

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12N 15/82



[12] 发明专利申请公开说明书

C12N 5/10 C12N 15/52

A01H 5/00 C07K 14/415

C12N 9/00 C08B 30/00

C07K 16/16 C12Q 1/68

[21] 申请号 00808513.7

[43] 公开日 2003 年 3 月 12 日

[11] 公开号 CN 1402789A

[22] 申请日 2000.6.2 [21] 申请号 00808513.7

[30] 优先权

[32] 1999.6.11 [33] DE [31] 19926771.5

[86] 国际申请 PCT/EP00/05064 2000.6.2

[87] 国际公布 WO00/77229 英 2000.12.21

[85] 进入国家阶段日期 2001.12.5

[71] 申请人 阿温提斯作物科学有限公司

地址 德国法兰克福

[72] 发明人 G·阿贝尔 H·罗尔兹

S·鲁缇克 R-C·施密特

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李 瑛

权利要求书 3 页 说明书 26 页 序列表 20 页

[54] 发明名称 来自小麦的核酸分子、转基因植物
细胞和植物及其在生产改性淀粉中的
应用

[57] 摘要

本发明描述了编码来自小麦的 R1 - 蛋白质的核酸分子和用于生产可合成改性淀粉的转基因植物细胞和植物的方法和重组 DNA 分子。另外，本发明描述了由这些方法产生的植物细胞和植物以及可从中获得的淀粉。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种编码 R1-蛋白质或 R1-蛋白质的部分或衍生物的核酸分子，它选自下列核酸分子组成的组：

(a) 编码包括选自 Seq. ID No. 2 和 Seq. ID No. 10 组成的组的多肽的 R1 蛋白质的核酸分子或其部分或其衍生物；

(b) 编码选自 Seq. ID No. 1 和 Seq. ID No. 9 组成的组的核酸分子或其部分或其衍生物；

(c) 包括选自按照 DSM 号 12810 的质粒 pTa R1-11 和按照 DSM 号 13511 的质粒 RS26-88 组成的组的 cDNA 插入片段编码区的核酸分子或其部分或其衍生物；

(d) 编码一种多肽的核酸分子或其部分或其衍生物，所述多肽包括由 cDNA 插入片段编码的多肽，所述的 cDNA 插入片段选自按照 DSM 号 12810 的质粒 pTa R1-11 和按照 DSM 号 13511 的质粒 RS26-88 组成的组。

2. 一种根据权利要求 1 的核酸分子，它包括一个或多个确保细胞中转录和/或翻译的调节元件。

3. 一种根据权利要求 1-2 中一项或多项的核酸分子，它是 DNA 分子。

4. 一种根据权利要求 1-2 中一项或多项的核酸分子，它是 RNA 分子。

5. 一种包括权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子的载体。

6. 根据权利要求 5 所述的载体，它包括一个或多个确保细菌和/或植物细胞中转录和/或翻译的调节元件。

7. 一种转基因宿主细胞，它包括根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子和/或根据权利要求 5-6 中一项或多项的载体。

8. 根据权利要求 7 所述的宿主细胞，它是植物细胞。

9. 一种用于制备根据权利要求 7-8 中一项或多项的转基因细胞的方法，该方法包括将根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子和

/或根据权利要求 5-6 中一项或多项的载体引入原核细胞或真核细胞的基因组中的步骤。

10. 根据权利要求 9 所述的方法, 其中所述的细胞是植物细胞。

11. 一种包括权利要求 8 所述宿主细胞的转基因植物。

12. 一种用于生产根据权利要求 11 的植物的方法, 该方法包括将根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子和/或根据权利要求 5-6 中一项或多项的载体引入植物细胞并从该植物细胞再生完整植物的步骤。

13. 一种来自权利要求 11 所述植物的繁殖材料。

14. 一种来自权利要求 11 的转基因植物的种子。

15. 一种用于生产淀粉的方法, 该方法包括将根据权利要求 8 的植物细胞、根据权利要求 11 的植物、根据权利要求 13 的繁殖材料和/或根据权利要求 14 的种子引入用于生产淀粉的工艺中的步骤。

16. 一种可获自根据权利要求 8 的植物细胞、根据权利要求 11 的植物、根据权利要求 13 的繁殖材料和/或根据权利要求 14 的种子或可用权利要求 15 的方法获得的淀粉。

17. 一种用于生产改性淀粉的方法, 该方法包括将根据权利要求 16 的淀粉引入对淀粉进行化学和/或物理修饰的工艺中的步骤。

18. 一种用于生产 Seq. ID No. 2 和 Seq. ID No. 10 的 R1-多肽或其衍生物或其部分的方法, 该方法包括在允许表达蛋白质的条件下培养根据权利要求 7-8 中一项或多项的宿主细胞并从所述细胞和/或培养基中分离所述 R1-多肽的步骤。

19. 一种由根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子编码的 R1-多肽或其衍生物或其部分。

20. 根据权利要求 19 的 R1-多肽在生产单克隆抗体或多克隆抗体中的应用。

21. 根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子或其衍生物或其部分在筛选核酸文库和/或作为杂交探针中的应用, 所述的核酸分子或其衍生物或其部分任选地被标记。

22. 根据权利要求 1-4 中一项或多项的核酸分子或其衍生物或其部分在制备转基因细胞或转基因植物中的应用。

来自小麦的核酸分子、转基因植物细胞和植物 及其在生产改性淀粉中的应用

本发明涉及编码来自小麦的 R1-蛋白质的核酸分子及其衍生物和
部分、所述的 R1-蛋白质、用于生产所述 R1-蛋白质的方法、包括所述
核酸分子的转基因植物细胞和植物、包括所述核酸分子的转基因植物
细胞和植物以及可获自所述转基因植物细胞和植物的改性淀粉。

多糖淀粉构成了植物中最重要的贮存物质之一。淀粉广泛用于生
产食品并且还在生产工业化产品中作为再生原料起重要作用。为了在
许多不同技术领域中的应用淀粉，需要各种任选地改性的淀粉以便满足
加工工业的不同需求。

尽管淀粉由化学上均一的基本成分，即葡萄糖组成，但是它不构
成均匀原料。它是复杂的分子混合物，所述分子在其葡萄糖链的聚合度
和支化度方面存在差异：直链淀粉型淀粉是由 α -1,4-糖苷支链葡萄糖
分子组成的基本上非支化聚合物，而支链淀粉型淀粉是支化葡萄糖链
的混合物，它另外包括 α -1,6-糖苷互连键。

淀粉的分子结构主要依赖于其支化度、直链淀粉/支链淀粉比例、
平均链长、链长分布和磷酸化程度，从而进一步决定淀粉及其水溶液
的功能特性。淀粉及其水溶液的重要功能特性分别是：例如溶解性、
退减趋势、成膜能力、粘度、糊化（粘合和胶连）特性和抗冷性。另
外，淀粉颗粒的大小还可能决定淀粉对特殊应用的适合性。

由于淀粉通常通过化学和/或物理修饰得到改变以便满足工业的
要求，所以对提供改性淀粉存在巨大的需求，这种改性淀粉将会使含
有改性淀粉的植物细胞或植物部位更适合于工业化加工，例如生产食
品或工艺产品。因此，需要避免进行耗时而昂贵的化学和/或物理修饰
并提供可合成更接近地满足淀粉加工工业要求的淀粉的植物。

例如，通过传统的育种和/或产生突变株制备产生改性产物的改良

植物的常规方法局限于应用同源基因且并不总是令人满意的。特别在小麦中，因小麦的多倍性（四或六倍性）而难以通过传统育种制备稳定的突变株。然而，近来通过育种方法（Nakamura 等, *Mol. Gen. Geent.* 248 (1995), 253-259）获得了产生蜡质型淀粉（不含直链淀粉的淀粉）的小麦突变株。

进一步的可供选择的方法是制备包括适合于改变植物淀粉机理的核酸分子以合成改性淀粉的转基因植物。这类植物通过重组分子生物学技术并引入干扰淀粉代谢的同源和/或异源核酸分子（例如编码区、调节元件、内含子）来生产。然而，应用重组分子生物学技术需要直接或间接（例如共抑制、反义技术、蛋白质或核酶的生成）参与淀粉代谢或淀粉生物合成（即淀粉的合成、改性和/或降解）的适宜核酸的有效性。

大量基因参与淀粉代谢。因此，已经将编码例如分支酶、脱支酶、异淀粉酶、淀粉合成酶、ADP-葡萄糖-焦磷酸化酶的大量基因用于改变植物中的淀粉代谢。

尤其就淀粉磷酸化程度而言 R1 蛋白质参与淀粉代谢且因此适合于改变淀粉的合成。特别地，R1-蛋白质和编码来源于下列许多植物物种的 R1-蛋白质的基因是公知的：即来自 WO 97/11188-A1 和 Lorberth 等（*Nature Biotechnology* 16 (1998), 473-477）的马铃薯；来自 WO 98/27212-A1 的玉米；来自 Sakaki 等、EMBL 数据库登记寄存号 C71741 (1997-09-19) 的稻米；和来自 WO 99/53072-A1 的鼠耳芥属、姜、藜类、香蒲（宽叶香蒲）和大豆。

然而，小麦植物中存在 R1-蛋白质并未得到证实，相应的核酸分子也未得到鉴定。此外，编码 R1-蛋白质的已知核酸分子并不总是令人满意的或并不总是适合于小麦植物的遗传工程或体内诱变以便改变小麦淀粉的生物合成和/或代谢。

因此，有待由本发明解决的问题是提供编码来源于小麦的 R1-蛋白质的核酸分子和改变植物中，尤其是小麦植物中淀粉代谢以便提供一种改性淀粉的方法，这种改性淀粉就物理和/或化学特性而言不同于

天然合成的淀粉，尤其是小麦淀粉，它表现出改善的特征，特别是应用于食品和/或非食品工业。

这些问题由如权利要求中所述的本发明的实施方案解决。

因此，本发明涉及编码包括按照 Seq. ID No. 2 和 Seq. ID No. 9 的氨基酸序列的 R1 蛋白质的核酸分子或按照质粒 pTa R1-11 (DSM 号 12810) 和质粒 RS26-88 (DSM 号 13511) 的 cDNA 插入片段的其衍生物或其部分。所述本发明的 R1-蛋白质参与淀粉的代谢并且就磷酸化程度而言直接或间接参与小麦淀粉的生物合成。

在本发明的含义内，有关本发明 R1-蛋白质（多肽、氨基酸序列）的术语“衍生物”包括来源于 Seq. ID No. 2 的多肽，它包括约至少 60 - 79 个氨基酸基、优选至少 80 个氨基酸基、更优选至少 90 个氨基酸基、特别是至少 100 个且最优选约 101 - 111 个氨基酸基，这些氨基酸基选自下列组成的氨基酸基的组：1E、2V、3V、5G、6L、7G、8E、9T、10L、11V、12G、13A、14Y、15P、16G、17R、18A、20S、21F、23C、24K、25K、27D、28L、30S、31P、34L、35G、36Y、37P、38S、39K、40P、41I、42G、43L、44F、45I、48S、49I、50I、51F、52R、53S、54D、55S、56N、57G、58E、59D、60L、61E、62G、63Y、64A、65G、66A、67G、68L、69Y、70D、71S、72V、73P、74M、75D、77E、80V、81V、83D、84Y、87D、88P、89L、90I、92D、95F、96R、99I、100L、101S、103I、104A、105R、106A、107G、108H、109A、110I、111E、112E、113L、114Y、115G、116S、117P、118Q、119D、121E、122G、123V、124V、126D、127G、128K、129I、130Y、131V、132V、133Q 和 134T；且所述多肽包括至少 1 个、优选 2 个且更优选 3 个选自如 Seq. ID No. 2 所述的氨基酸基中 76V、93S 和 97N 组成的组的氨基酸基（下文由单个字母码表示）。

在本发明的含义内，有关本发明 R1-蛋白质（多肽、氨基酸序列）的术语“部分”包括由本发明 R1-蛋白质或其衍生物的约至少 10 - 19 个、优选至少 20 个、更优选至少 40 个、特别是至少 80 个且最优选约 100 - 140 个氨基酸基组成的多肽或寡肽。

本发明进一步涉及核酸分子，该核酸分子包括：来源于 Seq. ID No. 1 和 Seq. ID No. 9 的核酸分子或其衍生物或其部分；质粒 pTa R1-11 (DSM 号 12810) 的 672 bp EcoR I/Kpn I 插入片段或其衍生物或其部分；特别是 Seq. ID No. 1 的编码区 (核苷酸 1-449) 或其衍生物或其部分；尤其是质粒 pTa R1-11 (DSM 号 12810) 插入片段的编码区；和质粒 RS26-88 (DSM 号 13511) 的编码区或其衍生物或其部分。

在本发明的含义内，有关本发明核酸分子 (核苷酸序列或多核苷酸) 的术语“衍生物”包括多核苷酸，它包括约至少 150-209 个核苷酸、优选至少 210 个核苷酸、更优选至少 240 个核苷酸、特别是至少 270 个核苷酸且最优选约 280-294 个核苷酸，这些核苷酸选自下列组成的核苷酸的组：

(a) 如 Seq. ID No. 1 所述的 1C、3G、4A、6G、7T、8G、9G、10T、12A、15G、16G、18C、19T、20T、21G、22G、24G、25A、27A、28C、30C、31T、33G、34T、36G、37G、38A、39G、40C、42T、43A、44T、45C、46C、48G、49G、51C、52G、53T、54G、55C、58T、59G、60A、61G、63T、64T、67T、69T；70G、72A、73A、75A、76A、77A、79A、81G、82A、84C、85T、88A、89C、90T、91C、92T、93C、94C、97A、100T、103T、105G、106G、107T、108T、109A、110C、111C、112C、114A、115G、116C、117A、118A、120C、121C、123A、124T、126G、127G、129C、130T、132T、133T、134C、135A、136T、137A、138A、144T、145C、147A、148T、149C、150A、151T、152C、153T、154T、155C、156C、157G、159T、160C、162G、163A、165T、166C、168A、169A、171G、172G、174G、175A、177G、178A、181T、182G、183G、184A、185A、186G、187G、188T、189T、190A、192G、193C、195G、196G、198G、199C、201G、202G、205T、207T、208A、210G、211A、213A、214G、215T、216G、217T、219C、220C、222A、223T、224G、225G、226A、227T、228G、230G、231G、232A、234G、235A、238A、240G、241T、242T、243G、244T、245A、247T、249G、250A、252T、253A、256C、259C、261G、262A、263C、264C、265C、268T、270A、

271T、276G、277A、281T、285T、286T、287C、288C、289G、295C、296A、297A、298T、299C、300C、301T、303T、304C、306A、308C、309A、310T、312G、313C、315C、316G、318G、319C、320T、321G、322G、324G、325A、327G、328C、330A、331T、332C、333G、334A、335G、336G、337A、338G、339C、340T、342T、343A、344T、345G、346G、348T、349C、351C、352C、354C、355A、357G、358A、361T、363G、364A、365G、366G、367G、369G、370T、371A、372G、373T、374G、375A、377G、378G、379A、380T、381G、382G、384A、385A、387A、388T、390T、391A、393G、394T、396G、397T、399C、400A、401G、402A、403C、404A、406A、407C、408C、409A、410A、411A、412G、413A、414T、415G、416T和419T；且

(b)所述的多核苷酸包括约至少15-19个核苷酸、优选至少20个核苷酸、更优选至少25个核苷酸、特别是至少27个核苷酸且最优选约30-32个核苷酸，这些核苷酸选自下列核苷酸组成的组：

如 Seq. ID No. 1 所述的 17A、23A、50C、56C、65C、68G、71T、104G、113T、143G、159C、161A、167T、191C、203G、206G、218C、221T、229T、233A、248C、251C、257G、269C、272C、279T、280C、290G、326C、341C、347G、350A、353A、359T、383G、392C和405T。

清楚地表明不应将序列成分的编号（一方面是核酸序列而另一方面是氨基酸序列）理解为固定或限定的定义。该编号仅提供了与术语相关的序列成分彼此的位置的信息并因此是一种参考。

此外，有关编码本发明 R1-蛋白质的核酸分子的术语“衍生物”包括通过添加、缺失、插入或重组一个或多个核苷酸而不同于 Seq. ID No. 1 和/或 Seq. ID No. 9 且满足如上述 (b) 中给出的定义的核酸分子。

另外，有关编码本发明 R1-蛋白质的核酸分子的术语“衍生物”包括本发明核酸分子的互补或反向互补多核苷酸或其部分。此外，有关编码本发明 R1-蛋白质的核酸分子的术语“衍生物”包括与本发明核酸分子杂交的多核苷酸或其部分，它满足如上述 (b) 中给出的定义。

为了本发明的目的，术语“杂交”指的是在常规杂交条件下、优选在如例如 Sambrook 等 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) 所述的严格条件下的杂交。

“特异性杂交”尤其优选指的是下列条件：

杂交缓冲液：2×SSC；10×Denhardt 溶液 (Ficoll 400 + PEG + BSA；比例为 1: 1: 1)；0.1% SDS；5 mM EDTA；50 mM Na₂HPO₄；250μg/ml 青鱼精子 DNA；50μg/ml tRNA；或 0.25 M 磷酸钠缓冲液 (pH 7.2)；1 mM EDTA；7% SDS；

杂交温度 T = 55 - 68℃；

洗涤缓冲液：0.2×SSC；0.1% SDS；和

洗涤温度：T = 40 - 68℃。

与本发明核酸分子或与适合于本发明使用的核酸分子杂交的分子还包括本发明核酸分子或适合于本发明使用的核酸分子的部分、衍生物和等位基因变体。

在本发明的上下文中，术语“衍生物”指的是这些分子的序列在一个或多个位置上不同于本发明或适合于本发明使用的核酸分子的序列且与这些序列表现出高度的同源性。同源性指的是序列同一性至少为 60%、优选在 70% 以上、且尤其优选在 85% 以上、特别是在 90% 以上且特别优选在 95% 以上。已经通过一种或多种缺失、取代、插入（添加）或重组引起了相对于本发明核酸分子或相对于适合于本发明使用的核酸分子的偏差。

此外，同源性指的是在所述核酸分子与由它们编码的蛋白质之间存在功能和/或结构等价性。与本发明核酸分子或与适合于本发明使用的核酸分子同源且构成这些分子的衍生物的核酸分子通常是构成发挥相同、事实上相同或相似生物学功能的修饰的这些分子的变化形式。它们可以是例如来自其它植物物种的序列这样的天然出现的变化形式或突变，这些突变可能已经天然发生或已经通过定向诱变被引入。这些变化形式可以进一步是合成的序列。等位基因变体可以是天然出现

的变体或者是合成的变体或通过重组 DNA 技术产生的变体。

有关编码本发明 R1-蛋白质的核酸分子的术语“部分”包括由本发明编码 R1-蛋白质的核酸分子或其衍生物的约至少 30-99 个、优选至少 100 个、更优选至少 200 个、特别是至少 300 个且最优选至少 400 个核苷酸组成的多核苷酸或寡核苷酸。术语“部分”并不限于长至足以编码如上所述 R1-蛋白质功能活性部分的核酸分子的部分。

在本发明的一个优选的实施方案中，本发明的术语“衍生物”和/或“部分”分别包括如上所定义的多核苷酸、多肽或寡肽，它们分别显示出来源于小麦的 R1-基因（即编码 R1-蛋白质的核酸分子）、R1-蛋白质的功能和/或结构等价性。术语“功能和/或结构等价性”指的是本发明分子各自相同、等价或相似的功能、尤其是生物学功能。然而，术语“部分”并不限于足以编码所述蛋白质中的功能活性部分的所述核酸分子的部分。

由本发明核酸分子编码的 R1-蛋白质可以显示出某些常规特征：例如酶活性、分子量、免疫反应性、构象、凝胶电泳中的迁移率、层析特征、沉降系数、溶解性、光谱特性、稳定性、酶活性的最佳 pH 和/或最佳温度等。

本发明的核酸分子可以分离自例如天然来源、可以由遗传工程或分子生物学方法（例如 PCR）制备或可以通过化学合成方法生产。本发明的核酸分子优选是 DNA 或 RNA 分子，例如 cDNA 或基因组 DNA 分子。任选地，本发明的核酸分子包括一种或多种间插序列（内含子）。

在另一个优选的实施方案中，本发明的核酸分子包括一种或多种确保在原核细胞和/或真核细胞中、优选在植物细胞中 RNA 分子的转录和合成的调节元件。

本发明的核酸分子适合于改变细胞、优选植物细胞中淀粉的生物合成/代谢，这种改变通过下列方式实现：有义表达本发明的核酸分子、反义表达本发明的核酸分子、表达合适的核酶、共抑制或体内诱变。

因此，本发明也涉及允许在改变 R1-蛋白质表达水平的细胞或植

物细胞中翻译或非翻译性 mRNA 分子合成（有义或反义作用、共抑制作用或核酶）的本发明的核酸分子、特别是 DNA 分子的应用。

一般来说，本发明核酸分子的应用适合于任何植物物种。然而，优选单子叶植物和双子叶植物，特别是农作物植物且最优选贮存淀粉的植物，例如黑麦、大麦、燕麦、小麦、小米、西米、稻米、玉米、豌豆、皱皮种青豌豆、木薯、马铃薯、番茄、油菜、大豆、大麻、亚麻、向日葵、豇豆、竹芋、三叶草、麦草或苜蓿，特别是是马铃薯、玉米、稻米或小麦植物。

共抑制方法对本领域技术人员来说是众所周知的（Jorgensen, Trends Biotechnol. 8 (1990), 340-344; Niebel 等, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 197 (1995), 91-103; Flavell 等, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 197 (1995), 43-56; Palaqui & Vaucheret, Plant. Mol. Biol. 29 (1995), 149-159; Vaucheret 等, Mol. Gen. Genet. 248 (1995), 311-317; 和 de Borne 等, Mol. Gen. Genet. 243 (1994), 613-621)。

在另一个实施方案中，本发明涉及编码显示出特异性裂解本发明 DNA 分子转录物的核酶活性的 RNA 分子的 DNA 分子。核酶是能够裂解 RNA 分子和特异性靶序列的具有催化活性的 RNA 分子。通过重组 DNA 技术能够测定相对于本发明核酸分子的核酶的特异性。为了制备编码特异性裂解本发明 DNA 分子转录物的核酶的 DNA 分子，例如使编码核酶催化结构域的 DNA 序列（DNA 分子）的两侧与本发明的 DNA 序列连接。编码所述催化结构域的核酸序列是：例如 SCMo 病毒的卫星 DNA 的催化结构域（Davies 等, Virology 177 (1990), 216-224）或 TobR 病毒的卫星 DNA 的催化结构域（Steinecke 等, EMBO J. 11 (1992), 1525-1530; Haseloff 和 Gerlach, Nature 334 (1988), 585-591)。位于所述催化结构域侧翼的 DNA 序列优选是用作靶物的本发明的 DNA 分子或其部分。核酶表达的一般原理和方法描述在 EP-B1 0 321 201 中。核酶在植物细胞中的表达进一步描述在 Feyter 等的 Mol. Gen. Genet. 250 (1996), 329-338 中。

通过“体内诱变”的方法也可以降低本发明 R1-蛋白质在植物细胞中的活性。因此,将杂种 RNA/DNA 寡核苷酸(嵌合体)引入细胞(Kipp 等, Poster Session at the 5th International Congress of Plant Molecular Biology, 1997 年 9 月 21-27 日, Singapore; Dixon 和 Arntzen, 关于“Metabolic Engineering in Transgenic Plants”的会议报告, Keystone Symposia, Copper Mountain, CO, USA, TIBTECH 15(1997), 441-447; WO 95/15972-A1; Kren 等, Hepatology 25(1997), 1462-1468; Cole-Strauss 等, Science 273(1996), 1386-1389)。

因此,本发明的另一个目的是提供一种通过体内诱变获得的显示出本发明 R1-蛋白质的改变活性的植物、优选小麦植物。

此外,本发明涉及一种适合于遗传工程的包括本发明的核酸分子(例如 DNA 和/或 RNA)的载体,尤其是质粒、粘粒、病毒、噬菌体等;特别是适合于细菌和/或植物的遗传工程的载体。术语“载体”指的是本领域技术人员所公知的允许将单链或双链核酸分子靶向转入宿主细胞的载体,例如: DNA 或 RNA 病毒或病毒片段;在有或没有调节元件存在的情况下适合于将核酸分子转入细胞的质粒;例如在基因枪方法中使用的金属颗粒;还有可以通过化学和/或物理方法直接引入细胞的核酸分子。

在另一个实施方案中本发明涉及一种通过本发明的核酸分子或载体转化和/或重组操作的转基因宿主细胞,特别是一种转基因的原核细胞或真核细胞且更优选一种转基因的细菌或植物细胞。本发明的转基因宿主细胞、尤其是转基因的细菌或植物细胞含有一种或多种本发明的核酸分子,将它们稳定地整合入所述细胞的基因组,分别优选不在同源基因组的基因座上、不在基因组内天然出现的基因的位置上。可以通过 DNA 印迹、RNA 印迹和/或蛋白质印迹分析鉴定本发明的转基因细胞。

另外,本发明涉及来源于本发明转基因宿主细胞和/或其含有本发明核酸分子或载体的后代的转基因细胞。

由于提供了本发明的核酸分子和/或载体,通过重组 DNA 技术可制备包括本发明核酸分子和/或载体的转基因植物细胞或植物,特别是单子叶植物或双子叶植物细胞或植物,优选农作物植物细胞或植物,特别是选自下列组成的组的植物细胞或植物:马铃薯、玉米、燕麦、黑麦、大麦、小麦、豌豆、稻米、小米、皱皮种青豌豆、木薯、西米、番茄、油菜、大豆、大麻、亚麻、向日葵、豇豆、竹芋、三叶草、麦草、苜蓿或木薯。

本发明的转基因植物细胞或植物合成了就结构和/或物理和/或化学特性而言不同于在野生型(未转化)植物中合成的淀粉的改性淀粉。通过遗传工程和/或分子生物学方法将本发明的载体和/或核酸分子引入植物细胞、优选与确保在所述植物细胞中的转录和/或翻译的一种或多种调节元件连接。任选地,随后将所得的转基因植物细胞再生成完整植物。

因此,本发明涉及一种包括本发明的核酸分子和/或载体的转基因植物细胞,特别是单子叶植物或双子叶植物细胞,优选马铃薯、玉米、燕麦、黑麦、大麦、小麦、豌豆、稻米、小米、皱皮种青豌豆、木薯、西米、番茄、油菜、大豆、大麻、亚麻、向日葵、豇豆、竹芋、三叶草、麦草、苜蓿或木薯的细胞,特别是马铃薯、小麦、玉米或稻米的细胞。

本发明还涉及一种转基因宿主细胞、优选植物细胞的制备方法,该方法包括将本发明的核酸分子和/或载体引入属于原核细胞或真核细胞的宿主细胞的基因组、优选引入植物细胞的基因组的步骤。优选所述的细胞含有与确保在所述细胞中的转录和/或翻译的一种或多种调节元件连接的核酸分子。合适的调节元件优选相对于本发明核酸分子而言是同源或异源的。

在另一个实施方案中,本发明涉及一种转基因植物细胞,其中存在的(同源的或任选地,异源的)本发明的核酸分子直接或间接导致本发明 R1-蛋白质的表达或另一方面直接或间接导致抑制编码 R1-蛋白质的一种或多种内源性基因的表达。优选所述的转基因植物细胞包

括选自下列核酸分子组成的组的核酸分子：

(a) 转录成导致本发明 R1-蛋白质表达的有义 RNA 的本发明的核酸分子、优选 DNA 分子；

(b) 转录成导致编码 R1-蛋白质的一种或多种内源性基因表达减少（抑制）的反义 RNA 的本发明的核酸分子、优选 DNA 分子；

(c) 转录成导致编码 R1-蛋白质的一种或多种内源性基因表达减少（抑制）的共抑制 RNA（有义 RNA）的本发明的核酸分子、优选 DNA 分子；

(d) 转录成特异性裂解编码 R1-蛋白质的一种或多种内源性基因转录物的核酶的本发明的核酸分子、优选 DNA 分子；

(e) 通过体内诱变引入的修饰编码 R1-蛋白质的一种或多种内源性基因的本发明的核酸分子；

由此改变了所述细胞中的淀粉代谢/生物合成。

如果通过反义作用改变了淀粉在植物中的代谢，那么本发明的 DNA 分子在反义方向上与一种或多种确保植物细胞中转录和/或翻译的调节元件连接，任选地，它包括一种或多种所表达的多核苷酸的相应基因组序列的内含子。反义 RNA 应具有最少约 15 - 25 个核苷酸、优选至少约 50 - 100 个核苷酸且最优选至少约 200 - 1000 个核苷酸。

在另一个实施方案中，通过一种包括本发明核酸分子的核酶使转基因植物细胞中的 R1-蛋白质的量得到减少。为了在本发明的转基因植物细胞中表达所述的核酶分子，使编码所述核酶的 DNA 分子与确保转录和/或翻译的一种或多种调节元件连接。

通过本领域技术人员众所周知的方法可以将所述的转基因植物细胞再生成完整植物。可通过再生本发明的转基因植物细胞获得的包括本发明的转基因植物细胞的转基因植物和所述转基因植物的制备方法也是本发明的主题。

本发明的转基因植物是一种单子叶植物或双子叶植物，优选农作物植物，特别是黑麦、大麦、燕麦、稻米、小麦、小米、西米、玉米、豌豆、皱皮种青豌豆、木薯、马铃薯、番茄、木薯、油菜、大豆、大

麻、亚麻、向日葵、豇豆、白三叶草、麦草、苜蓿或竹芋植物，特别是玉米、小麦、稻米或马铃薯植物。

此外，本发明涉及本发明植物的繁殖材料、种子、器官和部位。

本发明还涉及一种用于生产淀粉的方法，该方法包括将本发明的转基因植物细胞、植物和/或植物部位引入淀粉的生产/提取工艺中的步骤。

本发明进一步涉及一种用于生产改性淀粉的方法，该方法包括将本发明的淀粉引入淀粉的化学和/或物理修饰/处理的工艺中的步骤。

从植物、植物细胞或其部位中提取淀粉的工艺在本领域中是众所周知的。例如，这类工艺描述在 Eckhoff 等的 *Cereal Chem.* 73(1996), 54-57 中。例如通过“湿磨法”来提取玉米淀粉。用于从各种植物中提取淀粉的其它方法描述在下列文献中：例如 *Starch: Chemistry and Technology* (编辑: Whistler, BeMiller 和 Paschall (1994) 第 2 版, Academic Press Inc. London LTD; ISBN 0-12-746270-8; 第 XII 章, 417-468 页; Watson, S. A.: *Corn and Sorghum Starches: Production*, 第 XIII 章, 469-479 页; Corbishley 和 Miller: *Tapioca, Arrowroot and Sago Starches: Production*; 第 XIV 章, 479-490 页; Mitch: *Potato Starch: Production and Uses*; 第 XV 章, 491-506 页; Knight 和 Olson: *Wheat Starch: Production, Modification and Uses*; 第 XVI 章, 507-528 页; Rohwer 和 Klem: *Rice Starch: Production and Uses*)。用于从植物材料中提取淀粉的方法中常用的设备是分离器、荡析器、水力旋流器和例如喷雾干燥器或喷射干燥器这样不同种类的用于干燥淀粉的机器。

本发明还涉及可获自本发明的转基因植物细胞、植物和/或植物部位、优选获自小麦的改性淀粉。本发明的转基因细胞或植物合成了就磷酸化程度而言不同于可获自未转化植物的淀粉的改性淀粉。在本发明一个特定的实施方案中，本发明的淀粉显示出比可获自相应未转化细胞或植物的淀粉增加的磷酸酯含量。增加的磷酸酯含量（磷酸一酯含量）指的是淀粉的硫酸酯含量比可获自相应未转化植物的淀粉的磷

酸酯含量至少增加约 10 - 30%、更优选至少增加 30%、甚至更优选至少增加 50%、且特别优选增加 100% 以上到约 1000 - 5000%。一般来说, 百分比值指的是例如按照 Lim 等在 Cereal Chem. (1994) 71, 448 中所述的方法测定的小麦淀粉的葡糖-6-磷酸(glu-6-P)含量约为 0.3 nmol glu-6-P/mg 淀粉。因此, 本发明的小麦淀粉包括至少 0.4 nmol /mg 淀粉的葡糖-6-磷酸含量、更优选至少 0.8 nmol /mg 淀粉的葡糖-6-磷酸含量、特别是至少 1.0 nmol /mg 淀粉的葡糖-6-磷酸含量、尤其是至少约 1.5 nmol /mg 淀粉的葡糖-6-磷酸含量且最优选至少 3.0 nmol /mg 淀粉的葡糖-6-磷酸含量。

在本发明的另一个实施方案中, 本发明的淀粉显示出的降低的磷酸酯含量(磷酸一酯含量)为可获自相应未转化植物的淀粉的磷酸酯含量至少约 5 - 20%、优选至少约 21 - 50%、甚至更优选约为 51 - 95%。因此, 本发明的小麦淀粉显示出的葡糖-6-磷酸含量低于 0.2 nmol/mg 淀粉、优选低于 0.1 nmol/mg 淀粉、更优选低于 0.05 nmol/mg 淀粉、特别是低于 0.02 nmol/mg 淀粉、尤其是低于 0.01 nmol/mg 淀粉且最优选低于 0.001 nmol/mg 淀粉。

本发明的另一个目的是提供一种用于制备本发明 R1-蛋白质或其衍生物或其部分的方法, 该方法包括在允许表达所述 R1-蛋白质或其衍生物或其部分的条件下培养本发明的转基因宿主细胞并从所述细胞和/或所述细胞的培养基中分离所述 R1-蛋白质或其衍生物或其部分的步骤。

此外, 本发明涉及由通过用于生产本发明的 R1-蛋白质或其衍生物或其部分的方法可获得的本发明的核酸分子编码的 R1-蛋白质(R1-多肽)或其衍生物或其部分, 优选来源于小麦的 R1-蛋白质或其衍生物或其部分, 尤其是按照 Seq. ID No. 2 和 Seq. ID No. 10 的 R1-蛋白质或其衍生物或其部分。

在本发明中, 术语“确保转录和/或翻译的调节元件”优选具有诸如启动子、增强子、终止子等这样使细胞中的转录启动和/或终止的核酸分子(例如 DNA 和/或 RNA)的含义。术语“确保转录和/或翻译的

调节元件”还可以包括导致植物和/或植物细胞中受时间和/或区域(胚乳、根、块茎、叶、茎、种子、果实、质外体、液泡、细胞溶胶、质体、线粒体、溶酶体)限制的转录或可化学诱导的核酸分子。

为了在植物细胞中表达本发明的核酸分子,可以使用任意活性启动子。所述的启动子相对于所转化的植物细胞而言可以是同源或异源的,例如用于组成型表达的花椰菜花叶病毒(CaMV)的35S启动子(Odell等, *Nature* 313(1985), 810-812; Mitsuhara等, *Plant and Cell Physiology* 37(1996), 49-59)或WO 94/01571-A1中描述的启动子构建体。合适的还有导致由例如就植物特定组织或部位而言有限表达这样的内源性和/或外源性因素(例如WO 93/07279-A1)确定/诱导的受区域和/或时间限制的表达的启动子(Stockhaus等, *EMBO J.* 8(1989), 2245-2251)。优选在所转化植物中贮存淀粉的部位内具有活性的启动子。例如玉米、小麦和稻米谷粒或种子和马铃薯块茎等这样优选的植物部位用于表达本发明的核酸分子。为了转化马铃薯,可以使用块茎特异性B33-启动子(Rocha-Sosa等, *EMBO J.* 8(1989), 23-29)。除启动子外,启动转录的DNA区还可以含有诸如所谓增强子-元件这样确保转录进一步增加的DNA序列。为了在植物细胞且特别是在小麦细胞中进行表达,可以使用下列启动子:35S启动子(Odell等, 上文; Mitsuhara等, 上文); 遍在蛋白质启动子(US 5,614,399, Christensen等, *Plant Mol. Biol.* 18(1992), 675-689; Takimoto等, *Plant Mol. Biol.* 26(1994), 1007-1012; Cornejo等, *Plant Mol. Biol.* 23(1993), 567-581; Toki等, *Plant Phys.* 100(1992), 1503-1507); 谷蛋白启动子(Leisy等, *Plant Mol. Biol.* 14(1990), 41-50; Zheng等, *Plant J.* 4(1993), 357-366; Kononowicz等, Joint Annual Meeting of The American Society of Plant Physiologists and The Canadian Society of Plant Physiologists, Minneapolis, Minnesota, USA, 1993年7月1日-8月4日; *Plant Physiol.* 102(增刊)(1993)166; Zhao等, Annual Meeting of The American Society of Plant Physiologists, Pittsburgh, Pennsylvania, USA,

1992年8月1-5日; *Plant Physiol.* 99 (增刊1) (1992), 85; Yoshihara等, *FEBS Lett.* 383 (1996), 213-218); 肌动蛋白启动子 (McElroy等, *Plant Cell* 2 (1990), 163-171); *cab-6* 启动子 (*Plant and Cell Physiology* 35 (1994), 773-778); RTBV 启动子 (Yin等, *Plant J.* 12 (1997), 1179-1188); CVMV 启动子 (Verdaguer等, *Plant Mol. Biol.* 31 (1996), 1129-1139); *rab 16B* 启动子 (*Plant Physiol.* 112 (1996), 483-491); *psbD-C* 操纵子的启动子 (To等, *Plant and Cell Physiology* 37 (1996), 660-666); *Tpi* 启动子 (Snowden等, *Plant Mol. Biol.* 31 (1996), 689-692); *Osgrp1* 启动子 (Xu等, *Plant Mol. Biol.* 28 (1995), 455-471); *Ltp2* 启动子 (Kalla等, *Plant J.* 6 (1994), 849-860), *ADH1* 启动子 (Kyoizuka等, *Mol. Gen. Genet.* 228 (1991), 40-48) 和 *LHCP* 启动子 (*EMBO J.* 10 (1991), 1803-1808)。

此外, 术语“调节元件”还包括适合于终止转录和/或将聚腺苷酸尾添加到转录的核酸分子上的终止信号。终止信号的实例是包括来自土壤杆菌属的胭脂氨酸合酶基因 (NOS 基因) 或章鱼氨酸合酶基因 (Gielen等, *EMBO J.* 8 (1989), 23-29) 的聚腺苷酸化信号的 3'-非翻译区、来自大豆的贮存蛋白基因的 3'-非翻译区或核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶的小亚单位 (ssRUBISCO)。任选地, 术语“调节元件”包括例如确保本发明核酸分子在特定的组织 (例如胚乳、叶、茎、块茎、分生组织、果实、根、种子) 或细胞区室 (例如细胞溶胶、质外体、质体、线粒体、液泡、溶酶体) 中的转录和/或翻译的特异性定位的核酸分子。任选地, 术语“调节元件”还包括例如确保本发明核酸分子受时间限制转录和/或翻译的核酸分子。此外, “调节元件”可以任选地以化学方式被触发。

一般使用确保所述核酸分子稳定整合入植物基因组的克隆载体将本发明的核酸分子、优选 DNA 或 RNA 分子引入植物细胞。为了将核酸分子引入高等植物, 可应用大量含有大肠杆菌复制信号和例如 pBR322、pUC 系列、M13mp 系列、pACYC184 这样用于筛选转化细菌细

胞的标记基因的克隆载体。通过使用一种或多种限制性内切核酸酶可以将本发明的核酸分子整合入载体的适当限制位点上。将获得的质粒用于转化例如大肠杆菌细胞。在合适的培养基中培养转化的细胞且随后收集并裂解，通过标准方法回收质粒 DNA 且一般通过限制酶切和/或序列分析来对其进行分析。在每一种操作后，可以将所述质粒 DNA 切割并将获得的 DNA 片段与其它 DNA 序列连接。为了将 DNA 引入植物宿主细胞，可应用大量转化方法和技术：例如，通过使用根癌土壤杆菌或毛根土壤杆菌的 T-DNA 转化；原生质体融合；DNA 注射；DNA 电穿孔；和通过膜渗透（PEG）或通过生物（biolistic）方法和其它方法引入 DNA。如果欲由转基因植物细胞再生完整植物，那么应含有选择标记基因。如果使用 Ti-或 Ri-质粒，例如为了转化植物细胞，那么应将 Ti-或 Ri-质粒 T-DNA 的至少右侧边缘、优选其右侧和左侧边缘与欲引入所述植物细胞作为侧翼区的多核苷酸连接。如果将土壤杆菌属用于转化，那么应将欲引入的 DNA 克隆到中间载体或二元载体中。由于序列与 T-DNA 的序列同源，所以可以通过同源重组将中间载体整合入土壤杆菌属的 Ti-或 Ri-质粒。所述的中间载体还含有转移 T-DNA 必不可少的 *vir*-区。因为中间载体不能在土壤杆菌属中复制，所以辅助质粒可以将中间载体转移到土壤杆菌属中（接合作用）。二元载体可以在大肠杆菌和在土壤杆菌属中复制。它们含有选择标记基因和位于右侧和左侧 T-DNA 边缘区侧翼的接头或多接头。可以将它们直接转化入土壤杆菌属（Hoslters 等, *Mol. Gen. Genet.* 163(1978), 181-187)。用于转化土壤杆菌属的质粒进一步包括一种选择标记基因，例如允许选择转化的细菌的 NPT II 基因。该质粒可以包括例如对壮观霉素(Swab 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87(1990), 8526-8530; Sval 等, *Plant Mol. Biol.* 14(1990), 197-206)、链霉素(Jones 等, *Mol. Gen. Genet.* 91(1987), 86-91; Swab 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87(1990), 8526-8530; Swab 等, *Plant Mol. Biol.* 14(1990), 197-206)、磷丝菌素(De Block 等, *EMBO J.* 6(1987), 2513-2518)、草甘膦(Thompson 等, *EMBO J.* 6(1987), 2519-2523;

Thompson 等, *Weed Sci.* 35(1987), 19-23(增刊))或潮霉素(Waldron 等, *Plant Mol. Biol.* 5(1985), 103-108)产生抗性的其它选择标记基因。土壤杆菌属宿主细胞应含有携带 *vir*-区的质粒。*vir*-区对将 T-DNA 转移到植物细胞中是必不可少的。可以含有附加的 T-DNA。将所转化的土壤杆菌属进一步用于转化植物细胞。

T-DNA 在转化植物细胞中的应用描述在下列文献中: EP-A-120 516; Hoekema: *The Binary Plant Vector System* Offsetdrukkerij Kanters B. V., Alblasterdam (1985), 第 V 章; Fraley 等, *Crit. Rev. Plant. Sci.*, 4, 1-46 和 An 等, *EMBO J.* 4(1985), 277-287。二元载体是商购的, 例如 pBIN19 (Clontech Laboratories, Inc., USA)。

为了将 DNA 转移到植物细胞中, 可以将植物的外植体与根癌土壤杆菌或毛根土壤杆菌一起共培育。可以在允许选择转化细胞的合适的培养基(例如含有抗生素或杀生物剂等)中从感染的植物材料(例如叶片、茎节、根, 还有原生质体或悬浮液培育的植物细胞)再生完整植物。对获得的植物筛选存在的引入的 DNA。为通过使用例如生物(biolytic)方法或通过转化原生质体而引入外源 DNA 的其它可能性对本领域技术人员来说是公知的(例如, Willmitzer, L., 1993 *Transgenic plants : Biotechnology, A Multi-Volume Comprehensive Treatise* (H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler 编辑), Vol. 2, 627-659, VCH Weinheim-New York-Basel-Cambridge)。

通过根癌土壤杆菌由 Ti-质粒-载体系统转化双子叶植物是一种完全确立的方法。还可以将土壤杆菌属用于转化单子叶植物(Chan 等, *Plant Mol. Biol.* 22(1993), 491-506; Hiei 等, *Plant J.* 6(1994), 271-282)。

用于转化单子叶植物的可供选择的方法有: 例如, 通过生物(biolytic)手段转化; 原生质体转化; 部分通透细胞的电穿孔; 通过玻璃纤维引入 DNA。各种参考文献涉及玉米的转化(WO 95/06128-

A1; EP-A-0 513 849; EP-A-0 465 875)。EP-A-292 435 中描述了如何由无粘液的脆粒玉米愈伤组织作为原料获得能育植物的方法。Shillito 等 (Bio/Technology 7 (1989), 581) 以产生能够再生完整植物的分化原生质体的愈伤组织悬浮液培养物作为原料。

就转化小麦而言, 可以应用各种方法: 例如土壤杆菌属介导的基因转移 (Hiei 等, Plant J. 6 (1994), 271-282; Hiei 等, Plant Mol. Biol. 35 (1997), 205-218; Park 等, J. Plant. Biol. 38 (1995), 365-371); 原生质体转化(数据见: Gene transfer to plants, I. Potrykus, G. Spangenberg (编辑), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995, 66-75 页; Datta 等, Plant Mol. Biol. 20(1992), 619-629; Sadasivam 等, Plant Cell Rep. (1994), 394-396); 生物 (biolistic) 手段 (Li 等, Plant Cell Rep. 12 (1993), 250-255; Cao 等, , Plant Cell Rep. 11 (1992), 586-591; Christou, Plant Mol. Biol. 8(1997), 197-203); 和电穿孔 (Xu 等: Gene transfer to plants, I. Potrykus, G. Spangenberg (编辑), Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1995), 201-208)。

一旦将引入的 DNA 整合入植物细胞的基因组, 则它通常被稳定地整合并保留在原始转化的细胞的后代基因组内。转化的细胞通常含有一种选择标记基因, 它允许在有某些糖类、氨基酸、杀生物剂或例如卡那霉素、G 428、博来霉素、潮霉素或磷丝菌素这样的抗生素存在的情况下选择转化体。因此, 各选择标记基因允许对照缺乏引入的 DNA 的细胞选择转化的细胞。

在选择后, 在正常条件下培养所转化的细胞且使它生长成完整植物 (McCormick 等, Plant Cell Reports 5 (1986), 81-84)。可以将所得的植物与具有相同转化的遗传性或不同遗传性的植物杂交育种。所得的个体或杂交体具有相应的表型特性。应使两代或多代生长以便确保无论哪一种表型特征均稳定且可转化。此外, 应采集种子以便确保相应的表型或其它特性保留下来。

可获自植物细胞、可获自本发明的植物或可通过本发明方法获得

的改性淀粉适合于大量工业化应用。基本上，可以将淀粉再划分成两个主要领域。一个领域包括淀粉的水解产物，另一个是所谓的天然淀粉。水解主要包括通过酶或化学方法获得的葡萄糖或葡聚糖组分。可以将它们用于进一步的工艺，诸如发酵和化学修饰。目前基本上使用淀粉葡萄糖苷酶以酶促方式进行淀粉的水解。通过使用较少量的水解用酶可以降低成本，这是因为淀粉的结构发生了改变，例如谷粒的表面积增加、因支化较少而导致可消化性改善或空间结构改变，其限制了所用酶进入。可以将所谓天然淀粉的应用再划分成下列领域：

(a) 制备食品的应用

淀粉是传统的各种食品的添加剂，其中它主要用于粘合水性添加剂的目的或使粘度增加或胶凝增加。重要的特征性特性是流动性和吸着性、溶胀温度和糊化温度、粘度和增稠性、淀粉的溶解性、透明度和糊结构、耐热性、抗剪强度和耐酸性、退减趋势、成膜能力、冷冻/融化阻力、可消化性以及例如与无机或有机离子形成复合物的能力。

(b) 制备非食品的应用

另一个主要应用领域是可以将淀粉用作各种生产过程中的辅助剂或用作工艺产品的添加剂。淀粉用作辅助剂的主要应用领域首先是造纸业和纸板工业。在该领域中，淀粉主要用于固定（保持固态）、用于上胶填料和细颗粒、作为固化物质并用于脱水。此外，应用有关劲度、硬度、固定性、手感、光泽、平滑性、撕裂强度以及表面积的淀粉的有利特性。

在纸的生产过程中，可以在4个应用领域即表面、涂布、团块和喷雾之间进行区分。

对有关淀粉表面处理的要求主要是高度的亮度、相应的粘度、高粘度稳定性、良好的成膜性以及形成较少的灰尘。当用于涂布固体内含物时，相应的粘度、高粘合能力和高色素亲合性起重要作用。作为团块的添加剂快速、均匀、无损耗分散、高机械稳定性和在纸浆中完全的保留性具有重要性。当将淀粉用于喷雾时，相应的固体含量、高粘度和高粘合能力也是重要的。一个主要的应用领域例如是在粘合剂

工业中，其中将淀粉的应用领域再划分成4个领域：用作纯淀粉胶、用于用特殊化学物质制备的淀粉胶、将淀粉用作合成树脂和聚合物分散体的添加剂以及将淀粉用作合成粘合剂的补充剂。将全部基于淀粉的粘合剂的90%用于生产波面纸板、纸囊和纸袋、纸和铝的复合材料、信封用盒和胶水、邮票等。

淀粉作为辅助剂和添加剂的另一个可能的应用是用于织物护理产品的生产过程中。在纺织工业中，可以在下列4个应用领域中进行区分：将淀粉用作胶粘剂，即作为熨平和强化用于防止编织过程中主动张力和用于增加编织过程中耐磨性的去毛刺特性的辅助剂；作为主要在变质预处理后织物改善，诸如漂白、染色等的试剂；作为用于防止染料扩散的染料浆生产过程中的增稠剂；和作为用于缝线用缠绕剂的添加剂。

此外，可以将淀粉用作建筑材料的添加剂。一个实例是生产石膏板，其中薄石膏粉中混合的淀粉与水成膏状、在石膏板表面扩散且由此使纸板与所述石膏板粘合。其它应用领域是将淀粉与石膏粉和矿物纤维混合。在预拌混凝土中，可以将淀粉用于使上浆过程减速。

此外，淀粉有利地用于生产暂时防止土壤颗粒受到人为地层移动中水的影响的土壤稳定化工具。根据现有技术的知识，可以将由淀粉和聚合物乳液组成的组合产品看作与迄今为止所用产品具有相同的减侵蚀和减结壳作用；然而，它们相当低廉。

另一个应用领域是淀粉在用于改变这些制品的特殊特性的植物保护剂中的应用。例如，将淀粉用于改善植物防护剂和肥料的湿润性；用于活性组分的定量释放；用于将液体、挥发性和/或有气味的活性成分转化成微晶、稳定、可变形的物质；用于混合不相容的组成；和因分解较缓慢而用于延长作用期限。

还可以将淀粉用于药物、医疗和化妆品工业领域。在制药工业中，可以将淀粉用作片剂的粘合剂或用于稀释胶囊中的粘合剂。此外，淀粉适合用作片剂的崩解剂，这是因为在吞咽时它吸收液体并在短时后它溶胀到使活性成分释放。它也是一种达到时间延迟型释放活性成分

的适宜助剂（阻滞作用）。由于性质上的原因，药用流动剂型（flowance）和撒粉是其它的应用领域。在化妆品领域中，例如，将淀粉用作诸如香料和水杨酸这样的粉末添加剂的载体。淀粉相对广泛的应用领域是牙膏。

将淀粉用作煤和煤砖的添加剂也是合适的。通过添加淀粉，煤可以定量地成块和/或团成高质量的煤砖，由此防止了煤砖的过早崩解。烧煤含有4-6%的添加淀粉、0.1-0.5%的热量煤。此外，淀粉适合用作粘合剂，因为向煤和煤砖中添加它可以明显减少毒性物质的散发。

此外，可以将淀粉用作加工矿石和煤泥中的絮凝剂。

另一个应用领域是将淀粉用作浇铸中加工物料的添加剂。就各种浇铸工艺而言，需要由混有粘合剂的砂子生产的芯。目前，最常用的粘合剂是混有改性淀粉，大部分是溶胀淀粉的膨润土。

添加淀粉的目的在于增加流阻和改善粘合强度。此外，溶胀淀粉可以满足生产工艺的其它先决条件，诸如在冷水中的分散性、再水化程度、在砂子中良好的混溶性和高度结合水的能力。

在橡胶工业中，可以将淀粉用于改善工艺和光学质量。由于这一原因就要求改善表面光泽、手感和外观。为了这一目的，在冷硫化前将淀粉分散在橡胶物质的粘性涂胶表面上。还可以将淀粉用于改善橡胶的可印性。

改性淀粉的另一个应用领域是生产皮革替代物。

在塑料市场上，正在涌现出下列应用领域：将来源于淀粉的产物整合入加工过程（淀粉仅是填料，在合成聚合物与淀粉之间不存在直接粘合）或另一方面将来源于淀粉的产物整合入聚合物的产生过程中（淀粉和聚合物形成稳定的粘合）。

淀粉用作纯填料不能与诸如滑石这样的其它物质竞争。当特殊的淀粉特性变得有效且终产品的特性分布由此明显改变时，上述情况可以改变。一个实例是将淀粉产品用于加工诸如聚乙烯这样的热塑性材料。因此，通过共表达将淀粉和合成聚合物按1:1的比例混合而形成

母炼胶，由此可以通过使用成粒的聚乙烯的常规技术生产不同产品。聚乙烯薄膜中淀粉的整合可以使物质在空心体中的透性增加、水蒸汽渗透性改善、抗静电性能改善、防结块性能改善和使用含水染料的可印性改善。

另一种可能性是淀粉在聚氨酯泡沫塑料中的应用。由于淀粉衍生物的采用且由于加工技术的最优化，所以能够对合成聚合物与淀粉羟基之间的反应进行特定控制。结果是因应用了淀粉而使聚氨酯薄膜具有了下列特性分布：热膨胀系数降低；收缩性能降低；压力/张力性能改善；水蒸汽渗透性增加而吸水性没有改变；可燃性和裂化密度降低；没有易燃部分溢出；不含卤化物且老化减少。目前仍然存在的缺陷在于压力和冲击强度降低。

薄膜产品的研发不再是唯一的选择。还可以产生诸如罐、盘子和碗这样具有 50% 以上淀粉含量的固体塑料产品。此外，淀粉/聚合物混合物提供了它们极易于生物降解的优点。

此外，由于它们比淀粉极强的结合水的能力，所以接枝聚合物已经获得了极大的重要性。这些产品是含有淀粉和按照自由基链机理接枝上的合成单体的侧链晶格的产品。目前可获得的淀粉接枝聚合物的特征在于改善的粘合和保留能力高达 1000g 水/g 淀粉的高粘度。主要将这些超级吸收剂用于卫生保健领域，例如应用在诸如尿布和床单这样的产品中以及应用在例如种子颗粒这样的农业领域中。

生物材料的寄存

按照布达佩斯条约的要求将如本发明所述的下列质粒寄存在德国的 Braunschweig 的 Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)：

质粒 pTaR1-11 指的是 1999 年 5 月 20 日寄存的寄存号 DSM No. 12810。

质粒 RS26-88 指的是 2000 年 5 月 24 日寄存的寄存号 DSM No. 13511。

下列实施例仅用来解释本发明而不以任何方式来限定本发明。

实施例 1: 来自普通小麦 L., cv Florida 的编码 R1-蛋白质的 cDN 的制备

为了鉴定和分离编码来源于小麦的 R1-蛋白质的 cDNA, 通过使用 λ zap II 载体 (λ ZAP II-cDNA 合成试剂盒, Stratagene GmbH, Heidelberg, Germany)、按照制造商的方案由 21 日龄小麦植物颖果 (“含淀粉”-胚乳) 聚腺苷酸化 RNA 制备小麦 cDNA 文库。该 cDNA 文库的原始滴度约为 1.26×10^6 pfu/ml。

使用寡核苷酸 R1A 和 R1B 作为对含有编码来源于玉米的 R1-蛋白质的 cDNA 的质粒 pBinAR Hyg (DSM 9505) DNA 插入片段进行 PCR (聚合酶链反应) 扩增的引物来筛选 cDNA 文库。所述的质粒例如可按照 WO 98/27212 的实施例 14 所述获得。因此, 特别将 WO 98/27212-A1 的公开内容引入本文作为参考。

在对载体 pBluescript 进行 Xba I/Asp 718 限制内切核酸酶消化后, 通过琼脂糖凝胶电泳和标准方案纯化 cDNA 片段。

作为用于对所述玉米 cDNA 片段进行 PCR 扩增的模板, 使用约 10 pg 的上述分离的玉米 cDNA 片段。

PCR 缓冲液含有 1.5mM MgCl₂、20mM Tris-HCl (pH 8.4)、50mM KCl、0.8mM dNTP 混合物、1 μ M 引物 R1A、1 μ M 引物 R1B 和 2.5 个单位的 Taq 聚合酶。

R1A: 5' TATTGGAAGCTCGAGTTGAAC 3' (Seq. ID No. 3)

R1B: 5' TTGAGCTGTCTAATAGATGCA 3' (Seq. ID No. 4)

按照下列方案在 Trioblock[®] PCR-热循环仪 (Biometra, Germany) 中进行 PCR 循环以便扩增编码来源于玉米的 R1-蛋白质的 cDNA 片段: 95 $^{\circ}$ C 下 4 分钟; 96 $^{\circ}$ C 下 1 分钟; 62 $^{\circ}$ C 下 45 秒; 72 $^{\circ}$ C 下 1 分 15 秒; 共 30 个循环; 和 72 $^{\circ}$ C 下 5 分钟。

随后, 按照制造商的方案 (Boehringer Mannheim, DIG 系统用户指南) 将获得的片段进行随机引导的毛地黄毒苷 (digoxigenin) 标记。

将 1924 bp 的扩增和标记的 cDNA 片段进一步用作筛选上述制备的来源于小麦的 cDNA 文库的异源探针。

按照标准方案筛选约 3.5×10^5 噬菌体。

在 55℃ 下的 $5 \times \text{SSC}$ 、3% 阻断液 (Blocking) (Boehringer Mannheim)、0.2% SDS、0.1% 月桂基肌氨酸钠和 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 青鱼精子 DNA 中预杂交后, 将该滤膜与 1 ng/ml 毛地黄毒苷 (digoxigenin) 标记的 (随机引导的 DNA 标记试剂盒) r1-蛋白质探针 (1924 bp 的玉米 XbaI/Asp718 cDNA 片段) 杂交过夜。在室温下将该滤膜用 $2 \times \text{SSC}$ 、1% SDS 洗涤 2 次、共 5 分钟; 在 55℃ 下用 $1 \times \text{SSC}$ 、0.5% SDS 洗涤 2 次、共 10 分钟; 并在 55℃ 下用 $0.5 \times \text{SSC}$ 、0.2% SDS 洗涤 2 次、共 10 分钟。

重新筛选并纯化阳性克隆。按照制造商的方案 (Stratagene, Heidelberg) 通过体内切除分离质粒 (pBluescript SK Phagemide)。在通过限制分析对所述克隆进行特征记述后, 进一步分析最长的 cDNA 插入片段。

实施例 2: pTaR1-11 的 cDNA 插入片段的序列分析

按照双脱氧核苷酸方法 (Sanger 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (1977), 5463-5467) 分析所分离的克隆 pTaR1-11 的 cDNA 插入片段的核苷酸序列。

克隆 pTaR1-11 含有 672 bp 的插入片段, 该片段代表编码按照 Seq. ID No. 2 的来源于小麦的 R1-蛋白质的按照 Seq. ID No. 1 的部分 cDNA。

Seq. ID No. 1 的多核苷酸的相应氨基酸序列在 Seq. ID No. 2 中给出。

实施例 3: 来自普通小麦 L. cv Florida 的编码 R1-蛋白质的 cDNA 的分离和序列鉴定

为了鉴定和分离编码来自小麦的 R1-蛋白质的 cDNA, 来自小麦的 3-6 周龄的老叶中分离聚腺苷酸化 RNA 并使用 RT-PCR-试剂盒

(Titan One tube RT-PCR System, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)、按照制造商的方案对其进行反转录。使用寡核苷酸 Zm-R1-2 (Seq. ID No. 5) 和 Wh-R1-5 (Seq. ID No. 6) 和作为模板的 RT-反应物的等分部分进行编码 R1-蛋白质的 cDNA 的扩增。

将下列引物选作用于分离编码 R1 蛋白质的所需 DNA 的杂交探针: 引物结合位点定位于 Seq. ID NOs. 7 和 9 中的 1-24 位和 3402-3418 位上:

Zm-R1-2 (Seq. ID No. 5) :

5'-CTG TGG TCT TGT CTG GAC-3'

Wh-R1-5' (Seq. ID No. 6) :

5'-GAG GAA GCA AGG AAG GAA CTG CAG-3'

按照 Eppendorf Mastercycler™ 梯度 (Eppendorf, Hamburg, Germany) 进行 PCR-反应且该反应中含有 10mM Tris-HCl pH 8.85、25mM KCl、5mM(NH₄)SO₄、1.5mM MgSO₄、0.8mM dNTPs、1μM 引物 Zm-R1-2、1μM 引物 Wh-R1-5 和 1 个单位的 Pwo-DNA-聚合酶。进行下列温度程序:

开始在 94℃ 下 2 分钟; 然后在 94℃ 下 1 分钟、在 55℃ 下 1 分钟且在 72℃ 下 3 分钟, 共计 35 个循环; 和最后在 72℃ 下 5 分钟的步骤。将获得的 3.4 kb DNA-片段克隆入 pBluescript SK(-)载体的 EcoRV-位点, 从而产生质粒 RE 23-88, 与 GATC GmbH (Konstanz, Germany) 配合进一步分析其核苷酸序列且如 SEQ ID No. 7 所述。它代表其中 5'-端的 ~1kb 和 3'-端的 ~300bp 缺失的 R1-基因的主要部分。缺失的 3'-区与如实施例 1 和 2 中所述的部分 R1-cDNA 克隆的相应区互补, 从而产生质粒 RS 26-88 且包括 SEQ ID No. 9。为了获得它, 用限制性内切核酸酶 Ec/136 消化克隆 RS 23-88。将所得的大片段用于进一步克隆, 而弃去较小的 140bp 片段。用限制性内切核酸酶 XhoI 处理来自实施例

序列表

<110> Aventis CropScience GmbH

<120> 来自小麦的核酸分子、转基因植物细胞和植物
及其在生产改性淀粉中的应用

<130> AGR 1999/M 214

<150> DE 199 26 771.5

<151> 1999-06-11

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 672

<212> DNA

<213> 普通小麦

<220>

<221> CDS

<222> (3)..(449)

<400> 1

```

ct gaa gtg gtg aaa gga ctt gga gag aca ctt gtg gga gct tat cct      47
  Glu Val Val Lys Gly Leu Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro
    1             5             10             15

ggc cgt gcc atg agc ttc gtg tgt aag aaa gat gac ctt gac tct ccc      95
Gly Arg Ala Met Ser Phe Val Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro
                20             25             30

aag gta ctg ggt tac cct agc aag cca att ggt ctc ttc ata aag cgg      143
Lys Val Leu Gly Tyr Pro Ser Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg
                35             40             45

tca atc atc ttc cgc tca gac tct aat ggt gag gat ctg gaa ggt tac      191
Ser Ile Ile Phe Arg Ser Asp Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr
    50             55             60

gct gga gca ggg ctg tat gat agt gtc cct atg gat gtg gaa gat gaa      239
Ala Gly Ala Gly Leu Tyr Asp Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu
    65             70             75

gtt gta ctc gac tac acg acc gac cct ctc atc act gac tct gga ttc      287
Val Val Leu Asp Tyr Thr Thr Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe
    80             85             90

cgg aac tca atc ctc tca agc att gca cgg gct ggc cac gcc atc gag      335
Arg Asn Ser Ile Leu Ser Ser Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu
                100             105             110

gag ctc tat ggg tca cca cag gat gtt gag gga gta gtg aag gat ggg      383
Glu Leu Tyr Gly Ser Pro Gln Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly
                115             120             125

aag atc tac gta gtc cag aca tac cac aga tgt aat atg tat gta tac      431
Lys Ile Tyr Val Val Gln Thr Tyr His Arg Cys Asn Met Tyr Val Tyr
                130             135             140

gcg gct caa gtt gta gag tagtaggata tatggtcctt gctggcatgt          479
Ala Ala Gln Val Val Glu

```

1 和 2 的含有来自小麦的 R1 cDNA 3'-区的克隆 TaR1-11, 使用 T4-DNA-聚合酶将限制位点填补成平端并通过用限制性内切核酸酶 Ec/136 消化使来自小麦的 R1 cDNA 的 3'-区从载体中释放出来。将这种产生的片段连接到 Ec/136 消化的 RS 23-88 的平端上。通过限制酶切分析控制所连接片段的方向。通过经 GATC GmbH (Konstanz, Germany) 进行的序列分析再次测定完整 cDNA 克隆 (~ 3.7kb) 的一级结构且如 SEQ ID No. 9 所述。

gcg gct caa gtt gta gag tagtaggata tatggtcctt gctggcatgt 479
 Ala Ala Gln Val Val Glu
 145

atagttgtac tcataggtgc acaacacatc tacgttgtta tttatttgca tatacgctca 539
 gaataagctt tgatcacata ctgtatttcc tagagtacca gaaagtgtat gtacgatcag 599
 gaatatgacc ttattaaaac cattgagggg aaatgttttg acttttgagc aatctaaaaa 659
 aaaaaaaaaaaa aaa 672

<210> 2
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> 普通小麦

<400> 2
 Glu Val Val Lys Gly Leu Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 Arg Ala Met Ser Phe Val Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro Lys
 20 25 30
 Val Leu Gly Tyr Pro Ser Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg Ser
 35 40 45
 Ile Ile Phe Arg Ser Asp Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr Ala
 50 55 60
 Gly Ala Gly Leu Tyr Asp Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu Val
 65 70 75 80
 Val Leu Asp Tyr Thr Thr Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe Arg
 85 90 95
 Asn Ser Ile Leu Ser Ser Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu Glu
 100 105 110
 Leu Tyr Gly Ser Pro Gln Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly Lys
 115 120 125
 Ile Tyr Val Val Gln Thr Tyr His Arg Cys Asn Met Tyr Val Tyr Ala
 130 135 140
 Ala Gln Val Val Glu
 145

<210> 3
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 普通小麦

<400> 3
 tattggaagc tcgagttgaa c 21


```

<210> 4
<211> 21
<212> DNA
<213> 普通小麦

<400> 4
ttgagctgtc taatagatgc a                               21

<210> 5
<211> 17
<212> DNA
<213> 普通小麦

<400> 5
ctgtggtctt gtctggac                                   18

<210> 6
<211> 24
<212> DNA
<213> 普通小麦

<400> 6
gaggaagcaa ggaaggaact gcag                           24

<210> 7
<211> 3418
<212> DNA
<213> 普通小麦

<220>
<221> CDS
<222> (3)..(3416)

<400> 7
ga gga aga agg aag gaa ctg cag gct gag ttg gat aat gga gcc tca   47
  Gly Arg Arg Lys Glu Leu Gln Ala Glu Leu Asp Asn Gly Ala Ser
    1             5             10             15

gtt gat caa tta agg aag aaa att gtg aaa gga aac ctt gaa aag aaa   95
Val Asp Gln Leu Arg Lys Lys Ile Val Lys Gly Asn Leu Glu Lys Lys
          20             25             30

gtt tcc aag caa ctg gag aag aag aag tac ttc tca gta gaa agg att   143
Val Ser Lys Gln Leu Glu Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Val Glu Arg Ile
          35             40             45

cag cgc aga aac aga gat atc acg caa ctt ctt aat aaa cat aag cct   191
Gln Arg Arg Asn Arg Asp Ile Thr Gln Leu Leu Asn Lys His Lys Pro
          50             55             60

gtg gtt aca gaa cag caa gta aaa gct gca ccc aaa cag cca act gtt   239
Val Val Thr Glu Gln Gln Val Lys Ala Ala Pro Lys Gln Pro Thr Val
          65             70             75

ttg gat ctc ttc aca aag tcc ttg caa gag ggg gat aac tgt gac gtc   287
Leu Asp Leu Phe Thr Lys Ser Leu Gln Glu Gly Asp Asn Cys Asp Val
          80             85             90             95

```

cta agc agg aag ctt ttc aag atc ggt gat gag gag ata ctg gca att	335
Leu Ser Arg Lys Leu Phe Lys Ile Gly Asp Glu Glu Ile Leu Ala Ile	
100 105 110	
gcc aca aat gct cta ggt aaa acc aga gtt cac ttg gca aca aac cgt	383
Ala Thr Asn Ala Leu Gly Lys Thr Arg Val His Leu Ala Thr Asn Arg	
115 120 125	
atg gag cca ctt att ctt cac tgg gca ctg gca aaa aat ccc gga gaa	431
Met Glu Pro Leu Ile Leu His Trp Ala Leu Ala Lys Asn Pro Gly Glu	
130 135 140	
tgg gag gca cct cct tct agc ata gtg cct tct ggc tca aca gtt ctc	479
Trp Glu Ala Pro Pro Ser Ser Ile Val Pro Ser Gly Ser Thr Val Leu	
145 150 155	
gac aag gca tgt gaa act tca ttc ggt gag tct gaa ttg gat ggt ttg	527
Asp Lys Ala Cys Glu Thr Ser Phe Gly Glu Ser Glu Leu Asp Gly Leu	
160 165 170 175	
caa tac cag gtt gtt gag ata gag ctt gat gac ggc aga tac aag ggg	575
Gln Tyr Gln Val Val Glu Ile Glu Leu Asp Asp Gly Arg Tyr Lys Gly	
180 185 190	
atg ccc ttt gtt ctc cgg cgt ggt gaa aca tgg ata aag aac aac gac	623
Met Pro Phe Val Leu Arg Arg Gly Glu Thr Trp Ile Lys Asn Asn Asp	
195 200 205	
tct gac ttc tat ttg gat ttc aac acc aaa gtt acc aag aaa tca aag	671
Ser Asp Phe Tyr Leu Asp Phe Asn Thr Lys Val Thr Lys Lys Ser Lys	
210 215 220	
gat acg ggt gat gcc ggt aaa ggc acc gca aag gat ttc ctg gaa aga	719
Asp Thr Gly Asp Ala Gly Lys Gly Thr Ala Lys Asp Phe Leu Glu Arg	
225 230 235	
ata gca gat ctg gag gaa gat gcc cag cga tct ttt atg cac aga ttt	767
Ile Ala Asp Leu Glu Glu Asp Ala Gln Arg Ser Phe Met His Arg Phe	
240 245 250 255	
aat att gcg gcg gat cta gtt gac caa gcc aga gat gct gga cta ttg	815
Asn Ile Ala Ala Asp Leu Val Asp Gln Ala Arg Asp Ala Gly Leu Leu	
260 265 270	
ggt atc gtt gga ctt ttt gtt tgg att aga ttc atg tct acc agg caa	863
Gly Ile Val Gly Leu Phe Val Trp Ile Arg Phe Met Ser Thr Arg Gln	
275 280 285	
cta ata tgg aac aag aac tac aat gtg aaa cca cgt gag ata agc caa	911
Leu Ile Trp Asn Lys Asn Tyr Asn Val Lys Pro Arg Glu Ile Ser Gln	
290 295 300	
gca caa gac agg ttt aca gat gac ctt gag aat atg tac aaa agt tac	959
Ala Gln Asp Arg Phe Thr Asp Asp Leu Glu Asn Met Tyr Lys Ser Tyr	
305 310 315	
cca cag tac aga gag atc tta aga atg tta ttg tct gct gtt ggt cgt	1007
Pro Gln Tyr Arg Glu Ile Leu Arg Met Leu Leu Ser Ala Val Gly Arg	
320 325 330 335	
gga ggt gaa ggt gat gtt ggt cag cgt atc cgt gat gag ata tta gta	1055
Gly Gly Glu Gly Asp Val Gly Gln Arg Ile Arg Asp Glu Ile Leu Val	
340 345 350	

atg gac atg gtt aag caa aag gat gac caa tgg gct ctc tac gct aaa	1823
Met Asp Met Val Lys Gln Lys Asp Asp Gln Trp Ala Leu Tyr Ala Lys	
595 600 605	
gca ttt ctt gac aga acc aga ctt gcc ctt gcg agc aag ggc gaa caa	1871
Ala Phe Leu Asp Arg Thr Arg Leu Ala Leu Ala Ser Lys Gly Glu Gln	
610 615 620	
tac tac aat atg atg cag ccc tcg gct gaa tat ctt ggc tca tta ctc	1919
Tyr Tyr Asn Met Met Gln Pro Ser Ala Glu Tyr Leu Gly Ser Leu Leu	
625 630 635	
aac gtt gag gaa tgg gct gtt gac atc ttc aca gaa gaa gta att cgt	1967
Asn Val Glu Glu Trp Ala Val Asp Ile Phe Thr Glu Glu Val Ile Arg	
640 645 650 655	
ggt gga tca gct gcc act tta tct gct ctt ctg aac cga ttt gac cct	2015
Gly Gly Ser Ala Ala Thr Leu Ser Ala Leu Leu Asn Arg Phe Asp Pro	
660 665 670	
gtt ctc aga aat gtc gca cac ctt gga agt tgg cag gtt att agc cca	2063
Val Leu Arg Asn Val Ala His Leu Gly Ser Trp Gln Val Ile Ser Pro	
675 680 685	
gtt gaa gta aca ggt tat att gta gtg gtt gat aag ttg ctt tct gtt	2111
Val Glu Val Thr Gly Tyr Ile Val Val Val Asp Lys Leu Leu Ser Val	
690 695 700	
caa aac aaa act tat gat aaa cca aca atc ctt gtg gca aag agt gtc	2159
Gln Asn Lys Thr Tyr Asp Lys Pro Thr Ile Leu Val Ala Lys Ser Val	
705 710 715	
aag gga gag gaa gaa ata cca gat ggt gtt gtt ggc gtg ata aca cct	2207
Lys Gly Glu Glu Glu Ile Pro Asp Gly Val Val Gly Val Ile Thr Pro	
720 725 730 735	
gat atg cca gat gtt ctg tct cat gtg tca gtt cga gca agg aat tgc	2255
Asp Met Pro Asp Val Leu Ser His Val Ser Val Arg Ala Arg Asn Cys	
740 745 750	
aag gtg ttg ttt gcg aca tgc ttt gac ccg aat acc ctg tct gaa ttt	2303
Lys Val Leu Phe Ala Thr Cys Phe Asp Pro Asn Thr Leu Ser Glu Phe	
755 760 765	
caa gga cat gaa ggg aag gtg ttt tcc ttc aaa act act tct gca gat	2351
Gln Gly His Glu Gly Lys Val Phe Ser Phe Lys Thr Thr Ser Ala Asp	
770 775 780	
gtc acc tac agg gag gta tcg gac agt gaa ctt atg cag tca agt tct	2399
Val Thr Tyr Arg Glu Val Ser Asp Ser Glu Leu Met Gln Ser Ser Ser	
785 790 795	
tca gat gca caa ggt ggt gaa gca ata cca tct tta tca tta gtc aag	2447
Ser Asp Ala Gln Gly Gly Glu Ala Ile Pro Ser Leu Ser Leu Val Lys	
800 805 810 815	
aaa aag ttc ctt gga aaa tat gca ata tca gcg gaa gag ttc tct gat	2495
Lys Lys Phe Leu Gly Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Glu Glu Phe Ser Asp	
820 825 830	
gaa atg gtt gga gca aag tcc cgc aac ata gca tac ctg aaa gga aaa	2543
Glu Met Val Gly Ala Lys Ser Arg Asn Ile Ala Tyr Leu Lys Gly Lys	
835 840 845	

atc cag aga aat aat gac tgc aaa ggt gga att atg gaa gaa tgg cac	1103
Ile Gln Arg Asn Asn Asp Cys Lys Gly Gly Ile Met Glu Glu Trp His	
355 360 365	
cag aaa ctg cac aac aat aca agc cca gat gat gta gtc ata tgc cag	1151
Gln Lys Leu His Asn Asn Thr Ser Pro Asp Asp Val Val Ile Cys Gln	
370 375 380	
gcg ata att gat tat atc aag agc gat ttc gat atc aac gtt tac tgg	1199
Ala Ile Ile Asp Tyr Ile Lys Ser Asp Phe Asp Ile Asn Val Tyr Trp	
385 390 395	
gac acc ttg aac aaa aat ggc ata acc aaa gaa cga ctg ttg agc tat	1247
Asp Thr Leu Asn Lys Asn Gly Ile Thr Lys Glu Arg Leu Leu Ser Tyr	
400 405 410 415	
gat cgt gca att cat tca gaa cca aaa ttc agg agt gac cag aaa gag	1295
Asp Arg Ala Ile His Ser Glu Pro Lys Phe Arg Ser Asp Gln Lys Glu	
420 425 430	
ggg tta ctc cgt gat ttg ggc aac tat atg aga agc ctg aag gct gtg	1343
Gly Leu Leu Arg Asp Leu Gly Asn Tyr Met Arg Ser Leu Lys Ala Val	
435 440 445	
cac tct ggt gct gat ctt gag tct gct att gcg aca tgt atg gga tac	1391
His Ser Gly Ala Asp Leu Glu Ser Ala Ile Ala Thr Cys Met Gly Tyr	
450 455 460	
aaa tca gag ggt gaa ggt ttc atg gtt ggt gtt caa atc aac ccg gtg	1439
Lys Ser Glu Gly Glu Gly Phe Met Val Gly Val Gln Ile Asn Pro Val	
465 470 475	
aat ggt tta tca tct ggt ttt cct gat ttg ctt caa ttt gtg ctt gac	1487
Asn Gly Leu Ser Ser Gly Phe Pro Asp Leu Leu Gln Phe Val Leu Asp	
480 485 490 495	
cat gtt gag gat aaa tca gca gag cca ctt ctt gag ggg tta ttg gag	1535
His Val Glu Asp Lys Ser Ala Glu Pro Leu Leu Glu Gly Leu Leu Glu	
500 505 510	
gct cgt gtt gaa cta cgc cct ttg ctc act ggc tca tct gaa cgc ttg	1583
Ala Arg Val Glu Leu Arg Pro Leu Leu Thr Gly Ser Ser Glu Arg Leu	
515 520 525	
aag gat ctt atc ttt ttg gac att gct ctt gat tct act ttc agg aca	1631
Lys Asp Leu Ile Phe Leu Asp Ile Ala Leu Asp Ser Thr Phe Arg Thr	
530 535 540	
gca gtt gaa agg tcg tat gag gag ctg aat gat gca gca ccg gag aaa	1679
Ala Val Glu Arg Ser Tyr Glu Glu Leu Asn Asp Ala Ala Pro Glu Lys	
545 550 555	
att atg tac ttc atc agt ctt gtt ctt gaa aat ctt gcc ttg tcc act	1727
Ile Met Tyr Phe Ile Ser Leu Val Leu Glu Asn Leu Ala Leu Ser Thr	
560 565 570 575	
gac gac aac gaa gac atc tta tat tgc tta aag gga tgg aat cga gcc	1775
Asp Asp Asn Glu Asp Ile Leu Tyr Cys Leu Lys Gly Trp Asn Arg Ala	
580 585 590	

gta cct tca tgg gtt ggt atc cca aca tca gtt gcg ata cca ttt ggg	2591
Val Pro Ser Trp Val Gly Ile Pro Thr Ser Val Ala Ile Pro Phe Gly	
850 855 860	
acc ttt gag aag ata ttg tct gat gag acc aat aag gaa gta gca caa	2639
Thr Phe Glu Lys Ile Leu Ser Asp Glu Thr Asn Lys Glu Val Ala Gln	
865 870 875	
aac ata cag atg ctg aag ggc aga ctt gct caa gaa gat ttt agt gct	2687
Asn Ile Gln Met Leu Lys Gly Arg Leu Ala Gln Glu Asp Phe Ser Ala	
880 885 890 895	
cta gga gaa atc cgg aaa act gtt ctt aat cta act gct cca act caa	2735
Leu Gly Glu Ile Arg Lys Thr Val Leu Asn Leu Thr Ala Pro Thr Gln	
900 905 910	
ccg gtt aag gag ctg aag gag aag atg cta agc tcc gga atg ccc tgg	2783
Pro Val Lys Glu Leu Lys Glu Lys Met Leu Ser Ser Gly Met Pro Trp	
915 920 925	
cct gga gat gaa agt gac cac cgt tgg gag caa gca tgg atg gca att	2831
Pro Gly Asp Glu Ser Asp His Arg Trp Glu Gln Ala Trp Met Ala Ile	
930 935 940	
aaa aag gtt tgg gca tca aaa tgg aat gaa aga gca tac ttt agt aca	2879
Lys Lys Val Trp Ala Ser Lys Trp Asn Glu Arg Ala Tyr Phe Ser Thr	
945 950 955	
cgc aag gtg aag ctc gat cat gag tac ctt tcc atg gct gtt ctt gta	2927
Arg Lys Val Lys Leu Asp His Glu Tyr Leu Ser Met Ala Val Leu Val	
960 965 970 975	
caa gaa att gtc aac gca gac tat gcc ttt gtc att cat act acg aac	2975
Gln Glu Ile Val Asn Ala Asp Tyr Ala Phe Val Ile His Thr Thr Asn	
980 985 990	
ccg tca tct gga gat tct tct gag ata tat gct gaa gtg gtg aaa gga	3023
Pro Ser Ser Gly Asp Ser Ser Glu Ile Tyr Ala Glu Val Val Lys Gly	
995 1000 1005	
ctt gga gag aca ctt gtg gga gct tat cct ggc cgt gcc atg agc ttc	3071
Leu Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro Gly Arg Ala Met Ser Phe	
1010 1015 1020	
gtg tgt aag aaa gat gac ctt gac tct ccc aag gta ctg ggt tac cct	3119
Val Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro Lys Val Leu Gly Tyr Pro	
1025 1030 1035	
agc aag cca att ggt ctc ttc ata aag cgg tca atc atc ttc cgc tca	3167
Ser Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg Ser Ile Ile Phe Arg Ser	
1040 1045 1050 1055	
gac tct aat ggt gag gat ctg gaa ggt tac gct gga gca ggg ctg tat	3215
Asp Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr Ala Gly Ala Gly Leu Tyr	
1060 1065 1070	
gat agt gtc cct atg gat gtg gaa gat gaa gtt gta ctc gac tac acg	3263
Asp Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu Val Val Leu Asp Tyr Thr	
1075 1080 1085	

```

acc gac cct ctc atc act gac tct gga ttc cgg aac tca atc ctc tca 3311
Thr Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe Arg Asn Ser Ile Leu Ser
      1090                        1095                        1100

agc att gca cgg gct ggc cac gcc atc gag gag ctc tat ggg tca cca 3359
Ser Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu Glu Leu Tyr Gly Ser Pro
      1105                        1110                        1115

cag gat gtt gag gga gta gtg aag gat ggg aag atc tac gta gtc cag 3407
Gln Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly Lys Ile Tyr Val Val Gln
1120                        1125                        1130                        1135

aca tac cac ag 3418
Thr Tyr His

<210> 8
<211> 1138
<212> PRT
<213> 普通小麦

<400> 8
Gly Arg Arg Lys Glu Leu Gln Ala Glu Leu Asp Asn Gly Ala Ser Val
  1          5          10          15

Asp Gln Leu Arg Lys Lys Ile Val Lys Gly Asn Leu Glu Lys Lys Val
      20          25          30

Ser Lys Gln Leu Glu Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Val Glu Arg Ile Gln
      35          40          45

Arg Arg Asn Arg Asp Ile Thr Gln Leu Leu Asn Lys His Lys Pro Val
      50          55          60

Val Thr Glu Gln Gln Val Lys Ala Ala Pro Lys Gln Pro Thr Val Leu
      65          70          75          80

Asp Leu Phe Thr Lys Ser Leu Gln Glu Gly Asp Asn Cys Asp Val Leu
      85          90          95

Ser Arg Lys Leu Phe Lys Ile Gly Asp Glu Glu Ile Leu Ala Ile Ala
      100         105         110

Thr Asn Ala Leu Gly Lys Thr Arg Val His Leu Ala Thr Asn Arg Met
      115         120         125

Glu Pro Leu Ile Leu His Trp Ala Leu Ala Lys Asn Pro Gly Glu Trp
      130         135         140

Glu Ala Pro Pro Ser Ser Ile Val Pro Ser Gly Ser Thr Val Leu Asp
      145         150         155         160

Lys Ala Cys Glu Thr Ser Phe Gly Glu Ser Glu Leu Asp Gly Leu Gln
      165         170         175

Tyr Gln Val Val Glu Ile Glu Leu Asp Asp Gly Arg Tyr Lys Gly Met
      180         185         190

Pro Phe Val Leu Arg Arg Gly Glu Thr Trp Ile Lys Asn Asn Asp Ser
      195         200         205

Asp Phe Tyr Leu Asp Phe Asn Thr Lys Val Thr Lys Lys Ser Lys Asp
      210         215         220

```

Thr Gly Asp Ala Gly Lys Gly Thr Ala Lys Asp Phe Leu Glu Arg Ile
 225 230 235 240
 Ala Asp Leu Glu Glu Asp Ala Gln Arg Ser Phe Met His Arg Phe Asn
 245 250 255
 Ile Ala Ala Asp Leu Val Asp Gln Ala Arg Asp Ala Gly Leu Leu Gly
 260 265 270
 Ile Val Gly Leu Phe Val Trp Ile Arg Phe Met Ser Thr Arg Gln Leu
 275 280 285
 Ile Trp Asn Lys Asn Tyr Asn Val Lys Pro Arg Glu Ile Ser Gln Ala
 290 295 300
 Gln Asp Arg Phe Thr Asp Asp Leu Glu Asn Met Tyr Lys Ser Tyr Pro
 305 310 315 320
 Gln Tyr Arg Glu Ile Leu Arg Met Leu Leu Ser Ala Val Gly Arg Gly
 325 330 335
 Gly Glu Gly Asp Val Gly Gln Arg Ile Arg Asp Glu Ile Leu Val Ile
 340 345 350
 Gln Arg Asn Asn Asp Cys Lys Gly Gly Ile Met Glu Glu Trp His Gln
 355 360 365
 Lys Leu His Asn Asn Thr Ser Pro Asp Asp Val Val Ile Cys Gln Ala
 370 375 380
 Ile Ile Asp Tyr Ile Lys Ser Asp Phe Asp Ile Asn Val Tyr Trp Asp
 385 390 395 400
 Thr Leu Asn Lys Asn Gly Ile Thr Lys Glu Arg Leu Leu Ser Tyr Asp
 405 410 415
 Arg Ala Ile His Ser Glu Pro Lys Phe Arg Ser Asp Gln Lys Glu Gly
 420 425 430
 Leu Leu Arg Asp Leu Gly Asn Tyr Met Arg Ser Leu Lys Ala Val His
 435 440 445
 Ser Gly Ala Asp Leu Glu Ser Ala Ile Ala Thr Cys Met Gly Tyr Lys
 450 455 460
 Ser Glu Gly Glu Gly Phe Met Val Gly Val Gln Ile Asn Pro Val Asn
 465 470 475 480
 Gly Leu Ser Ser Gly Phe Pro Asp Leu Leu Gln Phe Val Leu Asp His
 485 490 495
 Val Glu Asp Lys Ser Ala Glu Pro Leu Leu Glu Gly Leu Leu Glu Ala
 500 505 510
 Arg Val Glu Leu Arg Pro Leu Leu Thr Gly Ser Ser Glu Arg Leu Lys
 515 520 525
 Asp Leu Ile Phe Leu Asp Ile Ala Leu Asp Ser Thr Phe Arg Thr Ala
 530 535 540
 Val Glu Arg Ser Tyr Glu Glu Leu Asn Asp Ala Ala Pro Glu Lys Ile
 545 550 555 560

Met Tyr Phe Ile Ser Leu Val Leu Glu Asn Leu Ala Leu Ser Thr Asp
 565 570 575
 Asp Asn Glu Asp Ile Leu Tyr Cys Leu Lys Gly Trp Asn Arg Ala Met
 580 585 590
 Asp Met Val Lys Gln Lys Asp Asp Gln Trp Ala Leu Tyr Ala Lys Ala
 595 600 605
 Phe Leu Asp Arg Thr Arg Leu Ala Leu Ala Ser Lys Gly Glu Gln Tyr
 610 615 620
 Tyr Asn Met Met Gln Pro Ser Ala Glu Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Asn
 625 630 635 640
 Val Glu Glu Trp Ala Val Asp Ile Phe Thr Glu Glu Val Ile Arg Gly
 645 650 655
 Gly Ser Ala Ala Thr Leu Ser Ala Leu Leu Asn Arg Phe Asp Pro Val
 660 665 670
 Leu Arg Asn Val Ala His Leu Gly Ser Trp Gln Val Ile Ser Pro Val
 675 680 685
 Glu Val Thr Gly Tyr Ile Val Val Val Asp Lys Leu Leu Ser Val Gln
 690 695 700
 Asn Lys Thr Tyr Asp Lys Pro Thr Ile Leu Val Ala Lys Ser Val Lys
 705 710 715 720
 Gly Glu Glu Glu Ile Pro Asp Gly Val Val Gly Val Ile Thr Pro Asp
 725 730 735
 Met Pro Asp Val Leu Ser His Val Ser Val Arg Ala Arg Asn Cys Lys
 740 745 750
 Val Leu Phe Ala Thr Cys Phe Asp Pro Asn Thr Leu Ser Glu Phe Gln
 755 760 765
 Gly His Glu Gly Lys Val Phe Ser Phe Lys Thr Thr Ser Ala Asp Val
 770 775 780
 Thr Tyr Arg Glu Val Ser Asp Ser Glu Leu Met Gln Ser Ser Ser Ser
 785 790 795 800
 Asp Ala Gln Gly Gly Glu Ala Ile Pro Ser Leu Ser Leu Val Lys Lys
 805 810 815
 Lys Phe Leu Gly Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Glu Glu Phe Ser Asp Glu
 820 825 830
 Met Val Gly Ala Lys Ser Arg Asn Ile Ala Tyr Leu Lys Gly Lys Val
 835 840 845
 Pro Ser Trp Val Gly Ile Pro Thr Ser Val Ala Ile Pro Phe Gly Thr
 850 855 860
 Phe Glu Lys Ile Leu Ser Asp Glu Thr Asn Lys Glu Val Ala Gln Asn
 865 870 875 880
 Ile Gln Met Leu Lys Gly Arg Leu Ala Gln Glu Asp Phe Ser Ala Leu
 885 890 895

Gly Glu Ile Arg Lys Thr Val Leu Asn Leu Thr Ala Pro Thr Gln Pro
 900 905 910
 Val Lys Glu Leu Lys Glu Lys Met Leu Ser Ser Gly Met Pro Trp Pro
 915 920 925
 Gly Asp Glu Ser Asp His Arg Trp Glu Gln Ala Trp Met Ala Ile Lys
 930 935 940
 Lys Val Trp Ala Ser Lys Trp Asn Glu Arg Ala Tyr Phe Ser Thr Arg
 945 950 955 960
 Lys Val Lys Leu Asp His Glu Tyr Leu Ser Met Ala Val Leu Val Gln
 965 970 975
 Glu Ile Val Asn Ala Asp Tyr Ala Phe Val Ile His Thr Thr Asn Pro
 980 985 990
 Ser Ser Gly Asp Ser Ser Glu Ile Tyr Ala Glu Val Val Lys Gly Leu
 995 1000 1005
 Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro Gly Arg Ala Met Ser Phe Val
 1010 1015 1020
 Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro Lys Val Leu Gly Tyr Pro Ser
 1025 1030 1035 1040
 Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg Ser Ile Ile Phe Arg Ser Asp
 1045 1050 1055
 Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr Ala Gly Ala Gly Leu Tyr Asp
 1060 1065 1070
 Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu Val Val Leu Asp Tyr Thr Thr
 1075 1080 1085
 Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe Arg Asn Ser Ile Leu Ser Ser
 1090 1095 1100
 Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu Glu Leu Tyr Gly Ser Pro Gln
 1105 1110 1115 1120
 Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly Lys Ile Tyr Val Val Gln Thr
 1125 1130 1135

Tyr His

<210> 9
 <211> 3678
 <212> DNA
 <213> 普通小麦

<220>
 <221> CDS
 <222> (3)..(3458)

<400> 9

ga gga aga agg aag gaa ctg cag gct gag ttg gat aat gga gcc tca
 Gly Arg Arg Lys Glu Leu Gln Ala Glu Leu Asp Asn Gly Ala Ser
 1 5 10 15

47

gtt gat caa tta agg aag aaa att gtg aaa gga aac ctt gaa aag aaa	95
Val Asp Gln Leu Arg Lys Lys Ile Val Lys Gly Asn Leu Glu Lys Lys	
20 25 30	
gtt tcc aag caa ctg gag aag aag aag tac ttc tca gta gaa agg att	143
Val Ser Lys Gln Leu Glu Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Val Glu Arg Ile	
35 40 45	
cag cgc aga aac aga gat atc acg caa ctt ctt aat aaa cat aag cct	191
Gln Arg Arg Asn Arg Asp Ile Thr Gln Leu Leu Asn Lys His Lys Pro	
50 55 60	
gtg gtt aca gaa cag caa gta aaa gct gca ccc aaa cag cca act gtt	239
Val Val Thr Glu Gln Gln Val Lys Ala Ala Pro Lys Gln Pro Thr Val	
65 70 75	
ttg gat ctc ttc aca aag tcc ttg caa gag ggg gat aac tgt gac gtc	287
Leu Asp Leu Phe Thr Lys Ser Leu Gln Glu Gly Asp Asn Cys Asp Val	
80 85 90 95	
cta agc agg aag ctt ttc aag atc ggt gat gag gag ata ctg gca att	335
Leu Ser Arg Lys Leu Phe Lys Ile Gly Asp Glu Glu Ile Leu Ala Ile	
100 105 110	
gcc aca aat gct cta ggt aaa acc aga gtt cac ttg gca aca aac cgt	383
Ala Thr Asn Ala Leu Gly Lys Thr Arg Val His Leu Ala Thr Asn Arg	
115 120 125	
atg gag cca ctt att ctt cac tgg gca ctg gca aaa aat ccc gga gaa	431
Met Glu Pro Leu Ile Leu His Trp Ala Leu Ala Lys Asn Pro Gly Glu	
130 135 140	
tgg gag gca cct cct tct agc ata gtg cct tct ggc tca aca gtt ctc	479
Trp Glu Ala Pro Pro Ser Ser Ile Val Pro Ser Gly Ser Thr Val Leu	
145 150 155	
gac aag gca tgt gaa act tca ttc ggt gag tct gaa ttg gat ggt ttg	527
Asp Lys Ala Cys Glu Thr Ser Phe Gly Glu Ser Glu Leu Asp Gly Leu	
160 165 170 175	
caa tac cag gtt gtt gag ata gag ctt gat gac ggc aga tac aag ggg	575
Gln Tyr Gln Val Val Glu Ile Glu Leu Asp Asp Gly Arg Tyr Lys Gly	
180 185 190	
atg ccc ttt gtt ctc cgg cgt ggt gaa aca tgg ata aag aac aac gac	623
Met Pro Phe Val Leu Arg Arg Gly Glu Thr Trp Ile Lys Asn Asn Asp	
195 200 205	
tct gac ttc tat ttg gat ttc aac acc aaa gtt acc aag aaa tca aag	671
Ser Asp Phe Tyr Leu Asp Phe Asn Thr Lys Val Thr Lys Lys Ser Lys	
210 215 220	
gat acg ggt gat gcc ggt aaa ggc acc gca aag gat ttc ctg gaa aga	719
Asp Thr Gly Asp Ala Gly Lys Gly Thr Ala Lys Asp Phe Leu Glu Arg	
225 230 235	
ata gca gat ctg gag gaa gat gcc cag cga tct ttt atg cac aga ttt	767
Ile Ala Asp Leu Glu Glu Asp Ala Gln Arg Ser Phe Met His Arg Phe	
240 245 250 255	
aat att gcg gcg gat cta gtt gac caa gcc aga gat gct gga cta ttg	815
Asn Ile Ala Ala Asp Leu Val Asp Gln Ala Arg Asp Ala Gly Leu Leu	
260 265 270	

ggt atc gtt gga ctt ttt gtt tgg att aga ttc atg tct acc agg caa	863
Gly Ile Val Gly Leu Phe Val Trp Ile Arg Phe Met Ser Thr Arg Gln	
275 280 285	
cta ata tgg aac aag aac tac aat gtg aaa cca cgt gag ata agc caa	911
Leu Ile Trp Asn Lys Asn Tyr Asn Val Lys Pro Arg Glu Ile Ser Gln	
290 295 300	
gca caa gac agg ttt aca gat gac ctt gag aat atg tac aaa agt tac	959
Ala Gln Asp Arg Phe Thr Asp Asp Leu Glu Asn Met Tyr Lys Ser Tyr	
305 310 315	
cca cag tac aga gag atc tta aga atg tta ttg tct gct gtt ggt cgt	1007
Pro Gln Tyr Arg Glu Ile Leu Arg Met Leu Leu Ser Ala Val Gly Arg	
320 325 330 335	
gga ggt gaa ggt gat gtt ggt cag cgt atc cgt gat gag ata tta gta	1055
Gly Gly Glu Gly Asp Val Gly Gln Arg Ile Arg Asp Glu Ile Leu Val	
340 345 350	
atc cag aga aat aat gac tgc aaa ggt gga att atg gaa gaa tgg cac	1103
Ile Gln Arg Asn Asn Asp Cys Lys Gly Gly Ile Met Glu Glu Trp His	
355 360 365	
cag aaa ctg cac aac aat aca agc cca gat gat gta gtc ata tgc cag	1151
Gln Lys Leu His Asn Asn Thr Ser Pro Asp Asp Val Val Ile Cys Gln	
370 375 380	
gcg ata att gat tat atc aag agc gat ttc gat atc aac gtt tac tgg	1199
Ala Ile Ile Asp Tyr Ile Lys Ser Asp Phe Asp Ile Asn Val Tyr Trp	
385 390 395	
gac acc ttg aac aaa aat ggc ata acc aaa gaa cga ctg ttg agc tat	1247
Asp Thr Leu Asn Lys Asn Gly Ile Thr Lys Glu Arg Leu Leu Ser Tyr	
400 405 410 415	
gat cgt gca att cat tca gaa cca aaa ttc agg agt gac cag aaa gag	1295
Asp Arg Ala Ile His Ser Glu Pro Lys Phe Arg Ser Asp Gln Lys Glu	
420 425 430	
ggg tta ctc cgt gat ttg ggc aac tat atg aga agc ctg aag gct gtg	1343
Gly Leu Leu Arg Asp Leu Gly Asn Tyr Met Arg Ser Leu Lys Ala Val	
435 440 445	
cac tct ggt gct gat ctt gag tct gct att gcg aca tgt atg gga tac	1391
His Ser Gly Ala Asp Leu Glu Ser Ala Ile Ala Thr Cys Met Gly Tyr	
450 455 460	
aaa tca gag ggt gaa ggt ttc atg gtt ggt gtt caa atc aac ccg gtg	1439
Lys Ser Glu Gly Glu Gly Phe Met Val Gly Val Gln Ile Asn Pro Val	
465 470 475	
aat ggt tta tca tct ggt ttt cct gat ttg ctt caa ttt gtg ctt gac	1487
Asn Gly Leu Ser Ser Gly Phe Pro Asp Leu Leu Gln Phe Val Leu Asp	
480 485 490 495	
cat gtt gag gat aaa tca gca gag cca ctt ctt gag ggg tta ttg gag	1535
His Val Glu Asp Lys Ser Ala Glu Pro Leu Leu Glu Gly Leu Leu Glu	
500 505 510	

gct cgt gtt gaa cta cgc cct ttg ctc act ggc tca tct gaa cgc ttg	1583
Ala Arg Val Glu Leu Arg Pro Leu Leu Thr Gly Ser Ser Glu Arg Leu	
515 520 525	
aag gat ctt atc ttt ttg gac att gct ctt gat tct act ttc agg aca	1631
Lys Asp Leu Ile Phe Leu Asp Ile Ala Leu Asp Ser Thr Phe Arg Thr	
530 535 540	
gca gtt gaa agg tcg tat gag gag ctg aat gat gca gca ccg gag aaa	1679
Ala Val Glu Arg Ser Tyr Glu Glu Leu Asn Asp Ala Ala Pro Glu Lys	
545 550 555	
att atg tac ttc atc agt ctt gtt ctt gaa aat ctt gcc ttg tcc act	1727
Ile Met Tyr Phe Ile Ser Leu Val Leu Glu Asn Leu Ala Leu Ser Thr	
560 565 570 575	
gac gac aac gaa gac atc tta tat tgc tta aag gga tgg aat cga gcc	1775
Asp Asp Asn Glu Asp Ile Leu Tyr Cys Leu Lys Gly Trp Asn Arg Ala	
580 585 590	
atg gac atg gtt aag caa aag gat gac caa tgg gct ctc tac gct aaa	1823
Met Asp Met Val Lys Gln Lys Asp Asp Gln Trp Ala Leu Tyr Ala Lys	
595 600 605	
gca ttt ctt gac aga acc aga ctt gcc ctt gcg agc aag ggc gaa caa	1871
Ala Phe Leu Asp Arg Thr Arg Leu Ala Leu Ala Ser Lys Gly Glu Gln	
610 615 620	
tac tac aat atg atg cag ccc tcg gct gaa tat ctt ggc tca tta ctc	1919
Tyr Tyr Asn Met Met Gln Pro Ser Ala Glu Tyr Leu Gly Ser Leu Leu	
625 630 635	
aac gtt gag gaa tgg gct gtt gac atc ttc aca gaa gaa gta att cgt	1967
Asn Val Glu Glu Trp Ala Val Asp Ile Phe Thr Glu Glu Val Ile Arg	
640 645 650 655	
ggc gga tca gct gcc act tta tct gct ctt ctg aac cga ttt gac cct	2015
Gly Gly Ser Ala Ala Thr Leu Ser Ala Leu Leu Asn Arg Phe Asp Pro	
660 665 670	
ggt ctc aga aat gtc gca cac ctt gga agt tgg cag gtt att agc cca	2063
Val Leu Arg Asn Val Ala His Leu Gly Ser Trp Gln Val Ile Ser Pro	
675 680 685	
ggt gaa gta aca ggt tat att gta gtg gtt gat aag ttg ctt tct gtt	2111
Val Glu Val Thr Gly Tyr Ile Val Val Val Asp Lys Leu Leu Ser Val	
690 695 700	
caa aac aaa act tat gat aaa cca aca atc ctt gtg gca aag agt gtc	2159
Gln Asn Lys Thr Tyr Asp Lys Pro Thr Ile Leu Val Ala Lys Ser Val	
705 710 715	
aag gga gag gaa gaa ata cca gat ggt gtt gtt ggc gtg ata aca cct	2207
Lys Gly Glu Glu Glu Ile Pro Asp Gly Val Val Gly Val Ile Thr Pro	
720 725 730 735	
gat atg cca gat gtt ctg tct cat gtg tca gtt cga gca agg aat tgc	2255
Asp Met Pro Asp Val Leu Ser His Val Ser Val Arg Ala Arg Asn Cys	
740 745 750	
aag gtg ttg ttt gcg aca tgc ttt gac ccg aat acc ctg tct gaa ttt	2303
Lys Val Leu Phe Ala Thr Cys Phe Asp Pro Asn Thr Leu Ser Glu Phe	
755 760 765	

caa gga cat gaa ggg aag gtg ttt tcc ttc aaa act act tct gca gat	2351
Gln Gly His Glu Gly Lys Val Phe Ser Phe Lys Thr Thr Ser Ala Asp	
770 775 780	
gtc acc tac agg gag gta tcg gac agt gaa ctt atg cag tca agt tct	2399
Val Thr Tyr Arg Glu Val Ser Asp Ser Glu Leu Met Gln Ser Ser Ser	
785 790 795	
tca gat gca caa ggt ggt gaa gca ata cca tct tta tca tta gtc aag	2447
Ser Asp Ala Gln Gly Gly Glu Ala Ile Pro Ser Leu Ser Leu Val Lys	
800 805 810 815	
aaa aag ttc ctt gga aaa tat gca ata tca gcg gaa gag ttc tct gat	2495
Lys Lys Phe Leu Gly Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Glu Glu Phe Ser Asp	
820 825 830	
gaa atg gtt gga gca aag tcc cgc aac ata gca tac ctg aaa gga aaa	2543
Glu Met Val Gly Ala Lys Ser Arg Asn Ile Ala Tyr Leu Lys Gly Lys	
835 840 845	
gta cct tca tgg gtt ggt atc cca aca tca gtt gcg ata cca ttt ggg	2591
Val Pro Ser Trp Val Gly Ile Pro Thr Ser Val Ala Ile Pro Phe Gly	
850 855 860	
acc ttt gag aag ata ttg tct gat gag acc aat aag gaa gta gca caa	2639
Thr Phe Glu Lys Ile Leu Ser Asp Glu Thr Asn Lys Glu Val Ala Gln	
865 870 875	
aac ata cag atg ctg aag ggc aga ctt gct caa gaa gat ttt agt gct	2687
Asn Ile Gln Met Leu Lys Gly Arg Leu Ala Gln Glu Asp Phe Ser Ala	
880 885 890 895	
cta gga gaa atc cgg aaa act gtt ctt aat cta act gct cca act caa	2735
Leu Gly Glu Ile Arg Lys Thr Val Leu Asn Leu Thr Ala Pro Thr Gln	
900 905 910	
ccg gtt aag gag ctg aag gag aag atg cta agc tcc gga atg ccc tgg	2783
Pro Val Lys Glu Leu Lys Glu Lys Met Leu Ser Ser Gly Met Pro Trp	
915 920 925	
cct gga gat gaa agt gac cac cgt tgg gag caa gca tgg atg gca att	2831
Pro Gly Asp Glu Ser Asp His Arg Trp Glu Gln Ala Trp Met Ala Ile	
930 935 940	
aaa aag gtt tgg gca tca aaa tgg aat gaa aga gca tac ttt agt aca	2879
Lys Lys Val Trp Ala Ser Lys Trp Asn Glu Arg Ala Tyr Phe Ser Thr	
945 950 955	
cgc aag gtg aag ctc gat cat gag tac ctt tcc atg gct gtt ctt gta	2927
Arg Lys Val Lys Leu Asp His Glu Tyr Leu Ser Met Ala Val Leu Val	
960 965 970 975	
caa gaa att gtc aac gca gac tat gcc ttt gtc att cat act acg aac	2975
Gln Glu Ile Val Asn Ala Asp Tyr Ala Phe Val Ile His Thr Thr Asn	
980 985 990	
ccg tca tct gga gat tct tct gag ata tat gct gaa gtg gtg aaa gga	3023
Pro Ser Ser Gly Asp Ser Ser Glu Ile Tyr Ala Glu Val Val Lys Gly	
995 1000 1005	

ctt gga gag aca ctt gtg gga gct tat cct ggc cgt gcc atg agc ttc 3071
 Leu Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro Gly Arg Ala Met Ser Phe
 1010 1015 1020

gtg tgt aag aaa gat gac ctt gac tct ccc aag gta ctg ggt tac cct 3119
 Val Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro Lys Val Leu Gly Tyr Pro
 1025 1030 1035

agc aag cca att ggt ctc ttc ata aag cgg tca atc atc ttc cgc tca 3167
 Ser Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg Ser Ile Ile Phe Arg Ser
 1040 1045 1050 1055

gac tct aat ggt gag gat ctg gaa ggt tac gct gga gca ggg ctg tat 3215
 Asp Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr Ala Gly Ala Gly Leu Tyr
 1060 1065 1070

gat agt gtc cct atg gat gtg gaa gat gaa gtt gta ctc gac tac acg 3263
 Asp Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu Val Val Leu Asp Tyr Thr
 1075 1080 1085

acc gac cct ctc atc act gac tct gga ttc cgg aac tca atc ctc tca 3311
 Thr Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe Arg Asn Ser Ile Leu Ser
 1090 1095 1100

agc att gca cgg gct ggc cac gcc atc gag gag ctc tat ggg tca cca 3359
 Ser Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu Glu Leu Tyr Gly Ser Pro
 1105 1110 1115

cag gat gtt gag gga gta gtg aag gat ggg aag atc tac gta gtc cag 3407
 Gln Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly Lys Ile Tyr Val Val Gln
 1120 1125 1130 1135

aca tac cac aga tgt aat atg tat gta tac gcg gct caa gtt gta gag 3455
 Thr Tyr His Arg Cys Asn Met Tyr Val Tyr Ala Ala Gln Val Val Glu
 1140 1145 1150

tag taggatatat ggtccttgct ggcatgtata gttgtactca taggtgcaca 3508

acacatctac gttgttattt atttgcatat acgctcagaa taagctttga tcacatactg 3568

tatttcctag agtaccagaa agtgtatgta cgatcaggaa tatgacctta ttaaaacct 3628

tgaggggaaa tgttttgact tttgagcaat ctaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3678

<210> 10

<211> 1152

<212> PRT

<213> 普通小麦

<400> 10

Gly Arg Arg Lys Glu Leu Gln Ala Glu Leu Asp Asn Gly Ala Ser Val
 1 5 10 15

Asp Gln Leu Arg Lys Lys Ile Val Lys Gly Asn Leu Glu Lys Lys Val
 20 25 30

Ser Lys Gln Leu Glu Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Val Glu Arg Ile Gln
 35 40 45

Arg Arg Asn Arg Asp Ile Thr Gln Leu Leu Asn Lys His Lys Pro Val
 50 55 60

Val Thr Glu Gln Gln Val Lys Ala Ala Pro Lys Gln Pro Thr Val Leu
 65 70 75 80
 Asp Leu Phe Thr Lys Ser Leu Gln Glu Gly Asp Asn Cys Asp Val Leu
 85 90 95
 Ser Arg Lys Leu Phe Lys Ile Gly Asp Glu Glu Ile Leu Ala Ile Ala
 100 105 110
 Thr Asn Ala Leu Gly Lys Thr Arg Val His Leu Ala Thr Asn Arg Met
 115 120 125
 Glu Pro Leu Ile Leu His Trp Ala Leu Ala Lys Asn Pro Gly Glu Trp
 130 135 140
 Glu Ala Pro Pro Ser Ser Ile Val Pro Ser Gly Ser Thr Val Leu Asp
 145 150 155 160
 Lys Ala Cys Glu Thr Ser Phe Gly Glu Ser Glu Leu Asp Gly Leu Gln
 165 170 175
 Tyr Gln Val Val Glu Ile Glu Leu Asp Asp Gly Arg Tyr Lys Gly Met
 180 185 190
 Pro Phe Val Leu Arg Arg Gly Glu Thr Trp Ile Lys Asn Asn Asp Ser
 195 200 205
 Asp Phe Tyr Leu Asp Phe Asn Thr Lys Val Thr Lys Lys Ser Lys Asp
 210 215 220
 Thr Gly Asp Ala Gly Lys Gly Thr Ala Lys Asp Phe Leu Glu Arg Ile
 225 230 235 240
 Ala Asp Leu Glu Glu Asp Ala Gln Arg Ser Phe Met His Arg Phe Asn
 245 250 255
 Ile Ala Ala Asp Leu Val Asp Gln Ala Arg Asp Ala Gly Leu Leu Gly
 260 265 270
 Ile Val Gly Leu Phe Val Trp Ile Arg Phe Met Ser Thr Arg Gln Leu
 275 280 285
 Ile Trp Asn Lys Asn Tyr Asn Val Lys Pro Arg Glu Ile Ser Gln Ala
 290 295 300
 Gln Asp Arg Phe Thr Asp Asp Leu Glu Asn Met Tyr Lys Ser Tyr Pro
 305 310 315 320
 Gln Tyr Arg Glu Ile Leu Arg Met Leu Leu Ser Ala Val Gly Arg Gly
 325 330 335
 Gly Glu Gly Asp Val Gly Gln Arg Ile Arg Asp Glu Ile Leu Val Ile
 340 345 350
 Gln Arg Asn Asn Asp Cys Lys Gly Gly Ile Met Glu Glu Trp His Gln
 355 360 365
 Lys Leu His Asn Asn Thr Ser Pro Asp Asp Val Val Ile Cys Gln Ala
 370 375 380
 Ile Ile Asp Tyr Ile Lys Ser Asp Phe Asp Ile Asn Val Tyr Trp Asp
 385 390 395 400

Thr Leu Asn Lys Asn Gly Ile Thr Lys Glu Arg Leu Leu Ser Tyr Asp
 405 410 415
 Arg Ala Ile His Ser Glu Pro Lys Phe Arg Ser Asp Gln Lys Glu Gly
 420 425 430
 Leu Leu Arg Asp Leu Gly Asn Tyr Met Arg Ser Leu Lys Ala Val His
 435 440 445
 Ser Gly Ala Asp Leu Glu Ser Ala Ile Ala Thr Cys Met Gly Tyr Lys
 450 455 460
 Ser Glu Gly Glu Gly Phe Met Val Gly Val Gln Ile Asn Pro Val Asn
 465 470 475 480
 Gly Leu Ser Ser Gly Phe Pro Asp Leu Leu Gln Phe Val Leu Asp His
 485 490 495
 Val Glu Asp Lys Ser Ala Glu Pro Leu Leu Glu Gly Leu Leu Glu Ala
 500 505 510
 Arg Val Glu Leu Arg Pro Leu Leu Thr Gly Ser Ser Glu Arg Leu Lys
 515 520 525
 Asp Leu Ile Phe Leu Asp Ile Ala Leu Asp Ser Thr Phe Arg Thr Ala
 530 535 540
 Val Glu Arg Ser Tyr Glu Glu Leu Asn Asp Ala Ala Pro Glu Lys Ile
 545 550 555 560
 Met Tyr Phe Ile Ser Leu Val Leu Glu Asn Leu Ala Leu Ser Thr Asp
 565 570 575
 Asp Asn Glu Asp Ile Leu Tyr Cys Leu Lys Gly Trp Asn Arg Ala Met
 580 585 590
 Asp Met Val Lys Gln Lys Asp Asp Gln Trp Ala Leu Tyr Ala Lys Ala
 595 600 605
 Phe Leu Asp Arg Thr Arg Leu Ala Leu Ala Ser Lys Gly Glu Gln Tyr
 610 615 620
 Tyr Asn Met Met Gln Pro Ser Ala Glu Tyr Leu Gly Ser Leu Leu Asn
 625 630 635 640
 Val Glu Glu Trp Ala Val Asp Ile Phe Thr Glu Glu Val Ile Arg Gly
 645 650 655
 Gly Ser Ala Ala Thr Leu Ser Ala Leu Leu Asn Arg Phe Asp Pro Val
 660 665 670
 Leu Arg Asn Val Ala His Leu Gly Ser Trp Gln Val Ile Ser Pro Val
 675 680 685
 Glu Val Thr Gly Tyr Ile Val Val Val Asp Lys Leu Leu Ser Val Gln
 690 695 700
 Asn Lys Thr Tyr Asp Lys Pro Thr Ile Leu Val Ala Lys Ser Val Lys
 705 710 715 720
 Gly Glu Glu Glu Ile Pro Asp Gly Val Val Gly Val Ile Thr Pro Asp
 725 730 735

Met Pro Asp Val Leu Ser His Val Ser Val Arg Ala Arg Asn Cys Lys
 740 745 750
 Val Leu Phe Ala Thr Cys Phe Asp Pro Asn Thr Leu Ser Glu Phe Gln
 755 760 765
 Gly His Glu Gly Lys Val Phe Ser Phe Lys Thr Thr Ser Ala Asp Val
 770 775 780
 Thr Tyr Arg Glu Val Ser Asp Ser Glu Leu Met Gln Ser Ser Ser Ser
 785 790 795 800
 Asp Ala Gln Gly Gly Glu Ala Ile Pro Ser Leu Ser Leu Val Lys Lys
 805 810 815
 Lys Phe Leu Gly Lys Tyr Ala Ile Ser Ala Glu Glu Phe Ser Asp Glu
 820 825 830
 Met Val Gly Ala Lys Ser Arg Asn Ile Ala Tyr Leu Lys Gly Lys Val
 835 840 845
 Pro Ser Trp Val Gly Ile Pro Thr Ser Val Ala Ile Pro Phe Gly Thr
 850 855 860
 Phe Glu Lys Ile Leu Ser Asp Glu Thr Asn Lys Glu Val Ala Gln Asn
 865 870 875 880
 Ile Gln Met Leu Lys Gly Arg Leu Ala Gln Glu Asp Phe Ser Ala Leu
 885 890 895
 Gly Glu Ile Arg Lys Thr Val Leu Asn Leu Thr Ala Pro Thr Gln Pro
 900 905 910
 Val Lys Glu Leu Lys Glu Lys Met Leu Ser Ser Gly Met Pro Trp Pro
 915 920 925
 Gly Asp Glu Ser Asp His Arg Trp Glu Gln Ala Trp Met Ala Ile Lys
 930 935 940
 Lys Val Trp Ala Ser Lys Trp Asn Glu Arg Ala Tyr Phe Ser Thr Arg
 945 950 955 960
 Lys Val Lys Leu Asp His Glu Tyr Leu Ser Met Ala Val Leu Val Gln
 965 970 975
 Glu Ile Val Asn Ala Asp Tyr Ala Phe Val Ile His Thr Thr Asn Pro
 980 985 990
 Ser Ser Gly Asp Ser Ser Glu Ile Tyr Ala Glu Val Val Lys Gly Leu
 995 1000 1005
 Gly Glu Thr Leu Val Gly Ala Tyr Pro Gly Arg Ala Met Ser Phe Val
 1010 1015 1020
 Cys Lys Lys Asp Asp Leu Asp Ser Pro Lys Val Leu Gly Tyr Pro Ser
 025 1030 1035 1040
 Lys Pro Ile Gly Leu Phe Ile Lys Arg Ser Ile Ile Phe Arg Ser Asp
 1045 1050 1055
 Ser Asn Gly Glu Asp Leu Glu Gly Tyr Ala Gly Ala Gly Leu Tyr Asp
 1060 1065 1070

Ser Val Pro Met Asp Val Glu Asp Glu Val Val Leu Asp Tyr Thr Thr
1075 1080 1085

Asp Pro Leu Ile Thr Asp Ser Gly Phe Arg Asn Ser Ile Leu Ser Ser
1090 1095 1100

Ile Ala Arg Ala Gly His Ala Ile Glu Glu Leu Tyr Gly Ser Pro Gln
105 1110 1115 1120

Asp Val Glu Gly Val Val Lys Asp Gly Lys Ile Tyr Val Val Gln Thr
1125 1130 1135

Tyr His Arg Cys Asn Met Tyr Val Tyr Ala Ala Gln Val Val Glu
1140 1145 1150