

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

(21)(22) Заявка: 2016113339, 08.09.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
10.09.2013 US 61/875,845

(43) Дата публикации заявки: 16.10.2017 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 11.04.2016(86) Заявка РСТ:
US 2014/054538 (08.09.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/038470 (19.03.2015)

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):

ТАН Сунсюэ (US),
ЧЖАО Цзяньвэй (CA)(54) **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНА RLM4 РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЧЕРНОЙ НОЖКЕ BRASSICA NAPUS И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Способ идентификации первого растения канолы или генетического материала, обладающих резистентностью к черной ножке, где способ включает: детекцию в первом растении канолы или генетическом материале по меньшей мере одного маркера, сцепленного с резистентностью к черной ножке, где по меньшей мере один маркер выбран из группы, состоящей из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787, DBSNP01590, и маркера, сцепленного по меньшей мере с одним из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 или DBSNP01590

2. Способ по п.1, где способ включает детекцию в первом растении канолы или генетическом материале маркера, сцепленного по меньшей мере с одним из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 и DBSNP01590.

3. Способ по п.2, где детектируемый маркер отражает частоту генетической рекомбинации, равную менее приблизительно 10%, по меньшей мере с одним из маркеров DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 и DBSNP01590.

4. Способ по п.1, где детектируемый маркер выбран из группы, состоящей из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 и DBSNP01590.

5. Способ по п.1, где генетический материал является линией канолы или сортом канолы.

6. Способ по п.1, где детекция включает детекцию по меньшей мере одной аллельной формы однонуклеотидного полиморфизма (SNP).

7. Способ по п.1, где детекция включает амплификацию маркера или части маркера с получением амплифицированного маркерного ампликона, и детекцию полученного амплифицированного маркерного ампликона.

8. Способ по п.7, где амплификация включает:
смешивание праймера амплификации или пары праймеров амплификации с нуклеиновой кислотой, выделенной из первого растения канолы или генетического материала, где праймер или пара праймеров комплементарны или частично комплементарны по меньшей мере части маркера и способны инициировать полимеризацию ДНК с помощью ДНК-полимеразы, используя нуклеиновую кислоты канолы в качестве матрицы; и

удлинение праймера или пары праймеров в реакции полимеризации ДНК, включающей ДНК-полимеразу и матрицу нуклеиновой кислоты, с получением по меньшей мере одного ампликона.

9. Способ по п.7, где амплификация включает использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) или лигазной цепной реакции (LCR), используя нуклеиновую кислоту, выделенную из первого растения канолы или генетического материала в качестве матрицы в ПЦР или LCR.

10. Способ получения растения канолы или генетического материала, с интрогрессией, где способ включает: интрогрессию по меньшей мере одного маркерного аллеля, который положительно коррелирован с резистентностью к черной ножке из первого растения канолы или генетического материала во второе растение канолы или генетический материал, с получением растения канолы или генетического материала с интрогрессией, где по меньшей мере один маркер выбран из группы, состоящей из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787, DBSNP01590, и маркера, сцепленного по меньшей мере с одним из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 или DBSNP01590.

11. Способ по п.10, где второе растение канолы или генетический материал проявляют резистентность к черной ножке по сравнению с первым растением канолы или генетическим материалом, и где растение канолы или генетический материал с интрогрессией проявляет повышенную резистентность к болезни черная ножка по

сравнению со вторым растением или генетическим материалом.

12. Растение канолы или генетический материал с интрогрессией, полученные способом по п.10.

13. Способ по п.10, где второе растение канолы или генетический материал являются растением или генетическим материалом элитного сорта канолы или экзотического сорта канолы.

14. Способ по п.2, где детектированный маркер определяют с использованием картирования популяции Nex845CL/NT152344//Nex845CL.

15. Способ по п.1, включающий скрещивание выбранного первого растения канолы или генетического материала со вторым растением канолы или генетическим материалом.

16. Способ по п.15, где второе растение канолы или генетический материал являются растением или генетическим материалом элитного сорта канолы или экзотического сорта канолы.

17. Способ получения трансгенного растения с фенотипом резистентности к черной ножке, где способ включает: введение одного или более экзогенных нуклеиновых кислот в мишеневое растение с получением трансгенного растения, где по меньшей мере одна из одной или более экзогенных нуклеиновых кислот содержит эндогенную нуклеотидную последовательность из растения канолы, которая сцеплена в растении канолы по меньшей мере с одним маркером, выбранным из группы, состоящей из DBSNP10503, DBSNP10504, DBSNP31606, DBSNP30220, DBSNP01654, DBSNP01910, DBSNP05704, DBSNP05705 DBSNP28066, DBSNP27644, DBSNP28099, DBSNP33158, DBSNP14607, DBSNP04906, DBSNP07219, DBSNP08872, DBSNP08485, DBSNP00547, DBSNP08169, DBSNP00787 и DBSNP01590, где полученное трансгенное растение проявляет резистентность к черной ножке.

18. Способ по п.17, в котором мишеневое растение представляет собой растение канолы.

19. Способ по п.17, где эндогенная нуклеотидная последовательность из растения канолы сцеплена в растении канолы с по меньшей мере одним маркером, так, что эндогенная нуклеотидная последовательность проявляет частоту генетической рекомбинации, равную не более приблизительно 10% вместе по меньшей мере с одним маркером.

20. Способ по п.17, где экзогенная нуклеиновая кислота соответствует открытой рамке считывания (ORF), которая кодирует полипептид, который, при экспрессии в растении канолы дает растение канолы с резистентностью к черной ножке.