

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

(21)(22) Заявка: 2018109099, 17.08.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
20.08.2015 US 62/207,685

(43) Дата публикации заявки: 23.09.2019 Бюл. № 27

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 20.03.2018(86) Заявка РСТ:
US 2016/047355 (17.08.2016)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/031211 (23.02.2017)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спаская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ДАУ АГРОСАЙЕНСИЗ ЭлЭлСи (US)

(72) Автор(ы):

ЛИРА Джастин М. (US),
ЧИККИЛЛО Роберт (US),
ЙЕРКС Карла Н. (US),
РОБИНСОН Эндрю Э. (US)(54) **ТРАНЗИТНЫЕ ПЕПТИДЫ ХЛОРОПЛАСТОВ**

(57) Формула изобретения

1. Химерная молекула нуклеиновой кислоты, содержащая: нуклеотидную последовательность, кодирующую пептид длиной менее 73 аминокислот, где пептид является по меньшей мере на 80% идентичным одной из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 6, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес.

2. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид является по меньшей мере на 95% идентичным SEQ ID NO: 1.

3. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид является по меньшей мере на 95% идентичным SEQ ID NO: 2.

4. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид является по меньшей мере на 95% идентичным SEQ ID NO: 6.

5. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид представляет собой SEQ ID NO: 1.

6. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид представляет собой SEQ ID NO: 2.

7. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где пептид представляет собой SEQ ID NO: 6.

8. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где кодирующая нуклеотидная последовательность, представляющая интерес, представляет собой кодирующую

последовательность *dsm-2*, кодирующую последовательность *dgt-28*, кодирующую последовательность гена Vt-токсина, кодирующую последовательность *yfp* или кодирующую последовательность *gfp*.

9. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где нуклеотидная последовательность, кодирующая пептид, способна к специфичной гибридизации с одной из SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 14.

10. Химерная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, где нуклеотидная последовательность функционально связана с одной или более регуляторными последовательностями.

11. Полипептид, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты по п. 1.

12. Полипептид по п. 11, где полипептид нацеливается на пластиду в клетке, содержащей пластиды.

13. Полипептид по п. 12, где полипептид содержит транзитный пептид хлоропластов, удаляемый после нацеливания полипептида на пластиду.

14. Полипептид по п. 13, где полипептид содержит пептид, нацеливаемый на хлоропласт, который сохраняется после удаления транзитного пептида хлоропластов, где пептид, нацеливаемый на хлоропласт, кодируется кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес.

15. Полипептид по п. 11, где кодирующая нуклеотидная последовательность, представляющая интерес, кодирует биологически активный пептид.

16. Полипептид по п. 11, где кодирующая нуклеотидная последовательность, представляющая интерес, кодирует флуоресцентный пептид.

17. Полипептид по п. 15, где биологически активный пептид представляет собой фермент.

18. Полипептид по п. 15, где биологически активный пептид в обычных условиях экспрессируется в пластиде клетки, в которой пептид экспрессируется в нативном состоянии.

19. Полипептид по п. 15, где биологически активный пептид участвует в процессе, выбранном из группы, состоящей из обеспечения устойчивости к гербицидам, устойчивости к вирусам, устойчивости к бактериальным патогенам, устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к грибам, мощности растений, урожайности растений, выносливости к воздействию температуры, выносливости к почвенным условиям, выносливости к низкому уровню освещенности, выносливости к низкому уровню обводненности, выносливости к высокому уровню обводненности, выносливости к химическим факторам окружающей среды, цвета семян, модификации крахмала, синтеза аминокислот, фотосинтеза, синтеза жирных кислот, синтеза масел, синтеза каротиноидов, синтеза терпеноидов, синтеза крахмала и устойчивости к гербицидам.

20. Полипептид по п. 15, где биологически активный пептид выбран из группы, состоящей из зеаксантинэпоксидазы, холинмонооксигеназы, феррохелатазы, десатуразы омега-3-жирных кислот, глутаминсинтетазы, провитамина А, гормонов, белковых Vt-токсинов и маркеров, применимых в идентификации растений, содержащих признак, представляющий интерес.

21. Полипептид по п. 19, где биологически активный пептид участвует в обеспечении устойчивости к гербицидам.

22. Полипептид по п. 21, где биологически активный пептид выбран из группы, состоящей из ацетолактатсинтазы (ALS), мутантной ALS, предшественников ALS, 3-енолпирувилшикимат-5-фосфатсинтазы (EPSPS), EPSPS DGT-28, EPSPS CP4, EPSPS класса IV и EPSPS класса III.

23. Полипептид по п. 19, где биологически активный пептид участвует в обеспечении

устойчивости к насекомым.

24. Вектор экспрессии у растений, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 10.

25. Растительный материал, содержащий химерную молекулу нуклеиновой кислоты по п. 1.

26. Растительный материал по п. 25, где растительный материал выбран из группы, состоящей из растительной клетки, растительной ткани, культуры растительных тканей, каллюсной культуры, части растения и целого растения.

27. Растительный материал по п. 26, дополнительно содержащий полипептид, содержащий пептид.

28. Растительный материал по п. 27, где кодирующая нуклеотидная последовательность, представляющая интерес, кодирует часть полипептида, нацеливаемого на пластиду клетки в растительном материале.

29. Растительный материал по п. 25, где молекула нуклеиновой кислоты стабильно интегрирована в геном клетки в растительном материале.

30. Растительный материал по п. 25, где растительный материал представляет собой целое растение.

31. Растительный материал по п. 25, где растительный материал получен из растения, выбранного из группы, состоящей из *Arabidopsis*, люцерны, *Brassica*, разновидностей фасоли, брокколи, кочанной капусты, моркови, цветной капусты, сельдерея, пекинской капусты, хлопчатника, огурца, баклажана, салата-латука, дыни, гороха, перца, арахиса, картофеля, тыквы, редьки, рапса, шпината, сои, тыквы крупноплодной, сахарной свеклы, подсолнечника, табака, томата, арбуза, кукурузы, лука репчатого, риса, сорго, пшеницы, ржи, проса культурного, сахарного тростника, овса, тритикале, проса прутьевидного и газонной травы.

32. Способ получения трансгенного растительного материала, при этом способ включает:

получение химерной молекулы нуклеиновой кислоты по п. 1 и трансформацию растительного материала молекулой нуклеиновой кислоты.

33. Способ по п. 32, где растительный материал выбран из группы, состоящей из растительной клетки, растительной ткани, культуры растительных тканей, каллюсной культуры, части растения и целого растения.

34. Способ по п. 33, где растительный материал не является целым растением.

35. Трансгенный растительный материал, полученный с помощью способа по п. 32.

36. Трансгенный растительный материал, полученный с помощью способа по п. 34.

37. Трансгенное растение, регенерированное из растительного материала по п. 36.

38. Товарный продукт трансгенного растения, полученный из растительного материала по п. 35.

39. Трансгенный растительный материал по п. 35, где кодирующая нуклеотидная последовательность, представляющая интерес, кодирует биологически активный пептид.

40. Трансгенный растительный материал по п. 39, где биологически активный пептид участвует в процессе, выбранном из группы, состоящей из обеспечения устойчивости к гербицидам, устойчивости к вирусам, устойчивости к бактериальным патогенам, устойчивости к насекомым, устойчивости к нематодам, устойчивости к грибам, мощности растений, урожайности растений, выносливости к воздействию температуры, выносливости к почвенным условиям, выносливости к низкому уровню освещенности, выносливости к низкому уровню обводненности, выносливости к высокому уровню обводненности, выносливости к химическим факторам окружающей среды, цвета семян, модификации крахмала, синтеза аминокислот, фотосинтеза, синтеза жирных кислот, синтеза масел, синтеза каротиноидов, синтеза терпеноидов, синтеза крахмала и

устойчивости к гербицидам.

41. Трансгенный растительный материал по п. 39, где биологически активный пептид выбран из группы, состоящей из зеаксантинооксидазы, холинмонооксигеназы, феррохелатазы, десатуразы омега-3-жирных кислот, глутаминсинтетазы, провитамина А, гормонов, белковых Vt-токсинов и маркеров, применимых в идентификации растений, содержащих признак, представляющий интерес.

42. Трансгенный растительный материал по п. 40, где биологически активный пептид участвует в обеспечении устойчивости к гербицидам.

43. Трансгенный растительный материал по п. 42, где биологически активный пептид выбран из группы, состоящей из ацетолактатсинтазы (ALS), мутантной ALS, предшественников ALS, 3-енолпирувилшикимат-5-фосфатсинтазы (EPSPS), EPSPS CP4 и EPSPS класса III.

44. Трансгенный растительный материал по п. 42, где растительный материал демонстрирует повышенную устойчивость к гербицидам или выносливость к гербицидам по сравнению с растительным материалом дикого типа из того же вида.

45. Трансгенный растительный материал по п. 40, где биологически активный пептид участвует в обеспечении устойчивости к гербицидам.

46. Растительный материал по п. 26, где растительный материал представляет собой растительную клетку, неспособную к образованию растения путем регенерации.

47. Способ по п. 32, где растительный материал представляет собой растительную клетку, неспособную к образованию растения путем регенерации.

48. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 9, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно заключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к насекомым.

49. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 9, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно заключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к гербицидам.

50. Применение по п. 48 или 49, характеризующееся тем, что указанное трансгенное семя растения получено из растения, выбранного из группы, состоящей из маиса, сои и хлопчатника.

51. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 10, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно заключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к насекомым.

52. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 10, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно заключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к гербицидам.

53. Применение по п. 51 или 52, характеризующееся тем, что указанное трансгенное семя растения получено из растения, выбранного из группы, состоящей из маиса, сои и хлопчатника.

54. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 14, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно заключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к насекомым.

55. Применение трансгенного семени растения, содержащего SEQ ID NO: 14, функционально связанную внутри рамки считывания с кодирующей нуклеотидной последовательностью, представляющей интерес, характеризующееся тем, что оно

закключается в засаживании поля растениями, устойчивыми к гербицидам.

56. Применение по п. 54 или 55, характеризующееся тем, что указанное трансгенное семя растения получено из растения, выбранного из группы, состоящей из маиса, сои и хлопчатника.

RU 2018109099 A

RU 2018109099 A