

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2016130967, 31.12.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
31.12.2013 US 61/922,526

(43) Дата публикации заявки: 06.02.2018 Бюл. № 04

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 01.08.2016(86) Заявка РСТ:
US 2014/072919 (31.12.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/103353 (09.07.2015)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"(71) Заявитель(и):
ДАУ АГРОСАЙЕНСИЗ ЭлЭлСи (US)(72) Автор(ы):
КУМАР Сандип (US),
ГУПТА Манджу (US),
РАЙТ Терри Р. (US),
ДЖЭЙН Сьюзан М. (US),
СМИТ Дуг А. (US),
АЛАБЕД Диаа (US)

(54) НОВЫЕ ПРОМОТОРЫ ГЕНА УБИКВИТИНА КУКУРУЗЫ

(57) Формула изобретения

1. Генная экспрессионная кассета, содержащая промотор, функционально связанный с трансгеном, отличающаяся тем, что промотор содержит полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2.

2. Генная экспрессионная кассета по п. 1, отличающаяся тем, что промотор гибридизуется в строгих условиях с полинуклеотидным зондом, имеющим по меньшей мере 90% идентичности последовательности с комплементом SEQ ID NO: 2.

3. Генная экспрессионная кассета по п. 1, отличающаяся тем, что функционально связанный трансген кодирует полипептид или малую РНК.

4. Генная экспрессионная кассета по п. 1, отличающаяся тем, что трансген выбран из группы, состоящей из трансгена устойчивости к инсектициду, трансгена толерантности к гербициду, трансгена эффективного использования азота, трансгена эффективного использования воды, трансгена, добавляющего питательную ценность, ДНК-связывающего трансгена и трансгена селективного маркера.

5. Генная экспрессионная кассета по п. 1, дополнительно содержащая 3'-нетранслируемую область.

6. Рекомбинантный вектор, содержащий генную экспрессионную кассету по п. 1.

7. Рекомбинантный вектор по п. 6, выбранный из группы, состоящей из плазмида, космиды, бактериальной искусственной хромосомы, вируса и бактериофага.

8. Трансгенная клетка, содержащая генную экспрессионную кассету по п. 1.

A
RU 2016130967 A

R U 2 0 1 6 1 3 0 9 6 7 A

9. Трансгенная клетка по п. 8, представляющая собой трансгенную клетку растения.
10. Трансгенное растение, содержащее трансгенную клетку растения по п. 9.
11. Трансгенное растение по п. 10, представляющее собой однодольное или двудольное растение.
12. Трансгенное растение по п. 11 где однодольное растение выбирают из группы, состоящей из растения кукурузы, растения риса и растения пшеницы.
13. Трансгенное семя от трансгенного растения по п. 10.
14. Трансгенная клетка, содержащая синтетический полинуклеотид, имеющий по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2.
15. Трансгенная клетка по п. 14, отличающаяся тем, что синтетический полинуклеотид гибридизуется в строгих условиях с полинуклеотидным зондом, имеющим по меньшей мере 90% идентичности последовательности с комплементом SEQ ID NO: 2.
16. Трансгенная клетка по п. 14, представляющая собой трансгенную клетку растения.
17. Трансгенная клетка по п. 16, полученная методом трансформации растений.
18. Трансгенная клетка по п. 17, отличающаяся тем, что метод трансформации растений выбран из группы, состоящей из метода опосредованной *Agrobacterium* трансформации, метода биолистической трансформации, метода перемешивания с волокнами из карбида кремния, метода трансформации протопластов и метода трансформации с помощью липосом.
19. Трансгенное растение, содержащее трансгенную клетку растения по п. 14.
20. Трансгенное растение по п. 19, представляющее собой однодольное растение.
21. Трансгенное растение по п. 20, где однодольное растение выбирают из группы, состоящей из растения кукурузы, растения риса и растения пшеницы.
22. Трансгенное семя от трансгенного растения по п. 21.
23. Рекомбинантный вектор, содержащий генную экспрессионную кассету по п. 14.
24. Рекомбинантный вектор по п. 23, выбранный из группы, состоящей из плазиды, космиды, бактериальной искусственной хромосомы, вируса и бактериофага.
25. Способ экспрессии гетерологичной кодирующей последовательности в трансгенном растении, включающий:
 - а) трансформирование клетки растения генной экспрессионной кассетой, содержащей полинуклеотидную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 2, функционально связанную с гетерологичной кодирующей последовательностью, которая функционально связана с 3'-нетранслируемой областью;
 - б) выделение трансформированной клетки растения, содержащей генную экспрессионную кассету;
 - в) регенерацию трансформированной клетки растения в трансгенное растение; и
 - г) получение трансгенного растения, которое содержит генную экспрессионную кассету, содержащую полинуклеотидную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 2.
26. Способ по п. 25, отличающийся тем, что гетерологичную кодирующую последовательность выбирают из группы, состоящей из кодирующей последовательности устойчивости к инсектициду, кодирующей последовательности толерантности к гербициду, кодирующей последовательности эффективного использования азота, кодирующей последовательности эффективного использования воды, кодирующей последовательности, добавляющий питательную ценность, ДНК-связывающей кодирующей последовательности и кодирующей последовательности селективного маркера.
27. Способ по п. 25, отличающийся тем, что трансформацию клетки растения выполняют методом трансформации растений.
28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что метод трансформации растений выбирают

из группы, состоящей из метода опосредованной *Agrobacterium* трансформации, метода биолистической трансформации, метода перемешивания с волокнами из карбида кремния, метода трансформации протопластов и метода трансформации с помощью липосом.

29. Способ по п. 25, отличающийся тем, что трансгенное растение представляет собой однодольное или двудольное трансгенное растение.

30. Способ по п. 29, отличающийся тем, что однодольное трансгенное растение выбирают из группы, состоящей из растения кукурузы, растения пшеницы и растения риса.

31. Трансгенное семя от трансгенного растения по п. 25.

32. Способ по п. 25, отличающийся тем, что гетерологичная кодирующая последовательность экспрессируется в трансгенной ткани растения.

33. Способ по п. 25, отличающийся тем, что трансгенная ткань растения представляет собой трансгенную ткань корня, побега, стебля или пыльцы растения.

34. Способ выделения полинуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2, включающий:

а) идентификацию полинуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID;

б) получение множества последовательностей олигонуклеотидных праймеров, при этом последовательности олигонуклеотидных праймеров связываются с полинуклеотидной последовательностью, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID;

в) амплификацию полинуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID, из образца ДНК с помощью последовательностей олигонуклеотидных праймеров, выбранных из множества последовательностей олигонуклеотидных праймеров; и

г) выделение полинуклеотидной последовательности, имеющей по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID.

35. Способ по п. 34, отличающийся тем, что выделенная полинуклеотидная последовательность, имеющая по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2, функционально связана с трансгеном.

36. Способ по п. 35, отличающийся тем, что функционально связанный трансген кодирует полипептид или малую РНК.

37. Очищенная полинуклеотидная последовательность, имеющая по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2, стимулирующая экспрессию трансгена.

38. Очищенная полинуклеотидная последовательность по п. 37, отличающаяся тем, что полинуклеотидная последовательность зонда, имеющая по меньшей мере 90% идентичности последовательности с комплементом SEQ ID NO: 2, гибридизуется в строгих условиях с очищенной полинуклеотидной последовательностью по п. 37.

39. Очищенная полинуклеотидная последовательность по п. 37, функционально связанная с трансгеном.

40. Функционально связанный трансген по п. 39, кодирующий полипептид.

41. Генная экспрессионная кассета, содержащая очищенную полинуклеотидную последовательность, функционально связанную с трансгеном по п. 37, который функционально связан с 3'-нетранслируемой областью.

42. Генная экспрессионная кассета по п. 41, отличающаяся тем, что трансген выбирают из группы, состоящей из трансгена устойчивости к инсектициду, трансгена толерантности к гербициду, трансгена эффективного использования азота, трансгена эффективного использования воды, трансгена, добавляющего питательную ценность,

ДНК-связывающего трансгена и трансгена селективного маркера.

43. Рекомбинантный вектор, содержащий генную экспрессионную кассету по п. 41.

44. Рекомбинантный вектор по п. 43, выбранный из группы, состоящей из плазмидного вектора, космидного вектора и БИХ-вектора.

45. Трансгенная клетка, содержащая очищенную полинуклеотидную последовательность по п. 37.

46. Трансгенная клетка по п. 45, представляющая собой трансгенную клетку растения.

47. Трансгенное растение, содержащее трансгенную клетку растения по п. 46.

48. Трансгенное растение по п. 47, представляющее собой однодольное растение.

49. Трансгенное растение по п. 48 где однодольное трансгенное растение выбирают из группы, состоящей из растения кукурузы, растения пшеницы и растения риса.

50. Трансгенное семя от трансгенного растения по п. 49.