggatcc aatggctttg 1440
gcgatggagg tggatctgga tctgaaaag agcgggttga tccgagaggg agctgcgaag 1500
ccagaagtcc tcggggtgaa agtatatcca aaggctattc ctcagtttga tattggtcat 1560
ttggatcgag tggaaaaggc caaatgatg ttaaagaacg aaaggggggg tgcagattgg 1620
agtggggtca aattggcggg aaattatgtg tgcggcgtcg cagtgggcag atgcatagaa 1680
tttgattcg aaattgcgga gaacttggcg caggaattgg cgagaaaaaa atag 1734

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

<400> 28

Met Ser Ser Ser Ala Leu Arg Leu Leu Cys Gly Arg Thr Ser Phe Phe
1 5 10 15

Asn Leu Cys Gln Lys Tyr Pro Pro Ser Phe Leu Ser Gln Leu Ser Thr
20 25 30

Leu Asn Phe Ser Thr His Ser Pro Phe Asp Ser Thr Tyr Asp Val Val
35 40 45

Val Val Gly Ala Gly Ile Ser Gly Leu Ser Thr Ala Gln Ala Leu Ser
50 55 60

Ile Gln His Lys Ile Asp Asn Val Leu Val Thr Glu Ala Asp His Arg
65 70 75 80

Val Gly Gly Lys Ile Thr Thr Lys Arg Asn Lys Asp Phe Leu Trp Glu
85 90 95

Glu Gly Pro Asn Ser Cys Leu Met Asn Asp Ala Leu Tyr Arg Ala Ala
100 105 110

Arg Asp Ala Gly Val Glu Ser Lys Ile Leu Ser Ala Asp Pro Lys Leu
115 120 125

Pro Arg Trp Ile Leu Trp Gly Arg Arg Leu Arg Val Ala Pro Ile Gly
130 135 140

Ser Tyr Ala Leu Lys Ser Asp Leu Leu Ser Thr Gln Gly Leu Leu Arg

MD 4683 C1 2020.12.31

159

145 PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt 150 155 160

Ala Ile Arg Gly Val Thr Gly Phe Gly Val Ser Pro Ala Pro Pro Lys
165 170 175

Gly Gln Glu Glu Ser Val Glu Gly Phe Val Arg Arg Thr Leu Gly Asp
180 185 190

Glu Ile Phe Glu Arg Leu Val Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala
195 200 205

Gly Asp Pro Ser Lys Leu Ser Met Arg Ala Ala Phe Gly Lys Leu Val
210 215 220

Glu Phe Glu Glu Thr Gly Asp Gly Ser Leu Leu Arg Gly Val Phe Arg
225 230 235 240

Tyr Val Met Asn Lys Arg Arg Glu Arg Arg Thr Gly Gly Ala Lys Asp
245 250 255

Gly Asp Thr Val Pro Leu Asn Glu Thr Ala Lys Ala Pro Lys Ser Ser
260 265 270

Ser Gly Pro Thr Val Ser Ser Phe Glu Gly Gly Ile Glu Ile Leu Pro
275 280 285

Lys Ala Ile Ala Gln Lys Leu Gly Asp Arg Val Arg Leu Gly Leu Arg
290 295 300

Leu Val Arg Ile Asp Pro Thr Gln Leu Ala Asp Gly Thr Thr Ala Tyr
305 310 315 320

Arg Leu Ser Tyr Arg Arg Met Ser His Gln Gly Asp Asp Asp Ser Ser
325 330 335

Arg Thr Ala Gly Ala Val Pro Arg Thr Ala Glu Gly Asp Val Ala Ala
340 345 350

Gly Asp Glu Asp Ala Val Val Glu Val Val Ala Lys Lys Val Val Leu
355 360 365

Thr Thr Pro Ala Phe Asp Ala Ala Asp Ile Leu Ser Arg Ser Gly Leu
370 375 380

Val Ala Ala Ala Asn Pro Leu Lys Glu Val Asp Tyr Pro Pro Val Ala
385 390 395 400

Leu Val Val Leu Ser Tyr Asp Val Asp Ser Ile Ser Ala Ile His Arg
405 410 415

Val Ser His Val Ala His Gly Leu Ser Gly Phe Gly Gln Leu His Pro
420 425 430

MD 4683 C1 2020.12.31

160

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

Phe Pro Asn Arg Ser Pro Val Ala Arg Thr Thr Leu Leu Asn Phe Val
450 455 460

Gly Gly Ser Thr Asp Arg Ala Val Gly Ser Ala Asp Pro Met Ala Leu
465 470 475 480

Ala Met Glu Val Asp Leu Asp Leu Lys Lys Ser Gly Leu Ile Arg Glu
485 490 495

Gly Ala Ala Lys Pro Glu Val Leu Gly Val Lys Val Tyr Pro Lys Ala
500 505 510

Ile Pro Gln Phe Asp Ile Gly His Leu Asp Arg Val Glu Lys Ala Lys
515 520 525

Met Met Leu Lys Asn Glu Arg Gly Gly Ala Asp Trp Ser Gly Val Lys
530 535 540

Leu Ala Gly Asn Tyr Val Cys Gly Val Ala Val Gly Arg Cys Ile Glu
545 550 555 560

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

Lys

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

<400> 29
atgctcgcgc ggactgccac ggtctcctcc acttcgtccc actcccatcc ttatcgcccc 60
acctccgcgc gcagtctccg cctacgtccg gtcctcgcga tggcgggctc cgacgactcc 120
cgcgagctc ccgccaggtc ggtcgccgctc gtcggcgccg gggtcagcgg gctcgtggcg 180
gcgtacaggc tcaggaagag cggcgtgaat gtgacggtgt tcgaggcggc cgacagggcg 240
ggaggaaaga tacggaccaaa ttccgagggc gggtttctct gggatgaagg agcgaacacc 300
atgacagaag gtgaattgga ggccagtaga ctgatagatg atctcggctt acaagacaaa 360
cagcagtatc ctaactccca acacaagcgt tacattgtca aagatggagc accagcactg 420
attccttcgg atcccatttc gctgatgaaa agcagtgttc tttctacaaa atcaaagatt 480
gcgttatttt ttgaaccatt tctctacaag aaagctaaca caagaaaccc tggaaaagta 540
tctgatgagc atttgagtga gagtgttggg agcttctttg aacgccactt cggaagagaa 600
gttggttgact atcttattga tccatttgta gctggaacaa gtgcaggaga tccagagtca 660

MD 4683 C1 2020.12.31

161

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

```
ctatctatctt gtcattgatt cccagcactg tggaatttgg aaagaaaata tggttcagtt 720
gttggttggtg ccatcttgtc taagctaaca gctaaagggtg atccagtaaa gacaagacgt 780
gattcatcag cgaaaagaag gaatagacgc gtgtcgtttt catttcatgg tggaatgcag 840
tcactaataa atgcacttca caatgaagtt ggagatgata atgtgaagct tggtagacaa 900
gtgttgtcat tggcgtgtac attagatgga gccctgcac caggcgggtg gtcaatttct 960
gatgattcga aggatgctag tggcaaggac cttgctaaaa accaaacctt tgatgctggt 1020
ataatgacag ctccattgtc aaatgtccag aggatgaagt tcacaaaagg tggagctcct 1080
tttgttctag actttcttcc taagggtgat tatctaccac tatctctcat ggtgactgct 1140
ttaaagaagg aagatgtcaa gaaacctctg gaaggatttg gcgtcttaat accctacaag 1200
gaacagcaaa aacatgggtct aaaaacctt gggactctct tctcctcaat gatgttccca 1260
gatcgagctc ctgacgacca atatttatat acaacatttg ttgggggtag ccacaataga 1320
gatcttgcgt gagctccaac gtctattctg aaacaacttg tgacctctga ccttaaaaaa 1380
ctcttaggcg tacaggggca accaactttt gtcaagcata tatactgggg aaatgctttt 1440
cctttgtatg gtcattgatta caattctgta ttggaagcta tagaaaagat ggagaaaaat 1500
cttccagggt tcttctacgc aggaaataac aaggatgggc ttgctgttgg gagtggtata 1560
gcttcaggaa gcaaggctgc tgaccttgca atctcgtatc ttgaatctca caccaagcat 1620
aataatttac attga 1635
```

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

<400> 30

Met Leu Ala Arg Thr Ala Thr Val Ser Ser Thr Ser Ser His Ser His
1 5 10 15

Pro Tyr Arg Pro Thr Ser Ala Arg Ser Leu Arg Leu Arg Pro Val Leu
20 25 30

Ala Met Ala Gly Ser Asp Asp Ser Arg Ala Ala Pro Ala Arg Ser Val
35 40 45

Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Val Ala Ala Tyr Arg Leu
50 55 60

Arg Lys Ser Gly Val Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Ala Asp Arg Ala
65 70 75 80

Gly Gly Lys Ile Arg Thr Asn Ser Glu Gly Gly Phe Leu Trp Asp Glu
85 90 95

Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Gly Glu Leu Glu Ala Ser Arg Leu Ile
100 105 110

MD 4683 C1 2020.12.31

162

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Asp Asp Leu Gly Leu Gln Asp Lys Gln Gln Tyr Pro Asn Ser Gln His
115 120 125

Lys Arg Tyr Ile Val Lys Asp Gly Ala Pro Ala Leu Ile Pro Ser Asp
130 135 140

Pro Ile Ser Leu Met Lys Ser Ser Val Leu Ser Thr Lys Ser Lys Ile
145 150 155 160

Ala Leu Phe Phe Glu Pro Phe Leu Tyr Lys Lys Ala Asn Thr Arg Asn
165 170 175

Pro Gly Lys Val Ser Asp Glu His Leu Ser Glu Ser Val Gly Ser Phe
180 185 190

Phe Glu Arg His Phe Gly Arg Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro
195 200 205

Phe Val Ala Gly Thr Ser Ala Gly Asp Pro Glu Ser Leu Ser Ile Cys
210 215 220

His Ala Phe Pro Ala Leu Trp Asn Leu Glu Arg Lys Tyr Gly Ser Val
225 230 235 240

Val Val Gly Ala Ile Leu Ser Lys Leu Thr Ala Lys Gly Asp Pro Val
245 250 255

Lys Thr Arg Arg Asp Ser Ser Ala Lys Arg Arg Asn Arg Arg Val Ser
260 265 270

Phe Ser Phe His Gly Gly Met Gln Ser Leu Ile Asn Ala Leu His Asn
275 280 285

Glu Val Gly Asp Asp Asn Val Lys Leu Gly Thr Glu Val Leu Ser Leu
290 295 300

Ala Cys Thr Leu Asp Gly Ala Pro Ala Pro Gly Gly Trp Ser Ile Ser
305 310 315 320

Asp Asp Ser Lys Asp Ala Ser Gly Lys Asp Leu Ala Lys Asn Gln Thr
325 330 335

Phe Asp Ala Val Ile Met Thr Ala Pro Leu Ser Asn Val Gln Arg Met
340 345 350

Lys Phe Thr Lys Gly Gly Ala Pro Phe Val Leu Asp Phe Leu Pro Lys
355 360 365

Val Asp Tyr Leu Pro Leu Ser Leu Met Val Thr Ala Phe Lys Lys Glu
370 375 380

MD 4683 C1 2020.12.31

163

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Asp Val Lys Lys Pro Leu Glu Gly Phe Gly Val Leu Ile Pro Tyr Lys
385 390 395 400

Glu Gln Gln Lys His Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser
405 410 415

Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Asp Asp Gln Tyr Leu Tyr Thr Thr
420 425 430

Phe Val Gly Gly Ser His Asn Arg Asp Leu Ala Gly Ala Pro Thr Ser
435 440 445

Ile Leu Lys Gln Leu Val Thr Ser Asp Leu Lys Lys Leu Leu Gly Val
450 455 460

Gln Gly Gln Pro Thr Phe Val Lys His Ile Tyr Trp Gly Asn Ala Phe
465 470 475 480

Pro Leu Tyr Gly His Asp Tyr Asn Ser Val Leu Glu Ala Ile Glu Lys
485 490 495

Met Glu Lys Asn Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn Asn Lys Asp
500 505 510

Gly Leu Ala Val Gly Ser Val Ile Ala Ser Gly Ser Lys Ala Ala Asp
515 520 525

Leu Ala Ile Ser Tyr Leu Glu Ser His Thr Lys His Asn Asn Leu His
530 535 540

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

<400> 31
atggcctcca cagcaacact gcacggcgcg ccctgctgct cggcgcgggc cgtgggcccgc 60
cggcatattg cagcaccgag catccagcac aatgggcccgc gcctggcggc caggggtgcag 120
cagcggaagg gggcagggga gcggcgctcg gcaactgctg tgcaggccgt ccaggcccct 180
cccgagaagg cgggggagcag cacagggagc gcagcagacg acagcggcgt ttacgacgtt 240
gtggtcgtgg gcgcggcat ctccggcctc accaccgccc aggcgctgac cacgcagcac 300
agcggcgtgg cgcggggggt gctggtgacc gagggccgcg accgctggg cggcaacatc 360
acctccgtgt ccaacaagga ggaggggctg ctgtgggagg aggggcccac ctccttccag 420
ccaaacgact ccattcctgca ggccgcggtg gacgccggcg tggcggacca gctggtactg 480
ggcgacccca cggcgccgcg ttttgtgtac tgggacaaga agctgcgccc cagccctcc 540
ggccccgacg cgctcacgtt cgacctgatg agcatcgtgg gcaagatccg ggcggggctg 600
ggcgcgctgg gcttcaaggc gcccatgcca gactatgagg agagcgtgga gcagtatgtg 660

MD 4683 C1 2020.12.31

164

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 cggcgcaacc tgggggcccga ggtgtttgag cgcctgatcg agcccttctg cagcggcgtg 720
 tacgccggcg accccaagaa gctgtccatg aaggcggcct ttggcaaggt gtacgacctg 780
 gagaagaagg gcggcagcat cgtgggcggc gtgatcaagc tgattcagga gcggcgcgcc 840
 aaccgcccgc cgccgcgcag cccagcgtg ccgccaagc ccgcgggcca gacggtgggc 900
 tccttccgct ccggcctgcg cagcgtgccg gatgccatgg cggcgcggtt gggagacgcg 960
 gtgcgcacca gctggcagct caaggagctc agcaaggaag gggaggccta caagtga 1017

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

<400> 32

Met Ala Ser Thr Ala Thr Leu His Gly Ala Pro Cys Cys Ser Ala Arg
 1 5 10 15

Pro Val Gly Arg Arg His Ile Ala Ala Pro Ser Ile Gln His Asn Gly
 20 25 30

Pro Arg Leu Ala Ala Arg Val Gln Gln Arg Lys Gly Ala Gly Glu Arg
 35 40 45

Arg Ser Ala Leu Arg Val Gln Ala Val Gln Ala Pro Pro Glu Lys Ala
 50 55 60

Gly Ala Ser Thr Gly Ser Ala Ala Asp Asp Ser Gly Val Tyr Asp Val
 65 70 75 80

Val Val Val Gly Ala Gly Ile Ser Gly Leu Thr Thr Ala Gln Ala Leu
 85 90 95

Thr Thr Gln His Ser Gly Val Ala Arg Arg Val Leu Val Thr Glu Gly
 100 105 110

Arg Asp Arg Val Gly Gly Asn Ile Thr Ser Val Ser Asn Lys Glu Glu
 115 120 125

Gly Leu Leu Trp Glu Glu Gly Pro Asn Ser Phe Gln Pro Asn Asp Ser
 130 135 140

Ile Leu Gln Ala Ala Val Asp Ala Gly Val Ala Asp Gln Leu Val Leu
 145 150 155 160

Gly Asp Pro Thr Ala Pro Arg Phe Val Tyr Trp Asp Lys Lys Leu Arg
 165 170 175

Pro Thr Pro Ser Gly Pro Asp Ala Leu Thr Phe Asp Leu Met Ser Ile
 180 185 190

Val Gly Lys Ile Arg Ala Gly Leu Gly Ala Leu Gly Phe Lys Ala Pro

MD 4683 C1 2020.12.31

165

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
200 205

195

Met Pro Asp Tyr Glu Glu Ser Val Glu Gln Tyr Val Arg Arg Asn Leu
210 215 220

Gly Ala Glu Val Phe Glu Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val
225 230 235 240

Tyr Ala Gly Asp Pro Lys Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys
245 250 255

Val Tyr Asp Leu Glu Lys Lys Gly Gly Ser Ile Val Gly Gly Val Ile
260 265 270

Lys Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ala Asn Pro Pro Pro Pro Arg Ser Pro
275 280 285

Ala Leu Pro Pro Lys Pro Ala Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg Ser
290 295 300

Gly Leu Arg Thr Leu Pro Asp Ala Met Ala Ala Arg Leu Gly Asp Ala
305 310 315 320

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

Tyr Lys

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

<400> 33
atggccgccc cgcgcgcagc catggccacc gccacctccg ccacggcagc gccgcccgtc 60
cgcatctcgc acgcccgcgag gaggacccgc cgacgcggcc acgttcgctg cgccgctgcgc 120
agcggcgcgg ccgagggcgcc cgcggcgccc ggggcgcggg tgctcggcga ctgcgtcgtg 180
gtgggcgggc gcatcagcgg gctctgcacc gcgcaggcgc tggccacaaa gcacggcgtc 240
ggcgacgtgc tcgtcacgga ggcccgcgcc cgccccggcg gcaacatcac caccgccgag 300
cgcgccggcg agggctacct ctgggaggag gggcccaaca gcttcagacc ttccgacccc 360
gtcctcacca tggccgtgga cagcgggctc aaggacgatc tcgtgttcgg ggaccccaac 420
gcgcccgggt tcgtgctgtg ggaggggaag ctaaggccgg tgccgtccaa gcccggcgac 480
ctgccgttct tcgacctcat gagcatcccc ggcaagctca gggccggcct tggcgcgctc 540
ggcgttcgag cgccacctcc agggcgtgag gagtcggtgg aggacttcgt gcggcgcaac 600
ctcggcgcgg aggtctttga gcgcctcatt gagcctttct gctcaggtgt gtatgctggt 660
gatccttcaa agctcagtat gaaggctgca tttgggaagg tgtggaggct ggaggatact 720

MD 4683 C1 2020.12.31

166

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

```

ggaggttagca ttattggtgg aaccatcaaa acaatccagg agagggggaa aaaccccaaa 780
ccgccgaggg atccccgcct tccaacgcca aaggggcaga cagttgcatc tttcaggaag 840
ggtctgacta tgctcccgga tgctattaca tctaggttgg gtagcaaagt caaactttca 900
tggaagttga caagcattac aaagtcagac aacaaaggat atgcattagt gtatgaaaca 960
ccagaagggg tgggtctcggg gcaagctaaa actgtttgtca tgaccatccc atcatatggt 1020
gctagtgata tcttgccggcc actttcaagt gatgcagcag atgtctctgtc aatattctat 1080
tatccaccag ttgctgctgt aactgtttca tatccaaaag aagcaattag aaaagaatgc 1140
ttaattgacg gagagctcca gggtttcggc cagctgcatc cgcgtagtca gggagttgag 1200
actttaggaa caatatatag ctcatcactc tttccaaatc gtgctccagc tggaaggggtg 1260
ttactttctga actacatagg aggtttctaca aatacagggg ttgtttccaa gactgaaagt 1320
gagctggttag aagcagttga ccgtgacctc aggaagatgc tgataaatcc taaagcagtg 1380
gaccctttgg tccttggcgt ccgggtatgg ccacaagcca taccacagtt cctcattggc 1440
catcttgatc atcttgaggc tgcaaaatct gccctgggca aaggtgggta tgatggattg 1500
ttcctcggag ggaactatgt tgcaggagtt gccctgggcc gatgcgttga aggtgcatat 1560
gagagtgcct cacaaatatc tgactacttg accaagtacg cctacaagtg a 1611

```

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

<400> 34

Met Ala Ala Ala Ala Ala Ala Met Ala Thr Ala Thr Ser Ala Thr Ala
 1 5 10 15

Ala Pro Pro Leu Arg Ile Arg Asp Ala Ala Arg Arg Thr Arg Arg Arg
 20 25 30

Gly His Val Arg Cys Ala Val Ala Ser Gly Ala Ala Glu Ala Pro Ala
 35 40 45

Ala Pro Gly Ala Arg Val Ser Ala Asp Cys Val Val Val Gly Gly Gly
 50 55 60

Ile Ser Gly Leu Cys Thr Ala Gln Ala Leu Ala Thr Lys His Gly Val
 65 70 75 80

Gly Asp Val Leu Val Thr Glu Ala Arg Ala Arg Pro Gly Gly Asn Ile
 85 90 95

Thr Thr Ala Glu Arg Ala Gly Glu Gly Tyr Leu Trp Glu Glu Gly Pro
 100 105 110

Asn Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Val Leu Thr Met Ala Val Asp Ser
 115 120 125

MD 4683 C1 2020.12.31

167

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Gly Leu Lys Asp Asp Leu Val Phe Gly Asp Pro Asn Ala Pro Arg Phe
130 135 140

Val Leu Trp Glu Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Pro Gly Asp
145 150 155 160

Leu Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Pro Gly Lys Leu Arg Ala Gly
165 170 175

Leu Gly Ala Leu Gly Val Arg Ala Pro Pro Pro Gly Arg Glu Glu Ser
180 185 190

Val Glu Asp Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Ala Glu Val Phe Glu Arg
195 200 205

Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys
210 215 220

Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Arg Leu Glu Asp Thr
225 230 235 240

Gly Gly Ser Ile Ile Gly Gly Thr Ile Lys Thr Ile Gln Glu Arg Gly
245 250 255

Lys Asn Pro Lys Pro Pro Arg Asp Pro Arg Leu Pro Thr Pro Lys Gly
260 265 270

Gln Thr Val Ala Ser Phe Arg Lys Gly Leu Thr Met Leu Pro Asp Ala
275 280 285

Ile Thr Ser Arg Leu Gly Ser Lys Val Lys Leu Ser Trp Lys Leu Thr
290 295 300

Ser Ile Thr Lys Ser Asp Asn Lys Gly Tyr Ala Leu Val Tyr Glu Thr
305 310 315 320

Pro Glu Gly Val Val Ser Val Gln Ala Lys Thr Val Val Met Thr Ile
325 330 335

Pro Ser Tyr Val Ala Ser Asp Ile Leu Arg Pro Leu Ser Ser Asp Ala
340 345 350

Ala Asp Ala Leu Ser Ile Phe Tyr Tyr Pro Pro Val Ala Ala Val Thr
355 360 365

Val Ser Tyr Pro Lys Glu Ala Ile Arg Lys Glu Cys Leu Ile Asp Gly
370 375 380

Glu Leu Gln Gly Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Ser Gln Gly Val Glu
385 390 395 400

MD 4683 C1 2020.12.31

168

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn Arg Ala Pro
 405 410 415

Ala Gly Arg Val Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ser Thr Asn Thr
 420 425 430

Gly Ile Val Ser Lys Thr Glu Ser Glu Leu Val Glu Ala Val Asp Arg
 435 440 445

Asp Leu Arg Lys Met Leu Ile Asn Pro Lys Ala Val Asp Pro Leu Val
 450 455 460

Leu Gly Val Arg Val Trp Pro Gln Ala Ile Pro Gln Phe Leu Ile Gly
 465 470 475 480

His Leu Asp His Leu Glu Ala Ala Lys Ser Ala Leu Gly Lys Gly Gly
 485 490 495

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

Gly Arg Cys Val Glu Gly Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Gln Ile Ser Asp
 515 520 525

Tyr Leu Thr Lys Tyr Ala Tyr Lys
 530 535

<210> 35
 <211> 1518
 <212> DNA
 <213> Amaranthus tuberculatus

<400> 35
 atgggcaaca tttctgagcg ggatgaaccc acttctgcta aaagggttgc tgttgttggt 60
 gctggagtta gtggacttgc tgctgcatat aagctaaaat cccatggttt gaatgtgaca 120
 ttgtttgaag ctgattctag agctggaggc aaacttaaaa ctgttaaaaa agatggtttt 180
 atttgggatg agggggcaaa tactatgaca gaaagtgagg cagaagtctc gagtttgatc 240
 gatgatcttg ggcttcgtga gaagcaacag ttgccaatth caaaaataa aagatacata 300
 gctagagatg gtcttcctgt gctactacct tcaaatcccg ctgcaactgt cagagcaat 360
 atcctttcag caaatcaaa gctgcaaatt atgttgaac catttttctg gagaaaacac 420
 aatgctactg agctttctga tgagcatgtt caggaaagcg ttggtgaatt ttttgagcga 480
 cattttggga aagagtttgt tgattatgtt attgaccctt ttgttgcggg tacatgtggt 540
 ggagatcctc aatcgctttc tatgcacat acatttccag aagtatggaa tattgaaaaa 600
 aggtttggct ctgtgtttgc tggactaatt caatcaacat tgttatctaa gaaggaaaag 660
 ggtggaggag gaaatgcttc tatcaagaag cctcgtgtac gtgggttcatt ttcattccat 720
 ggtggaatgc agacacttgt tgacacaata tgcaaacagc ttggtgaaga tgaactcaaa 780
 ctccagtgtg aggtgctgtc cttgtcatat aaccagaagg ggatcccttc attaggaat 840

MD 4683 C1 2020.12.31

169

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

```

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

```

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

<400> 36

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

Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu
 20 25 30

Lys Ser His Gly Leu Asn Val Thr Leu Phe Glu Ala Asp Ser Arg Ala
 35 40 45

Gly Gly Lys Leu Lys Thr Val Lys Lys Asp Gly Phe Ile Trp Asp Glu
 50 55 60

Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ala Glu Val Ser Ser Leu Ile
 65 70 75 80

Asp Asp Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Leu Pro Ile Ser Gln Asn
 85 90 95

Lys Arg Tyr Ile Ala Arg Asp Gly Leu Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn
 100 105 110

Pro Ala Ala Leu Leu Thr Ser Asn Ile Leu Ser Ala Lys Ser Lys Leu
 115 120 125

Gln Ile Met Leu Glu Pro Phe Phe Trp Arg Lys His Asn Ala Thr Glu
 130 135 140

MD 4683 C1 2020.12.31

170

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 Leu Ser Asp Glu His Val Gln Glu Ser Val Gly Glu Phe Phe Glu Arg
 145 150 155 160
 His Phe Gly Lys Glu Phe Val Asp Tyr Val Ile Asp Pro Phe Val Ala
 165 170 175
 Gly Thr Cys Gly Gly Asp Pro Gln Ser Leu Ser Met His His Thr Phe
 180 185 190
 Pro Glu Val Trp Asn Ile Glu Lys Arg Phe Gly Ser Val Phe Ala Gly
 195 200 205
 Leu Ile Gln Ser Thr Leu Leu Ser Lys Lys Glu Lys Gly Gly Gly Gly
 210 215 220
 Asn Ala Ser Ile Lys Lys Pro Arg Val Arg Gly Ser Phe Ser Phe His
 225 230 235 240
 Gly Gly Met Gln Thr Leu Val Asp Thr Ile Cys Lys Gln Leu Gly Glu
 245 250 255
 Asp Glu Leu Lys Leu Gln Cys Glu Val Leu Ser Leu Ser Tyr Asn Gln
 260 265 270
 Lys Gly Ile Pro Ser Leu Gly Asn Trp Ser Val Ser Ser Met Ser Asn
 275 280 285
 Asn Thr Ser Glu Asp Gln Ser Tyr Asp Ala Val Val Val Thr Ala Pro
 290 295 300
 Ile Arg Asn Val Lys Glu Met Lys Ile Met Lys Phe Gly Asn Pro Phe
 305 310 315 320
 Ser Leu Asp Phe Ile Pro Glu Val Ser Tyr Val Pro Leu Ser Val Met
 325 330 335
 Ile Thr Ala Phe Lys Lys Asp Lys Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe
 340 345 350
 Gly Val Leu Ile Pro Ser Lys Glu Gln His Asn Gly Leu Lys Thr Leu
 355 360 365
 Gly Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp
 370 375 380
 Met Cys Leu Phe Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Lys Leu
 385 390 395 400
 Ala Asn Ala Ser Thr Asp Glu Leu Lys Gln Ile Val Ser Ser Asp Leu
 405 410 415
 Gln Gln Leu Leu Gly Thr Glu Asp Glu Pro Ser Phe Val Asn His Leu
 Seite 53

MD 4683 C1 2020.12.31

171

420 PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt 425 430

Phe Trp Ser Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser Val
435 440 445

Leu Arg Ala Ile Asp Lys Met Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Tyr
450 455 460

Ala Gly Asn His Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Met Ala Ser
465 470 475 480

Gly Cys Lys Ala Ala Glu Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asp Ser His Ile
485 490 495

Tyr Val Lys Met Asp Glu Lys Thr Ala
500 505

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

<400> 37	atggagttat ctcttctccg tccgacgact caatcgcttc ttccgtcgtt ttcgaagccc	60
	aatctccgat taaatgttta taagcctctt agactccggt gtccagtggc cggtggacca	120
	accgtcggat cttcaaaaat cgaaggcgga ggaggcacca ccatcacgac ggattgtgtg	180
	attgtcggcg gaggtattag tggcttttgc atcgtcagg cgcttgctac taagcatcct	240
	gatgctgctc cgaatttaat tgtgaccgag gctaaggatc gtgttgagg caacattatc	300
	actcgtgaag agaatggttt tctctgggaa gaaggtccca atagttttca accgtctgat	360
	cctatgctca ctatggtggt agatagtggg ttgaaggatg atttggtggt gggagatcct	420
	actgcgccaa ggtttggtt gtggaatggg aaattgaggc cggttccatc gaagctaaca	480
	gacttaccgt tctttgattt gatgagtatt ggtgggaaga ttagagctgg ttttggtgca	540
	cttggcattc gaccgtcacc tccaggtcgt gaagaatctg tggaggagtt tgtacggcgt	600
	aacctcgggt atgagggttt tgagcgcctg attgaaccgt tttgttcagg tgtttatgct	660
	ggtgatcctt caaaactgag catgaaagca gcgtttggga aggtttggaa actagagcaa	720
	aatggtggaa gcataatagg tggactttt aaggcaattc aggagaggaa aaacgctccc	780
	aaggcagaac gagaccgcg cctgccaaaa ccacagggcc aaacagttgg tcttttcagg	840
	aagggacttc gaatgttgcc agaagcaata tctgcaagat taggtagcaa agttaagttg	900
	tcttggaagc tctcaggtat cactaagctg gagagcggag gatacaactt aacatatgag	960
	actccagatg gtttagtttc cgtgcagagc aaaagtgttg taatgacggt gccatctcat	1020
	gttgcaagtg gtctcttgcg ccctctttct gaatctgctg caaatgcact ctcaaaacta	1080
	tattaccac cagttgcagc agtatctatc tcgtaccgga aagaagcaat ccgaacagaa	1140
	tgtttgatag atggtgaact aaagggtttt gggcaattgc atccacgcac gcaaggagtt	1200

MD 4683 C1 2020.12.31

172

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
gaaacattag gaactatcta cagctcctca ctctttccaa atcgcgacc gcccggaaga 1260
atcttgctgt tgaactacat tggcgggtct acaaacaccg gaattctgtc caagtctgaa 1320
ggtgagttag tggaagcatt tctagttggt cactttgata tccttgacac ggctaaatca 1380
tctctaactg cttcgggcta cgaagggcta tttttgggtg gcaattacgt cgctgggtga 1440
gccttaggcc ggtgtgtaga aggcgcataat gaaaccgcga ttgagggtcaa caacttcattg 1500
tcacggtacg cttacaagta a 1521

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

<400> 38

Met Glu Leu Ser Leu Leu Arg Pro Thr Thr Gln Ser Leu Leu Pro Ser
1 5 10 15

Phe Ser Lys Pro Asn Leu Arg Leu Asn Val Tyr Lys Pro Leu Arg Leu
20 25 30

Arg Cys Ser Val Ala Gly Gly Pro Thr Val Gly Ser Ser Lys Ile Glu
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Thr Thr Ile Thr Thr Asp Cys Val Ile Val Gly Gly
50 55 60

Gly Ile Ser Gly Leu Cys Ile Ala Gln Ala Leu Ala Thr Lys His Pro
65 70 75 80

Asp Ala Ala Pro Asn Leu Ile Val Thr Glu Ala Lys Asp Arg Val Gly
85 90 95

Gly Asn Ile Ile Thr Arg Glu Glu Asn Gly Phe Leu Trp Glu Glu Gly
100 105 110

Pro Asn Ser Phe Gln Pro Ser Asp Pro Met Leu Thr Met Val Val Asp
115 120 125

Ser Gly Leu Lys Asp Asp Leu Val Leu Gly Asp Pro Thr Ala Pro Arg
130 135 140

Phe Val Leu Trp Asn Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ser Lys Leu Thr
145 150 155 160

Asp Leu Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Gly Gly Lys Ile Arg Ala
165 170 175

Gly Phe Gly Ala Leu Gly Ile Arg Pro Ser Pro Pro Gly Arg Glu Glu
180 185 190

Ser Val Glu Glu Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Asp Glu Val Phe Glu
Seite 55

MD 4683 C1 2020.12.31

173

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
200 205

195

Arg Leu Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser
210 215 220

Lys Leu Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Lys Leu Glu Gln
225 230 235 240

Asn Gly Gly Ser Ile Ile Gly Gly Thr Phe Lys Ala Ile Gln Glu Arg
245 250 255

Lys Asn Ala Pro Lys Ala Glu Arg Asp Pro Arg Leu Pro Lys Pro Gln
260 265 270

Gly Gln Thr Val Gly Ser Phe Arg Lys Gly Leu Arg Met Leu Pro Glu
275 280 285

Ala Ile Ser Ala Arg Leu Gly Ser Lys Val Lys Leu Ser Trp Lys Leu
290 295 300

Ser Gly Ile Thr Lys Leu Glu Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Thr Tyr Glu
305 310 315 320

Thr Pro Asp Gly Leu Val Ser Val Gln Ser Lys Ser Val Val Met Thr
325 330 335

Val Pro Ser His Val Ala Ser Gly Leu Leu Arg Pro Leu Ser Glu Ser
340 345 350

Ala Ala Asn Ala Leu Ser Lys Leu Tyr Tyr Pro Pro Val Ala Ala Val
355 360 365

Ser Ile Ser Tyr Pro Lys Glu Ala Ile Arg Thr Glu Cys Leu Ile Asp
370 375 380

Gly Glu Leu Lys Gly Phe Gly Gln Leu His Pro Arg Thr Gln Gly Val
385 390 395 400

Glu Thr Leu Gly Thr Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Phe Pro Asn Arg Ala
405 410 415

Pro Pro Gly Arg Ile Leu Leu Leu Asn Tyr Ile Gly Gly Ser Thr Asn
420 425 430

Thr Gly Ile Leu Ser Lys Ser Glu Gly Glu Leu Val Glu Ala Phe Leu
435 440 445

Val Gly His Phe Asp Ile Leu Asp Thr Ala Lys Ser Ser Leu Thr Ser
450 455 460

Ser Gly Tyr Glu Gly Leu Phe Leu Gly Gly Asn Tyr Val Ala Gly Val
465 470 475 480

MD 4683 C1 2020.12.31

174

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

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

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

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

<400> 39
atggctcctt ctgccggaga agataaacac agttctgcga agagagtcgc agtcattggt 60
gcaggcgtca gtgggcttgc tgcagcatatc aagttgaaaa tccatggctt gaatgtgaca 120
gtatttgaag cagaagggaa agctggaggg aagttacgta gcgtgagcca agatggcctg 180
atatgggatg aaggggcaaa tactatgact gaaagtgaag gtgatgttac atttttgatt 240
gattctcttg gactccgaga aaagcaacaa tttccacttt caaaaacaa gcgctacatt 300
gccagaaatg gtactcctgt actgttacct tcaaatccaa ttgatctgat caaaagcaat 360
tttctttcca ctggatcaaa gcttcagatg cttctggaac caatattatg gaagaataaa 420
aagctctccc aggtgtctga ctacatgaa agtgtcagt gattcttcca gcgtcatttt 480
ggaaaggagg ttgttgacta tctaattgac cttttgttg ctggaacgtg tgggtggtgat 540
cctgactcgc tttcaatgca ccattcattt ccagagttgt ggaatttaga gaaaaggttt 600
ggctcagtca tacttgagc tattcgatct aagttatccc ctaaaaatga aaagaagcaa 660
gggccaccca aaacttcagc aaataagaag cgccagcggg gatctttttc ctttttgggc 720
ggaatgcaaa cacttactga tgcaatatgc aaagatctca gagaagatga acttagacta 780
aactctagag ttctggaatt atctttagc tgtactgagg actctgcgat agatagctgg 840
tcaattatct ctgcctctcc acacaaaagg caatcagaag aagaatcatt tgatgctgta 900
attatgacgg cccactctg tgatgttaag agtatgaaga ttgctaagag aggaaatcca 960
tttctactca actttattcc tgaggttgat tatgtaccgc tatctgttgt tataaccaca 1020
tttaagaggg aaaacgtaaa gtatcccctt gagggttttg gggttcttgt accttccaag 1080
gagcaacaac atgggtctca gacactaggc accctcttct cttctatgat gtttcagat 1140
cgggcaccaa acaatgttta tctctatact acttttgttg gtggaagccg aaatagagaa 1200
cttgcaaaag cctcaaggac tgagctgaaa gagatagtaa cttctgacct taagcagctg 1260
ttgggtgctg agggagagcc aacatatgtg aatcatctat actggagtaa agcatttcca 1320
ttgtacgggc ataactatga ttcagtccta gatgcaattg acaaaatgga gaaaaatctt 1380
cctggattat tctatgcagg taaccacagg gggggattgt cagttggcaa agcattatct 1440
tctggatgca atgcagctga tcttgttata tcatatcttg aatccgtctc aactgactcc 1500
aaaagacatt gctga 1515

MD 4683 C1 2020.12.31

175

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

<210> 40

<211> 504

<212> PRT

<213> Nicotiana

<400> 40

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

Ala Val Ile Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu
20 25 30

Lys Ile His Gly Leu Asn Val Thr Val Phe Glu Ala Glu Gly Lys Ala
35 40 45

Gly Gly Lys Leu Arg Ser Val Ser Gln Asp Gly Leu Ile Trp Asp Glu
50 55 60

Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Gly Asp Val Thr Phe Leu Ile
65 70 75 80

Asp Ser Leu Gly Leu Arg Glu Lys Gln Gln Phe Pro Leu Ser Gln Asn
85 90 95

Lys Arg Tyr Ile Ala Arg Asn Gly Thr Pro Val Leu Leu Pro Ser Asn
100 105 110

Pro Ile Asp Leu Ile Lys Ser Asn Phe Leu Ser Thr Gly Ser Lys Leu
115 120 125

Gln Met Leu Leu Glu Pro Ile Leu Trp Lys Asn Lys Lys Leu Ser Gln
130 135 140

Val Ser Asp Ser His Glu Ser Val Ser Gly Phe Phe Gln Arg His Phe
145 150 155 160

Gly Lys Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly Thr
165 170 175

Cys Gly Gly Asp Pro Asp Ser Leu Ser Met His His Ser Phe Pro Glu
180 185 190

Leu Trp Asn Leu Glu Lys Arg Phe Gly Ser Val Ile Leu Gly Ala Ile
195 200 205

Arg Ser Lys Leu Ser Pro Lys Asn Glu Lys Lys Gln Gly Pro Pro Lys
210 215 220

Thr Ser Ala Asn Lys Lys Arg Gln Arg Gly Ser Phe Ser Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Met Gln Thr Leu Thr Asp Ala Ile Cys Lys Asp Leu Arg Glu Asp
245 250 255

MD 4683 C1 2020.12.31

176

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Glu Leu Arg Leu Asn Ser Arg Val Leu Glu Leu Ser Cys Ser Cys Thr
260 265 270

Glu Asp Ser Ala Ile Asp Ser Trp Ser Ile Ile Ser Ala Ser Pro His
275 280 285

Lys Arg Gln Ser Glu Glu Glu Ser Phe Asp Ala Val Ile Met Thr Ala
290 295 300

Pro Leu Cys Asp Val Lys Ser Met Lys Ile Ala Lys Arg Gly Asn Pro
305 310 315

Phe Leu Leu Asn Phe Ile Pro Glu Val Asp Tyr Val Pro Leu Ser Val
325 330 335

Val Ile Thr Thr Phe Lys Arg Glu Asn Val Lys Tyr Pro Leu Glu Gly
340 345 350

Phe Gly Val Leu Val Pro Ser Lys Glu Gln Gln His Gly Leu Lys Thr
355 360 365

Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Asn
370 375 380

Asn Val Tyr Leu Tyr Thr Thr Phe Val Gly Gly Ser Arg Asn Arg Glu
385 390 395 400

Leu Ala Lys Ala Ser Arg Thr Glu Leu Lys Glu Ile Val Thr Ser Asp
405 410 415

Leu Lys Gln Leu Leu Gly Ala Glu Gly Glu Pro Thr Tyr Val Asn His
420 425 430

Leu Tyr Trp Ser Lys Ala Phe Pro Leu Tyr Gly His Asn Tyr Asp Ser
435 440 445

Val Leu Asp Ala Ile Asp Lys Met Glu Lys Asn Leu Pro Gly Leu Phe
450 455 460

Tyr Ala Gly Asn His Arg Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Leu Ser
465 470 475 480

Ser Gly Cys Asn Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser Tyr Leu Glu Ser Val
485 490 495

Ser Thr Asp Ser Lys Arg His Cys
500

<210> 41
<211> 1509
<212> DNA

MD 4683 C1 2020.12.31

177

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

<213> Glycine max

<400> 41

```

atggcttcct ctgcaacaga cgataaccca agatctgtaa aaagagtagc tgttggtggt      60
gctggggtaa gtgggcttgc tgcggcttac aaattgaaat cacatggtct ggatgtcact      120
gtatttgaag ctgaggggaag agctggaggg aggttgagaa gtgtttctca ggatggtcta      180
atttgggatg agggagctaa tacaatgact gaaagtgaaa ttgagggttaa aggtttgatt      240
gatgctcttg gacttcaaga aaagcagcag tttccaatat cacagcataa gcgctatatatt      300
gtgaaaaatg gggcaccact tctggtaccc acaaatcctg ctgcactact gaagagtaaa      360
ctgcttttctg cacaatcaaa gatccatctc atttttgaac catttatgtg gaaaagaagt      420
gacccctcta atgtgtgtga tgaaaattct gtggaaagtg taggcagggt ctttgaacgt      480
cattttggaa aagagggttgt ggactatctg attgatcctt ttgttggggg cactagtgca      540
gcagatcctg aatctctctc tatgcgccat tctttccag agctatggaa tttggagaaa      600
aggtttggct ccattatagc cggggcattg caatctaagt tattcgcaa aagggaaaaa      660
actggagaaa ataggactgc actaagaaaa aacaaacaca agcgtggttc gttttctttc      720
cagggtggga tgcagacact gacagataca ttgtgcaaag agcttggcaa agacgacctt      780
aaattaaatg aaaaggtttt gacattagct tatggtcatg atggaagttc ctcttcacaa      840
aactggtcta ttactagtgc ttctaaccaa agtacacaag atgttgatgc agtaatcatg      900
acggctcctc tatataatgt caaggacatc aagatcacia aaagggaac tccctttcca      960
cttaattttc ttcccgaggt aagctacgtg ccaatctcag tcatgattac taccttcaaa     1020
aaggagaatg taaagagacc tttggaggga tttggagtgc ttgttccttc taaagagcaa     1080
aaaaatgggt taaaaaccct tggtagactt ttttcctcta tgatgttccc agatcgtgca     1140
cctagtgatt tatatctcta taccaccttc attggcggaa ctcaaaacag ggaacttgct     1200
caagcttcaa ctgacgagct taggaaaatt gttacttctg acctgagaaa gttgttggga     1260
gcagaggggg aaccaacatt tgtaacatc ttctattgga gtaaaggctt tcctttgtat     1320
ggacgtaact atgggtcagt tcttcaagca attgataaga tagaaaaaga tcttcccgga     1380
tttttctttg caggtaacta caaagggtga ctctcagttg gcaaagcaat agcctcaggc     1440
tgcaaagcag ctgatcttgt gatatcctac ctcaactctg cttcagacaa cacagtgcct     1500
gataaatga                                     1509

```

<210> 42

<211> 502

<212> PRT

<213> Glycine

<400> 42

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

Ala Val Val Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Leu
20 25 30

MD 4683 C1 2020.12.31

178

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Lys Ser His Gly Leu Asp Val Thr Val Phe Glu Ala Glu Gly Arg Ala
35 40 45

Gly Gly Arg Leu Arg Ser Val Ser Gln Asp Gly Leu Ile Trp Asp Glu
50 55 60

Gly Ala Asn Thr Met Thr Glu Ser Glu Ile Glu Val Lys Gly Leu Ile
65 70 75 80

Asp Ala Leu Gly Leu Gln Glu Lys Gln Gln Phe Pro Ile Ser Gln His
85 90 95

Lys Arg Tyr Ile Val Lys Asn Gly Ala Pro Leu Leu Val Pro Thr Asn
100 105 110

Pro Ala Ala Leu Leu Lys Ser Lys Leu Leu Ser Ala Gln Ser Lys Ile
115 120 125

His Leu Ile Phe Glu Pro Phe Met Trp Lys Arg Ser Asp Pro Ser Asn
130 135 140

Val Cys Asp Glu Asn Ser Val Glu Ser Val Gly Arg Phe Phe Glu Arg
145 150 155 160

His Phe Gly Lys Glu Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Gly
165 170 175

Gly Thr Ser Ala Ala Asp Pro Glu Ser Leu Ser Met Arg His Ser Phe
180 185 190

Pro Glu Leu Trp Asn Leu Glu Lys Arg Phe Gly Ser Ile Ile Ala Gly
195 200 205

Ala Leu Gln Ser Lys Leu Phe Ala Lys Arg Glu Lys Thr Gly Glu Asn
210 215 220

Arg Thr Ala Leu Arg Lys Asn Lys His Lys Arg Gly Ser Phe Ser Phe
225 230 235 240

Gln Gly Gly Met Gln Thr Leu Thr Asp Thr Leu Cys Lys Glu Leu Gly
245 250 255

Lys Asp Asp Leu Lys Leu Asn Glu Lys Val Leu Thr Leu Ala Tyr Gly
260 265 270

His Asp Gly Ser Ser Ser Ser Gln Asn Trp Ser Ile Thr Ser Ala Ser
275 280 285

Asn Gln Ser Thr Gln Asp Val Asp Ala Val Ile Met Thr Ala Pro Leu
290 295 300

MD 4683 C1 2020.12.31

179

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Tyr Asn Val Lys Asp Ile Lys Ile Thr Lys Arg Gly Thr Pro Phe Pro
305 310 315 320

Leu Asn Phe Leu Pro Glu Val Ser Tyr Val Pro Ile Ser Val Met Ile
325 330 335

Thr Thr Phe Lys Lys Glu Asn Val Lys Arg Pro Leu Glu Gly Phe Gly
340 345 350

Val Leu Val Pro Ser Lys Glu Gln Lys Asn Gly Leu Lys Thr Leu Gly
355 360 365

Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro Asp Arg Ala Pro Ser Asp Leu
370 375 380

Tyr Leu Tyr Thr Thr Phe Ile Gly Gly Thr Gln Asn Arg Glu Leu Ala
385 390 395 400

Gln Ala Ser Thr Asp Glu Leu Arg Lys Ile Val Thr Ser Asp Leu Arg
405 410 415

Lys Leu Leu Gly Ala Glu Gly Glu Pro Thr Phe Val Asn His Phe Tyr
420 425 430

Trp Ser Lys Gly Phe Pro Leu Tyr Gly Arg Asn Tyr Gly Ser Val Leu
435 440 445

Gln Ala Ile Asp Lys Ile Glu Lys Asp Leu Pro Gly Phe Phe Phe Ala
450 455 460

Gly Asn Tyr Lys Gly Gly Leu Ser Val Gly Lys Ala Ile Ala Ser Gly
465 470 475 480

Cys Lys Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser Tyr Leu Asn Ser Ala Ser Asp
485 490 495

Asn Thr Val Pro Asp Lys
500

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

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

MD 4683 C1 2020.12.31

180

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
 tggtctggtg tatacgctgg tgacccttca aagctaagca tgaaagcagc ttttggttaag 360
 gtttgaggagc tagagcaaaa tggtagtagt attattggtg ggactttcaa agcacttcaa 420
 gaaaggaata aaactaccaa accaccaaga gatccgcgtc taccaaagcc taagggccaa 480
 actgttggtg cttttcggaa aggacttacc atgttgccaa atgctatttc tacttgtttg 540
 gggagtaaag taaaagtatc ttggaagcta tctagtatca gtaaagtgga tgacggaggt 600
 tatagtttga catacgaaac accagaagga ctagtctcca tactaagcag aagtgtcatc 660
 atgacggttc cttcttatat tgctggcact ctgttgcgct caatctcggg gaaagctgca 720
 gatgcacttt caaaatttta ttatccacca gttgcatcag tgaccatatc atatccaaaa 780
 ggagcaatta ggaaagaatg cttgattgat ggtgaactaa aggggttttg tcaattgcac 840
 cctcgtagcc agggggtgac tactttggga actatataca gctcatcact ttttcctaata 900
 cgagcgccag atggaagggt attgctcttg aactacattg gaggggctac taatactgga 960
 attctttctc agacagagag cgagctcata gaagtagttg atcgggattt aagaaaaatc 1020
 ctcataaacc caaacgcaga ggatcctcta ccattgagcg tgagggtgtg gccacaagcc 1080
 attccacagt tcttgattgg ccattctgat gttctagaca ccgccaaggc cggactgaga 1140
 gaggtctgaa tggaggggct attttaggt ggaaactatg tatgcggtgt ggccttgggg 1200
 agatg 1205

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

<400> 44

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

Leu Lys Asp Asp Leu Val Leu Gly Asp Pro Asp Ala Pro Arg Phe Val
 20 25 30

Leu Trp Asn Gly Lys Leu Arg Pro Val Pro Ala Lys Pro Asn Asp Leu
 35 40 45

Pro Phe Phe Asp Leu Met Ser Ile Gly Gly Lys Ile Arg Ala Gly Phe
 50 55 60

Gly Ala Leu Gly Ile Arg Pro Pro Pro Pro Gly Arg Glu Glu Ser Val
 65 70 75 80

Glu Glu Phe Val Arg Arg Asn Leu Gly Asn Glu Val Phe Glu Arg Leu
 85 90 95

Ile Glu Pro Phe Cys Ser Gly Val Tyr Ala Gly Asp Pro Ser Lys Leu
 100 105 110

Ser Met Lys Ala Ala Phe Gly Lys Val Trp Arg Leu Glu Gln Asn Gly
 Seite 63

MD 4683 C1 2020.12.31

181

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt
120 125

115

Gly	Ser	Ile	Ile	Gly	Gly	Thr	Phe	Lys	Ala	Leu	Gln	Glu	Arg	Asn	Lys
130						135					140				
Thr	Thr	Lys	Pro	Pro	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Lys	Gly	Gln
145					150					155					160
Thr	Val	Gly	Ser	Phe	Arg	Lys	Gly	Leu	Thr	Met	Leu	Pro	Asn	Ala	Ile
				165					170					175	
Ser	Thr	Cys	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Lys	Val	Ser	Trp	Lys	Leu	Ser	Ser
			180					185					190		
Ile	Ser	Lys	Val	Asp	Asp	Gly	Gly	Tyr	Ser	Leu	Thr	Tyr	Glu	Thr	Pro
		195					200					205			
Glu	Gly	Leu	Val	Ser	Ile	Leu	Ser	Arg	Ser	Val	Ile	Met	Thr	Val	Pro
	210					215					220				
Ser	Tyr	Ile	Ala	Gly	Thr	Leu	Leu	Arg	Pro	Ile	Ser	Gly	Lys	Ala	Ala
225					230					235					240
Asp	Ala	Leu	Ser	Lys	Phe	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Val	Ala	Ser	Val	Thr	Ile
				245					250					255	
Ser	Tyr	Pro	Lys	Gly	Ala	Ile	Arg	Lys	Glu	Cys	Leu	Ile	Asp	Gly	Glu
			260					265					270		
Leu	Lys	Gly	Phe	Gly	Gln	Leu	His	Pro	Arg	Ser	Gln	Gly	Val	Thr	Thr
		275					280					285			
Leu	Gly	Thr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Leu	Phe	Pro	Asn	Arg	Ala	Pro	Asp
	290					295					300				
Gly	Arg	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ala	Thr	Asn	Thr	Gly
305					310					315					320
Ile	Leu	Ser	Gln	Thr	Glu	Ser	Glu	Leu	Ile	Glu	Val	Val	Asp	Arg	Asp
				325					330					335	
Leu	Arg	Lys	Ile	Leu	Ile	Asn	Pro	Asn	Ala	Glu	Asp	Pro	Leu	Pro	Leu
			340					345					350		
Ser	Val	Arg	Val	Trp	Pro	Gln	Ala	Ile	Pro	Gln	Phe	Leu	Ile	Gly	His
		355					360					365			
Leu	Asp	Val	Leu	Asp	Thr	Ala	Lys	Ala	Gly	Leu	Arg	Glu	Ala	Gly	Met
	370					375					380				
Glu	Gly	Leu	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Tyr	Val	Cys	Gly	Val	Ala	Leu	Gly
385					390					395					400

MD 4683 C1 2020.12.31

182

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Arg

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

<400> 45
atggccgcct ccgacgaccc ccgcggcggg aggtccgtcg ccgtcgtcgg cgccggcgtc 60
agtgggctcg cggcggcgta caggctgagg aagcgcggcg tgcagggtgac ggtgttcgag 120
gcggccgaca gggcgggttg gaagatacgg accaactccg agggcgggtt catctgggac 180
gaaggggcca acaccatgac agagagtga tggaggcaa gcaggcttat tgacgatctt 240
ggcctacaag gcaaacagca gtatcctaac tcacaacaca agcgttacat tgtcaaagat 300
ggagcaccaa cactgattcc ctcatatccc attgcgtcga tgaaaagcac tgttctttct 360
acaaaatcaa agctcaagct atttctggaa ccatttctct atgagaaatc tagcagaagg 420
acctcgggaa aagtgtctga tgaacattta agtgagagtg tgatttttct gtgtatatgt 480
agagataatc aggttggtga ttatcttatt gatccatttg tggctggaac aagcggagga 540
gatcctgagt cattatcaat tcgtcatgca tttccagcat tatggaattt ggagaataag 600
tatggctctg tcattgctgg tgccatcttg tccaaactat ccactaaggg tgattcagtg 660
aagacaggag gtgcttcgcc agggaaagga aggaataaac gtgtgtcatt ttcatttcat 720
ggtggaatgc agtcactaat agatgcactt cacaatgaag ttggagatgg taacgtgaag 780
cttggtacag aagtgttgtc attggcatgt tgctgtgatg gagtctcttc ttctgggtgt 840
tgggtcaattt ctgttgattc aaaagatgct aaaggggaa atctcagaaa gaaccaatct 900
ttcgatgctg ttataatgac tgctccattg tctaattgtc agaggatgaa gtttacaaaa 960
ggtggagttc cttttgtgct agactttctt cctaaggctg attatctacc actatctctc 1020
atggtaacag cttttaagaa ggaagatgtc aaaaaacat tggaaggatt tggcgccttg 1080
ataccctata aggaacagca aaagcatggt ctcaaaaccc ttgggaccct cttctcctcg 1140
atgatgtttc cagatcgagc tcctaattgat caatatctat atacatcttt cattgggggg 1200
agccataata gagacctcgc tggggtcca acggctattc tgaaacaact tgtgacctct 1260
gacctaaaga agctcttggg tgttgaggga caacctactt ttgtgaagca tgtacattgg 1320
agaaatgctt ttcctttata tggccagaat tatgatctgg tactggaagc tatagcaaaa 1380
atggagaaca atcttccagg gttcttttac gcaggaaata acaaggatgg gttggctgtt 1440
ggaaatgtta tagcttcagg aagcaaggct gctgaccttg tgatctctta tcttgaatct 1500
tgcacagatc aggacaatta g 1521

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

MD 4683 C1 2020.12.31

183

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

<400> 46

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

Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala Ala Tyr Arg Leu Arg Lys Arg
20 25 30

Gly Val Gln Val Thr Val Phe Glu Ala Ala Asp Arg Ala Gly Gly Lys
35 40 45

Ile Arg Thr Asn Ser Glu Gly Gly Phe Ile Trp Asp Glu Gly Ala Asn
50 55 60

Thr Met Thr Glu Ser Glu Leu Glu Ala Ser Arg Leu Ile Asp Asp Leu
65 70 75 80

Gly Leu Gln Gly Lys Gln Gln Tyr Pro Asn Ser Gln His Lys Arg Tyr
85 90 95

Ile Val Lys Asp Gly Ala Pro Thr Leu Ile Pro Ser Asp Pro Ile Ala
100 105 110

Leu Met Lys Ser Thr Val Leu Ser Thr Lys Ser Lys Leu Lys Leu Phe
115 120 125

Leu Glu Pro Phe Leu Tyr Glu Lys Ser Ser Arg Arg Thr Ser Gly Lys
130 135 140

Val Ser Asp Glu His Leu Ser Glu Ser Val Ile Phe Leu Cys Ile Cys
145 150 155 160

Arg Asp Asn Gln Val Val Asp Tyr Leu Ile Asp Pro Phe Val Ala Gly
165 170 175

Thr Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ser Leu Ser Ile Arg His Ala Phe Pro
180 185 190

Ala Leu Trp Asn Leu Glu Asn Lys Tyr Gly Ser Val Ile Ala Gly Ala
195 200 205

Ile Leu Ser Lys Leu Ser Thr Lys Gly Asp Ser Val Lys Thr Gly Gly
210 215 220

Ala Ser Pro Gly Lys Gly Arg Asn Lys Arg Val Ser Phe Ser Phe His
225 230 235 240

Gly Gly Met Gln Ser Leu Ile Asp Ala Leu His Asn Glu Val Gly Asp
245 250 255

Gly Asn Val Lys Leu Gly Thr Glu Val Leu Ser Leu Ala Cys Cys Cys
260 265 270

MD 4683 C1 2020.12.31

184

PF73943_AT_AR, BO, PY, UY, PCT_ST25.txt

Asp Gly Val Ser Ser Ser Gly Gly Trp Ser Ile Ser Val Asp Ser Lys
275 280 285

Asp Ala Lys Gly Lys Asp Leu Arg Lys Asn Gln Ser Phe Asp Ala Val
290 295 300

Ile Met Thr Ala Pro Leu Ser Asn Val Gln Arg Met Lys Phe Thr Lys
305 310 315 320

Gly Gly Val Pro Phe Val Leu Asp Phe Leu Pro Lys Val Asp Tyr Leu
325 330 335

Pro Leu Ser Leu Met Val Thr Ala Phe Lys Lys Glu Asp Val Lys Lys
340 345 350

Pro Leu Glu Gly Phe Gly Ala Leu Ile Pro Tyr Lys Glu Gln Gln Lys
355 360 365

His Gly Leu Lys Thr Leu Gly Thr Leu Phe Ser Ser Met Met Phe Pro
370 375 380

Asp Arg Ala Pro Asn Asp Gln Tyr Leu Tyr Thr Ser Phe Ile Gly Gly
385 390 395 400

Ser His Asn Arg Asp Leu Ala Gly Ala Pro Thr Ala Ile Leu Lys Gln
405 410 415

Leu Val Thr Ser Asp Leu Arg Lys Leu Leu Gly Val Glu Gly Gln Pro
420 425 430

Thr Phe Val Lys His Val His Trp Arg Asn Ala Phe Pro Leu Tyr Gly
435 440 445

Gln Asn Tyr Asp Leu Val Leu Glu Ala Ile Ala Lys Met Glu Asn Asn
450 455 460

Leu Pro Gly Phe Phe Tyr Ala Gly Asn Asn Lys Asp Gly Leu Ala Val
465 470 475 480

Gly Asn Val Ile Ala Ser Gly Ser Lys Ala Ala Asp Leu Val Ile Ser
485 490 495

Tyr Leu Glu Ser Cys Thr Asp Gln Asp Asn
500 505

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. US 5767373 A 1998.06.16
2. WO 2007/024739 A2 2007.03.01

(57) Revendicări:

1. Procedeu de combatere a vegetației nedorite pe un teren de cultivare a plantelor, procedeul dat fiind format din etapele:

a) furnizare pe terenul respectiv a unei plante care conține cel puțin un acid nucleic, ce cuprinde o secvență de nucleotide care codifică sau o protoporfirinogen oxidază mutantă (mut-PPO), care este rezistentă sau tolerantă la un erbicid care inhibă PPO, și

b) aplicare pe terenul respectiv a unei cantități eficiente de erbicidul menționat, unde secvența de nucleotide din etapa a) cuprinde secvența SEQ ID NO: 1 sau 3 sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3, și unde mut-PPO a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4 cuprinde următoarele:

a) aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln; și

b) aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Val sau Met.

2. Procedeu conform revendicării 1, unde planta include, cel puțin, un acid nucleic heterolog suplimentar care cuprinde o secvență de nucleotide ce codifică o enzimă tolerantă la erbicid.

3. Procedeu conform uneia dintre revendicările 1 - 2, unde erbicidul care inhibă PPO se aplică împreună cu unul sau mai multe erbicide suplimentare.

4. Casetă de expresie, care cuprinde un acid nucleic izolat ce codifică o polipeptidă mut-PPO, unde acidul nucleic are o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3, și unde mut-PPO codificată este o variantă a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Val sau Met, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln, unde polipeptida menționată mut-PPO conferă rezistență sau toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO într-o plantă comparativ cu o plantă sălbatică.

5. Polipeptidă mut-PPO care cuprinde o secvență, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Met sau Val, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln, în care polipeptida mut-PPO menționată conferă rezistență sau toleranță sporită la un erbicid care inhibă PPO într-o plantă comparativ cu o plantă sălbatică.

6. Celulă de plantă transgenică transformată de un acid nucleic care codifică o polipeptidă mut-PPO, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, unde expresia acidului nucleic în celula de plantă duce la sporirea rezistenței sau toleranței la un erbicid care inhibă PPO, comparativ cu un soi sălbatic de celula de plantă și unde mut-PPO codificată este o variantă a SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, care include aminoacidul ce corespunde poziției 397 și care este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu sau Gln, și aminoacidul ce corespunde poziției 420, care este Met sau Val.

7. Celulă de plantă transgenică, conform revendicării 6, unde acidul nucleic care codifică polipeptida mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupul ce constă dintr-o: a) polinucleotidă prezentată în SEQ ID NO: 1 sau 3, sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3; b) polinucleotidă care codifică o polipeptidă, care este în măsură de cel puțin 80% identică SEQ ID NO: 2 sau 4; c) polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau b); și d) polinucleotidă complementară polinucleotidei oricăreia dintre a) - c).

8. Plantă transgenică care cuprinde o celulă de plantă, conform revendicării 6 sau 7, unde expresia acidului nucleic care codifică polipeptida mut-PPO în plantă duce la sporirea rezistenței plantei la un erbicid care inhibă PPO comparativ cu o plantă sălbatică.

9. Plantă care exprimă o polipeptidă mut-PPO supusă mutagenezei sau recombinanță ce cuprinde o secvență, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO:

4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Met sau Val, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln, unde mut-PPO menționată conferă plantei toleranță sporită la erbicid comparativ cu soiul de plantă sălbatic corespunzător, atunci când este exprimată în aceasta.

10. Sămânță produsă de o plantă transgenică care cuprinde o celulă de plantă, conform revendicării 6 sau 7, sau produsă de o plantă conform revendicării 8 sau 9, unde sămânța este o specie pură pentru rezistență sporită la un erbicid care inhibă PPO, comparativ cu soiul de sămânță de tip sălbatic.

11. Procedeu de producere a unei plante transgenice, ce include (a) transformarea unei celule de plantă cu o casetă de expresie cuprinzând un acid nucleic ce codifică o polipeptidă mut-PPO, care cuprinde o secvență, care este în măsură de cel puțin 80% identică cu SEQ ID NO: 2 sau SEQ ID NO: 4, în care aminoacidul ce corespunde poziției 420 este Val sau Met, iar aminoacidul ce corespunde poziției 397 este Gly, Ala, Ser, Thr, Cys, Val, Ile, Met, Pro, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Asn, Asp, Glu, sau Gln, și (b) generarea unei plante cu rezistență sporită la erbicidul care inhibă PPO din celula de plantă.

12. Procedeu, conform revendicării 11, unde acidul nucleic al mut-PPO cuprinde o secvență de polinucleotide selectată din grupa ce constă dintr-o : a) polinucleotidă prezentată în SEQ ID NO: 1 sau 3, sau o variantă a acesteia, având o identitate a secvenței de cel puțin 80% în raport cu secvența de nucleotide SEQ ID NO: 1 sau 3; b) polinucleotidă care codifică o polipeptidă, care este în măsură de cel puțin 80% identică SEQ ID NO: 2 sau 4; c) polinucleotidă care cuprinde cel puțin 60 de nucleotide consecutive ale oricăreia dintre a) sau b); și d) polinucleotidă complementară polinucleotidei oricăreia dintre a) - c).

13. Procedeu, conform uneia dintre revendicările 11-12, unde caseta de expresie cuprinde suplimentar o regiune de reglare a inițierii transcripției și o regiune de reglare a inițierii translației care sunt funcționale în plantă.

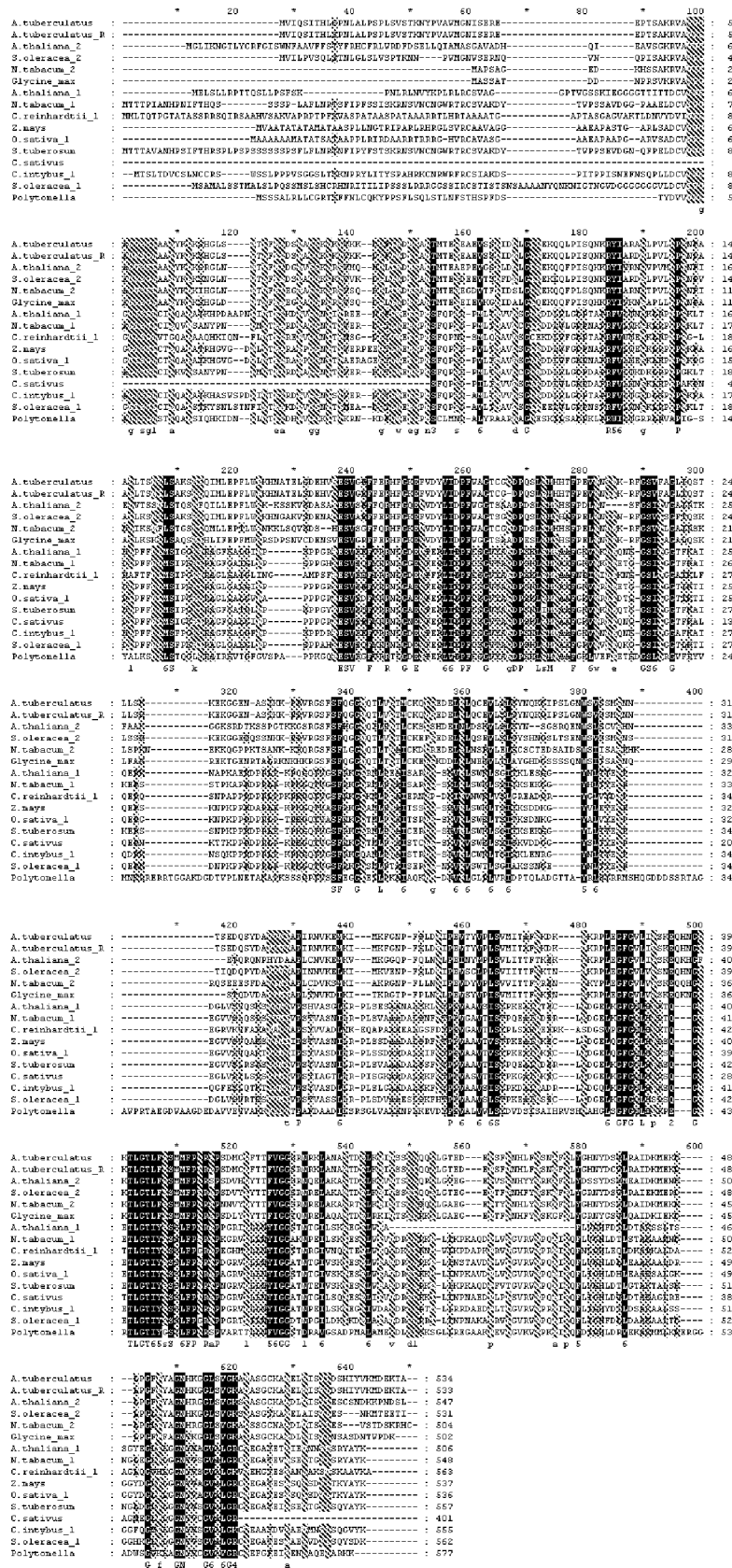
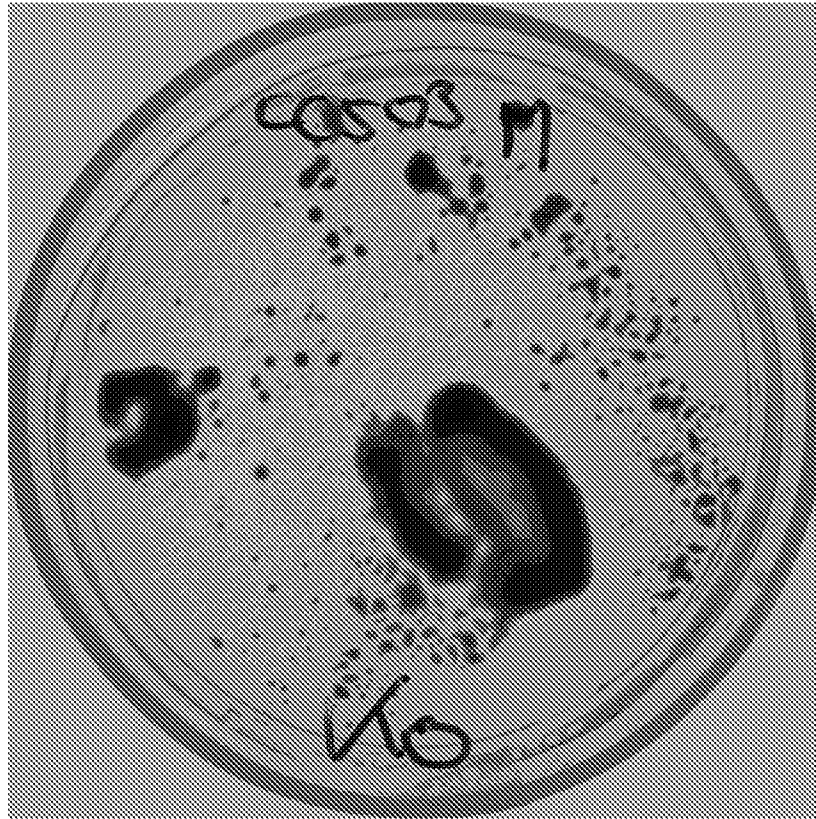


Fig. 1

A



B

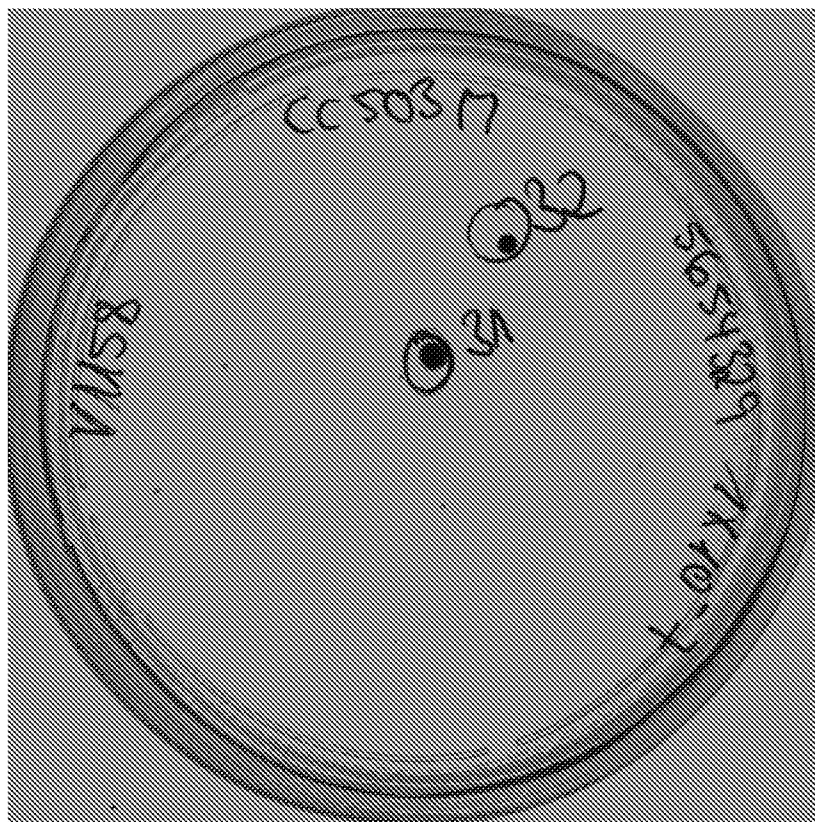


Fig. 2

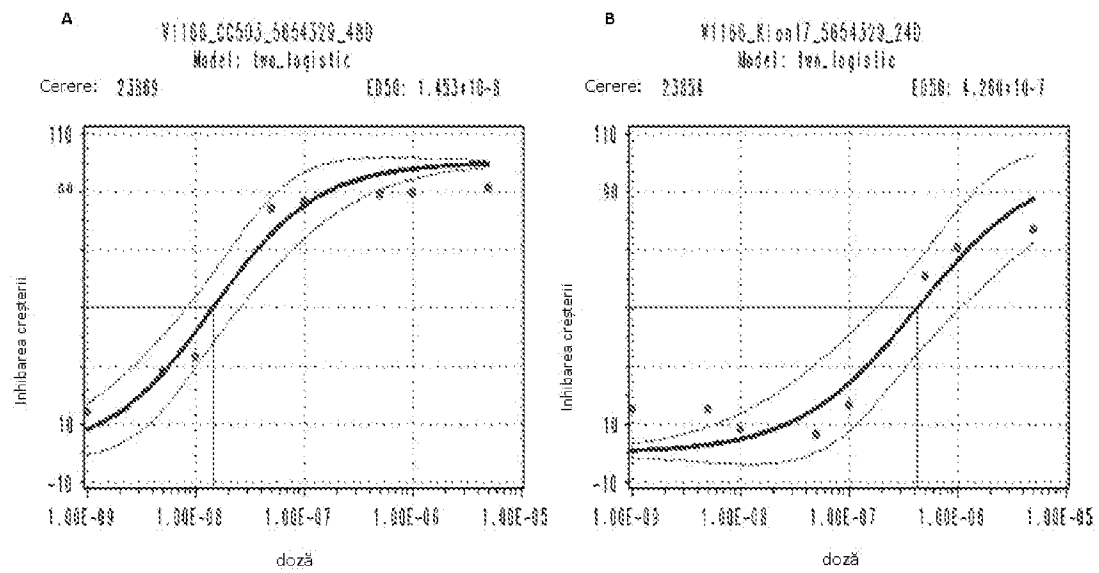


Fig. 3

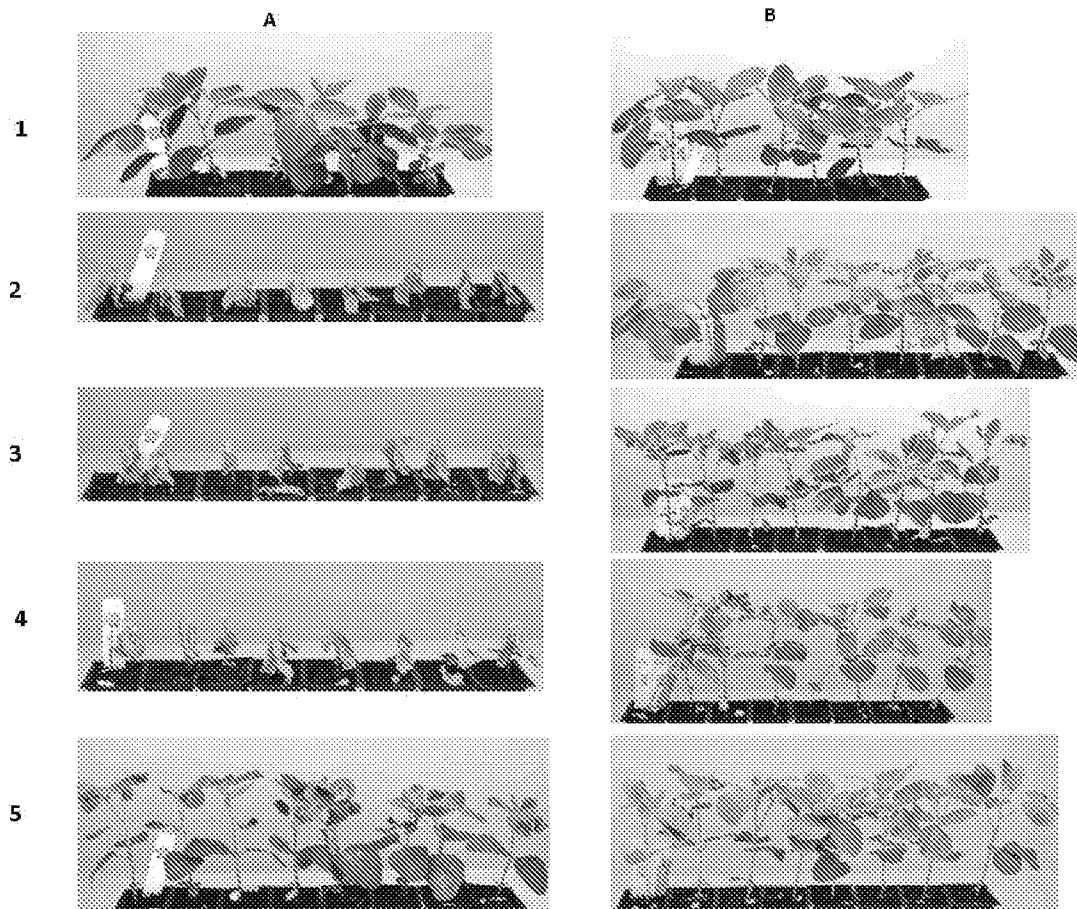


Fig. 4

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: a 2015 0003 2019.06.12; 2012.06.19 (22) Data depozit: 2013.06.19 (71) Solicitant: BASF AGRO B.V., NL (54) Titlul: Plante cu toleranță sporită la erbicide (32) Data de prioritate recunoscută: Raport de documentare internațională: ☒ da		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: <i>A01H 1/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/09</i> (2013.01) <i>A01H 5/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/10</i> (2013.01) <i>C07K 14/195</i> (2013.01) <i>C12N 15/82</i> (2013.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): Int.Cl: <i>A01H 1/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/09</i> (2013.01) <i>A01H 5/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/10</i> (2013.01) <i>C07K 14/195</i> (2013.01) <i>C12N 15/82</i> (2013.01) protoporfirinogen oxidaza (PPO) mutantă, erbicid care inhibă PPO "Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: <i>A01H 1/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/09</i> (2013.01) <i>A01H 5/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/10</i> (2013.01) <i>C07K 14/195</i> (2013.01) <i>C12N 15/82</i> (2013.01) mutated protoporphyrinogen oxidase (PPO), PPO-inhibiting herbicide EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: <i>A01H 1/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/09</i> (2013.01) <i>A01H 5/00</i> (2013.01) <i>C12N 15/10</i> (2013.01) <i>C07K 14/195</i> (2013.01) <i>C12N 15/82</i> (2013.01) мутантный тип протопорфириноген оксидазы (PPO), PPO-ингибирующему гербициду		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categorie*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
X	X. Li. Development of Protoporphyrinogen Oxidase as an Efficient Selection Marker for Agrobacterium tumefaciens-Mediated Transformation of Maize. Plant Physiology, vol. 133, no. 2, 2003.09.11, p. 736-747	1, 6-11, 15-23
X, D	US 2010/100988 A1 2010.04.22	1,2,3-11, 13, 15-23
X, D	US 5939602 A 1999.08.17	1,2, 6-11, 15-23

X	Hao Ge-Fei et al. Protoporphyrinogen Oxidase Inhibitor: An Ideal Target for Herbicide Discovery. Chimia, Schweizerische Chemische Gesellschaft, CH, vol. 65, no. 12, 2011.12.01, p. 961-969	12, 14-16, 18
Y	WO 2011/018486 A2 2011.02.17	4,5
X, P	WO 2012/080975 A1 2012.06.21	1-23
A, D	US 5767373 A 1998.06.16	1-23
A, D, C	WO 2007/024739 A2 2007.03.01	1-23

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2018.01.09

Examinator

GROSU Petru

