

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2016120636, 03.11.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
04.11.2013 US 61/899,602

(43) Дата публикации заявки: 06.12.2017 Бюл. № 34

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 06.06.2016(86) Заявка РСТ:
US 2014/063739 (03.11.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/066643 (07.05.2015)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ДАУ АГРОСАЙЕНСИЗ ЭлЭлСи (US)

(72) Автор(ы):

САСТРИ-ДЕНТ Лакшми (US),

ЦАО Цзэхуэй (US),

СРИРАМ Шридхаран (US),

УЭББ Стивен Р. (US),

КАМПЕР Дебра Л. (US),

ЭЙНЛИ Майкл У. (US)

(54) **ОПТИМАЛЬНЫЕ ЛОКУСЫ СОИ**

(57) Формула изобретения

1. Рекомбинантная последовательность, причем указанная рекомбинантная последовательность содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую размер по меньшей мере 1 т.п.о. и обладающую по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с негенной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),

soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),

soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),

soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),

soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),

soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566),

soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236),

soy_OGL_684 (SEQ ID NO: 47),

soy_OGL_682 (SEQ ID NO: 2101),

soy_OGL_685 (SEQ ID NO: 48), и

представляющую интерес ДНК, где представляющая интерес ДНК встроена в указанную негенную последовательность с образованием указанной рекомбинантной последовательности.

2. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес

ДНК встраивается вблизи участка-мишени цинковых пальцев.

3. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК встраивается между парой участков-мишеней цинковых пальцев.

4. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК содержит аналитический домен.

5. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК не кодирует пептид.

6. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК кодирует пептид.

7. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК содержит кассету для экспрессии гена, содержащую ген устойчивости к инсектицидам, ген толерантности к гербицидам, ген эффективности утилизации азота, ген эффективности утилизации воды, ген пищевой ценности, ген ДНК-связывающего продукта и ген селективного маркера.

8. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК содержит две или более кассеты для экспрессии гена.

9. Рекомбинантная последовательность по п.1, где каждая из двух или более указанных негенных последовательностей содержит встроенную представляющую интерес ДНК для получения двух или более рекомбинантных последовательностей, где две или более рекомбинантных последовательности располагаются на одной и той же хромосоме.

10. Рекомбинантная последовательность по п.1, где указанная представляющая интерес ДНК и/или указанная негенная последовательность модифицируются в процессе встраивания указанной представляющей интерес ДНК в указанную негенную последовательность.

11. Рекомбинантная последовательность по любому из пп.1-10, где негенный геномный локус сои обладает по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из:

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),
soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),
soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),
soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),
soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566) и
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236).

12. Рекомбинантная последовательность по любому из пп.1-10, где негенный геномный локус сои обладает по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из состоящий из

soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566) и
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236).

13. Растение сои, часть растения сои или клетка растения сои, содержащие рекомбинантную последовательность по любому из пп.1-10.

14. Способ получения трансгенной клетки растения, содержащей представляющую интерес ДНК, причем способ включает:

а. выбор негенного геномного локуса-мишень сои, обладающего по меньшей мере 90% идентичностью последовательности, из группы, состоящей из

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),
soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),
soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),

soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),
soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566),
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236),
soy_OGL_684 (SEQ ID NO: 47),
soy_OGL_682 (SEQ ID NO: 2101) и
soy_OGL_685 (SEQ ID NO: 48);

b. выбор сайт-специфической нуклеазы, которая специфически связывает и расщепляет указанный негенный геномный локус-мишень сои;

c. введение указанной сайт-специфической нуклеазы в клетку растения сои;

d. введение представляющей интерес ДНК в клетку растения;

e. встраивание представляющей интерес ДНК в указанные негенные геномные локусы-мишени сои; и

f. выбор трансгенных клеток растения, содержащих представляющую интерес ДНК, нацеленную на указанный негенный локус.

15. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК содержит аналитический домен.

16. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК не кодирует пептид.

17. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК кодирует пептид.

18. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК содержит кассету для экспрессии гена, содержащую трансген.

19. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК содержит две или более кассет для экспрессии гена.

20. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная сайт-специфическая нуклеаза выбрана из группы, состоящей из нуклеазы с цинковыми пальцами, нуклеазы CRISPR, TALEN, хоминг-эндонуклеазы или мегануклеазы.

21. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК встраивается в указанный негенный локус способом встраивания по типу направляемой гомологией репарации.

22. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК встраивается в указанный негенный локус способом встраивания по типу негомологичного связывания концов.

23. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где две или более из указанных представляющих интерес ДНК встраиваются в два или более из указанных негенных геномных локуса-мишени сои.

24. Способ получения трансгенной клетки растения по п.23, где два или более из указанных негенных геномных локуса-мишени сои располагаются на одной хромосоме.

25. Способ получения трансгенной клетки растения по п.14, где указанная представляющая интерес ДНК и/или указанные негенные геномные локусы-мишени сои модифицируются в процессе встраивания указанной представляющей интерес ДНК в указанные негенные геномные локусы-мишени сои.

26. Способ получения трансгенной клетки растения по любому из пп.14-25, где указанный негенный геномный локус сои обладает по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с последовательность, выбранной из группы, состоящей из

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),
soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),
soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),

soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),
soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566) и
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236).

27. Способ получения трансгенной клетки растения по любому из пп.14-25, где негенный геномный локус сои обладает по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из

soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566) и
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236).

28. Очищенные негенные геномные локусы сои размером по меньшей мере 1 т.п.о. и обладающие по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с негенной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),
soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),
soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),
soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),
soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566),
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236),
soy_OGL_684 (SEQ ID NO: 47),
soy_OGL_682 (SEQ ID NO: 2101) и
soy_OGL_685 (SEQ ID NO: 48).

29. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.28, содержащие представляющую интерес ДНК, где указанная представляющая интерес ДНК встроена в указанную негенную последовательность.

30. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК встроена вблизи участка-мишени цинковых пальцев.

31. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК встроена между парой участков-мишеней цинковых пальцев.

32. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК содержит аналитический домен.

33. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК не кодирует пептид.

34. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК кодирует пептид.

35. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК содержит кассету для экспрессии гена, содержащую ген устойчивости к инсектицидам, ген толерантности к гербицидам, ген эффективности утилизации азота, ген эффективности утилизации воды, ген пищевой ценности, ген ДНК-связывающего продукта и ген селективного маркера.

36. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК содержит две или более кассет для экспрессии гена.

37. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где каждая из двух или более указанных негенных последовательностей содержит встроенную представляющую интерес ДНК для продуцирования двух или более рекомбинантных последовательностей, где две или более рекомбинантных последовательностей располагаются на одной и той же хромосоме.

38. Очищенные негенные геномные локусы сои по п.29, где указанная

представляющая интерес ДНК и/или указанная негенная последовательность модифицируются в процессе встраивания указанной представляющей интерес ДНК в указанную негенную последовательность.

39. Очищенные негенные геномные локусы кукурузы по п.29, где указанная представляющая интерес ДНК встраивается посредством механизма направляемой гомологией репарации или механизма репарации по принципу негомولوجичного соединения концов.

40. Растение, содержащее рекомбинантную последовательность, причем рекомбинантная последовательность содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, обладающую по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с негенной последовательностью, и последовательность нуклеиновой кислоты, обладающую по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с негенной последовательностью, и

представляющую интерес ДНК, где представляющая интерес ДНК встроена в указанную негенную последовательность.

41. Растение по п.40, где указанная негенная последовательность выбрана из группы, состоящей из

soy_OGL_1423 (SEQ ID NO: 639),
soy_OGL_1434 (SEQ ID NO: 137),
soy_OGL_4625 (SEQ ID NO: 76),
soy_OGL_6362 (SEQ ID NO: 440),
soy_OGL_308 (SEQ ID NO: 43),
soy_OGL_307 (SEQ ID NO: 566),
soy_OGL_310 (SEQ ID NO: 4236),
soy_OGL_684 (SEQ ID NO: 47),
soy_OGL_682 (SEQ ID NO: 2101) и
soy_OGL_685 (SEQ ID NO: 48).

42. Растение по п.40, содержащее две или более указанных рекомбинантных последовательностей.

43. Растение по п.42, где указанные рекомбинантные последовательности расположены на одной и той же хромосоме.

44. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК встроена вблизи участка-мишени цинковых пальцев.

45. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК встроена между парой участков-мишеней цинковых пальцев.

46. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК содержит аналитический домен.

47. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК не кодирует пептид.

48. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК кодирует пептид.

49. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК содержит кассету для экспрессии гена, содержащую ген устойчивости к инсектицидам, ген толерантности к гербицидам, ген эффективности утилизации азота, ген эффективности утилизации воды, ген пищевой ценности, ген ДНК-связывающего продукта и ген селективного маркера.

50. Растение по п.40, где указанная представляющая интерес ДНК и/или указанная негенная последовательность модифицируются в процессе встраивания указанной представляющей интерес ДНК в указанную негенную последовательность.

RU 2016120636 A

RU 2016120636 A