



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 104837335 B

(45)授权公告日 2018.06.05

(21)申请号 201380049952.6

(22)申请日 2013.08.22

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104837335 A

(43)申请公布日 2015.08.12

(30)优先权数据
2012903673 2012.08.24 AU

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.03.25

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/AU2013/000942 2013.08.22

(87)PCT国际申请的公布数据
W02014/028980 EN 2014.02.27

(73)专利权人 联邦科学和工业研究组织
地址 澳大利亚澳大利亚首都地区
专利权人 谷物研究开发公司

(72)发明人 彼得·迈克尔·钱德勒
卡罗尔·安妮·哈丁

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郑斌 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.
A01H 5/00(2018.01)
C12N 15/29(2006.01)

(56)对比文件
Aixia Li等.Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, Rht-B1e, and development of an allele-specific PCR marker.《Mol Breeding》.2012, 第30卷(第3期),第1443页摘要,第1446至1447页表1.

Jing Wu等.Dominant and Pleiotropic Effects of a GAI Gene in Wheat Results from a Lack of Interaction between DELLA and GID1.《Plant Physiology》.2011,第157卷(第4期),2120-2130.

审查员 宋增锋

权利要求书5页 说明书41页
序列表36页 附图10页

(54)发明名称

具有新Rht-B1等位基因的小麦

(57)摘要

本发明提供了小麦植物,其包含编码Rht-B1 (DELLA)多肽的Rht-B1等位基因。对来自包含Rht-B1矮化等位基因的近等基因小麦品系的谷粒进行叠氮化钠诱变。选择与矮化亲本相比表现出更高的早期叶伸长速率或成熟植株高度的植物并对Rht-B1基因进行测序。这样鉴定出35个突变的Rht-B1c等位基因。利用类似的方法鉴定大麦中sln1d矮化等位基因的突变等位基因,其中DELLA由sln1基因编码。

1. 一种生产小麦谷粒的方法,其包括(i)种植小麦植物,和(ii)从所述植物收获谷粒,其中所述小麦植物包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,

其中当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。

2. 权利要求1所述的方法,其中所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增强的能育性和/或产生增加的谷粒产量。

3. 权利要求2所述的方法,其中所述谷粒产量与Rht-B1b等位基因纯合的小麦植物相同或者比其更高。

4. 权利要求1所述的方法,其中所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的胚芽鞘长度,并且其中所述胚芽鞘长度为Rht-B1a等位基因纯合小麦植物之胚芽鞘长度的80%至100%。

5. 权利要求1所述的方法,其中所述谷粒与从Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物获得之谷粒相比休眠增加。

6. 权利要求1所述的方法,其中所述Rht-B1多肽C端结构域中的氨基酸替换是参照SEQ ID NO:5的氨基酸G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488或C240的替换。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。

8. 权利要求1所述的方法,其中所述Rht-B1等位基因包含相对于SEQ ID NO:1的序列变化,其中所述序列变化选自G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A和G3671A。

9. 权利要求1所述的方法,其中所述小麦植物对所述Rht-B1等位基因是纯合的。

10. 权利要求1所述的方法,其中所述小麦植物具有小麦品种Maringa以外的遗传背景。

11. 权利要求1所述的方法,所述方法包括在田间作为至少1000株此类植物的群体的一部分或者在至少1公顷的区域中以标准种植密度种植所述小麦植物。

12. 用于产生小麦谷粒仓的方法,所述方法包括a)收割小麦植物的地上部分,b)脱粒和/或簸扬所述小麦植物部分以使谷粒与所述植物部分的其余部分分离,以及c)筛分和/或分选步骤b)中所分离的谷粒,并将经筛分和/或分选的谷粒装入仓中,由此产生谷粒仓,其中所述小麦植物包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5

的49和50位氨基酸之间插入氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14), 和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换, 其中当植物在相同条件下生长时, 所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。

13. 小麦谷粒, 其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因, 所述多肽包含N端结构域和C端结构域, 其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸, 并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14), 和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换, 其中所述小麦谷粒获得自小麦植物, 当植物在相同条件下生长时, 所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度, 并且其中所述小麦谷粒经过了加工使得其不再能够萌发。

14. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其获得自小麦植物, 所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增强的能育性和/或产生增加的谷粒产量。

15. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其获得自小麦植物, 其中所述谷粒产量与Rht-B1b等位基因纯合的小麦植物大致相同或者比其更高。

16. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其获得自小麦植物, 所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的胚芽鞘长度。

17. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其与从Rht-B1a等位基因纯合小麦植物获得之谷粒相比具有增加的休眠。

18. 权利要求13所述的小麦谷粒, 所述谷粒为经粗磨、破裂、煮半熟、辊压、抛光、粉碎或研磨的谷粒。

19. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其中所述Rht-B1多肽C端结构域中的氨基酸替换是参照SEQ ID NO:5的氨基酸G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488或C240的替换。

20. 权利要求19所述的小麦谷粒, 其中所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。

21. 权利要求19所述的小麦谷粒, 其中所述Rht-B1等位基因包含相对于SEQ ID NO:1的序列变化, 其中所述序列变化选自G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A和G3671A。

22. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其中所述小麦植物对所述Rht-B1等位基因是纯合的。

23. 权利要求13所述的小麦谷粒, 其中所述小麦植物具有小麦品种Maringa以外的遗传背景。

24. 权利要求13的小麦谷粒, 其中所述小麦植物在田间作为至少1000株此类植物的群体的一部分或者在至少1公顷的区域中以标准种植密度种植。

25. 一种生产小麦细胞的方法,其包括向小麦细胞中引入编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,其中所述Rht-B1等位基因使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。

26. 权利要求25所述的方法,其中所述Rht-B1多肽C端结构域中的氨基酸替换是参照SEQ ID NO:5的氨基酸G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488或C240的替换。

27. 权利要求26所述的方法,其中所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。

28. 权利要求25所述的方法,其中所述Rht-B1等位基因包含相对于SEQ ID NO:1的序列变化,其中所述序列变化选自G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A和G3671A。

29. 核酸分子,其编码Rht-B1多肽,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,其中所述Rht-B1多肽使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。

30. 权利要求29所述的核酸分子,其中所述Rht-B1多肽C端结构域中的氨基酸替换是参照SEQ ID NO:5的氨基酸G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488或C240的替换。

31. 权利要求30所述的核酸分子,其中所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。

32. 权利要求29所述的核酸分子,其中所述Rht-B1等位基因包含相对于SEQ ID NO:1的序列变化,其中所述序列变化选自G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A和G3671A。

33. 权利要求29所述的核酸分子,其在小麦细胞中。

34. 权利要求33所述的核酸分子,其在小麦胚乳细胞中。

35. Rht-B1多肽,其包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,其中所述Rht-B1多肽使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。

36. 权利要求35所述的Rht-B1多肽,其中所述Rht-B1多肽C端结构域中的氨基酸替换是参照SEQ ID NO:5的氨基酸G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488或C240的替换。

37. 权利要求36所述的Rht-B1多肽,其中所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。

38. 权利要求35所述的Rht-B1多肽,其在小麦细胞中。

39. 权利要求38所述的Rht-B1多肽,其在小麦胚乳细胞中。

40. 一种产生小麦粉、淀粉或麸的方法,所述方法包括获得权利要求13至24中任一项所述的谷粒并对所述谷粒进行加工以产生所述面粉、淀粉或麸。

41. 小麦粉、淀粉或麸,其包含权利要求30至34中任一项所述的核酸分子。

42. 生产食物产品的方法,所述方法包括将权利要求13至24中任一项所述的谷粒与至少一种另外的食物成分混合以生产所述食物产品。

43. 生产淀粉的方法,所述方法包括获得权利要求13至24中任一项所述的谷粒,并对所述谷粒进行加工以生产淀粉。

44. 生产乙醇的方法,所述方法包括发酵从权利要求13至24中任一项所述的谷粒获得的淀粉,由此生产所述乙醇。

45. 饲养动物的方法,所述方法包括向所述动物权利要求13至24中任一项所述的小麦谷粒。

46. 食物产品,其包含权利要求13至24中任一项所述的小麦谷粒。

47. 权利要求46所述的食物产品,其中所述食物产品为发酵的或未发酵的面包、意大利面、面条、早餐麦片、点心、蛋糕或基于面粉的调味品。

48. 对小麦植物或谷粒基因分型的方法,所述方法包括(i)获得包含从小麦植物或谷粒提取的核酸的样品,和(ii)检测所述样品中根据权利要求30至34中任一项所述的核酸分子。

49. 对小麦植物或谷粒基因分型的方法,所述方法包括(i)获得包含从小麦植物或谷粒提取的蛋白质的样品,和(ii)检测所述样品中根据权利要求35至39中任一项所述的多肽。

50. 从小麦植物群中选择小麦植物的方法,所述方法包括:i)使用权利要求48所述的方

法对所述小麦植物群中的每个植物进行基因分型,其中所述植物群通过两种植物之间的杂交获得,所述两种植物中至少一种植物为如下所述的小麦植物:所述小麦植物包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,并且其中所述Rht-B1多肽使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度,和(i)基于基因分型选择所述小麦植物。

51.从小麦植物群中选择小麦植物的方法,所述方法包括:i)使用权利要求49所述的方法对所述小麦植物群中的每个植物进行基因分型,其中所述植物群通过两种植物之间的杂交获得,所述两种植物中至少一种植物为如下所述的小麦植物:所述小麦植物包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,并且其中所述Rht-B1多肽使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度,和(ii)基于基因分型选择所述小麦植物。

52.将Rht-B1等位基因导入缺乏所述等位基因的小麦植物中的方法,所述方法包括:

i)将第一亲本小麦植物与第二亲本小麦植物杂交,其中所述第二植物为如下所述的小麦植物:所述小麦植物包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中所述N端结构域的氨基酸序列为SEQ ID NO:5的1-49位氨基酸,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入氨基酸DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14),和(ii)所述C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的氨基酸替换,并且其中所述Rht-B1多肽使得,当植物在相同条件下生长时,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度,和

ii)将步骤i)的杂交后代植物和与所述第一亲本植物具有相同基因型的植物回交以产生具有所述第一亲本的大部分基因型但包含所述Rht-B1等位基因的植物。

53.根据权利要求52所述的方法,其中使用权利要求48或49所述的方法,针对是否存在所述等位基因对所述后代植物进行基因分型。

具有新Rht-B1等位基因的小麦

技术领域

[0001] 本发明涉及包含改变的Rht-B1c等位基因的小麦的过度生长突变体。本发明还涉及来自此类植物的谷粒和由所述谷粒衍生的产品。

背景技术

[0002] 植物部分地或全部地通过调节生长速率来对发育、生理和环境信号做出响应。已对很多机制进行了描述,包括改变植物激素赤霉素(GA)类的含量(由Yamaguchi综述,2008)或与GA相关的信号传导组分,例如蛋白质GID1和DELLA(由Sun综述,2010)。这些导致GA信号传导的动态调节,使得生长与来自其他激素调节途径的信号传导和环境因素(例如光、温度和水利用率)相协调(Hartweck,2008;Achard和Genschik,2009;Kuppusamy等,2009)。已提议通过昼夜节律钟门控GA信号传导来解释生长速率的昼夜差异(Arana等,2011)。

[0003] 已对植物中的多种赤霉素(GA)突变体(自然发生或在诱变后被鉴定)进行了表征。这些突变体包括通常由GA含量或GA信号传导的改变导致的不同的矮化和伸长(“细长”)表型。鉴定相关的基因并对其编码的蛋白质进行分析有助于形成对通过GA调节生长的理解,特别是在模型物种水稻和拟南芥(*Arabidopsis*)中。生物活性GA与GA受体蛋白结合(“GID1”,Ueguchi-Tanaka等,2005;Murase等,2008;Shimada等,2008)并形成随后被DELLA蛋白结合的复合物,DELLA蛋白被鉴定为发挥生长抑制因子作用的GRAS转录因子家族的一个亚族(Griffiths等,2006;Willige等,2007;Hirano等,2010)。在一种情况下,证据表明DELLA与PIF转录因子结合阻止它们对增强生长所需基因之表达的促进(de Lucas等,2008;Feng等,2008)。

[0004] 大麦和水稻的Della突变体受到特别关注,因为它们包括两种显著不同的表型:高度伸长的“细长”型和“GA不敏感的”矮化型。前者性状是隐形的并且特征为极度GA响应,而后者则是显性的或半显性的。编码DELLA之Slender1基因中的不同单核苷酸替换导致这些根本不同的表型(“伸长细长”或“矮化细长”,Ikeda等,2001;Chandler等,2002;Asano等,2009)。前者涉及消除DELLA抑制生长之能力的突变,而后者是由于无法与GA-GID1复合物结合导致的DELLA累积。

[0005] 普通小麦是六倍体,DELLA由分别位于小麦A、B和D基因组的染色体4AL、4BS和4DS上的三个同源基因(Rht-A1、Rht-B1、Rht-D1)编码,其中“L”表示染色体的长臂而“S”表示染色体的短臂。这使对小麦突变体的研究变得更加困难,并且因此,与水稻和大麦相比,对小麦了解得更少。已对B和D基因组的“GA不敏感”半矮化等位基因进行了描述(Peng等,1999;Pearce等,2011)。极度矮化等位基因的一个实例为通过插入DNA元件而产生B基因组中的Rht-B1c等位基因。预计该插入物的大部分将从基因的转录物中被剪接掉,但保留了90个核苷酸并预计在DELLA中产生30个氨基酸的框内插入物(Pearce等,2011;Wu等,2011)。

[0006] 由于半矮化基因对作物产量的有益作用,自绿色革命(Green Revolution)以来,其在小麦和水稻育种方面一直是重要的。半矮化植物高度的适度(10%至20%)降低归因于内源性GA的生长促进的缺陷。在水稻中,这由GA生物合成基因突变造成,使得存在较少活性

的GA (Monna等,2002;Sasaki等,2002;Spielmeyer等,2002)。相比之下,在小麦中,Della基因的矮化突变导致对GA相对“不敏感”的生长(Peng等,1999)。原始半矮化突变体是自发产生的,并且其农学重要性由其自首次引进后约50年在当前品种中的持续广泛使用而显而易见。然而,现存的Rht等位基因具有一些缺点。

[0007] 因此,仍然需要改良的半矮化小麦品种。

发明内容

[0008] 在第一方面,本发明提供了一种小麦植物,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。

[0009] 在第二方面,本发明提供了一种小麦植物,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,并且其中所述Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在内含子剪接位点突变。

[0010] 在第三方面,本发明提供了小麦谷粒,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。

[0011] 在第四方面,本发明提供了小麦谷粒,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,并且其中所述Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在内含子剪接位点突变。

[0012] 在第五方面,本发明提供了小麦细胞,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。在一个优选实施方案中,小麦细胞是小麦胚乳细胞。这样的小麦胚乳细胞不能够再生成小麦植株。

[0013] 在第六方面,本发明提供了小麦细胞,其包含编码Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,

所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,并且其中所述Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在内含子剪接位点突变。在一个优选实施方案中,小麦细胞是小麦胚乳细胞。这样的小麦胚乳细胞不能够再生成小麦植株。

[0014] 在第七方面,本发明提供了编码Rht-B1多肽的核酸分子,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或更多个氨基酸替换。这样的核酸分子不是天然存在的。这样的核酸分子可以是分离的或者作为转基因植物中的转基因。

[0015] 在第八方面,本发明提供了编码Rht-B1多肽的核酸分子,所述多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,并且其中所述Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在内含子剪接位点突变。这些核酸分子不是天然存在的。这些核酸分子可以是分离的或者作为转基因植物中的转基因。

[0016] 在第九方面,本发明提供了Rht-B1多肽,其包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或更多个氨基酸替换。

[0017] 在第十方面,本发明提供了分离的寡核苷酸,其包含本发明第七或第八方面的多核苷酸中的至少19个连续核苷酸或者与其完全互补,其中这19个连续核苷酸包括参照SEQ ID NO:1的选自以下的至少一个核苷酸替换:G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A、G3671A、G148A、G148T、G147A、G2084A和G2083A。

附图说明

[0018] 图1:通过在平板中筛选分离的小麦过度生长突变体的实例。箭头所示为以生长速率增加为特征的一株突变体幼苗。

[0019] 图2:与亲本植物(矮化)和野生型植物(高)相比,在控制条件下生长的小麦的过度生长突变体。从左到右,携带Rht-B1c(矮化)、Rht-B1a(高)之Marinka的衍生品种或Rht-B1c的三种不同过度生长衍生品种。这三种过度生长衍生品种的不同之处在于其最终高度,并且箭头指向每种品系的穗(head)。两种衍生品种为半矮化的,第三种与野生型一样高。

[0020] 图3:大麦(向上箭头)和小麦(向下箭头)过度生长突变体的DELLA多肽C端GRAS结

构域中的氨基酸替换位点的示意图。标出了保守的氨基酸区域。

[0021] 图4:年龄相同的大麦幼苗(从左到右):Himalaya (WT)、M463 (grd2b)、TR261 (grd2b、sln1m)、M240 (sln1m)、M640 (Sln1d)、TR107 (Sln1d.10)、TR60 (Sln1d.8)。

[0022] 图5:一些小麦突变体品系中改变的形态。正常(左)和异常(右)形态的一个实例,其中后者以窄叶、细茎、根系发育不良和在一些情况下的比正常谷粒少的穗为特征。

[0023] 图6:来自以下品系的DNA的双重PCR(Duplex PCR)分析(1至r):Maringá rht-1、Maringá Rht-B1c对照、具有异常形态学的两种过度生长品系、具有正常形态学的两种过度生长品系、无模板对照。大小标记物在左边。上面条带表示扩增的Rht-B1c等位基因的片段,而下面条带为Rht-D1基因的产物。

[0024] 图7:小麦中Rht-A1a (JF930277)、Rht-B1 (JF930278)和Rht-D1a (JF930281)编码的氨基酸序列的ClustalW比对。

[0025] 图8:通过Blastp对小麦Rht-B1a多肽(SEQ ID NO:5,上面序列)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)GAI蛋白(登录号CAA75492,下面序列)的比对。星号表示两个多肽之间的相同(保守的)氨基酸,而“+”符号表示类似但不相同的氨基酸。

[0026] 有关序列表的说明:

[0027] SEQ ID NO:1示出了来自Maringa/Rht-B1c之Rht-B1c基因的3892nt核苷酸序列,以蛋白质编码区的ATG开始直至该编码区末端的TGA。在将逆转录转座子的2026nt插入物(insertion)插入到Rht-B1基因中以使得Rht-B1c紧接前147nt之后产生。

[0028] SEQ ID NO:2示出了对应于小麦Maringa/Rht-B1c中Rht-B1c等位基因的cDNA的1956nt核苷酸序列。该序列与Genbank登录号JN857971 (Wu等,2011)中提供的核苷酸序列几乎相同,仅813和1851位的两个核苷酸不同。相对于来自Rht-B1a等位基因的cDNA,所述cDNA中的90nt插入物对应于SEQ ID NO:2的核苷酸148-237。

[0029] SEQ ID NO:3示出了由Rht-B1c等位基因编码,即由具有SEQ ID NO:1之核苷酸序列的基因和SEQ ID NO:2的cDNA编码的651氨基酸多肽的氨基酸序列。插入该多肽中的30个氨基酸相对于Rht-B1a多肽为SEQ ID NO:3的50-79位氨基酸。

[0030] SEQ ID NO:4示出了对应于Rht-B1a(野生型)等位基因的cDNA的核苷酸序列,其以ATG翻译起始密码子开始(Pearce等,2011;Genbank登录号JF930278)。

[0031] SEQ ID NO:5示出了Rht-B1a多肽(野生型)的氨基酸序列(Genbank登录号JF930278),621个氨基酸。

[0032] SEQ ID NO:6示出了来自栽培品种Xiaoyan54的普通小麦(*Triticum aestivum*)Rht1-B1b基因的7057nt核苷酸序列(Genbank登录号FN649763)。核苷酸1-2136对应于Rht-B1b的启动子和5' UTR;核苷酸2137-4002对应于蛋白质编码区,与野生型相比,其被2326位C到T的核苷酸改变间断;并且核苷酸4003-7057对应于Rht-B1b的3' UTR和该基因的3' 区。

[0033] SEQ ID NO:7示出了由Rht-B1b编码的多肽的555氨基酸序列,与野生型Rht-B1a相比,其为N端截短的Rht-B1蛋白,截短了前66个氨基酸。翻译重新以氨基酸67起始。

[0034] SEQ ID NO:8示出了普通小麦Rht-A1a基因(野生型Rht-A1)的3463nt核苷酸序列(Genbank登录号JF930277)。核苷酸1-1600对应于Rht-A1a的启动子和5' UTR,并且核苷酸1601-3463对应于Rht-A1a的蛋白质编码区。该蛋白质编码区与Rht-B1a编码区具有96%同一性。

[0035] SEQ ID NO:9示出了Rht-A1a(野生型)多肽的620氨基酸序列。

[0036] SEQ ID NO:10示出了对应于Rht-D1a基因的cDNA的1872核苷酸序列(Genbank登录号AJ242531)。

[0037] SEQ ID NO:11示出了Rht-D1多肽的623氨基酸序列(登录号JF930281)。

[0038] SEQ ID NO:12示出了大麦Sln1基因的618氨基酸序列(登录号AK372064)。

[0039] SEQ ID NO:13示出了拟南芥GAI多肽的532氨基酸序列(登录号CAA75492)。

[0040] SEQ ID NO:14示出了插入到Rht-B1c多肽中30个氨基酸的氨基酸序列。

[0041] SEQ ID NO:15示出了小麦野生型Rht-B1a多肽中“Della”基序的11氨基酸序列,其在Rht-B1c多肽中被间断。

[0042] SEQ ID NO:16示出了Rht-B1c基因的核苷酸序列(登录号JN857970;Wu等,2011)。cDNA对应于被连接至2289-4097的核苷酸206-352。

[0043] SEQ ID NO:17至30示出了寡核苷酸引物的核苷酸序列。

[0044] 发明详述

[0045] 植物

[0046] 本发明提供了小麦植物、其部分(例如小麦谷粒)、获自这些植株和谷粒的产品(例如食物成分和食物产品),以及产生和使用其的方法。本文所用的术语“小麦”指物种普通小麦(*Triticum aestivum* L.)或圆锥小麦硬粒小麦亚种(*Triticum turgidum* ssp.*durum*)或黑小麦(*Triticale*)的植物、植物部分、谷粒或由其衍生的产品。普通小麦(也称为面包小麦)是一种六倍体小麦,其具有由42条染色体构成的AABBDD基因组结构。通常将普通小麦的“A”、“B”和“D”亚基因组称为“基因组”。圆锥小麦硬粒小麦亚种(通常称为硬粒小麦)是一种四倍体小麦,其具有由28条染色体构成的AABB基因组结构。六倍体或四倍体小麦的二倍体亲本包括A基因组的小麦属(*Triticum* sp.),例如乌拉尔图小麦(*T. urartu*)、栽培一粒小麦(*T. monococcum*)或野生一粒小麦(*T. boeoticum*);B基因组的拟斯卑尔脱山羊草(*Aegilops speltoides*)和D基因组的粗小麦(*T. tauschii*;也称为节节麦(*Aegilops squarrosa*)或粗山羊草(*Aegilops tauschii*)),但是其不涵盖在本文使用的“小麦”中。然而,通过常规技术使用普通小麦作为亲本与非小麦物种黑麦(*Secale cereale*)进行有性杂交产生的植物涵盖在本文使用的“小麦”中,所述杂交后代在本文中被称为黑小麦。优选地,小麦植物适于商业化生产谷粒,例如具有本领域技术人员已知的合适农学特征的面包小麦或硬粒小麦的市售品种。

[0047] 在第一方面,本发明提供了小麦植物,其包含编码变体(非野生型)Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,优选地,该Rht-B1等位基因是纯合的。在一些实施方案中,该小麦植物包含选自Rht-B1c.1、Rht-B1c.2、Rht-B1c.3、Rht-B1c.4、Rht-B1c.5、Rht-B1c.6、Rht-B1c.7、Rht-B1c.8、Rht-B1c.9、Rht-B1c.10、Rht-B1c.12、Rht-B1c.15、Rht-B1c.16、Rht-B1c.17、Rht-B1c.18、Rht-B1c.21、Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24、Rht-B1c.26、Rht-B1c.27、Rht-B1c.28、Rht-B1c.29、Rht-B1c.30和Rht-B1c.32的Rht-B1等位基因,并且优选地,该等位基因是纯合的。在一些优选实施方案中,该小麦植物包含选自Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24和Rht-B1c.26的Rht-B1等位基因,并且优选地,该等位基因是纯合的。在一个实施方案中,所述Rht-B1多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基

酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i) SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或更多个氨基酸替换。SEQ ID NO:5示出了长度为621个氨基酸的野生型小麦Rht-B1a蛋白的氨基酸序列,其由小麦中的野生型Rht-B1a等位基因编码并且在本文中用作野生型Rht-B1多肽的参照序列。

[0048] 或者,变体Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少SEQ ID NO:5的约49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,并且编码变体Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在位于或邻近内含子剪接位点的突变,从而使Rht-B1等位基因RNA转录物的内含子剪接受到影响。本文使用的“内含子剪接位点”指跨越内含子接点的4个核苷酸,即内含子接点5'侧的2个核苷酸和3'侧的2个核苷酸。本文使用的“邻近内含子剪接位点”指内含子剪接位点5'侧的3个核苷酸和3'侧的3个核苷酸。SEQ ID NO:1示出了来源于小麦品种Maringa遗传背景的Rht-B1c等位基因蛋白质编码区的核苷酸序列,其以翻译起始ATG开始直到翻译终止密码子TGA。SEQ ID NO:1包含插入到Rht-B1基因中形成Rht-B1c等位基因的2026个核苷酸的逆转录转座子插入物(核苷酸148-2173)(Wu等,2011)。在该实施方案中,由Rht-B1等位基因编码的多肽的氨基酸序列可与SEQ ID NO:3相同或者其可以不同。Rht-B1等位基因可同时包含内含子剪接突变,并且编码具有前段中的(i)和(ii)差异的多肽;或者,在一个优选实施方案中,该多肽具有上述(i)和(ii)的差异并且不具有任何内含子剪接位点突变。

[0049] 本文使用的“Rht-B1多肽”指由小麦中Rht-B1等位基因编码的多肽。一般情况下,该Rht-B1多肽具有与约572个氨基酸之C端结构域相连的N端结构域,所述C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性。该C端结构域包括通常被称为GRAS结构域的结构域。在一个实施方案中,该N端结构域的长度为约49至约79个氨基酸。在一个优选实施方案中,该N端结构域的长度为约79个氨基酸,具有例如SEQ ID NO:3的1-79位氨基酸的序列或相对于SEQ ID NO:3的1-79位氨基酸具有1至5个氨基酸替换的变体。在一个替代实施方案中,该Rht-B1多肽衍生自经历N末端截短的野生型Rht-B1多肽,例如由Rht-B1b等位基因(也称为Rht1基因)编码的Rht-B1b多肽(SEQ ID NO:7)。在一个实施方案中,该Rht-B1等位基因编码其氨基酸序列与SEQ ID NO:3具有至少98%的同一性的Rht-B1多肽。

[0050] 在一个实施方案中,该Rht-B1多肽的氨基酸序列不与SEQ ID NO:5相同,并且也不与SEQ ID NO:7相同,但是其可包含SEQ ID NO:7。在一个实施方案中,如果该多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:3相同,那么该Rht-B1等位基因则不具有SEQ ID NO:1所示的核苷酸序列;相反地,其编码相对于SEQ ID NO:1在或邻近内含子剪接位点具有突变的SEQ ID NO:1的序列变体。在一个优选实施方案中,该多肽的氨基酸序列不与SEQ ID NO:3相同。即,该多肽的序列与Rht-B1a(野生型)多肽、Rht-B1b多肽和Rht-B1c多肽中的每一种均不相同。在一个实施方案中,该多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示Rht-B1a氨基酸序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,和(ii)该多肽在对应于SEQ ID NO:5的200-621位氨基酸的区域的一个或更多个氨基酸替换。Rht-B1a多肽的该区域对应于该多肽的GRAS结构域。

[0051] 在一个优选实施方案中,相对于Rht-B1a多肽(上述(i))在SEQ ID NO:5的49和50

位氨基酸之间插入一个或更多个氨基酸是约30个氨基酸的插入物,其序列优选为DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14;对应于SEQ ID NO:3的氨基酸50-79)或其变体,其中该变体的序列与SEQ ID NO:14的不同之处在于不超过5个氨基酸的氨基酸替换、插入或缺失,优选1或2个氨基酸替换。序列DSATPPDAPLVAAAGLAANETTHIKISANK (SEQ ID NO:14)为Rht-B1c多肽中相对于Rht-B1a多肽插入的序列。这30个氨基酸的插入由形成Rht-B1c等位基因的Rht-B1基因中的插入所致。该插入在Rht-B1多肽所谓的DELLA基序(DELLAALGYKV;SEQ ID NO:15)中,DELLA基序被认为是与GA受体蛋白GID1相互作用所必需的,从而使具有该插入的多肽不再与GID1结合。对该插入序列的变化可通过诱变获得,并且预期1至5个氨基酸的替换、插入或缺失不会影响该多肽与GID1相互作用的丧失。

[0052] 在一个实施方案中,该小麦植物的多肽还包含在对应于SEQ ID NO:5的1-200位氨基酸的多肽区域中的一个或更多个氨基酸替换,优选保守氨基酸替换,该区域还被称为野生型Rht-B1多肽的DELLA结构域,因为其包含还称作DELLA基序的氨基酸序列DELLAALGYKV (SEQ ID NO:15)。不过,优选地,本发明Rht-B1多肽在突变DELLA结构域中的氨基酸序列与SEQ ID NO:3相同,即包含SEQ ID NO:3的1-230位氨基酸。

[0053] 在另一些优选实施方案中,所述C端结构域中的一个或更多个氨基酸替换在该多肽的对应于SEQ ID NO:5的200-621位氨基酸的区域中。在一个优选实施方案中,所述一个或更多个氨基酸替换包括参照SEQ ID NO:3的选自G260、V264、A271、G298、A299、A305、A310、P344、L346、G377、P394、R514、T524、S528、G563、V286、D371、A310、E579、S493、R283、R271、G274、A280、V234、R484、V285、G230、S488和C240的氨基酸的替换。优选地,所述替换选自G260E、V264M、A271T、G298D、A299T、A305T、A310V、P344S、L346F、G377R、P394L、R514H、T524I、S528F、G563D、V286M、D371N、A310T、E579K、S493F、R283H、R271H、G274D、A280T、V234M、R484H、V285F、G230E、S488F和C240Y。在一个更优选的实施方案中,该小麦植物的Rht-B1等位基因包含相对于SEQ ID NO:1的序列变化,所述序列变化选自G2715A、G2726A、G2747A、G2829A、G2831A、G2849A、C2865T、C2966T、C2972T、G3065A、C3117T、G3477A、C3507T、C3519T、G3624A、G2792A、CC2108TA、G3047A、G2864A、G3671A、G148A、G148T、G147A、G2084A和G2083A。这些序列变化对应于上文刚刚列举的氨基酸替换,参见表3。

[0054] 优选地,当这些植物在相同条件下生长时,本发明的小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。因此,将本发明的小麦植物称为“半矮化”。在一个优选实施方案中,本发明小麦植物的高度为Rht-B1a等位基因纯合(“高表型”)的对照植物高度的约70%至约94%,更优选地,为Rht-B1a等位基因纯合的植物高度的约75%至约90%。相比之下,Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物(“矮化植物”)的高度为Rht-B1a等位基因纯合的植物高度的约42%。本发明小麦植物的高度可与Rht-B1b等位基因纯合的小麦植物的高度大约或基本相同,其为高植物高度的约80%至81%,或者可低于Rht-B1b植物的高度或高于Rht-B1b植物的高度。本文使用的“植株高度”指成熟植物从地面到最高茎顶部(即,穗的底部)的高度。相对于本发明的小麦植物,Rht-B1c、Rht-B1a或Rht-B1b等位基因纯合的并用作比较之对照的植物优选具有基本相同的遗传背景,更优选地,其为近等基因(near-isogenic)系;因而,将其称为“Rht-B1c(或Rht-B1a或Rht-B1b)等位基因纯合的对应小麦植物”。本领域的技术人员能够容易选择适用于进行比较的对应小麦植物。为了进行比较,例如在重复田间试验中,使本

发明的植物与对照植物在基本相同的时间和环境条件下生长,包括相同的温度方案、光条件、养分和水供给以及土壤条件。优选地,测量田间生长植物的植株高度,但是也可使用温室生长植物用于进行比较,并且按照本领域中已知的田间试验进行生长。可在生长周期中的任意点测量植株高度,但是优选在植物成熟时期测量。

[0055] 此外,优选地,所述小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增强的能育性和/或生产增加的谷粒量;和/或相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的胚芽鞘长度;和/或能够生产与从Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物获得之谷粒相比休眠增加的谷粒。优选地,该植物产生的谷粒量与Rht-B1b等位基因纯合的对应小麦植物基本相同或者比其更大。将本文使用的“能育性”限定为每个穗的谷粒数目,而“谷粒量”或“从植物产生的谷粒产量”指可从该植物收获的成熟谷粒的重量。

[0056] 所述谷粒一般具有按重量计约10%至约15%的含水量。优选地,本发明的小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物还具有增加的胚芽鞘长度。优选地,本发明小麦植物的胚芽鞘长度为Rht-B1a等位基因纯合的植物的胚芽鞘长度的70%至120%,优选80%至100%。本发明小麦植物的另一优选性状是获自该植物的谷粒的休眠。优选地,该植物相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有增加的谷粒休眠。优选地,该小麦植株的休眠水平是Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物的50%至100%,优选60%至100%。在一个实施方案中,获自本发明小麦植物之谷粒的萌发率位于来自Rht-B1a等位基因纯合之小麦植物的谷粒和来自Rht-B1c等位基因纯合之小麦植物的谷粒之间。可按照实施例1中所述测定萌发率。例如,可测定谷粒群达到50%萌发所需的时间。在一个优选实施方案中,与相对于来自Rht-B1a等位基因纯合之对应小麦植物的谷粒相比,本发明小麦植物的谷粒在室温下需要1至8周多,优选2至5周多的储存(“后熟期”)以达到50%的萌发率。

[0057] 应当理解,当将本发明的植物或谷粒与Rht-B1c等位基因纯合或Rht-B1a等位基因纯合的那些进行比较时,使用在基本相同的生长条件、生长时间、温度、水和养分供给等下生长的植物以及获自这些植物的谷粒进行该比较。

[0058] 谷粒在第二方面,本发明提供了小麦谷粒,其获自或可获自本发明的小麦植物,或者其为本发明小麦植物的一部分。本文使用的“谷粒”指一般由农民从田间生长的成熟小麦植物收获的谷粒,包括用于食品生产或用在食品产品中的谷粒和在播种后而幼苗长出(emergence)前萌发的谷粒。谷粒还包括经历加工用于食品生产或为食品产品中成分的谷粒。本发明收获的小麦谷粒一般具有按重量计约10%至约15%的含水量。在一个实施方案中,所述小麦谷粒包含编码变体(非野生型)Rht-B1多肽的Rht-B1等位基因,优选地,该谷粒对该等位基因是纯合的。在一个实施方案中,所述Rht-B1多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i) SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。在一些实施方案中,所述小麦谷粒包含选自如下的Rht-B1等位基因:Rht-B1c.1、Rht-B1c.2、Rht-B1c.3、Rht-B1c.4、Rht-B1c.5、Rht-B1c.6、Rht-B1c.7、Rht-B1c.8、Rht-B1c.9、Rht-B1c.10、Rht-B1c.12、Rht-B1c.15、Rht-B1c.16、Rht-B1c.17、Rht-B1c.18、Rht-B1c.21、Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24、Rht-B1c.26、Rht-B1c.27、Rht-B1c.28、Rht-B1c.29、Rht-B1c.30和Rht-B1c.32,并

且优选地,其该等位基因是纯合的。在一些优选实施方案中,所述小麦谷粒包含选自Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24和Rht-B1c.26的Rht-B1等位基因,并且优选地,其该等位基因是纯合的。

[0059] 或者,该谷粒变体Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或更多个氨基酸,并且编码变体Rht-B1多肽之Rht-B1等位基因的核苷酸序列与SEQ ID NO:1所示核苷酸序列的不同之处至少在于存在位于或邻近内含子剪接位点的突变,从而使Rht-B1等位基因RNA转录物的内含子剪接受到影响。在该实施方案中,由Rht-B1等位基因编码的多肽氨基酸序列可与SEQ ID NO:3相同,或者其可以是不同的。Rht-B1等位基因可同时包含内含子剪接突变,并且编码具有前段中(i)和(ii)差异的多肽;或者,在一个优选实施方案中,该多肽具有上述(i)和(ii)的差异并且相对于SEQ ID NO:1不具有任何内含子剪接位点突变。

[0060] 还可按照上文针对所述小麦植物的段落中所述,对该谷粒的变体Rht-B1多肽及编码其的Rht-B1等位基因进行进一步限定。在一个优选实施方案中,该谷粒与从Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物获得之谷粒相比具有增加的休眠。在一个实施方案中,本发明谷粒的萌发率位于来自Rht-B1a等位基因纯合之小麦植物的谷粒和来自Rht-B1c等位基因纯合之小麦植物的谷粒的萌发率之间。可按照实施例1中所述测定萌发率。例如,可测定谷粒群达到50%萌发所需的时间。在显示“休眠增加”的一个优选实施方案中,与来自Rht-B1a等位基因纯合的对应小麦植物的谷粒相比,本发明的谷粒在室温下需要1至8周多,优选2至5周多的储存(“后熟期”)以达到50%的萌发率。还优选的是,当将该谷粒播种到土壤中时,本发明的小麦谷粒能够生长成小麦植物;当这些植物在相同条件下生长时,该植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的植株高度并且相对于Rht-B1a等位基因纯合的小麦植物具有降低的高度。由该谷粒产生的小麦植物相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物可具有增强的能育性和/或产生增加的谷粒量,和/或相对于Rht-B1c等位基因纯合的小麦植物具有增加的胚芽鞘长度。

[0061] 本发明还提供了产生本发明谷粒的方法,所述方法包括(i)种植本发明的小麦植物,和(ii)从该植物收获谷粒。在一些优选实施方案中,可对所述小麦谷粒进行加工使得其不再能够萌发。这可通过去除种子的胚实现,例如通过研磨或通过热处理或其他谷粒加工方法。所述谷粒可以是经粗磨、经破裂、经煮半熟(par-boiled)、经辊压、经抛光、经粉碎或经研磨的谷粒。

[0062] 本发明还提供了产生面粉、全麦面粉(wholemeal)、淀粉、淀粉颗粒或麸的方法,所述方法包括获得本发明的谷粒并对该谷粒进行加工以产生所述面粉、全麦面粉、淀粉、淀粉颗粒或麸。所述加工方法在本领域中是公知的。获得谷粒的步骤包括,例如从本发明的小麦植株收获谷粒或者购买谷粒。

[0063] 本发明还提供了由本发明的植物或谷粒生产的产品,例如食物产品,其可以是食物成分。食物产品的实例包括面粉、淀粉、经发酵的或未经发酵的面包、意大利面(pasta)、面条、动物饲料、早餐麦片、点心、蛋糕、麦芽、糕点或基于面粉的调味品。所述食物产品可以是面包圈、饼干、面包、小圆面包、羊角面包、饺子、英式松饼、松饼、皮塔面包、速成面包、冷藏/冷冻面团产品、面团、烘豆、玉米煎饼(burrito)、辣椒酱(chili)、墨西哥卷饼(taco)、玉米面团包馅卷(tamale)、玉米粉圆饼(tortilla)、馅饼(pot pie)、即食谷类、即食餐(ready

to eat meal)、填料、微波炉餐、核仁巧克力饼(brownie)、蛋糕、奶酪蛋糕、咖啡蛋糕、曲奇、甜点、糕点、甜面包、糖块(candy bar)、馅饼皮(pie crust)、灌饼(pie filling)、婴儿食品、烘焙混合物、面糊(batter)、面包糊(breading)、肉汁混合物、肉混合剂、肉替代品、调味品混合物、汤混合物、肉汁、掺油面粉糊(roux)、色拉调料(salad dressing)、汤、酸奶油、面条、意大利面、拉面、炒面、捞面、冰淇淋内容物(ice cream inclusion)、冰淇淋棒、冰淇淋蛋卷、冰淇淋三明治、薄脆饼干(cracker)、油煎面包块(cROUTON)、甜甜圈、蛋卷(egg roll)、膨化食品(extruded snack)、水果谷物棒(fruit and grain bar)、微波炉点心产品、营养棒、煎饼、烤半熟的烘焙产品(par-baked bakery product)、椒盐卷饼(pretzel)、布丁、基于格兰诺拉麦片的产品、点心片、点心、点心混合物、华夫饼、匹萨壳、动物食品或宠物食品。食物产品可通过混合谷粒或来自所述谷粒的面粉、全麦面粉或麸与其他成分制备。另一种产品为动物饲料,例如收获的谷粒、干草、稻草或青贮饲料。本发明的植物可直接用作动物饲料,例如当在田间生长时。

[0064] 多核苷酸在第三方面,本发明提供了编码本发明Rht-B1多肽的核酸分子。该核酸分子可从小麦植物分离或者包含在小麦植物中或者作为植物中的外源核酸分子,所述植物可以是任何植物,例如谷类植物或除非小麦之外的植物。在一个实施方案中,所述Rht-B1多肽包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。还可按照上文针对所述小麦植物的段落中所述,对本发明的Rht-B1多肽进行进一步限定。在一些优选实施方案中,所述核酸分子包含选自以下的Rht-B1等位基因:Rht-B1c.1、Rht-B1c.2、Rht-B1c.3、Rht-B1c.4、Rht-B1c.5、Rht-B1c.6、Rht-B1c.7、Rht-B1c.8、Rht-B1c.9、Rht-B1c.10、Rht-B1c.12、Rht-B1c.15、Rht-B1c.16、Rht-B1c.17、Rht-B1c.18、Rht-B1c.21、Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24、Rht-B1c.26、Rht-B1c.27、Rht-B1c.28、Rht-B1c.29、Rht-B1c.30和Rht-B1c.32。在一些更优选的实施方案中,所述核酸分子包含选自Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24和Rht-B1c.26的Rht-B1等位基因。

[0065] 多肽在第四方面,本发明提供了Rht-B1多肽,其包含N端结构域和C端结构域,其中该C端结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸具有至少98%的同一性,并且其中所述Rht-B1多肽的氨基酸序列与SEQ ID NO:5所示序列的不同之处在于至少(i)在SEQ ID NO:5的49和50位氨基酸之间插入了一个或多个氨基酸,和(ii)该C端结构域中相对于SEQ ID NO:5的50-621位氨基酸的一个或多个氨基酸替换。还可按照上文针对所述小麦植物的段落中所述,对本发明的Rht-B1多肽进行进一步限定。

[0066] 本发明还提供了一种对小麦植物基因分型的方法,所述方法包括(i)获得包含从小麦植物提取的核酸或蛋白质的样品,和(ii)检测该样品中本发明的核酸分子或多肽。在一些优选实施方案中,所述小麦植物包含选自以下的Rht-B1等位基因:Rht-B1c.1、Rht-B1c.2、Rht-B1c.3、Rht-B1c.4、Rht-B1c.5、Rht-B1c.6、Rht-B1c.7、Rht-B1c.8、Rht-B1c.9、Rht-B1c.10、Rht-B1c.12、Rht-B1c.15、Rht-B1c.16、Rht-B1c.17、Rht-B1c.18、Rht-B1c.21、Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24、Rht-B1c.26、Rht-B1c.27、Rht-B1c.28、Rht-B1c.29、Rht-B1c.30和Rht-B1c.32。

[0067] 本发明还提供了一种将Rht-B1等位基因导入缺乏所述等位基因的小麦植物中的方法,所述方法包括:i)将第一亲本小麦植物与第二亲本小麦植物杂交,其中该第二植物为本发明的小麦植物,和ii)将步骤i)的杂交后代植物和与所述第一亲本植物具有相同基因型的植物回交以产生具有该第一亲本大部分基因型但包含所述Rht-B1等位基因的植物。

[0068] 可将本发明的核酸分子与能够指导该核酸分子在植物细胞中表达的启动子有效连接。本发明还提供了一种包含或编码本发明核酸分子的载体和包含该载体和/或本发明核酸分子的宿主细胞。

[0069] 本发明还提供了一种经遗传修饰的植物,其中该植物已用本发明的核酸分子转化;并且其后代植物包含所述核酸分子。在某些实施方案中,所述经遗传修饰的植物为小麦或大麦植物。

[0070] 本文使用的谷类指单子叶植物家族禾本科(Poaceae或Graminae)的植物或谷粒,其被培植来用于获得其种子的可食用成分,并且包括小麦、大麦、玉米、燕麦、黑麦、水稻、高粱、黑小麦、粟、荞麦。优选地,所述谷类植物或谷粒为小麦或大麦植物或谷粒,更优选小麦植物或谷粒。在另一优选实施方案中,所述谷类植物不是水稻或玉米或这些中的任何一种。

[0071] 本文使用的术语“大麦”指大麦属(Genus *Hordeum*)的任何物种,包括其亲代以及其通过与其他物种杂交产生的后代。优选地,所述植物为可商业化培植(例如多棱大麦(*Hordeum vulgare*)品系或栽培品种或品种)或适用于商业化生产谷粒的大麦属物种。

[0072] 本发明的小麦植物不仅具有用于食品或动物饲料用途,还可具有很多用途,例如用于研究或育种。对于种子繁殖的农作物例如小麦,可使这些植物自交以产生对期望基因纯合的植物,或者可诱导单倍体组织(例如发育中的精细胞)以使染色体组加倍从而产生纯合的植物。

[0073] 可使本发明的小麦植物与包含更理想遗传背景的植物杂交。期望的遗传背景可包括提供商业产量和其他特征(例如农学性能或非生物胁迫抗性)的基因的合适组合。所述遗传背景还可包括其他经改变的淀粉生物合成或修饰基因,例如来自其他小麦品系的基因。所述遗传背景可包含一种或更多种转基因,例如赋予除草剂(如草甘膦)耐受性的基因。

[0074] 本文使用的术语“连锁的”指染色体上的标记基因座和第二基因座足够接近,使得其在超过50%的减数分裂中一起遗传,例如非随机地。该定义包括其中标记基因座和第二基因座形成同一基因的一部分的情况。此外,该定义包括其中标记基因座包含负责目的性状的多态性的情况(换句话说,该标记基因座与表型直接“连锁”)。本文使用的术语“遗传连锁”是狭义的,仅用于与如下有关的情况:染色体上的标记基因座和第二基因座足够接近,使得其在超过50%的减数分裂中一起遗传。因此,每代观察到的基因座之间的重组百分数(厘摩(cM))将小于50。在本发明的一些具体实施方案中,染色体上遗传连锁的基因座可间隔45cM、35cM、25cM、15cM、10cM、5cM、4cM、3cM、2cM或1cM或者小于cM。优选地,这些标记间隔小于5cM或2cM,最优选间隔为约0cM。

[0075] 本文使用的“其他遗传标记”可以是与谷类植物(例如小麦)的期望性状有关的任何分子。所述标记为本领域的技术人员已知,并且包括与决定如下性状的基因相关的分子标记:例如抗病性、产量、植物形态学、谷粒质量、其他休眠性状例如谷粒颜色、种子中的赤霉素含量、植株高度、面粉颜色等。这样的基因的实例为茎锈病抗性基因Sr2或Sr 38、条锈病抗性基因Yr10或Yr 17、线虫抗性基因例如Cre和Cre3、位于麦谷蛋白基因座决定面团强

度的等位基因,例如Ax、Bx、Dx、Ay、By和Dy等位基因。具体对于谷粒休眠,其他标记包括红谷粒色的R基因(Himi等,2002)以及Mares等(2005)、Li等(2004)、Kato等(2001)、Mori等(2005)和Prada等(2004)所述的标记。

[0076] 作为名词时,本文使用的术语“植物”指整个植物,但是作为形容词使用时,指植物中存在、从其获得、由其衍生或与其相关的任何物质,例如植物器官(例如叶、茎、根、花)、单个细胞(例如花粉)、种子、植物细胞等。本发明提供的或预期用于实践本发明的植物包括单子叶植物和双子叶植物两者。在一些优选实施方案中,本发明的植物为农作物植物(例如谷类和豆类、玉米、小麦、马铃薯、木薯、水稻、高粱、大豆、粟、木薯、大麦或豌豆)或豆科植物。可种植用于生产可食用根、块茎、叶、茎、花或果实的植物。

[0077] 本文使用的术语“种子”和“谷粒”具有重叠含义。根据上下文,“谷粒”包括已从植物收获的种子,并且一般指成熟的收获谷粒,但是也可指经历吸胀和萌发后的谷粒。“种子”可指收获前或后的成熟谷粒或指正在植物内发育的未成熟种子。成熟的谷粒一般具有低于约10%至15%的含水量。

[0078] 本文使用的术语“基因”采用其最广义的范围,包括含有结构基因的蛋白质编码区的脱氧核糖核苷酸序列并且包括位于编码区5'和3'两端附近与各端相距至少约2kb的序列。将位于编码区5'且存在于mRNA上的序列称为5'非翻译序列。将位于编码区3'或下游且存在于mRNA上的序列称为3'非翻译序列。术语“基因”涵盖基因的cDNA和基因组形式两者。基因的基因组形式或克隆包含编码区,编码区可被称为“内含子”或“间插区”或“间插序列”的非编码序列间断。内含子为转录成核RNA(hnRNA)的基因区段;内含子可包含调控元件,例如增强子。内含子被从核或初级转录物中除去或“剪接掉”;因而,内含子不存在于信使RNA(mRNA)转录物中。mRNA在翻译期间起确定新生多肽中氨基酸序列或顺序的作用。术语“基因”包括编码本文所述的本发明全部或部分蛋白质的合成或融合分子和上述中任意一个的互补核苷酸序列。

[0079] 等位基因为单个遗传基因座上基因的变体。六倍体小麦(例如普通小麦)包含六组染色体,基因组组构为AABBDD。每条染色体具有每个基因的一个拷贝(一个等位基因)。如果一个染色体对的两个等位基因是相同的,那么该生物体对所述基因则是纯合的;如果等位基因是不同的,那么该生物体则对所述基因是杂合的。一般将基因座上等位基因之间的相互作用描述为显性或隐性。

[0080] 本发明的小麦植物可以是在诱变后产生和被鉴定出的。这样可提供非转基因的或不合外源核酸分子的小麦植物,非转基因小麦植物是一些市场上所需要的。一般地,可对祖先植物细胞(progenitor plant cell)、组织、种子或植物进行诱变以产生单个或多个突变,例如核苷酸替换、缺失、添加和/或密码子修饰。

[0081] 诱变可通过本领域中公知的化学或辐射方法实现,例如EMS或叠氮化钠(Zwar和Chandler,1995)处理种子或 γ 辐射。化学诱变倾向有利于核苷酸替换而非缺失。已知重离子束(HIB)辐射为用于进行突变育种以产生新植物栽培品种的有效技术,参见例如Hayashi等,2007和Kazama等,2008。对于生物效应,离子束辐射具有决定DNA损伤量和DNA缺失大小的两个物理因素,剂量(gy)和LET(线性能量转移,keV/um),并且这些均可根据期望的诱变程度进行调整。

[0082] 用于产生位点特异性突变的生物剂包括酶,所述酶涉及刺激内源修复机制的DNA

双链断裂。这些包括核酸内切酶、锌指核酸酶、TAL效应物、转座酶和位点特异性重组酶。锌指核酸酶 (ZFN)，例如有利于基因组内的位点特异性切割，并允许内源或其他末端连接修复机制引入缺失或插入从而修复该缺口。Le Provost等，2009中对锌指核酸酶技术进行了综述，另外参见Durai等，2005和Liu等，2010。

[0083] 突变体的分离可通过筛选经诱变的植物或种子实现。例如，可直接筛选经诱变的小麦群以获得期望的基因型，或者间接地通过筛选表型，例如植株高度。直接筛选基因型优选包括测定突变的存在，这些突变可在PCR测定中通过当缺失一些基因时预期标记的缺失或者如Tilling中基于异源双链的测定或者通过深度测序观察到。筛选表型可包括按照筛选实施例中所述的生长物。可利用该方法对大的经诱变种子群进行筛选以获得增加的生长，增加的生长提供增加的植株高度。

[0084] 然后，可如下将鉴定的突变引入理想的遗传背景中：使该突变体与具有期望遗传背景的植物杂交并进行适当数目的回交以去除原始非期望的亲本背景。

[0085] 在本申请的上下文中，“诱导突变”或“引入突变”为人工诱导的遗传变异，其可以通过化学或辐射方法处理亲代种子或植物的结果。核苷酸插入衍生物包括5' 和3' 端融合以及单个或多个核苷酸的序列内插入。插入核苷酸序列的变体为在核苷酸序列的位点中引入了一个或多个核苷酸的那些变体，在预定位点用锌指核酸酶 (ZFN)、TAL效应物或同源重组方法是可能的，或者通过随机插入并适当筛选所得产物。缺失变体以从序列中去除一个或多个核苷酸为特征。优选地，与野生型基因相比，突变基因仅具有核苷酸序列的单个插入物以及一个或多个替换突变。替换核苷酸变体为其中除去序列中的至少一个核苷酸并且在其位置插入不同核苷酸的那些变体。相对于野生型基因，优选突变基因中受替换影响的核苷酸数最多为10个核苷酸，更优选最多9、8、7、6、5、4、3或2，或最优选仅1个核苷酸。

[0086] 本文使用的术语“突变”不包括不影响基因活性的沉默核苷酸替换，因而仅包括影响基因活性的基因序列改变。术语“多态性”指对核苷酸序列的任何改变，包括所述沉默核苷酸替换。筛选方法可首先包括在一组多态变体中筛选多态性，其次筛选突变。

[0087] 在经典的育种过程中，标记辅助筛选是用于在与轮回亲本回交时筛选所需杂合植物的公认方法。每个回交代中的植物群将是目的基因杂合的，在回交群中通常以1:1比例存在，并且分子标记可用于区分该基因的两个等位基因。通过从例如嫩芽中提取DNA并用特异性标记测试渗入的理想性状来对用于进一步回交的植物进行早期筛选，同时精力和资源集中于较少数植物上。为了进一步加快回交过程，可将未成熟种子(开花后25天)的胚切除，并使其于无菌条件下在营养培养基上生长，而不是允许饱满种子成熟。

[0088] 本领域中已知的能够检测Rht-B1等位基因的任何分子生物技术均可用在本发明的方法中。这些方法包括，但不局限于利用核酸扩增、核酸测序、与经适当标记之探针的核酸杂交、单链构象分析(SSCA)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、异源双链分析(HET)、化学切割分析(chemical cleavage analysis, CCM)、催化核酸切割或其组合(参见，例如Lemieux, 2000; Langridge等, 2001)。

[0089] “聚合酶链式反应”(“PCR”)为这样的反应，其中复制拷贝由靶多核苷酸利用由“上游”和“下游”引物组成的“引物对”或“引物组”以及聚合反应催化剂(例如DNA聚合酶，一般地，热稳定性聚合酶)产生。用于PCR的方法在本领域中是已知的，并且在例如“PCR”中有所教导(Ed. M.J. McPherson和S.G. Moiler (2000) BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford)。

[0090] 引物为在PCR期间能够以序列特异性方式与靶序列杂交并被延伸的寡核苷酸序列。扩增子或PCR产物或PCR片段或扩增产物为包含引物和新合成的靶序列拷贝的延伸产物。多重PCR体系包含多组引物,并且导致同时产生超过一个扩增子。引物可与靶序列完全匹配或者其可包含内部不匹配的碱基,这些碱基可导致在特定靶序列中引入限制性内切酶或催化核酸识别/切割位点。引物还可包含额外的序列和/或包含经修饰或经标记的核苷酸从而有利于捕获或检测扩增子。重复如下循环导致以指数扩增靶序列:热变性DNA、使引物与其互补序列退火并用聚合酶延伸退火的引物。术语靶标或靶序列或模板指被扩增的核酸序列。

[0091] 本文使用的术语“转基因植物”和“转基因小麦植物”指包含相同物种、品种或栽培品种的野生型植物中不存在的基因构建体(“转基因”)的植物。即,转基因植物(转化植物)包含其在转化前不含有的遗传物质。本文提及的“转基因”具有生物技术领域中的一般含义,指已通过重组DNA或RNA技术产生或改变并已被引入祖先植物细胞中的遗传序列,所述细胞用于产生新的植物。转基因可包括获自或来源于植物细胞或其他植物细胞或非植物来源的遗传序列或合成序列。通常,通过人操作将转基因导入植物中,例如通过转化,但可使用本领域技术人员认可的任何方法。通常将遗传物质稳定地整合到植物的基因组中。引入的遗传物质可包含相同物种中天然存在但以重排的顺序或以不同的元件排列的序列,例如反义序列或者编码双链RNA或人工微RNA前体的序列。本文的“转基因植物”包含含有这些序列的植物。本文限定的转基因植物包括已利用重组技术进行遗传修饰的初始转化和再生植物(T0植物)的所有后代,其中所述后代包含该转基因。这样的后代可通过原代转基因植物的自体受精或通过使这样的植物与相同物种的另一植物杂交获得。在一个实施方案中,所述转基因植物对已导入的每个基因(转基因)均是纯合的,从而使其后代对于期望表型不分离。转基因植物部分包括包含转基因的所述植物的全部部分和细胞,例如种子、培养组织、愈伤组织和原生质体。“非转基因植物”,优选非转基因小麦植物为未经通过重组DNA技术引入遗传物质进行遗传修饰的植物。

[0092] 本文使用的术语“相应非转基因植物”指大多数特征与转基因植物相同或类似(优选等基因或近等基因),但不含目的转基因的植物。优选地,相应非转基因植物与目的转基因植物的祖先或缺乏构建体的同胞植物品系(通常称为“分离子”)或转化有“空载体”构建体的相同栽培品种或品种植物是相同的栽培品种或品种,并且可以是非转基因植物。根据本发明,本文使用的“野生型”指未经改变的细胞、组织或植物。野生型细胞、组织或植物在本领域中是已知的,并且可用作对照以与本文所述之经改变的细胞、组织或植物比较外源性核酸的表达水平或性状改变的程度和性质。本文使用的“野生型小麦谷粒”指相应的未经诱变的非转基因小麦谷粒。本文使用的具体野生型小麦谷粒包括但不限于Sunstate。

[0093] 可利用数种方法中的任何来确定转化植物中转基因的存在。例如,可利用聚合酶链式反应(PCR)扩增转化植物所特有的序列,并通过凝胶电泳或其他方法检测扩增产物。可利用常规方法从植物中提取DNA并使用将区别转化和非转化植物的引物进行PCR反应。确定阳性转化株的一种替代方法是通过本领域中公知的Southern印迹杂交。还可对被转化的小麦植物进行鉴定,即与非转化或野生型小麦植物的区别在于其例如由存在的可选择标记基因赋予的表型,或者在于检测或量化该转基因编码之酶的表达的免疫测定,或由该基因赋予的任何其他表型。

[0094] 本发明的小麦植物可为了谷粒而被种植或收获,主要作用于人消耗的食物或用作动物饲料,或者用于发酵或生产工业原料,例如生产乙醇等。或者,所述小麦植物可直接用作饲料。本发明的植物优选用于食品生产,具体用于商业化食品生产。所述食品生产可包括由谷粒制作面粉、面团、粗面粉(semolina)或其它产品,其可为商业化食品生产中的一个组成部分。本发明还提供了由所述谷粒生产的面粉、粗磨粉(meal)或其他产品。这些可以是未经加工的或经加工的,例如通过分级分离(fractionation)或漂白。

[0095] 术语“多肽”和“蛋白质”在本文中一般可互换使用。本文使用的术语“蛋白质”和“多肽”还包括本文所述的本发明多肽的变体、突变体、修饰物和/或衍生物。本文使用的“基本纯的多肽”指已与在其天然状态中与其缔合的脂质、核酸、其他肽和其他分子分离的多肽。优选地,基本纯多肽至少60%不含,更优选至少75%不含,更优选至少90%不含与其天然缔合的其他成分。“重组多肽”指利用重组技术产生的多肽,即通过在细胞,优选植物细胞,更优选小麦细胞中表达重组多核苷酸。

[0096] 多肽相对于另一多肽的%同一性可通过GAP (Needleman和Wunsch,1970) 分析确定(GCG程序),其中空位产生罚分=5,空位延伸罚分=0.3。查询序列的长度为至少250个氨基酸,并且GAP分析对两个序列在至少250个氨基酸的区域上进行比对。最优选地,可对所讨论的两个多肽的全长氨基酸序列进行比对。

[0097] 对于限定的多肽,应当理解的是,高于上文提供的那些的%同一性数值将涵盖优选实施方案。因此,在可适用时,根据最小%同一性数值,所述多肽优选包含这样的氨基酸序列,其与对应的指定SEQ ID NO具有至少75%,更优选至少80%,更优选至少85%,更优选至少90%,更优选至少91%,更优选至少92%,更优选至少93%,更优选至少94%,更优选至少95%,更优选至少96%,更优选至少97%,更优选至少98%,更优选至少99%,更优选至少99.1%,更优选至少99.2%,更优选至少99.3%,更优选至少99.4%,更优选至少99.5%,更优选至少99.6%,更优选至少99.7%,更优选至少99.8%,并且甚至更优选至少99.9%的同一性。

[0098] 氨基酸序列缺失一般为约1至15个残基,更优选约1至10个残基,一般约1至5个连续残基。替换突变体的多肽分子中去除了至少一个氨基酸残基,并在其位置插入不同的残基。

[0099] “分离的”指基本或大体上不含在其天然状态中通常与其共存的成分的物质。本文使用的“分离的多核苷酸”或“分离的核酸分子”指至少部分地与在其天然状态中与其缔合或相连之相同类型的多核苷酸序列分离、优选基本或大体上不含所述多核苷酸序列的多核苷酸。例如,“分离的多核苷酸”包括已从在天然存在的状态中位于其侧翼的序列中纯化或分离的多核苷酸,例如已从通常邻近该片段的序列中移出的DNA片段。优选地,分离的多核苷酸也至少90%不含其他成分,例如蛋白质、碳水化合物、脂质等。本文使用的术语“重组多核苷酸”指通过将核酸改造成自然界中通常不存在的形式而体外形成的多核苷酸。例如,所述重组多核苷酸可以是表达载体的形式。一般地,这样的表达载体包括与细胞中的待转录核苷酸序列有效相连的转录和翻译调控核酸。

[0100] 本发明涉及使用可用作“探针”或“引物”的寡核苷酸。本文使用的“寡核苷酸”为长度至多50个核苷酸的多核苷酸。它们可以是RNA、DNA或者其各自的组合或衍生物。寡核苷酸一般是长度为10至30个核苷酸,通常15至25个核苷酸的相对短的单链分子,其通常由与目

的序列相同或互补的10至30或15至25个核苷酸构成。当用作探针或扩增反应中的引物时,这种寡核苷酸的最小尺寸为用于在该寡核苷酸与靶核酸分子上的互补序列之间形成稳定杂交所需的尺寸。优选地,所述寡核苷酸的长度为至少15个核苷酸,更优选至少18个核苷酸,更优选至少19个核苷酸,更优选至少20个核苷酸,甚至更优选至少25个核苷酸。用作探针的多聚核苷酸一般与可检测标记缀合,例如放射性同位素、酶、生物素、荧光分子或化学发光分子。

[0101] 术语“多核苷酸变体”和“变体”等指表现出与参照核苷酸序列具有基本序列同一性并且能够以与参照序列类似的方式起作用或与其具有相同活性的多核苷酸。这些术语还涵盖与参照多核苷酸的区别在于至少一个核苷酸的添加、缺失或替换或者与天然存在的分子相比时,具有一个或更多个突变的多核苷酸。因此,术语“多核苷酸变体”和“变体”包括其中已添加或缺失或用不同核苷酸替换一个或更多个核苷酸的多核苷酸。在此方面,本领域中众所周知的是,可对参照多核苷酸进行某些改变,包括突变、添加、缺失和替换,由此使经改变的多核苷酸保留该参照多核苷酸的生物功能或活性。因此,这些术语涵盖编码表现酶促活性或其他调控活性之多肽的多核苷酸或能够用作选择性探针或其他杂交剂的多核苷酸。术语“多核苷酸变体”和“变体”还包括天然存在的等位基因变体。突变体可以是天然存在的(也就是说,分离自天然来源)或合成的(例如,通过对核酸进行定点诱变)。优选地,编码具有酶活性之多肽的本发明多核苷酸变体的长度为大于400,更优选大于500,更优选大于600,更优选大于700,更优选大于800,更优选大于900,甚至更优选大于1000个核苷酸,直至该基因的全长。

[0102] 本发明的寡核苷酸变体包括能够例如在接近本文限定的特异性寡核苷酸分子的位置与小麦基因组杂交的不同大小的分子。例如,变体可包含额外的核苷酸(例如1、2、3、4或更多)或更少的核苷酸,只要其仍与靶区域杂交即可。此外,可在不影响寡核苷酸与靶区域的杂交能力的情况下替换少数核苷酸。此外,在本文限定的特异性寡核苷酸杂交的地方,可容易地设计接近(例如,但不局限于50个核苷酸内)植物基因组区域杂交的变体。

[0103] 在多核苷酸和多肽的上下文中,“对应于”指如下的多核苷酸(a)与参照多核苷酸序列的全部或部分具有基本相同或互补的核苷酸序列或(b)编码与肽或蛋白质的氨基酸序列相同的氨基酸序列。该短语在其范围内还包含具有与参照肽或蛋白质的氨基酸序列基本相同之氨基酸序列的肽或多肽。用于描述两个或更多个多核苷酸或多肽之间的序列关系的术语包括“参照序列”、“比较窗口”、“序列同一性”、“序列同一性百分数”、“基本相同”和“相同的”,并且根据限定的最小核苷酸或氨基酸残基数或者优选在全长内对其进行限定。术语“序列同一性”或“同一性”在本文内可交替使用,指在比较窗口内序列在核苷酸对核苷酸基础上或氨基酸对氨基酸基础上的相同程度。因此,如下计算“序列同一性百分数”:在比较窗口内比较两个经最佳比对的序列、确定两个序列中出现相同核酸碱基(例如,A、T、C、G、U)或相同氨基酸残基(Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys和Met)的位置数目以得到匹配位置的数目、将匹配位置数除以比较窗口中的位置总数(即,窗口尺寸)并将结果乘以100,从而得到序列同一性百分数。

[0104] 多核苷酸的%同一性可通过GAP (Needleman和Wunsch,1970) 分析(GCG程序)确定,其中空位产生罚分=5,空位延伸罚分=0.3。除非另有说明,否则查询序列的长度为至少45个核苷酸,并且GAP分析在至少45个核苷酸的区域内对两个序列进行比对。优选地,查询序

列的长度至少为150个核苷酸,并且GAP分析在至少150个核苷酸的区域内对两个序列进行比对。更优选地,查询序列的长度至少为300个核苷酸,并且GAP分析在至少300个核苷酸的区域内对两个序列进行比对,或者在各自的情况下为至少400、500或600个核苷酸。还可对例如由Altschul等,1997公开的BLAST程序家族进行参照。对序列分析的详细讨论可见于Ausubel等,1994-1998,第15章的第19.3单元。

[0105] 当这样的序列的序列同一性为至少约98%,更特别地至少约98.5%,相当特别地约99%,尤其是约99.5%,更尤其是约100%时,则认为核苷酸或氨基酸序列“基本类似”,相当特别地是相同的。明显地,当RNA序列被描述为与DNA序列基本类似或具有一定程度的序列同一性时,则认为该DNA序列中的胸腺嘧啶(T)等于该RNA序列中的尿嘧啶(U)。

[0106] 对于限定的多核苷酸,应当理解的是,高于上文提供的那些的%同一性数值将涵盖优选实施方案。因此,当适用时,根据最小%同一性数值,所述多核苷酸优选包含这样的多核苷酸序列,其与对应的指定SEQ ID NO具有至少75%,更优选至少80%,更优选至少85%,更优选至少90%,更优选至少91%,更优选至少92%,更优选至少93%,更优选至少94%,更优选至少95%,更优选至少96%,更优选至少97%,更优选至少98%,更优选至少99%,更优选至少99.1%,更优选至少99.2%,更优选至少99.3%,更优选至少99.4%,更优选至少99.5%,更优选至少99.6%,更优选至少99.7%,更优选至少99.8%,并且甚至更优选至少99.9%的同一性。

[0107] 在一些实施方案中,本发明涉及用于限定两个多核苷酸互补程度的杂交条件严格性。本文使用的“严格性”指杂交期间的温度和离子强度条件以及是否存在某些有机溶剂。严格性越高,靶核苷酸序列与经标记的多核苷酸序列之间的互补程度越高。“严格条件”指在此条件下仅具有高频率互补碱基的核苷酸序列将杂交的温度和离子条件。本文使用的术语“在低严格性、中严格性、高严格性或非常高的严格性条件下杂交”描述了用于杂交和洗涤的条件。用于进行杂交反应的指导可见于Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley和Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6中,其通过引用并入文本。本文提及的具体杂交条件如下:1) 低严格性杂交条件:在约45℃的6X氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中,然后在50℃至55℃下用0.2X SSC、0.1% SDS洗涤两次;2) 中严格性杂交条件:在约45℃的6X SSC中,然后于60℃下用0.2X SSC、0.1% SDS洗涤一次或更多次;3) 高严格性杂交条件:在约45℃的6X SSC中,然后于65℃下用0.2X SSC、0.1% SDS洗涤一次或更多次;4) 非常高严格性杂交条件:65℃的0.5M磷酸钠,7% SDS,然后于65℃下用0.2X SSC、1% SDS洗涤一次或更多次。

[0108] 本文使用的“嵌合基因”或“遗传构建体”指不是在其天然位置中的天然基因的任何基因,即已对其进行人工改造,包括被整合到小麦基因组中的嵌合基因或遗传构建体。一般地,嵌合基因或遗传构建体包含在自然界中不一起存在的调控序列和转录序列或蛋白质编码序列。因此,嵌合基因或遗传构建体可包含来自不同来源的调控序列和编码序列,或来自相同来源但以与自然界中存在的方式不同的方式排列的调控序列和编码序列。术语“内源性”在本文中用于指与所研究植物(优选小麦植物)处于相同发育阶段的未经改良植物中正常产生的物质。“内源基因”指在生物体基因组内(优选在小麦植物内)其天然位置中的天然基因。本文使用的“重组核酸分子”指已通过重组DNA技术构建或修饰的核酸分子。术语“外来多核苷酸”或“外源多核苷酸”或“异源多核苷酸”等指通过实验操作被引入细胞基因组(优选小麦基因组)中但不天然存在于该细胞中的任何核酸。这些包括该细胞中存在的基

因序列的修饰形式,只要被引入的基因包含相对于天然存在基因的一些修饰,例如引入突变或存在可选择标记基因即可。外来或外源基因可以是插入非天然生物体中的自然界中存在的基因、被引入天然宿主内新位置中的天然基因或嵌合基因或遗传构建体。“转基因”为通过转化方法引入基因组内的基因。术语“遗传修饰”包括将向细胞中导入基因、突变细胞中的基因以及改变或调节已经历这些作用的细胞或生物体或者其后代中的基因调控。

[0109] 将启动子或增强子元件“有效连接”至可转录多核苷酸意指将可转录多核苷酸(例如,蛋白质编码多核苷酸或其他转录物)置于启动子的调节控制之下,随后所述启动子控制该多核苷酸的转录。在构建异源启动子/结构基因组合时,一般优选将启动子或其变体置于距离可转录多核苷酸转录起始位点的一定距离处,该距离大约与该启动子与在其天然情况下受其控制的基因(即,该启动子来源的基因)之间的距离相同。如本领域中所众所周知的,对该距离进行一些改变是可容忍的且不丧失功能。

[0110] 对于谷类植物,本文使用的术语“萌发”指吸涨后胚根鞘从种皮长出。

[0111] 种子的“萌发率”指在吸涨开始后的一段时间内,例如多至21天,或者在1至10天的时间内群体中已萌发种子的百分数。可在数天内每日对种子群进行测定以确定随时间变化的萌发百分数。本发明的某些方面涉及改变或调节种子的萌发率。这种改变/调节在种子的寿命内可以是瞬时的。例如,当与收获时的相应非转基因植物的种子相比较时,刚收获后的本发明转基因植物的种子可具有改变的萌发率;然而,在筒仓中储存六个月后,与在筒仓中储存六个月后的相应非转基因植物的种子相比时,本发明之相同转基因植物的种子可具有相同的萌发率,或反之亦然。换言之,在种子寿命中的一些点,当与已暴露于相同条件的合适对照(非转基因或野生型等)相比较时,其将具有改变的萌发率。

[0112] 本文使用的术语“休眠”指有活力的完整植物种子在特定的有利条件下(特别是在温度方面和在水分存在下)不能萌发。休眠是一个定量性状。对于大麦和小麦,如果在20℃下,低于90%的有活力完整种子在吸涨开始后7天后萌发,则认为植物的种子是休眠的。本领域公知的,有活力的种子是在打破休眠例如在室温或热处理下储存一段时间(数周或数月)后能够萌发的那些。

[0113] 本文使用的术语“非休眠”指植物种子在特定有利条件下萌发的能力。对于大麦和小麦,如果在20℃下,至少90%的有活力完整种子在吸涨开始后7天后萌发,则认为植物的种子是非休眠的。

[0114] 本文使用的术语“核酸扩增”指用于利用DNA聚合酶增加核酸分子拷贝数的任何体外方法。核酸扩增导致核苷酸被并入到DNA分子或引物中,由此形成与DNA模板互补的新DNA分子。新形成的DNA分子可用作模板来合成另外的DNA分子。

[0115] 本发明包括多种转基因植物的产生。这些包括,但不局限于具有由本发明小麦植物表现的一种或更多种理想性状的植物。

[0116] 用于产生上述转基因植物的核酸构建体可容易地利用标准技术产生。核酸构建体一般包含一个或更多个调控元件,例如启动子、增强子以及转录终止或多腺苷酸化序列以确保编码目的mRNA的基因的适当表达。这些元件在本领域中是众所周知的。包含调控元件的转录起始区可提供植物中的调控型表达或组成型表达。调控元件可选自,例如,种子特异性启动子或对种子细胞不具有特异性的启动子(例如泛素启动子或CaMV35S或增强的35S启动子)。用于本发明的种子特异性启动子的实例包括,但不局限于小麦低分子量麦谷蛋白启

动子(Colot等,1987)、小麦种子中表达 α -淀粉酶的启动子(Stefanov等,1991)和大麦醇溶蛋白启动子(Brandt等,1985)。启动子可受到诸如温度、光或胁迫的因素的调控。一般而言,可在待表达遗传序列的5'提供调控元件。构建体还可包含增强转录的其他元件,例如nos 3'或ocs 3'多聚腺苷酸化区或转录终止子。

[0117] 一般地,核酸构建体包含可选择的标记。可选择标记有助于鉴定和筛选已转化有外源核酸分子的植物或细胞。可选择标记基因可为小麦细胞提供抗生素或除草剂抗性,或允许利用底物,例如甘露糖。可选择标记优选赋予小麦细胞潮霉素抗性。

[0118] 优选地,所述核酸构建体被稳定地并入植物的基因组中。因此,所述核酸包含允许分子被引入基因组中的合适元件,或所述构建体位于可被并入到植物细胞染色体中的合适载体中。

[0119] 本发明的一个实施方案包括重组载体,其包含至少一个被插入到能够递送核酸分子至宿主细胞中的任何载体中的本发明多核苷酸分子。这种载体包含异源核酸序列,即在天然情况下非邻近本发明核酸分子存在的核酸序列,并且优选来源于除所述核酸分子所来源的物种之外的物种。所述载体可以是RNA或DNA,真核的或原核的,并且一般为病毒或质粒。

[0120] 本发明的另一个实施方案包括重组细胞,其包括用本发明的一个或多个重组分子转化的宿主细胞。可通过能够将核酸分子插入到细胞中的任何方法来实现将核酸分子转化到细胞中。转化技术包括,但不限于转染、电穿孔、显微注射、脂转染(lipofection)、吸附和原生质体融合。重组细胞可保持单细胞的,或者可生长成组织、器官或多细胞生物体。本发明的转化核酸分子可保持在染色体外,或者可整合到转化(即,重组)细胞之染色体中的一个或多个位点上,以这样的方式使得其被表达能力得以保留。优选的宿主细胞为植物细胞,更优选谷类植物细胞,更优选大麦或小麦细胞,甚至更优选小麦细胞。

[0121] 优选地,转基因植物为谷类植物。谷类植物的实例包括,但不限于小麦、大麦、高粱、燕麦和黑麦。更优选地,谷类植物为小麦或大麦。在另一优选实施方案中,谷类植物不是水稻。

[0122] 如本发明的上下文中所限定,转基因植物包括已用重组技术进行了遗传修饰的植物及其后代。一般地,这将调节本文中限定的至少一种多肽在期望植物或植物器官中的产生。转基因植物部分包括所述植物的全部部分和细胞,例如培养组织、愈伤组织和原生质体。转化的植物包含有在转化前其不包含的遗传物质。优选地,所述遗传物质被稳定地并入到植物的基因组中。该被引入的遗传物质可包含天然存在于相同物种中但以重排的顺序或以不同的元件排列的序列,例如反义序列。这些植物均包含在本文的“转基因植物”中。“非转基因植物”是未通过重组DNA技术引入遗传物质而进行遗传修饰的植物。在一个优选实施方案中,所述转基因植物对已引入的每个基因(转基因)均是纯合的,从而使其后代对于期望表型不分离。

[0123] 存在数种用于将外来遗传物质引入到植物细胞中的技术。所述技术包括加速包被到微粒上的遗传物质直接进入细胞中(参见,例如US 4,945,050和US 5,141,131)。可利用农杆菌技术对植物进行转化(参见,例如US 5,177,010、US 5,104,310、US 5,004,863、US 5,159,135)。还利用电穿孔技术来转化植物(参见,例如WO 87/06614、US 5,472,869、US 5,384,253、WO 92/09696和WO 93/21335)。不仅用于转化植物的多种技术可以不同,与外来基

因接触的组织类型也可不同。所述组织将包括,但不局限于胚胎发生组织、I型和II型愈伤组织、下胚轴、分生组织等。可利用本文所述的合适技术在发育和/或分化期间对几乎所有的植物组织进行转化。

[0124] 适用于稳定转染植物细胞或适用于构建转基因植物的多种载体已在例如Pouwels等,Cloning Vectors:A Laboratory Manual,1985,supp.1987;Weissbach和Weissbach,Methods for Plant Molecular Biology,Academic Press,1989;和Gelvin等,Plant Molecular Biology Manual,Kluwer Academic Publishers,1990中进行了描述。一般地,植物表达载体包含,例如,受5'和3'调控序列转录控制的一个或更多个克隆的植物基因和显性可选择标记。这些植物表达载体还可包含启动子调控区(例如控制诱导型或组成型表达、环境或发育调控型表达,或者细胞或组织特异性表达的调控区)、转录起始位点、核糖体结合位点、RNA加工信号、转录终止位点和/或多腺苷酸化信号。

[0125] 可采用数种方法中的任何来确定转化植物的存在。例如,可利用聚合酶链式反应(PCR)来扩增转化植物所特有的序列,并通过凝胶电泳或其他方法检测扩增产物。可利用常规方法从植物中提取DNA并使用将区别转化和未转化植物的引物进行PCR反应。例如,可设计将从读入构建体中的转化载体中扩增DNA区的引物,并根据目的基因设计反向引物。如果植物已得到成功转化,那么这些引物则将仅扩增片段。用于确定阳性转化株的一种替代方法是通过本领域中公知的Southern印迹杂交。还可对被转化的植物进行鉴定,即与未转化植物或野生型植物的区别在于其表型,例如由存在的可选择标记基因赋予的表型,或所期望种子休眠赋予的表型。

[0126] 用于转化谷类植物(例如小麦和大麦)从而通过引入外源核酸来将遗传变化引入植物中的方法和用于由原生质体或未成熟植物胚再生植物的方法在本领域中是公知的,参见例如Wan和Lemaux(1994);Tingay等,(1997);加拿大专利申请No.2,092,588;澳大利亚专利申请No.61781/94;澳大利亚专利No.667939;美国专利No.6,100,447;国际专利申请PCT/US97/10621;美国专利No.5,589,617;美国专利No.6,541,257,并且其他方法在专利说明书W099/14314中进行了阐述。优选地,通过根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)介导的转化方法产生转基因小麦或大麦植物。可将携带期望核酸构建体的载体引入到组织培养植物或外植体的可再生小麦细胞,或合适的植物系统(例如原生质体)中。

[0127] 优选地,所述可再生小麦细胞来自未成熟胚、成熟胚的小盾片、来源于这些的愈伤组织或分生组织。

[0128] 在经典的育种过程中,标记辅助筛选是用于在与轮回亲本回交时筛选所需杂合植物的公认方法。每个回交代中的植物群将对目的基因是杂合的,在回交群中通常以1:1比例存在,并且分子标记可用于区分该基因的两个等位基因。通过从例如嫩芽中提取DNA并用特异性标记测试渗入的理想性状来对用于进一步回交的植物进行早期筛选,同时将精力和资源集中于较少数植物上。为了进一步加快回交过程,可将未成熟种子(开花后25天)的胚切除,并使其于无菌条件下在营养培养基上生长,而不是允许饱满种子成熟。

[0129] 本领域中已知的能够检测Rht-B1等位基因的任何分子生物技术均可用在本发明的方法中。这样的方法包括,但不局限于利用核酸扩增、核酸测序、核酸与经适当标记的探针杂交、单链构象分析(SSCA)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、异源双链分析(HET)、化学切割分析(CCM)、催化核酸切割或其组合(参见,例如Lemieux,2000;Langridge等,2001)。本发明还

包括利用分子标记技术来检测与Rht-B1等位基因相连锁的多态性。这样的方法包括检测或分析限制性片段长度多态性(RFLP)、RAPD、扩增片段长度多态性(AFLP)和微卫星(简单序列重复,SSR)多态性。这些紧密连锁的标记可容易地通过本领域中公知的方法获得,例如由Langridge等综述的Bulked Segregant Analysis(2001)。

[0130] 贯穿本说明书通篇,词语“包含”或变化形式例如“包括”或“含有”将被理解为指包含所述要素、整体或步骤,或者要素、整体或步骤的组,但不排除任何其他要素、整体或步骤,或者要素、整体或步骤的组。

[0131] 本说明书中提及的所有公开文本均通过引用并入本文。本说明书中包含的对文献、作用、材料、装置、条款等的讨论仅出于提供本发明之背景的目的。在本申请的各项权利要求的优先权日之前,不应认为是承认这些事物的任一或全部形成了现有技术基础的一部分,或者为澳大利亚或其他地方存在的本发明相关领域中的公知常识。

[0132] 除非上下文另外明确指出,否则本说明书中使用的没有数量词修饰的和“所述/该”修饰的名词包括复数方面。因此,例如提及的没有数量词修饰的名词包括单个以及两个或更多个;提及的没有数量词修饰的名词包括单个以及两个或更多个;提及的“所述/该”修饰的名词包括单个以及两个或更多个等。

[0133] 尽管已总体上对本发明进行了描述,但是通过参考下述实施例将更容易理解本发明,通过举例的方式提供这些实施例,并且不旨在做出限制。

[0134] 实施例

[0135] 实施例1.材料和方法

[0136] 植物材料

[0137] 高小麦品种Maringá (Rht-B1a)和Maringa遗传背景中的近等基因矮化品系(Rht-B1c)的谷粒获自澳大利亚冬季谷类保藏中心(Australian Winter Cereals Collection, Tamworth, NSW, Australia)。Maringá是一种巴西面包小麦品种。近等基因矮化品系通过与Maringá中轮回筛选的矮化等位基因进行七次回交(BC7)产生(Hoogendoorn等1988)。

[0138] Himalaya大麦和三种先前表征的矮化突变体衍生株描述于表1中。植物种植在温室中的包含有基于堆肥的混合物的20cm盆中,提供有自然光并且冬季月份期间昼长延长至14小时,或者种植在黑山(Black Mountain)或金宁德拉试验站(Ginninderra Experimental Station)的田间,两者均位于澳大利亚的堪培拉。

[0139] 诱变

[0140] 用于诱变大麦和小麦谷粒的方法为简化的先前使用的方法(Zwar和Chandler, 1995)。在4℃下过夜,使每种品系的1至2kg谷粒吸收两倍其质量的水。将其转移至填充有水的2升量筒,并用加压空气充气8小时,其中在4小时后更换一次新鲜水。然后,将谷粒用新鲜制备的溶解于0.1M磷酸钾缓冲液pH 3.0中的1mM叠氮化钠孵育2小时,随后用流水充分洗涤2小时、置于通风橱中干燥过夜并在处理的几天内播种到田间。

[0141] 构建携带过度生长等位基因的衍生品系

[0142] 对大麦过度生长等位基因进行回交、互交和远交以产生一组适用于细化生理表征的品系。在grd2b或gse1n矮化背景中出现四个新的S1n1过度生长等位基因,并且与WT回交两代以允许过度生长表型在高和矮化背景中比较。通过PCR确定丢失的原始矮化等位基因。剩余的7个新S1n1过度生长等位基因出现在S1n1d矮化背景中,并且这些中的4个(S1n1d.7、

Sln1d.8、Sln1d.9和TR103) 始终遍及与WT回交的两代。

[0143] 通过胚乳半粒 (half-grain) 产生 α -淀粉酶

[0144] 制备胚乳半粒并在有或无GA₃ (1 μ M) 的情况下于22℃下温育0、42或72小时。向每个样品添加1.5mL的10mm CaCl₂溶液、均化半粒并通过离心 (20,000g, 5分钟) 使1mL的等份样品澄清。利用Megazyme α -淀粉酶 (Ceralpha) 方法分析上清液的 α -淀粉酶活性。

[0145] 评估谷粒休眠

[0146] 以单行的方式将植物种植在田间, 并每周检查穗两次以监测干燥程度。当所有绿色均已从穗消失时, 认为其是生理上成熟的, 将其切下并带到实验室。将穗放置于通风橱中48小时以促进最终干燥, 特别是易于保持潮湿的基部谷粒, 然后手工脱粒。将谷粒放置于马尼拉纸信封 (manila envelope) 中, 并留在实验室环境中, 持续不同的后熟时间。通过在低强度荧光照明的条件下, 在20℃环境下于湿滤纸上孵育每个品系的100个谷粒来评价萌发。在孵育7天后, 评估每个谷粒样品中的萌发百分数。在这种情况下, 萌发定义为胚根从种皮长出。在第一季节的实验中, 很多谷粒样品, 尤其是来自高小麦植物的谷粒样品表现出低休眠, 并且在后熟仅13至19天后, 存在大量萌发 (至少50%的谷粒萌发)。一般对这些品系不再进行测试。另一些谷粒样品在后熟13至19天后具有较低的萌发, 并且将这些谷粒在32至33天后再次测试, 如果萌发仍然较低, 在后熟48至49天后, 再次测试。在1 (最低休眠) 至4 (最高休眠) 的量表内给出相对休眠得分。

[0147] 在第二季节的实验中, 休眠评估集中在半矮化和对照品系上, 并从收获开始每周确定萌发, 直至休眠结束或直至后熟12周。谷粒休眠测试结果的一个实例提供在图9中。将谷粒休眠的一个量度确定为在室温下使谷粒群中的至少50%谷粒萌发的谷粒储存周数 (也称为后熟), 如通过前段中所述的方法评估的。

[0148] 大麦和小麦过度生长品系的胚芽鞘长度

[0149] 在完全充分供应水的情况下, 在12℃下12小时和在8℃下12小时的每日温度方案中, 于黑暗中生长21天后, 确定小麦和大麦幼苗的胚芽鞘长度。

[0150] 在干燥条件下的深播发芽 (emergence)

[0151] 将谷粒样品播种在温室中的土壤的10cm深处 (标准盆栽土)。初始土壤含水量为12%至14% (w/w)。在不添加任何额外水以模拟田间的干燥播种条件的情况下进行萌发、早期生长和幼苗建立直至第三叶长出。评价产生发芽幼苗的谷粒的百分数和发芽时间。

[0152] 叶伸长速率和GA剂量-响应曲线

[0153] 方法在之前已进行了描述 (Chandler和Robertson, 1999)。利用4-参数Hill方程将曲线拟合至数据点。

[0154] 测量根长

[0155] 在控制条件下和在田间生长的植物中评估根生长。在前者情况下, 通过扫描评估根长, 而在田间时, 则取出2m钻芯 (core) 并沿该钻芯以10cm的间隔评估根数目。

[0156] DNA的PCR扩增和测序

[0157] 通过Ellis等, 2005的方法从大麦或小麦叶制备DNA。利用其中一个引物对Rht-B1基因特异性的引物对 (表2) 扩增小麦序列。利用3' UT区中的保守正向引物和对B基因序列特异性的反向引物扩增该基因的3' 半。利用对Sln1、Spy1和Gse1基因特异性的引物PCR扩增大麦序列。用Exosap-IT (Affymetrix) 处理扩增的片段以除去引物, 然后利用Big Dye

Terminator (Applied Biosystems) 进行测序。

[0158] DNA序列

[0159] 小麦Rht-A1a、Rht-B1a和Rht-D1b基因的序列及其编码的蛋白质分别在登录号JF930277、JF930278和JF930281中。通过ClustalW对氨基酸序列进行比对,并显示不同的氨基酸(图7)。矮化Maringa衍生株中的Rht3-B1c基因的部分核苷酸序列示于SEQ ID NO.1中。

[0160] 由Rht-B1c等位基因编码的Rht-B1c蛋白的序列示于SEQ ID NO.3中。

[0161] 大麦Sln1和Spy1基因的序列登录号分别为AK372064和AF035820。

[0162] 实施例2. 分离包含新Rht-B1等位基因的小麦突变体

[0163] 按照实施例1中所述用叠氮化钠处理包含Rht-B1c等位基因的小麦品种Maringá的谷粒,该等位基因导致严重植物矮化。将经诱变的谷粒播种在田间并且允许所得M₁植物自体受精。在成熟后,从M₁植物收获M₂谷粒。将M₂种子播种在田间,或者以高密度播种在温室中的平板中(图1),并在早期生长期或在田间成熟时筛选增加的高度。通过这些方法筛选出约160万株M₂植物。图1是示出了可多么容易地鉴定出突变体。筛选出约400株植物,这些植物表现出提早的叶伸长速率或者其成熟植物高度的范围为稍微高于矮化亲本品种Maringa (Rht-B1c) 至与近等基因Rht-B1a(野生型等位基因) 植物一样高。这些是自体受精植物,后代植物在控制条件下生长,并将与亲本植物(Rht-B1c) 和野生型植物(Rht-B1a) 进行比较(图2)。将这些植物称为“过度生长突变体”,因为与亲本品种相比,他们以增加的速率生长或生长到增加的成熟高度。

[0164] Rht-B1c等位基因中的矮化突变归因于Maringa的Rht-B1基因中的2026bp插入物(Wu等,2011)。PCR测试揭示400株经筛选突变体植物中约一半对该基因中插入物的存在呈阳性;这些植物均已保留了Rht-B1基因。剩余的经筛选植物对PCR测定呈阴性并且似乎全部缺乏Rht-B1基因,但是根据阳性PCR扩增产物,仍然存在由D基因组(Rht-D1) 编码的同源基因。在该后一组中,有很多具有不同的形态学改变和差的穗(spike) 能育性。他们可能表示Rht-B1基因以及不同量的侧翼染色体DNA缺失。对这些缺失品系不进行进一步研究。

[0165] 通过用PCR扩增基因区域来对139个各非缺失突变体中的Rht-B1基因进行测序。鉴定出35个新的衍生Rht-B1c等位基因,每一个均为Maringa中Rht-B1c等位基因的变体。将这些命名为Rht-B1c.1、Rht-B1c.2、Rht-B1c.3等。将它们列于表3中。35个等位基因中的很多由包含相同特异性突变的多个品系表示。在一些情况下,这些多个品系可以是同胞,而在另一些情况下,他们必须表示独立的突变事件。总共有62个独立事件,产生了35个等位基因。

[0166] 这些突变体呈现出导致过度生长表型的三种不同类别的突变。在第一类别中,10个等位基因包含Rht-B1基因中的提前翻译终止密码子。在大多数情况下,突变体密码子为从TGG密码子(编码Trp) 变成TGA密码子(终止密码子)。在大麦中,DELLA中的提前终止密码子导致伸长的细长表型和雄性不育。相比之下,除一个例外,这10个突变体小麦品系的植物均生长至与高(野生型) 等位基因系(isoline) 相同或接近其的高度,并且示出与野生型类似的能育性。可推测,那些突变体中A和/或D基因组Rht-1蛋白的表达为B基因组无效突变基因提供了遗传补偿,并将表型表达限制在“高”而非“细长”。那个例外,唯一的Rht-B1c.22代表的植物(品系TR544) 为半矮化的而非“高”。该表型可能归因于对这些植物中突变的Rht-B1c.22基因的剪接发生了改变,从而产生具有不同框内插入物的Rht-B1蛋白(下文所讨论的)。

[0167] 第二类别包括对B基因组编码的Rht-B1蛋白的氨基酸替换。20个实例列于表3中。关注将这20个替换与大麦中分离的DELLA替换突变体进行比较(实施例5),参见图3。在这两个物种中,存在31个单氨基酸替换,包括其中发生相同氨基酸改变的四个位点。还注意到,尽管是独立的,但是在小麦和大麦内均出现了相同的突变,其中发现该相同突变位于衍生自M₂谷粒不同亚群的品系中的对应位置。

[0168] 图3示意性地示出了突变体中相对于大麦和小麦蛋白质C端区域中保守基序位置的氨基酸替换位点。观察结果,过度生长突变分布在C端区域的部分,表明具有相当大的可能性改变了DELLA蛋白与相互作用蛋白质伴侣的结合。

[0169] 第三类的突变体包括5个等位基因,各个等位基因均包含对Rht-B1区的突变,预测该突变涉及切除大部分Rht-B1基因中产生Rht-B1c等位基因的插入物(表3)。这些等位基因都影响直接邻近于剪接供体和受体位点的四个核苷酸之一。在包括Rht-B1c.22等位基因的一些情况下,并基于使用的剪接预测软件,这些序列改变潜在地改变剪接的优选位点,从而产生具有稍微更大或更小框内插入物的Rht-B1蛋白。推测这些剪接等位基因产生较少的含有30氨基酸插入物的Rht-B1蛋白,和/或产生框内插入物发生了改变的经修饰Rht-B1蛋白。通过用RT-PCR方法检测RNA来获得剪接效率发生改变的实验证据。

[0170] 实施例3. 包含新Rht-B1等位基因的小麦突变体的表型测试

[0171] 对包含新Rht-B1等位基因的小麦过度生长突变体的与田间实际应用相关的多个性状进行测试以用于商业化生产小麦。测量成熟茎的长度、胚芽鞘的长度和获自突变植物的谷粒的相对谷粒休眠并与对照植物进行比较。数据包含在表4中。评估成熟植物在不同灌溉田条件(即灌溉良好)下和不同季节中的茎长。在大多数情况下,获得四个独立的数据点并将利用其计算表4中所示的平均值,平均值表示为相对于Rht-B1a植物的百分数。不同的等位基因导致不同的茎长,其中一些实例(例如Rht-B1c.6、c.8、c.21)为相当矮化的,而另一些(Rht-B1c.11、c.25、c.31)与Rht-B1a等位基因系一样高。在大多数情况下,携带同等位基因的品系之间的不同很小。基于针对Rht-B1b等位基因系植物观察到的约为野生型(高)植物高度之81%的半矮化植物,存在15个新的等位基因,这些基因导致类似程度的矮化,例如为高的高度的75%至91%。

[0172] 还测量突变植物的胚芽鞘长度,并计算为Rht-B1a植物平均胚芽鞘长度的百分数。来自2至4个独立测量的平均值示于表4中。与针对茎长所发现的相比,一个品系内胚芽鞘长存在更多不同。部分地,这可能与来自田间和温室来源的谷粒之间的差异相关。在下一种植季节中,田间种植谷粒可用于绝大多数品系,并且还进行胚芽鞘测量。预期这些将表现出较少的不同。总而言之,茎长和胚芽鞘长度之间一般呈正相关。在相关性似乎失效的一些情况下,需要进行进一步工作以评估差异的统计学显著性。

[0173] 用收获自两个田间季节的谷粒来评估大多数突变品系谷粒的休眠。在两个季节中,高和Rht-B1b Maringa等位基因系均表现出低的休眠,而Rht-B1c等位基因系则具有相对高的休眠。不同的过度生长品系之间存在相当大的相对谷粒休眠得分差异。一些品系与对照相比较的数据示于图9中。特别关注的是提供合适半矮化植株高度并保留相当大的谷粒休眠的等位基因,例如Rht-B1c.9、c.17、c.22、c.23、c.24、c.26、c.27。这些包括目前被回交成优良品种的四个半矮化品系。

[0174] 在田间于第三个季节测试多个品系。植株高度和休眠得分的数据示于表8中。该结

果在趋势上与之前两个季节一致,表明在标准萌发测试中(实施例1),一些突变品系的谷粒需要显著更长的储存(“后熟”)以使50%的谷粒萌发。尽管所述品系和对照之间的休眠趋势在季节之间相同,但是任一品系的绝对数目在季节间有所不同。

[0175] 实施例4.分离大麦的过度生长突变体

[0176] 选择“Himalaya”大麦的三个矮化突变体作为初始材料以分离大麦的过度生长突变体。每个突变体在涉及以下的基因中包含限定的单个核苷酸替换:(i) GA生物合成,即编码GA3-氧化酶的Grd2;(ii) GA受体“GID1”,由Gse1基因编码;和(iii) GA响应,即编码大麦中DELLA蛋白的Slnd1基因。用叠氮化钠处理各个矮化品系的谷粒、将其播种在田间并允许自体受精从而产生M1种子。播种这些种子以产生M1植物,从其收获M₂谷粒。在第二叶期筛选所得的生长于土壤中的M₂幼苗以获得表现出比其矮化同胞生长更快的那些。从播种的总共约10⁶个谷粒(表示约50,000个M₁穗)中收获三种不同类别的突变体。

[0177] 与该申请最相关的第一类别包括22株与其矮化同胞相比生长更快的植物。这些是完全能育的,而且其后代植物是一样的并表现出快速生长。在各种情况下,通过对合适的PCR片段测序来确定原始矮化突变的存在。由于存在的矮化突变,其叶伸长速率比预期更高。他们示出一定程度范围内的生长增强,一些的叶伸长速率略微但显著快于其矮化亲本,而另一些则与相应高野生型植物伸长的一样快或甚至略比其快(参见下文)。不同过度生长突变体在成熟时的高度范围在矮化亲本和野生型之间至与野生型一样高。

[0178] 仅在Slnd1矮化背景中收获到的第二类别包括三株植物,这三株植物均比其矮化同胞生长的更快,但仍保留一定程度的矮化性。在下一代中,这些植物的后代由矮化植物和典型的伸长细长植物以约3:1的比例组成。进一步的分析(下文)表明他们包含新的slnd1等位基因,其中第二突变起基因内抑制Slnd1突变的作用。

[0179] 在GA生物合成和GA受体矮化背景下观察到的第三类别由典型的伸长细长突变体组成。这些容易地通过其独特的高度伸长的表型和浅绿色,以及其移植后的高度伸长的茎和能育性而被识别。该类突变体是预期到的,因为伸长的slnd1无效等位基因对GA生物合成或GA受体功能中的缺陷是上位的(Chandler和Robertson,1999)。

[0180] 实施例5.鉴定大麦突变和遗传连锁研究

[0181] 由Slnd1矮化背景(上文的第二类别)中的三种分离品系的细长植物制备DNA,并对Slnd1基因进行测序。各种品系植物的Slnd1基因中均包含不同的新突变,从而产生开放阅读框(ORF)内的提前翻译终止密码子。新的突变等位基因为Slnd1的衍生物,并因而将其命名为Slnd1.1、Slnd1.2、Slnd1.3(表1)。它们表示新的等位基因内突变,其中第二突变将Slnd1矮化基因座改变成典型的功能丧失的伸长slnd1等位基因。不对这些植物进行进一步研究。

[0182] 对各个过度生长突变体(上文的类别)中的完整Slnd1基因进行测序以证实Slnd1等位基因仍然存在,并确定该基因中是否发生其他突变,因为它是可导致过度生长表型之新突变的数个候选基因之一。在22株植物的20株中均发现Slnd1 ORF的新突变。这些突变限定了Slnd1基因的11个新等位基因。一些植物携带相同的突变,并且可能是同胞植物。7个新Slnd1过度生长等位基因发生在Slnd1矮化背景中,因而是包含基因内抑制突变的等位基因。将其命名为Slnd1.4至Slnd1.10。三种突变发生在grd2b背景中(sln1m、sln1o、sln1s),一种发生在gse1n背景中(sln1n)。各个新等位基因与其亲本等位基因的不同之处均在于导致SLN1蛋白序列中发生单氨基酸替换的单核苷酸替换。所获得的氨基酸替换列于

表1中 (TR品系)。它们均发生在对应于GRAS结构域的SLN1蛋白的C端60%中,并且它们所有均对应于上文所述小麦突变体中的类似突变。观察到两个相同的突变事件,其均导致G829A氨基酸替换,一个发生在Sln1d.7突变群中,而另一个发生在sln1s群中。这些均是独立的突变事件,因为前者为Sln1d等位基因的衍生物,而后者发生在grd2b矮化背景中的野生型Sln1基因中。

[0183] 剩余的两个过度生长品系 (TR26、TR103) 缺乏Sln1 ORF中的任何新突变,并且潜在地表示另一些基因中的突变。它们均发生在Sln1d矮化背景中。将这些品系和作为阳性对照的携带Sln1d.5的Himalaya杂交以评估Sln1d矮化等位基因和新过度生长等位基因之间的遗传连锁。来自对照WT×Sln1d.5杂交的F₂群的最大叶伸长速率表现出预期的3:1 (Sln1d.5:WT) 分配。不存在具有Sln1d亲本之缓慢生长速率的F₂个体,表明在该相对小的群体中原始矮化突变和第二过度生长突变之间完全连锁。因而,该第二突变为基因内抑制突变。在TR103×WT F₂群中观察到类似的结果,表明TR103中的过度生长突变与Sln1d完全连锁。相比之下,TR26×WT F₂群中包括大部分与Sln1d具有相同的生长速率的幼苗,约25%与WT具有相同的生长速率,而一些幼苗具有中间生长速率。这些结果与TR26中的过度生长突变一致,其位于不与Sln1连锁的基因中。

[0184] 对TR26中的一些其他候选GA信号传导基因进行测序。GA受体 (Gse1) 和两个F-盒候选基因的序列与野生型中的相同,但是Spindly1的序列显示导致SPY1的第六TPR基序中发生氨基酸替换的单核苷酸替换 (spy1a,表1)。在拟南芥中,该区域对SPY活性是重要的,因为其包含几个突变等位基因 (Silverstone等,2007)。SPY1编码GA信号传导的负调节蛋白,其最初在拟南芥中被鉴定出,但随后显示,大麦 (Robertson等,1998) 和水稻 (Shimada等,2006) 中存在功能相关的基因。

[0185] 总之,这22个大麦过度生长突变体表示13个独立的突变事件。这些中的11个为导致SLN1中单氨基酸替换的新Sln1等位基因。第12个为与Sln1紧密连锁,但位于未鉴定区域中,可能是启动子突变,而第13个为非连锁基因Spy1中的新等位基因。

[0186] 实施例6. 包含新Sln1等位基因的大麦的叶伸长速率

[0187] 标准条件下由第一叶获得的最大日伸长速率 (LER_{max}) 为GA响应的可靠度量 (Chandler和Robertson,1999),因而针对所有大麦过度生长品系及其亲本进行测定 (表5)。虽然与其各自的矮化亲本相比,这13种原始过度生长品系全部均具有显著更高的LER_{max}值,但是生长提高的程度以等位基因依赖性方式变化。在其原始的矮化遗传背景中以及和高WT背景回交后的两种情况下,对三个过度生长等位基因 (sln1m、sln1n和sln1s) 进行比较。矮化背景中的生长速率始终较低,表明过度生长等位基因仍然具有因为GA生物合成或GA受体功能受损导致的降低的GA信号传导。在野生型背景中,过度生长等位基因趋向于提高生长速率。

[0188] 实施例7. 通过胚乳半粒产生α-淀粉酶

[0189] 通过野生型大麦胚乳半粒产生α-淀粉酶依赖于活性GA的存在。因此,监测不存在活性GA时的α-淀粉酶活性提供了对突变体中“基础”GA信号传导的方便测量。与基础水平相比,与GA₃孵育72小时后,具有正常GA敏感性的两个对照品系 (WT,grd2b) 的α-淀粉酶活性增加了接近15倍 (表5)。当检测过度生长突变体及其矮化亲本时,成熟胚乳半粒中的初始α-淀粉酶活性量非常低,但与其矮化亲本相比,一些过度生长品系 (Sln1d.4、Sln1d.7、Sln1d.8、

Sln1d.9;Sln1d,spyla;grd2b,sln1m;grd2b,sln1o;grd2b,sln1s)在繁育后表现出增加的 α -淀粉酶产生,而另一些(Sln1d.5、Sln1d.6、Sln1d.10;gseln,sln1n)则没有。在Sln1d的过度生长衍生物中,Sln1d.9衍生物是例外的,其在繁育42小时和72小时均积累很高水平的 α -淀粉酶,但是该品系仅表现出对生长速率的适度恢复(表5)。

[0190] 实施例8.与过度生长等位基因相关的其他性状

[0191] 在生长期和成熟时,除总体高度不同之外,过度生长品系植物的外观均接近正常。Sln1d的9个过度生长衍生物株的高度有所不同,但在成熟时没有一个与野生型一样高。过度生长品系的胚芽鞘长度总体上根据LER_{max}值和最终植株高度而变化。

[0192] 过度生长突变大麦植物的一个一般特征是其产生比其矮化亲本大的谷粒。在不同生长季节的不同收获物中,谷粒大小一般介于矮化亲本(谷粒质量约40mg)和高野生型(谷粒质量约55mg)之间。然而,在成熟时与野生型一样高的过度生长品系中有几个具有可观地更大的穗和谷粒。在不同的温室代中,grd2b和sln1m的谷粒平均比grd2b矮化亲本的谷粒大40%。当与Himalaya背景回交时,观察到谷粒重量平均增加20%,当与商业化品种Sloop远交时,观察到BC₂材料中增加了15%。当获得Sloop的BC₃姐妹品系时,进行全面分析。

[0193] 实施例9.对一些最佳标记的描述

[0194] 可将小麦或大麦中的新Rht-B1c等位基因引入到育种过程中,并随后使用该过度生长等位基因的普通最佳标记进行标记辅助的筛选。例如,对于小麦,这包括两个引物之间的PCR扩增,其中一个在Rht-B1c基因的2062bp插入物中,而另一个在该插入物的外部,例如在Rht-B1编码区中。合适产物的扩增仅在模板DNA来自包含至少一个拷贝的过度生长基因的植物材料时发生。这些中的两个实例提供在表2中。利用这些扩增产物可容易地将来源于Rht-B1c的新等位基因与其他半矮化等位基因Rht-B1b和Rht-D1b半矮化基因区别开来。可容易地通过利用Rht-B1c中位于插入位点侧翼的引物对来产生针对除Rht-B1c等位基因或其衍生等位基因之外的Rht-B1基因的标记。

[0195] 实施例10.将所选的等位基因与其他小麦品种回交

[0196] 上述大麦中杂交研究表明突变Rht-B1等位基因与过度生长表型之间具有100%共遗传性(coinheritance)。在小麦中进行两个杂交实验。在第一个中,6个过度生长品系的植物与Rht-B1b等位基因(半矮化)纯合的Maringa杂交,并且另外4个品系的植物与对野生型Rht-B1a等位基因(高)纯合的Maringa杂交。使F₁后代自交以产生F₂植物。在任何情况下,在F₂代中均未检测到任何矮化(纯合Rht-B1c)植物的存在,表明对于10个品系中的每一个,在新Rht-B1等位基因和过度生长表型之间观察到100%遗传连锁,并且新的突变抑制矮化性在基因Rht-B1中而非在该基因组中的其他地方。在与Rht-B1b的杂交中,F₂后代中的过度生长等位基因和Rht-B1b显示出预期的遗传模式,即1:2:1纯合:杂合:纯合比例。在一个杂交中,观察到过度生长亲本(品系TR550,Rht-B1c.8)明显矮小于Rht-B1b,并且F₂群的高度(纯合过度生长=65cm,杂合=80至85cm,纯合Rht-B1b=95至100cm)之分离比例不与1:2:1显著不同,表明该表型由单基因差异决定。重要的是,该适度矮化的过度生长等位基因与品系TR550的高休眠相关。此外,来自田间种植F₂植物的F₃谷粒群显示Rht-B1c.8纯合的F₂植物具有高休眠,Rht-B1c.8/Rht-B1b杂合的F₂植物具有中等休眠,而Rht-B1b纯合的F₂植物具有低休眠。该结果表明该过度生长等位基因决定杂交后的高度和休眠表型两者。

[0197] 与Maringa Rht-B1a杂交的4个品系为命名为544、612、705和791(表4)的品系,其

分别包含Rht-B1等位基因Rht-B1c.22、Rht-B1c.23、Rht-B1c.24和Rht-B1c.26。在各种情况下,在F₂代中均观察到预期的基因型分离比例。过度生长等位基因纯合的F₂植物表现出预期的高度降低和增强的休眠,表明可将突变Rht-B1等位基因杂交成其他遗传背景并保留表型效应。这还表明由突变Rht-B1等位基因导致的两个表型(即半矮化植物高度和增强的休眠)的遗传连锁。

[0198] 在第二个实验中,通过回交将所选的过度生长等位基因引入到优良的育种品系中,意图用新的过度生长等位基因替换其现有的半矮化基因(Rht-B1b或Rht-D1b)。这样做是为了将成熟时的半矮化高度表型与其他有益性状例如经改良的发芽和更高的谷粒休眠水平结合。使用作为花粉供体的品系544、612、705和791之植物进行与10个不同优良小麦品种植物的杂交,所述优良小麦品种为Crusader、EGA Gregory、Espada、Lincoln、Magenta、Yitpi、Young、KWS Chasmin、KWS Scirocco、McNeal和Outlook。F₁谷粒从所有的杂交获得,并将三个供体等位基因播种以用于进一步与轮回亲本回交。PCR标记用于证实F₁植物是杂种。4个供体中有一个略高于具有Rht-B1b的植物,而四个供体中有3个的高度彼此之间以及与具有Rht-B1b的植物(半矮化)均非常类似。比Rht-B1b略微更矮化并且具有优异谷粒休眠的一个或两个另外的等位基因包含在杂交试验中,例如Rht-B1c.3和/或Rht-B1c.17。

[0199] 讨论

[0200] 在诱变包含严重矮化等位基因的矮化品种后分离大麦和小麦的过度生长突变体。目的突变体保留了导致亲本品种严重矮化的突变,但由于在同一Rht-B1或Sl₁基因中新诱导的突变却比亲本植物生长得更快。他们以增强的GA信号传导为特征,但是增强的程度对所考虑的等位基因和GA响应两者都是特异的。该结果表明De11a基因(大麦中的Sl₁,小麦中的Rht-B1)为最经常发生过度生长突变的位点。仅在一种情况下涉及到一个不同的基因,即在大麦中,过度生长突变体归因于Sp₁中的新突变。

[0201] 5个独立品系的证据支持以下结论:本文鉴定的De11a基因中的新突变导致过度生长表型,而不是非连锁突变或不同基因中的突变,或者简单地用诱变剂处理的一般结果。第一,对于13个大麦突变体中的每一个,对约与Sl₁具有相同长度的“对照”基因(Gse1)进行测序,并且在任何情况下,均未检测到碱基改变。第二,观察到的突变几乎都是(31个突变体中有30个)G至A的替换,假定C至T表示相反DNA链上的G至A,则与之前在另一些基因座处对叠氮化物诱导的突变体的观察结果类似,所述基因座包括Gse1(GA受体)、Sl₁、GA生物合成和淀粉生物合成的基因。遗传密码的冗余性预测到对于随机的G至A改变,33%将不具有相应的氨基酸替换。不过,在超过90个新诱导的突变体中,未观察到一个沉默核苷酸替换的情况,每个突变体均包含在这些不同大麦基因的开放阅读框中的突变。这种不存在表明突变仅在氨基酸改变损害蛋白质功能,导致表型改变时获得。第三,鉴定的突变几乎总是涉及保守的氨基酸残基。例如,除仅有的两个或三个例外之外,谷类物种和分类学上远距的拟南芥之间的DELLA突变涉及相同的氨基酸残基。这可见于图8中,其示出了对小麦Rht-B1a和拟南芥GAI蛋白的比对,并显示出两个序列之间保守的相同氨基酸。与改变保守性差的残基相比,替换高度保守的氨基酸残基将更可能导致蛋白质活性的功能破坏。第四,在大麦中、大麦和小麦之间以及小麦中,独立的诱变处理提供了相同突变的实例,并因而诱导相应的相同氨基酸替换。第五,在杂交和随后的分离之后,在完成连锁研究时,在突变表型和突变基因序列之间总是观察到100%连锁。

[0202] 过度生长等位基因增强GA信号传导,因而最可能降低DELLA蛋白的量或其功能活性,后者可能涉及其与另一些蛋白质的相互作用。在差别剪接的一些情况下,仍然可能产生具有不同框内氨基酸插入物的DELLA蛋白。例如,突变体偶然产生比Rht-B1c蛋白中的30氨基酸插入物更长或更短的插入物。如果氨基酸替换导致对GA-GID1复合物或F盒亚基具有更强亲和力的话,则其可导致DELLA蛋白降解增加。随机改变不可能增强蛋白质相互作用,但是利用有效的突变体筛选仍可获得极其罕见的事件。之前通过抗体方法来尝试确定DELLA蛋白在小麦植株不同部分中的含量是不成功的(Pearce等,2011)。本发明人认为更可能的是按照上文所述产生的突变DELLA蛋白对其他相互作用蛋白伴侣的亲和力降低。大量的氨基酸替换发生在LHR1基序中,其为在拟南芥中涉及与PIF4和PIL5相互作用的区域(de Lucas等,2008;Feng等,2008)。相对于大麦中的 α -淀粉酶产生,特定过度生长等位基因对生长的不同影响表明不同的DELLA蛋白区与不同的蛋白伴侣相互作用以调控这两种响应。

[0203] 未预期到的是,几乎所有经鉴定的过度生长突变均位于单个基因中,尤其是已经被证明在控制和田间两种条件下对控制多种植物物种生长至关重要的基因。DELLA编码基因的新等位基因在小麦和大麦两者中的优势强调了该基因在控制生长方面的重要性。例如,在GA生物合成矮化的过度生长衍生株中,不考虑分析的突变数目,未鉴定出可能增加活性GA含量的突变,例如GA分解代谢基因的突变。在小麦中成功分离出很多新的突变源于以下事实:由半显性等位基因(例如Rht-B1c)导致的矮化性实际上是一种二倍体性状,仅涉及三个基因组中的一个。这使得能够筛选多种丧失功能(相对于Rht-B1c)的衍生等位基因,其中很多涉及基因内二次突变。

[0204] 在两种物种中,获得农业上重要性状(即植株高度)的新等位基因。此外,在另一些GA影响的性状中观察到一些变化,其中一些具有实际益处。在无需补充GA的情况下,在大麦中同时观察到谷粒尺寸变大和 α -淀粉酶产生增加。认为这两个性状是有用的,例如分别用于改善早期幼苗活力和改善制麦芽性能。大的小麦突变体集合包括矮化程度范围超过现有Rht-1半矮化等位基因的矮化程度范围的突变体,预期其在将特定等位基因靶向特定环境方面具有价值(Flintham等,1997)。还在具有实际重要性的另一些GA性状中观察到大量变化,例如相对于Rht-1纯合的植物增加的胚芽鞘长度和相对于Rht-B1a或Rht-B1b纯合的植物增加的谷粒休眠。这些等位基因应该充当向育种品系中引入性状组的主要遗传决定簇,所述引入过程通过可用于该基因的最佳分子标记加速。

[0205] DELLA基因在多种物种中是高度保守的。小麦Rht-B1a蛋白与拟南芥GAI蛋白之间的序列比较示于图8中。可以看出,不同物种的这些蛋白质序列之间存在大程度的同一性。重要的是,在小麦过度生长突变体中发现的20个氨基酸替换中,除两个或三个之外,全部位于由小麦和拟南芥基因编码的多肽之间的保守氨基酸中。这强烈地支持了在多种物种中,位于DELLA蛋白中这些特定位置的残基对活性特别重要。

[0206] 表1:大麦品系、基因型和突变

[0207]

品系	基因型	突变 ¹		参考文献
		核苷酸	氨基酸	
Himalaya	WT			
<u><i>Sln1d</i> 及衍生基因</u>				
M640	<i>Sln1d</i>	G137A	G46E	Chandler 等, 2002
M763seg ²	<i>Sln1d/Sln1d.1</i>	G294A ³	W98ter ³	本研究
M778seg ²	<i>Sln1d/Sln1d.2</i>	G1041A ³	W347ter ³	“ ”
M783seg ²	<i>Sln1d/Sln1d.3</i>	G1839A ³	W613ter ³	“ ”
TR1	<i>Sln1d.4</i>	C1469T ³	S490F ³	“ ”
TR9	<i>Sln1d.5</i>	G839A ³	R280H ³	“ ”
TR13	<i>Sln1d.6</i>	G803A ³	R268H ³	“ ”
TR26	<i>Sln1d, spyla</i>	G812A (<i>Spy1</i>)	G271D (<i>SPY1</i>)	“ ”
TR56 ⁴	<i>Sln1d.7</i>	G829A ³	A277T ³	“ ”
TR60 ⁴	<i>Sln1d.8</i>	G691A ³	V231M ³	“ ”
TR100 ⁴	<i>Sln1d.9</i>	G1442A ³	R481H ³	“ ”
TR103 ⁴	-	-	-	“ ”
TR107	<i>Sln1d.10</i>	G844T ³	V282F ³	“ ”
<u><i>grd2b</i> 及衍生基因</u>				
M463	<i>grd2b</i>	-		Wolbang 等, 2004
TR216	<i>grd2b, sln1s</i>	G829A	A277T	本研究
TR261	<i>grd2b, sln1m</i>	G680A	G227E	“ ”
TR305	<i>grd2b, sln1o</i>	C1454T	S485F	“ ”
<u><i>gse1n</i> 及衍生基因</u>				
M693	<i>gse1n</i>	-		Chandler 等, 2008
TR407	<i>gse1n, sln1n</i>	G710A	C237Y	本研究
<u>其他衍生品系</u>				
M240 ⁴	<i>sln1m</i>	如上所述		本研究
M242 ⁴	<i>sln1n</i>	“ ”		“ ”
M243 ⁴	<i>sln1s</i>	“ ”		“ ”
M244seg ²	<i>sln1s/Sln1d.7</i>	“ ”		“ ”
M247 ⁴	<i>spyla</i>	“ ”		“ ”
M248	<i>grd2b, spyla</i>	“ ”		“ ”
M249	<i>gsell, spyla</i>	“ ”		“ ”

[0208] 脚注

[0209] ¹坐标指在来自Himalaya的以ATG开始且以TGA结束的HvSln1编码序列或SLN1氨基

酸序列 (Genbank 登录号 AK372064)) 中的位置。对于 TR26, 该坐标指在以 ATG 起始且以 TGA 结束的 HvSpy1 (AF035820) 编码序列或 SPY1 氨基酸序列中的位置。

[0210] ²谷粒为来自在所示 Sln1 基因座处分离的杂合子的后代 (纯合的伸长细长植物是不育的)。

[0211] ³Sln1d.1 至 Sln1d.10 为 Sln1d 的衍生物, 其不仅包含所示新替换, 还包含原始的 Sln1d 突变。仅过度生长品系 (Sln1d.4 至 Sln1d.10) 可保持为纯合子。

[0212] ⁴在筛选所示等位基因的纯合子之前, 与 Himalaya 回交两次后所建立的品系。

[0213] 表2: 本文所用 PCR 引物的核苷酸序列 (5' 至 3')

[0214]

测序引物			SEQ ID NO
1	Rht3 F40	GGCAAGCAAAAGCTTGAGATAGAT	SEQ ID NO:17
	Rht3 R55	GGTGCAGGGCAATAAGATG	SEQ ID NO:18
2	Rht3 F54	GACAGCACCAGACGCTCAC	SEQ ID NO:19
	Rht3 R2	GCTCTCGACCCAGGAGGAG	SEQ ID NO:20
3	Rht3 F48	TGGAGCAGCTGGAGATGG	SEQ ID NO:21
	Rht3 R8	TAGGGGCAGGACTCGTAGAA	SEQ ID NO:22
4	Rht3 F13	GCGCTGGTGAAGCAGATAC	SEQ ID NO:23
	Rht3 R40	TTCAAACCTCGCGGTCACG	SEQ ID NO:24
插入引物			
1	NHBF.2	TCTCCTCCCTCCCCACCCCAAC	SEQ ID NO:25
	Rht3 R5	GCGTCCGGTGGAGTTGCC	SEQ ID NO:26
2	Rht3 F6	GTGTTTTTCCCAGCCCTCTT	SEQ ID NO:27
	Rht3 R2	GCTCTCGACCCAGGAGGAG	SEQ ID NO:28
D基因组特异性引物			
	Rht-D1F	GAGGTAGCTCGCGGATCA	SEQ ID NO:29
	Rht-D1R	CGTTCAAACCTCGCGAGA	SEQ ID NO:30

[0215] 表3: 小麦品系、Rht-B1 基因型和突变

[0216]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	<i>Rht-B1c</i> 中的突变	氨基酸替换或影响
<i>Rht-B1a</i>	野生型	无
<i>Rht-B1b</i>		
<i>Rht-B1c</i>	插入物	插入物
<i>Rht-B1c.1</i>	G2715A	G260E
<i>Rht-B1c.2</i>	G2726A	V264M
<i>Rht-B1c.3</i>	G2747A	A271T
<i>Rht-B1c.4</i>	G2829A	G298D
<i>Rht-B1c.5</i>	G2831A	A299T
<i>Rht-B1c.6</i>	G2849A	A305T
<i>Rht-B1c.7</i>	C2865T	A310V
<i>Rht-B1c.8</i>	C2966T	P344S
<i>Rht-B1c.9</i>	C2972T	L346F
<i>Rht-B1c.10</i>	G3065A	G377R
<i>Rht-B1c.11</i>	G3076A	W380ter
<i>Rht-B1c.12</i>	C3117T	P394L
<i>Rht-B1c.13</i>	G3190A	W418ter
<i>Rht-B1c.15</i>	G3477A	R514H
<i>Rht-B1c.16</i>	C3507T	T524I
<i>Rht-B1c.17</i>	C3519T	S528F
<i>Rht-B1c.18</i>	G3624A	G563D
<i>Rht-B1c.19</i>	G3697A	W587ter
<i>Rht-B1c.20</i>	G3874A	W646ter
<i>Rht-B1c.21</i>	G2792A	V286M
<i>Rht-B1c.22</i>	CC2108TA	P58ter
<i>Rht-B1c.23</i>	G3047A	D371N
<i>Rht-B1c.24</i>	G2864A	A310T
<i>Rht-B1c.25</i>	C3071T	Q379ter
<i>Rht-B1c.26</i>	G3671A	E579K
<i>Rht-B1c.27</i>	G148A	剪接
<i>Rht-B1c.28</i>	G148T	剪接
<i>Rht-B1c.29</i>	G147A	剪接
<i>Rht-B1c.30</i>	G2084A	剪接
<i>Rht-B1c.31</i>	G2335A	W133ter
<i>Rht-B1c.32</i>	G2083A	剪接
<i>Rht-B1c.33</i>	G3841A	W635ter
<i>Rht-B1c.34</i>	G3290T	E452ter
<i>Rht-B1c.35</i>	C2705T	Q257ter

[0217] 表4:过度生长品系依赖于等位基因的表型

[0218]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	TR 品系	成熟高度 (%高)	胚芽鞘 长度 (%高)	休眠得分 季节1	休眠得分 季节2
<i>Rht-B1a</i>		100	100	1.0	1.0
<i>Rht-B1b</i>		81	84	1.0	1.0
<i>Rht-B1c</i>		42	63	4.0	4.0
<i>Rht-B1c.1</i>	704	90	91	2.0	
	713	90	91	2.0	
	714	92	83	2.0	
	761	89	94	1.0	
	762	92	97	2.0	
	778	95	88		
	779	98	93	1	
	781	93	83	1	
	793	76	86		2.0
	804	99	87	1.0	
	811	92	89	1.0	
	813	93	101	2	
	827	92	96	2.0	
	830	95	99		
	845	96	73	2	
	873	98	97	1	
	879	88	93	1.0	
<i>Rht-B1c.1</i>	平均	92	91	1.5	2.0
<i>Rht-B1c.2</i>	610	93	102	2.0	
	618	96	98	1.0	
	675	96	82	1.0	
	881	88	89	1	
	884	97	105	1	
	947	97	96	2.0	
	982	98	93		
<i>Rht-B1c.2</i>	平均	95	95	1.3	
<i>Rht-B1c.3</i>	917	70	75	4.0	2.0
	920	71	78	2.0	2.0
<i>Rht-B1c.3</i>	平均	70	76	3.0	2.0
<i>Rht-B1c.4</i>	885	67	85	4.0	
<i>Rht-B1c.5</i>	725	65	67	3.0	
<i>Rht-B1c.6</i>	875	59	70	2.0	

[0219]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	TR 品系	成熟高度 (%高)	胚芽鞘 长度 (%高)	休眠得分 季节1	休眠得分 季节2
	983	71	84	2.0	
<i>Rht-B1c.6</i>	平均	65	77	2.0	
<i>Rht-B1c.7</i>	543	77	91	1.0	2.0
	602	92	95	1.0	
	606	90	97	1.0	
	608	95	88	3.0	
	641	89	92		
	646	89	94	3.0	
	679	90	79	1.0	
	680	93	90	1.0	
	710	91	95	2.0	
	784	98	102	1.0	
	785	94	91	1.0	
	790	97	92	1.0	
	943	82	88	1.0	1.0
	950	95	108	1.0	
<i>Rht-B1c.7</i>	平均	91	93	1.4	
<i>Rht-B1c.8</i>	550	59	80	4.0	3.0
	770	59	86		
<i>Rht-B1c.8</i>	平均	59	83	4.0	3.0
<i>Rht-B1c.9</i>	703	86	90	3.0	3.0
	730	91	86	2.0	2.0
<i>Rht-B1c.9</i>	平均	88	88	2.5	2.5
<i>Rht-B1c.10</i>	886	64	80	3.0	
<i>Rht-B1c.11</i>	615	100	94	1.0	
	701	93	82	1.0	
	712	98	96	2.0	
	771	102	95	1.0	
	777	103	96	1.0	
	782	98	99	1.0	
	786	99	97	1.0	
	792	100	93		
	875				
<i>Rht-B1c.11</i>	平均	99	94	1.1	
<i>Rht-B1c.12</i>	687	53	76	4.0	
<i>Rht-B1c.13</i>	692	80	104		1.0
	810	96	103	1.0	

[0220]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	TR 品系	成熟高度 (%高)	胚芽鞘 长度 (%高)	休眠得分 季节1	休眠得分 季节2
	846	101	89	1.0	
	平均	99	108	1.0	
	882	87	87	1.0	
	890	90	100		
	979	97	105	1.0	
	990	90	91		
<i>Rht-B1c.13</i>	平均	92	98	1.0	
<i>Rht-B1c.14</i>	973	57	82	4.0	
<i>Rht-B1c.15</i>	911	90	95	3.0	
<i>Rht-B1c.16</i>	510	89	92	2.0	2.0
<i>Rht-B1c.17</i>	603	78	84	1.0	3.0
	672	80	85	3.0	3.0
	686	76	89	2.0	3.0
	842	80	81	2.0	3.0
<i>Rht-B1c.17</i>	平均	78	85	2.0	3.0
<i>Rht-B1c.18</i>	613	96	94	4.0	
	671	93	88	3.0	
	783	99	97	1.0	
	805	94	105	1.0	
<i>Rht-B1c.18</i>	平均	96	96	2.3	
<i>Rht-B1c.19</i>	508	85	95	2.0	2.0
	611	94	97	1.0	
	648	97	112	2.0	
	667	98	98	1.0	
<i>Rht-B1c.19</i>	平均	93	100	1.5	
<i>Rht-B1c.20</i>	601	93	90		
	614	97	93	1.0	
	622	97	90	1.0	
	647	99	92	2.0	
	649	102	95	1.0	
	664	97	98	1.0	
	666	98	98	1.0	
	674	99	84	1.0	
	677	99	96	1.0	
	682	95	97	1.0	
	683	98	90	1.0	
	684	99	87	1.0	

[0221]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	TR 品系	成熟高度 (%高)	胚芽鞘 长度 (%高)	休眠得分 季节1	休眠得分 季节2
	685	103	84		
	889	90			
	910	95	94	1.0	
	986	95	122		
	989	84	91		
<i>Rht-B1c.20</i>	平均	96	94	1.1	
<i>Rht-B1c.21</i>	878	58	74	3.0	
	981	63	82	2.0	
<i>Rht-B1c.21</i>	平均	60	78	2.5	
<i>Rht-B1c.22</i>	544	84	86	4.0	1.0
<i>Rht-B1c.23</i>	612	74	82	2.0	3.0
	623	76	80	3.0	3.0
<i>Rht-B1c.23</i>	平均	75	81	2.5	3.0
<i>Rht-B1c.24</i>	542	81	88		
	688	85	92		3.0
	705	77	90	3.0	3.0
	722	82	84	4.0	3.0
	723	84	84	2.0	3.0
	741	97	85	1.0	
	877	81	88	3.0	2.0
<i>Rht-B1c.24</i>	平均	84	87	2.6	2.8
<i>Rht-B1c.25</i>	774	102	85	1.0	
	776	100	90	1.0	
<i>Rht-B1c.25</i>	平均	101	88	1.0	
<i>Rht-B1c.26</i>	717	74	78	2.0	3.0
	773	76	75		2.0
	791	80	83	3.0	3.0
	815	78	80	3.0	
<i>Rht-B1c.26</i>	平均	77	79	2.7	2.7
<i>Rht-B1c.27</i>	507	77	67	1.0	1.0
	605	76	73	4.0	1.0
	624	84	76	2.0	1.0
	880	77	75	1.0	1.0
<i>Rht-B1c.27</i>	平均	79	73	2.0	1.0
<i>Rht-B1c.28</i>	645	81	73	1.0	1.0
<i>Rht-B1c.29</i>	901	83	72	1.0	1.0
<i>Rht-B1c.30</i>	670	84	92	1.0	1.0
	678	82	85	1.0	1.0

[0222]

<i>Rht-B1</i> 等位基因	TR 品系	成熟高度 (%高)	胚芽鞘 长度 (%高)	休眠得分 季节1	休眠得分 季节2
	690	80	78	1.0	
	752	86	82	1.0	1.0
<i>Rht-B1c.30</i>	平均	83	84	1.0	1.0
<i>Rht-B1c.31</i>	872	102	89	1	
	902	100	92	1	
	912	101	84	1	
<i>Rht-B1c.31</i>	平均	101	88.3	1.0	
<i>Rht-B1c.32</i>	913	91	87	1.0	
	987	82	88		
<i>Rht-B1c.32</i>	平均	87	87.5	1.0	
<i>Rht-B1c.33</i>	644	98	101	1.0	
	729	98	112	1.0	
	750	95	92	1.0	
	789	95	91	1.0	
<i>Rht-B1c.33</i>	平均	97	99	1.0	
<i>Rht-B1c.34</i>	728	98	91	1.0	
	745	95	89	1.0	
<i>Rht-B1c.34</i>	平均	96	90	1.0	
<i>Rht-B1c.35</i>	914	95	87		
	971	96	92	1.0	
<i>Rht-B1c.35</i>	平均	96	89.5	1.0	

[0223]

表5:大麦过度生长突变体的叶伸长速率和 α -淀粉酶产生

[0224]

品系	基因型LER	LER _{max} (mm.d ⁻¹)	在以下的 α -淀粉酶 (Ceralpha单位/谷粒):		
			0小时 (x 10 ³)	42小时	72小时
Him	WT	34.6 ± 0.9	1.6	0.36 ± 0.08	1.7 ± 0.09
Him (GA ₃)	WT	52.3 ± 0.1	nd	9.81 ± 0.86	23.1 ± 2.8
M640	<i>Sln1d</i>	9.2 ± 0.2	1.6	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.05
M640 (GA ₃)	<i>Sln1d</i>	12.1 ± 0.3	nd	nd	nd
TR1	<i>Sln1d.4</i>	23.8 ± 0.5	2.5	0.26 ± 0.01	2.88 ± 0.27
TR9	<i>Sln1d.5</i>	15.5 ± 0.7	1.6	0.21 ± 0.01	0.16 ± 0.04
TR13	<i>Sln1d.6</i>	15.8 ± 0.6	1.8	0.20 ± 0.02	0.19 ± 0.04
TR26	参见表6				
TR56	<i>Sln1d.7</i>	16.7 ± 0.6	2.7	0.93 ± 0.22	3.24 ± 0.47
TR60	<i>Sln1d.8</i>	28.6 ± 0.9	3.6	0.82 ± 0.13	3.76 ± 0.23
TR100	<i>Sln1d.9</i>	20.2 ± 0.6	3.2	4.34 ± 0.13	14.6 ± 0.39
TR103	-	16.1 ± 0.4	3.4	0.74 ± 0.10	0.39 ± 0.1
TR107	<i>Sln1d.10</i>	13.2 ± 0.3	2.4	0.39 ± 0.07	0.17 ± 0.03
M463	<i>grd2b</i>	16.9 ± 0.8	2.5	0.67 ± 0.04	1.3 ± 0.2
M463 (GA ₃)	<i>grd2b</i>	49.8 ± 0.8	nd	7.20 ± 0.73	18.9 ± 1.4
TR216	<i>grd2b, sln1s</i>	23.2 ± 0.6	4.1	1.01 ± 0.12	4.16 ± 0.55
TR261	<i>grd2b, sln1m</i>	38.4 ± 1.5	3.8	7.50 ± 0.24	18.1 ± 0.8
TR305	<i>grd2b, sln1o</i>	32.9 ± 0.9	3.8	9.85 ± 0.43	16.9 ± 1.2
M693	<i>gse1n</i>	19.7 ± 0.4	2.5	0.29 ± 0.05	0.11 ± 0.01
M693 (GA ₃)	<i>gse1n</i>	35.3 ± 1.2	nd	nd	nd
TR407	<i>gse1n, sln1n</i>	29.3 ± 0.5	9.9	0.27 ± 0.03	0.26 ± 0.13
M240	<i>sln1m</i>	42.2 ± 1.6	6.5	11.6 ± 1.4	22.6 ± 2.3
M242	<i>sln1n</i>	44.3 ± 3.1	3.0	1.07 ± 0.08	6.39 ± 1.52
M243	<i>sln1s</i>	35.4 ± 0.9	3.8	3.66 ± 0.53	15.4 ± 0.9

[0225] 表6: *spy1a*对生长速率和 α -淀粉酶产生的影响

[0226]

品系	基因型 LER_{max}	在以下的 α -淀粉酶 (Ceralpha 单位/谷粒):			
		(mm.d ⁻¹)	0 小时 (x 10 ³)	42 小时	72 小时
Himalaya	WT	34.6 ± 0.9	1.6	0.36 ± 0.08	1.7 ± 0.09
M247	<i>spyla</i>	37.6 ± 0.7	4.6	3.33 ± 0.22	12.5 ± 1.2
M640	<i>Sln1d</i>	9.2 ± 0.2	1.6	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.05
TR26	<i>Sln1d, spyla</i>	17.1 ± 0.4	2.3	0.66 ± 0.10	2.84 ± 0.46
M463	<i>grd2b</i>	17.7 ± 0.6	2.1	0.53 ± 0.1	3.7 ± 0.3
M248	<i>grd2b, spyla</i>	23.4 ± 0.5	3.6	10.2 ± 0.9	15.0 ± 1.8
M691	<i>gsell</i>	20.6 ± 0.4	1.6	0.07 ± 0.01	0.13 ± 0.03
M249	<i>gsell, spyla</i>	25.8 ± 0.5	2.1	1.2 ± 0.2	7.2 ± 1.0

[0227] 表7: 大麦过度生长品系的胚芽鞘长度 (mm)

[0228]

品系	基因型	胚芽鞘长度 (mm)
Himalaya	WT	100.3 ± 1.6
M640	<i>Sln1d</i>	32.6 ± 1.8
TR1	<i>Sln1d.4</i>	65.8 ± 3.1
TR9	<i>Sln1d.5</i>	40.7 ± 2.4
TR13	<i>Sln1d.6</i>	45.2 ± 1.8
TR26	<i>Sln1d, spyla</i>	50.9 ± 1.0
TR56	<i>Sln1d.7</i>	60.7 ± 2.1
TR60	<i>Sln1d.8</i>	80.7 ± 2.5
TR100	<i>Sln1d.9</i>	66.9 ± 1.7
TR103	—	58.5 ± 1.5
TR107	<i>Sln1d.10</i>	44.6 ± 2.0
M463	<i>grd2b</i>	62.4 ± 2.2
TR216	<i>grd2b, sln1s</i>	84.1 ± 1.7
TR261	<i>grd2b, sln1m</i>	96.4 ± 3.5
TR305	<i>grd2b, sln1o</i>	104.4 ± 2.0
M693	<i>gseln</i>	72.0 ± 1.5
TR407	<i>gseln, sln1n</i>	89.7 ± 1.5
M240	<i>sln1m</i>	123.3 ± 2.7
M242	<i>sln1n</i>	119.8 ± 2.3
M243	<i>sln1s</i>	112.9 ± 4.6
M247	<i>spyla</i>	101.6 ± 2.5

[0229] 表8: 突变品系小麦植物相对于高品种 (Rht-B1a 等位基因) 的植株高度和谷粒休眠

得分

[0230]

Rht 等位基因	高度 (%高)	休眠 得分*
		2012
<i>Rht-B1a</i>	100	0
<i>Rht-B1b</i>	81	0
<i>Rht-B1c</i>	42	8
<i>Rht-B1c.1</i>	93	2
<i>Rht-B1c.2</i>	95	0
<i>Rht-B1c.3</i>	71	2
<i>Rht-B1c.4</i>	67	4
<i>Rht-B1c.5</i>	65	5
<i>Rht-B1c.6</i>	71	5
<i>Rht-B1c.7</i>	91	1.5
<i>Rht-B1c.8</i>	59	5
<i>Rht-B1c.9</i>	88	2
<i>Rht-B1c.14</i>	57	3
<i>Rht-B1c.15</i>	90	0.5
<i>Rht-B1c.16</i>	89	0
<i>Rht-B1c.17</i>	78	4
<i>Rht-B1c.18</i>	96	1.5
<i>Rht-B1c.21</i>	60	4
<i>Rht-B1c.22</i>	84	1
<i>Rht-B1c.23</i>	75	3
<i>Rht-B1c.24</i>	82	3.5
<i>Rht-B1c.26</i>	77	3.5
<i>Rht-B1c.27</i>	81	1.5
<i>Rht-B1c.28</i>	81	0
<i>Rht-B1c.29</i>	83	0.5
<i>Rht-B1c.30</i>	83	1
<i>Rht-B1c.36</i>	55	4

[0231] * 休眠得分计算为在萌发测试中,使50%谷粒萌发的谷粒储存周数。

[0232] 参考文献

[0233] Achard et al., (2009) .J.Exptl Bot.60,1085-1092.

[0234] Arana et al., (2011) .Proc.Natl.Acad.Sci.USA.108,9292-9297.

[0235] Asano et al., (2009) .Mol.Genet Genomics 281,223-231.

[0236] Carol et al., (1995)Planta 197,414-417.

[0237] Chandler et al., (1999) .Plant Physiol.120,623-632.

[0238] Chandler et al., (2002) .Plant Physiol 129,181-190.

[0239] Chandler et al., (2008) .Mol.Plant.1,285-294.

[0240] de Lucas M et al., (2008) .Nature 451,480-484.

[0241] Dill et al., (2004) .Plant Cell 16,1392-1405.

- [0242] Ellis et al., (2005) .TheorAppl Genet 111,423-430.
- [0243] Feng et al., (2008) .Nature 451,475-479.
- [0244] Flintham et al., (1997) .J.Agric.Sci.128,11-25.
- [0245] Fu et al., (2002) .Plant Cell 14,3191-3200.
- [0246] Griffiths et al., (2006) .Plant Cell 18,3399-3414.
- [0247] Hartweck, (2008) .Planta 229,1-13.
- [0248] Hirano et al., (2010) .Plant Cell 22,2680-2696.
- [0249] Hoogendoorn et al., (1988) .In Miller T.E.,Koebner,R.M.D.,Proceedings of the Seventh International Wheat Genetics Symposium,Institute of Plant Science Research,Cambridge,U.K.,pp.1093-1100.
- [0250] Ikeda et al., (2001) .Plant Cell,13,999-1010.
- [0251] Kuppusamy et al., (2009) .Plant Mol.Biol.69,375-381.
- [0252] Monna et al., (2002) .DNA Res.9,11-17.
- [0253] Murase et al., (2008) .Nature 456,459-463.
- [0254] Pearce et al., (2011) .Plant Physiol.DOI:10.1104/pp.111.183657.
- [0255] Peng et al.,J(1999Nature 400,256-261.
- [0256] Robertson et al., (1998) .Plant Cell 10,995-1007.
- [0257] Sasaki et al., (2002) .Nature 416,701-702.
- [0258] Sasaki et al., (2003) .Science 299,1896-1898.
- [0259] Shimada et al., (2006) .Plant J.48,390-402.
- [0260] Shimada et al., (2008Nature 456,520-544.
- [0261] Silverstone et al., (1997) .Genetics 146,1087-1099.
- [0262] Silverstone et al., (2007) .Plant Physiol.143,987-1000.
- [0263] Spielmeier et al., (2002) .Proc Natl Acad Sci (USA) 99,9043-9048.
- [0264] Sun, (2010) .Plant Physiol 154,567-570.
- [0265] Ueguchi-Tanaka et al., (2005) .Nature 437,693-698.
- [0266] Willige et al., (2007) .Plant Cell 19,1209-1220.
- [0267] Wilson et al., (1995) .Plant Physiol 108:495-502.
- [0268] Wolbang et al., (2004) .Plant Physiol 134,769-776.
- [0269] Wu et al., (2011) Plant Physiol DOI:10.1104/pp.111.185272.
- [0270] Yamaguchi, (2008) .Annu.Rev.Plant Biol.59,225-251.
- [0271] Yamamoto et al., (2010) .Plant Cell 22,3589-3602.
- [0272] Zwar et al., (1995) .Planta 197,39-48.

序列表

<110> 联邦科学
与工业研究组织

<120> 具有新Rht-B1等位基因的小麦

<130> 35103002/WJP

<160> 30

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 3892

<212> DNA

<213> 普通小麦

<400> 1

[0001]

```

atgaagcgcg agtaccagga cgccggaggg agcggcggtg gccggggagg catgggctcg      60
tccgaggaca agataatggt gtcggggtcg gcggcgccgg gggaggggga ggagggtggac      120
gagctgctgg cggcgctcgg gtacaagggtg tgttgggccc gcctcctcgc agcgccgttc      180
ttcttcctct catctctcat gaacacacac catggagaaa ctctacacac acacacacac      240
aaccaagaag aacaccgget gttactttgc acgagaggcc cttctccttg gtggaacaag      300
agactacatt gtgtttttcc cagccctctt ggctcacttt tctcattcat cttctccaac      360
ttaaatagct aagtacaaga ctgacccaag cacttgccag ccgccactct cgcagctgct      420
aacgccact aactcatgca ctaggccact aatcacaact aactcatgca cgcattgcacc      480
acaccggcca ctatcacatg accggggcag taacccta gctacatgca tgcaactaga      540
taactacctt atccatgcac tccaggactc ggcaactcca ccggacgccc cgctcgtagc      600
agccgcggga cttgctgcta acgaaaccac gcacatcaag attagtgcta acattcccc      660
ccttaatett gacacgcctt gccgtcgacc gtcattctga acgctgagc tcgacgtctt      720
cacacgcctc cgcgcccgct gcgacgtgcc gtgcgccgcg ctgtcacagg agttgatgca      780
gcttgctcgc tcgtcgtcac ggccgtgacc cagcctgcgg acccgacccg acccatcgac      840
gccggtcaca ccgccacgga ccgacactgg cgcactgacg ccggtcgcac cgtgctccct      900
cacgaccccg ggcacatacg ccgagctcct ccgccgggga cacacgcctg gcgtccctct      960
gcgtcccgca cgtcccgcac gcatccgacg tgcccgaaga gcccgaccgc agcagtgcgt      1020
cccgcacgtc ccgcgcgat tcgacgcgcc cgacgagccc gacagacca gacgtcacc      1080
acgtgccgcc tccggtccg ccatggcagc caccacgccg cgcctacgtg ccacgcacct      1140
tccacggctc ttgccccgag ccgtcgcgac ctatgcgcca ccacgcaggt ccttcgcgac      1200
ctcctcgtct ccgcgaccgc cgtgcccttc gcgcacactc cccacgtccc cgcgtccca      1260

```

[0002]	gcccgcgctc ccgcccgcga cgtacgcggt ctgcgcaacc aggtccagcg cctcgacgcg	1320
	gtccactccc ggggtcccga cgcgctcgac acgtccagtg cgcgcccata acacgcaccg	1380
	gtcgcgtccg gctcgcgcgc gcatcttatt gccctgcacc gccgcggcct ccatgcgcgc	1440
	atgcagtgcc tccacgcgcg cacaccgtgt tgcacgcgtg cgcaccacg cagcgcctcg	1500
	ggggcctccg cggtcgcgcg acgtacgacg tcaccgcgcg ccgcctccgc cagcgcctcg	1560
	ccgcgcgcgc cagccgatgc ctccatgtcg gccgcgcgtg ccccgctccg cgcggacgcg	1620
	accgcgcgcg acggccgcgc ctggaacctt gtggctctga ataccaatg ttggcgccgc	1680
	ctcctcgag cgcggttctt ctctctctca tctctcatga acacacacca tggagaaact	1740
	ctacacacac acacacacaa ccaagaagaa caccggctgt tactttgcac gagaggcct	1800
	tctccttggg ggaacaagag actacattgt gtttttccca gccctcttgg ctcacttttc	1860
	tcattcatct tctccaactt aaatagctaa gtacaagact gacccaagca cttgccagcc	1920
	gccactctcg cagctgctaa cgcacctaa ctcatgcact aggcactaa tcacaactaa	1980
	ctcatgcag catgcaccac accggcact atcacatgac cgggcgacta accactagc	2040
	tacatgcag caactagata actaccttat ccatgcactc caggactcgg caactccacc	2100
	ggacgcccgc ctctagcag ccgcgggact tgcgtetaac gaaaccacgc acatcaagat	2160
	tagtgetaac aagggtcggg cgtccgacat ggcggacgtg gcgcagaagc tggagcagct	2220
	ggagatggcc atggggatgg gcggcggtgg cgcggcgccc gcgcccgcgc acagcttcgc	2280
	caccacctc gccacggaca ccgtgcacta caaccccacc gacctctct cctgggtcga	2340
	gagcatgtg tggagctca acgcgcgcgc gccgcctc ccgcccgcgc cgcagctcaa	2400
	cgctccacc tctccaccg tcaccggcgg cgggtacttc gatctccgc cctccgtcga	2460
	ctctcctgc agcacctacg cgtcgcggc gatcccgcc ccggccgtcg cgcggccga	2520
	cctctccgc gactccgtcg tgcgggaccc caagcggatg cgcactggcg gcagcagcac	2580
	ctcgtcgtca tctcatcgt cctctctcgg cgttggcggc gccaggagct ctgtggtgga	2640
	ggctgcccgc ccggtggccg ccgcggccgg tgcgcccgcg ctgccggtcg tctgtgtcga	2700
	cacgcaggag gccgggattc ggctggtgca cgcgtgctg gcgtgcgcgg aggcctgca	2760
	gcaggagaac ttctctgccg cggaggcgtt ggtgaagcag atacccttgc tggccgcgtc	2820
	ccaggcgccc gccatgcgca aggtcgcgc ctacttcggc gaggccctcg cccgcgcgt	2880
	cttcgcttc cgcgcgcgc cggacagctc cctcctcgac gccgccttc cgcacctct	2940
	~~ccacgcgcac ttctacgagt cctgccccta cctcaagttc gccacttca ccgcacaaca~~	~~3000~~
	ggccatcctg gaggcgttcg ccggtgcgc ccgcgtgcac gtcgtcgact tggcatcaa	3060

```

gcaggggatg cagtggcccg ccttctcca ggcctggcg ctccgtccc gcggccctcc 3120
ctcgttccgc ctaccggcg tcggccccc gcagccggac gagaccgac ccttgcaaca 3180
ggtgggctgg aagctcgccc agttcgcca caccatccgc gtcgaattcc agtaccggg 3240
cctcgtcgcc gccacgctcg cggacctgga gccgttcacg ctgcagccgg agggcgagga 3300
ggaccggaac gaggagcccg aggtaatcgc cgtcaactcg gtcttcgaga tgcaccggct 3360
gctcgcgcag ccggcgccc tggagaaggc cctgggcacc gtgcgcgcgg tggggccgag 3420
gatcgtcacc gtggtggagc aggaggcgaa ccacaactcc ggcacattcc tggaccgctt 3480
caccgagtcg ctgcactact actccaccat gttcgattct ctggaggggc gcagctccgg 3540
cggcccatcc gaagtctcat ctggggcggc tgctgtcct gccgcgcgg gcacggacca 3600
ggtcattgct gaggtgtacc tcggccggca gatctgcaac gtggtggcct gcgagggggc 3660
ggagcgacac gagcgccacg agaccctggg gcagtggcgg aaccgcctcg gcaacgcgg 3720
gttcgagacc gtccacctgg gctccaatgc ctacaagcag gcgagcacgc tgcctggcgt 3780
cttcgcggcg gccgacgggt acaagggtga ggagaaggag ggctgcctga cgcctgggtg 3840
gcacacgcgc ccgctgatcg ccacctccgc atggcgccctg gccgcgcct ga 3892

```

[0003]

<210> 2

<211> 1956

<212> DNA

<213> 普通小麦

<400> 2

```

atgaagcgcg agtaccagga cgcgggagg agcgcggtg gccggggagg catgggctcg 60
tcgaggaca agataatggt gtcggggtcg gcggcgcgcg gggaggggga ggaggtggac 120
gaqctgctgg cggcgctcgg gtacaaggac tcggcaactc caccggacgc ccgctcgtgta 180
gcagccggcg gacttgctgc taacgaaacc acgcacatca agattagtgc taacaagggtg 240
cgggcttcgg acatggcgga cgtggcgagc aagctggagc agctggagat ggccatgggg 300
atggcgcgcg tggcgcgcg cgccgcgcc gacgacagct tcgccacca cctcgccacg 360
gacaccgtgc actacaacc caccgacctc tcctcctggy tcgagagcat gctgtcggag 420
ctcaacgcgc cgcgcgcgc cctcccgcgc gcccgcgagc tcaacgcctc caccctctcc 480
accgtcaccg gcggcggtg ctctgatctc ccgcctccg tcgactcctc ctgcagcacc 540
tacgcgtgc gcccgatccc gtcccgggc gtgcgcggcg ccgacctctc cgcgactcc 600
gtcgtgcggg atcccaagcg gatgcgcact ggcggcagca gcacctcgtc gtcactctca 660
tcgtctcttc tcggcggtgg cggcgccagg agctctgtg tggaggtgc ccgcgggtg 720

```

gccgccgagg ccggtgcgcc cgcgctgccg gtctgtgtgg tcgacacgca ggaggccggg 780
 attcggctgg tgcacgcgct gctggcggtgc gggaggcccg tgcagcagga gaacttctct 840
 gccgaggagg cgctggtgaa gcagataccc ttgctggccg cgtcccaggg cggcgccatg 900
 cgcaagggtcg ccgcctaact cggcgaggcc ctgcgccgcc gcgtcttccg cttccgcccg 960
 cagccggaca gctccctcct cgacgcgcc ttgcgcgacc tcctccacgc gaacttctac 1020
 gagtcctgcc cctacctcaa gtgcgccac ttaccgccca accaggccat cctggaggcg 1080
 ttgcgcggct gccgcgcgt gcacgtcgtc gacttcggca tcaagcaggg gatgcagtgg 1140
 cccgcccttc tcaggccct ggcgctcgt cccggcgcc ctccctcgtt ccgcctcacc 1200
 ggcgtcggcc ccccgagcc ggacgagacc gacgccttc agcagggtgg ctggaagctc 1260
 gccagttcg cgcacaccat ccgcgtcgac ttccagtacc gcggcctcgt cgcgcgcacg 1320
 ctgcgggacc tggagccgtt catgctgcag ccggaggggc aggaggaccc gaacgaggag 1380
 cccgaggtaa tcgcgtcaa ctcggtcttc gagatgcacc ggctgctgc gcagccggc 1440
 gccctggaga aggtcctggg caccgtgcgc gccgtgcgc cgaggatcgt caccgtggtg 1500
 gagcaggagg cgaaccacaa ctccggcaca ttcttgacc gcttcaccga gtccctgcac 1560
 tactactcca ccatgttcga ttctctggag ggcggcagct ccggcgccc atccgaagtc 1620
 tcctctgggg ccgctgctgc tcctgcgcc gccggcacgg accaggtcct gtccgaggtg 1680
 tacctcggcc ggcagatctg caacgtggtg gcctgcgagg gggcgagcg cacagagcgg 1740
 cagcagaccc tggggcagtg gcggaaccgc ctgcgcaac ccgggttcga gaccgtccac 1800
 ctgggctcca atgcctacaa gcaggcgagc acgtgctgg cgtctctgc cggcgcgac 1860
 gggtagaagg tggaggagaa ggagggtgc ctgacgtgg ggtggcacac gcgccgctg 1920
 atcgccacct ccgcatggcg cctggccggc ccgtga 1956

[0004]

<210> 3
 <211> 651
 <212> PRT
 <213> 普通小麦

<400> 3

Met Lys Arg Glu Tyr Gln Asp Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Arg Gly
 1 5 10 15

Gly Met Gly Ser Ser Glu Asp Lys Ile Met Val Ser Gly Ser Ala Ala
 20 25 30

Ala Gly Glu Gly Glu Glu Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr
 35 40 45

Lys Asp Ser Ala Thr Pro Pro Asp Ala Pro Leu Val Ala Ala Ala Gly
 50 55 60
 Leu Ala Ala Asn Glu Thr Thr His Ile Lys Ile Ser Ala Asn Lys Val
 65 70 75 80
 Arg Ala Ser Asp Met Ala Asp Val Ala Gln Lys Leu Glu Gln Leu Glu
 85 90 95
 Met Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Ala Gly Ala Ala Pro Asp Asp
 100 105 110
 Ser Phe Ala Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn Pro Thr
 115 120 125
 Asp Leu Ser Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn Ala Pro
 130 135 140
 Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ala Pro Gln Leu Asn Ala Ser Thr Ser Ser
 145 150 155 160
 [0005] Thr Val Thr Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val Asp Ser
 165 170 175
 Ser Cys Ser Thr Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Pro Ser Pro Ala Val Ala
 180 185 190
 Pro Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Val Arg Asp Pro Lys Arg Met
 195 200 205
 Arg Thr Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Leu
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Ala Ala Ala Gly Ala Pro Ala Leu Pro Val Val Val Val Asp Thr
 245 250 255
 Gln Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys Ala Glu
 260 265 270
 Ala Val Gln Gln Glu Asn Phe Ser Ala Ala Glu Ala Leu Val Lys Gln
 275 280 285

Ile Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg Lys Val Ala
 290 295 300

Ala Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg Phe Arg Pro
 305 310 315 320

Gln Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp Leu Leu His
 325 330 335

Ala His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His Phe Thr
 340 345 350

Ala Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg Arg Val His
 355 360 365

Val Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro Ala Leu Leu
 370 375 380

Gln Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe Arg Leu Thr
 385 390 395 400

[0006] Gly Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu Gln Gln Val
 405 410 415

Gly Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val Asp Phe Gln
 420 425 430

Tyr Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu Pro Phe Met
 435 440 445

Leu Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asp Pro Asn Glu Glu Pro Glu Val Ile
 450 455 460

Ala Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala Gln Pro Gly
 465 470 475 480

Ala Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg Pro Arg Ile
 485 490 495

Val Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly Thr Phe Leu
 500 505 510

Asp Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Met Phe Asp Ser
 515 520 525

Leu Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser Gly Ala
 530 535 540
 Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val Met Ser Glu Val
 545 550 555 560
 Tyr Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys Glu Gly Ala Glu
 565 570 575
 Arg Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg Asn Arg Leu Gly
 580 585 590
 Asn Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn Ala Tyr Lys Gln
 595 600 605
 Ala Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp Gly Tyr Lys Val
 610 615 620
 Glu Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu
 625 630 635 640

[0007] Ile Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Ala Pro
 645 650

<210> 4
 <211> 1866
 <212> DNA
 <213> 普通小麦
 <400> 4
 atgaagcgcg agtaccagga cgccggaggg agcggcggtg gcgggggagg catgggctcg 60
 tccgaggaca agatgatggt gtcggggtcg gcggcggcgg gggaggggga ggaggtggac 120
 gagctgctgg cggcgctcgg gtacaagggtg cggcggtccg acatggcgga cgtggcgacg 180
 aagctggagc agctggagat ggccatgggg atggggcgcg tggcgccgg cgccgcgcc 240
 gacgacagct tcgccacca cctcgccacg gacaccgtgc actacaacc caccgacctc 300
 tctctctggg tcgagagcat gctgtcggag ctcaacgcgc cgccgccgcc cctcccgccc 360
 gccccgcagc tcaacgcctc cacctctctc accgtcaccg gggcggggta ctctgatctc 420
 ccgccctccg tcgactcttc ctgcagcacc tacgcgtgc gcccgatccc gtcccggcc 480
 gtgcgcggg ccgacctctc ccgcgactcc gtctgcggg atcccaagcg gatgcgcact 540
 ggcggcagca gcacctctc gtcactctca tcgtctctc tcggcggtgg cgccgccagg 600

	agctctgtgg tggaggctgc cccgccggtg gccgccggcg ccggtgccc cgcgctgcc	660
	gtcgtcgtgg tcgacacgca ggaggccggg attcggctgg tgcacgcgt gctggcgtgc	720
	gcagaggccg tgcagcagga gaacttctct gccgcggagg cgtctggtgaa gcagataccc	780
	ttgctggccg cgtcccaggg cggcgccatg cgaaggctc ccgcctactt cggcgaggcc	840
	ctcgcccgcc gcgtcttcgg ctccgcccg cagccggaca gctccctcct cgcgcgcc	900
	ttcgccgacc tcctccacgc gcacttctac gagtctgcc cctacctcaä gttcgccac	960
	ttcaccgcca accaggccat cctggaggcg ttccggcgt gccgccggt gcacgtcgtc	1020
	gacttcggca tcaaggagg gatgcagtgg ccgccttc tccaggccct ggcgtccgt	1080
	ccggcgcc ctcctcgtt ccgcctcacc ggcgtggcc cccgcgacc ggacgagacc	1140
	gacgccttgc agcagggtgg ctggaagctc gccagttcg cgcacaccat ccgcgtcgac	1200
	ttcagtaacc gggcctcgt cgcgcaccg ctccggacc tggagccgtt catgctgag	1260
	ccggaggggc aggaggacc gaacgaggag ccgaggtaa tcgcgtcaa ctcggtcttc	1320
	gagatgcacc ggctgctcg gcagccggc gccctggaga aggtcctggg caccgtgcgc	1380
	gccgtgccc cgaggatcgt caccgtggtg gacgaggag cgaaccacaa ctccggcaca	1440
[0008]	ttcctggacc gcttcacga gtccctgcac tactactcca ccatgttcga ttctctggag	1500
	ggcgccagct ccggcgccc atccgaagtc tcatctggg cggctgctgc tctgccc	1560
	gccggcacgg accaggtcac gtccgagtg tacctcgcc gccagatctg caacgtggtg	1620
	gcctgcagg gggcgaggc cacagagcg cagagacc tggggcagt ggcgaaccgc	1680
	ctcggaacg ccgggttcga gaccgtccac ctgggtcca atgcctacaa gcaggcgagc	1740
	acgtgctgg cgtctctgc aggcggcgac gggtacaagg tggaggagaa ggagggtgc	1800
	ctgacgctgg ggtggcacac gcgccgctg atcgccacct ccgcattggc cctggccgcg	1860
	ccgtga	1866

<210> 5

<211> 621

<212> PRT

<213> 普通小麦

<400> 5

Met Lys Arg Glu Tyr Gln Asp Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Gly Met Gly Ser Ser Glu Asp Lys Met Met Val Ser Gly Ser Ala Ala
 20 25 30

[0009]

Ala Gly Glu Gly Glu Glu Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr
 35 40 45
 Lys Val Arg Ala Ser Asp Met Ala Asp Val Ala Gln Lys Leu Glu Gln
 50 55 60
 Leu Glu Met Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Ala Gly Ala Ala Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Ser Phe Ala Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn
 85 90 95
 Pro Thr Asp Leu Ser Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn
 100 105 110
 Ala Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ala Pro Gln Leu Asn Ala Ser Thr
 115 120 125
 Ser Ser Thr Val Thr Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val
 130 135 140
 Asp Ser Ser Cys Ser Thr Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Pro Ser Pro Ala
 145 150 155 160
 Val Ala Pro Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Val Arg Asp Pro Lys
 165 170 175
 Arg Met Arg Thr Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Gly Gly Gly Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro
 195 200 205
 Pro Val Ala Ala Ala Ala Gly Ala Pro Ala Leu Pro Val Val Val Val
 210 215 220
 Asp Thr Gln Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys
 225 230 235 240
 Ala Glu Ala Val Gln Gln Glu Asn Phe Ser Ala Ala Glu Ala Leu Val
 245 250 255
 Lys Gln Ile Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg Lys
 260 265 270

Val Ala Ala Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg Phe
 275 280 285
 Arg Pro Gln Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp Leu
 290 295 300
 Leu His Ala His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His
 305 310 315 320
 Phe Thr Ala Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg Arg
 325 330 335
 Val His Val Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro Ala
 340 345 350
 Leu Leu Gln Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe Arg
 355 360 365
 Leu Thr Gly Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu Gln
 370 375 380
 [0010] Gln Val Gly Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val Asp
 385 390 395 400
 Phe Gln Tyr Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu Pro
 405 410 415
 Phe Met Leu Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asp Pro Asn Glu Glu Pro Glu
 420 425 430
 Val Ile Ala Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala Gln
 435 440 445
 Pro Gly Ala Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg Pro
 450 455 460
 Arg Ile Val Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly Thr
 465 470 475 480
 Phe Leu Asp Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Met Phe
 485 490 495
 Asp Ser Leu Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser
 500 505 510

Gly Ala Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val Met Ser
 515 520 525
 Glu Val Tyr Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys Glu Gly
 530 535 540
 Ala Glu Arg Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg Asn Arg
 545 550 555 560
 Leu Gly Asn Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn Ala Tyr
 565 570 575
 Lys Gln Ala Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp Gly Tyr
 580 585 590
 Lys Val Glu Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His Thr Arg
 595 600 605
 Pro Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Ala Pro
 610 615 620

[0011]

<210> 6
 <211> 7057
 <212> DNA
 <213> 普通小麦
 <400> 6
 gaattcgaac tgcacatacg tatgaagatg acctcaaggt ccaccgattt ggtccattga 60
 ttatatatag ggctaattcc tccaaaagga ggatcggctc gcatcaccaa agtatccaac 120
 gtactcagtc actcaagcgg atatgcattg gccggcacga ctgtgtcgcg ccgcgcgtac 180
 cacacgagcg ggcgggtggg cgtcgcgatt acccgggtccg tgcgtcgtgta cagtcacgca 240
 cagggcgcac caccgatctc gaacaatttt cactaccccc tccacaettc ttctgttgtg 300
 gctgtacgac ggaaattatc ggcgcgggcg gtgcaccgtg gaccgatcgg gggccccacc 360
 ggtgcagcag ctctgttcca cgaagaccg tggtatcccc gcggtgacct ccacaggaag 420
 aagcacatgg cgtgcctcc gcgataaggt ttgctaggcc tcgtgaacct accaggatcg 480
 gctgcacgaa tcgtgaggcc tgcgtcggat ccgcccgcgg cgaccgtccg tggcccacgg 540
 cagctcagcc gtctctgaaa gaaagtctgg tggcccacgg caactgtagt acgcgcgcgg 600
 ggtggaaaat gataatgcgc gccagaagaa taaataaaca gaaataagga tttttctagc 660
 aaggataaac aaaaataaag tgggagtcgg ggtccaatcc ggtatagccc atccctgctc 720
 cgttttctgc accgcgggt ccagtggtgcc gacctgtggc ttttgacaaa tgtgtacagc 780

[0012]	aaacacactg acgatctgct tagatcgatc agtattagtg gagaagataa gacaattata	840
	tatgccatag tagtagttgt catatttagc tatatatattt cattgttaat tttaatcatc	900
	ccacatatct aggagcatgc aagcattaat agttatatgt aacaccaaga gatagcgtgt	960
	catttttaat gacatgtgtg gcataagtac atgatctaaa agacttgagt ggatgataat	1020
	ttttctcca aatagaatac atttgtgaga ggaaaaacgt aagagctccg attacattga	1080
	tcaatgatat gcatgtgaaa gcagtctcca acagattgga atgacatagc gcgtatataa	1140
	caaggatga tcaatgacaa aataatagcc attctccaag atgaatcaca tagctaaccg	1200
	gacgaggagc atcccacggt cattatcatg taccacccgc cagctcaagt gggtcctcat	1260
	gttttttgct ttctcttctt tgcttggttg atctagagct tcttttgat tgacttgagt	1320
	tatgagtga tattgatggt gaacatigct gacatgagat taactcttgt gattcccacc	1380
	ggttcccccc ttatgttctg cgtgctotta ctggaatcca cctccaatca tgaagatcgg	1440
	ccgcccatg gcttgccctg tatcagaacc gtgtgtcgca ttagctatgt atacgtgtca	1500
	cgtgaggcaa aatcacgcaa gtacttgaaa tgttggttgt tatatccttg gtaaatattc	1560
	gtgtgtgatt caatcctaca aactaaacga ccagcacgga aaagaatccc aagtcttgga	1620
	atccattttg ccataagcca caggaggggc cacacggccg cagcgacgg agaggagag	1680
	ggagaggag tctgacgcag cagagagccc catcaccgc agcgtttttt ttctctaatt	1740
	tgccgggatt tctggggtgg tgggtcagg atttgtaact ggatggcgaa gtttgtctgg	1800
	tgataaagac ggcgcgcgac aatccgtcca tccatccaac gctgtgcgag tgttgcccg	1860
	ggccccgcc gccagcgacc caccactgtg ccccgcccag atgccttccc cccctccca	1920
	tccatcgccc gatgcgctt acaactacta cgtgcgctt ccctcgctgc tctgctgct	1980
	ctctccctc cccaccccaa ccatcccggt ctctctctc ttctctctc ccccgaccc	2040
	tggatccaaa tcccggcccg cccagagcc ggaatcgagg caagcaaaag cttgagatag	2100
	atagagaggc gaggtaggga ggcgagagg gagatcatga agcgcgagta ccaggacgcc	2160
	ggagggagcg gcggtggcg gggaggcatg ggctcgtccg aggacaagat gatggtgtcg	2220
	gggtcggcgg cggcggggga gggggaggag gtggacgagc tgctggcggc gctcgggtac	2280
	aaggtgcggg cgtccgacat ggccgacgtg gcgcagaagc tggagtagct ggagatggcc	2340
	atggggatgg gcggcggtgg cgcggcgccc gcgccgacg acagcttcgc caccacctc	2400
	gccacggaca ccgtgcacta caaccaccac gaactctctt cctgggtcga gagcatgctg	2460
	tcggagctca acgcgcgcgc gccgcccctc ccgcccgcgc cgcagctcaa cgcctccacc	2520
	tcctccaccg tcaccggcgg cgggtacttc gatctccgc cctccgtcga ctctctctgc	2580

[0013]

agcacctacg cgttcgggcc gatcccgctc ccggccgctg ccgccggcca cctctccgcc	2640
gactccgctg tgcgggatcc caagcggatg cgcactggcg gcagcagcac ctcgctcgtca	2700
tcctcatcgt cctctctcgg cgttggcggc gccaggagct ctgtggtgga ggctgccccg	2760
ccggtggcgg ccgcggccgg tgcgcccgcg ctgcggctg tctgtgtcga caccgaggag	2820
gccgggattc ggctggtgca cgcgctgctg gcgtgcgcag aggccgtgca gcaggagaac	2880
ttctctgccg cggaggcgt ggtgaagcag atacccttgc tggccgcgtc ccaggggcggc	2940
gccatgcgca aggtgcgcgc ctacttcggc gaggcctcg ccgcgcgct cttccgcttc	3000
cgcccgacgc cggacagctc cctcctcgac gccgccttcg ccgacctcct ccacgcgcac	3060
ttctacgagt cctgcccta cctcaagttc gccacttca ccgccaacca ggccatcctg	3120
gaggcgctcg ccggctgcgg ccgcgtgcac gtcgctgact tcggcatcaa gcaggggatg	3180
cagtggcccg cccttctoca ggccttggcg ctccgtcccg gcggccctcc ctcgttccgc	3240
ctcaccggcg tcggccccc gcagccggac gagaccgacg ccttgacga ggtgggctgg	3300
aagctcgccc agttcgcgca caccatccgc gtgcacttcc agtaaccggg cctcgtcgcc	3360
gccacgctcg cggacctgga gccgttcatg ctgcagccgg agggcgagga gaacccgaac	3420
gaggagcccg aggtaatcgc cgtcaactcg gtcttcgaga tgcaccggt gctcgcgcag	3480
cccggcgccc tggagaaggt cctgggcaacc gtgcgcgcgg tgcggccgag gatcgtcacc	3540
gtggtggagc aggaggcgaa ccacaactcc ggcacattcc tggaccgctt caccgagtcc	3600
ctgcactact actccgcat gtctgattct ctggaggggg gcagctccgg ccgcccattc	3660
gaagtctcat ctggggcggc tgcctctcct gccgcgcgg gcacggacca ggtcatgtcc	3720
gagggtgtacc tcggccggca gatctgcaac gtggtggcct gcgagggggc ggagcgcaca	3780
gagcggcacg agacctggg gcagtggcgg aaccgcctcg gcaacgcggg gttcgagacc	3840
gtccacctgg gctccaatgc ctacaagcag gcgagcacgc tgcctggcgt cttcgaggc	3900
ggcgacgggt acaagggtga ggagaaggag ggctgcctga cgttggggtg gcacacgcgc	3960
ccgctgatcg ccacctccgc atggcgctcg gccgcgcgt gaccgcgagt ttgaaacgt	4020
gtaagtacac atcgtgagca tggaggacga cacaacccc gcggcgcgcc cggctctccg	4080
gcgcacgcac gcacgcacgc tcttgaagaa gaagaagaag ctaaattgtca tgtcagtga	4140
cgctgaattg cagcggccgg ccacgatcga ccgtccggcg tgaagagacg gacgacgacg	4200
aactccgagc cgacctccc accggcatgt agtaattgaa tcccttcttc gtccccagtt	4260
ctccaccgcc tccatgatca cccgtaaaac tcccaagccc tactactact actactacta	4320
ctactactac tatcatgttt aaatgtctat tattgcaatg tgtaattcct ccaatcgctc	4380

	atatcaaaat aagcgcgggc cggactttgt tagctgctcc aatgagaatg aaaatgaatt	4440
	ttgtacgcaa cgcacgtccg aaactgagcc gagctctgtt ctgttcttga tgttcattggt	4500
	gtcttttggtg atcaacttag ctctctttgc cgtgtttgag ggcttgccga aggaagtttc	4560
	ccgatctagg agttgctgca aatgatgcgg cgtgttgga agatctcgtg tagtttcccc	4620
	ctgcggtgtg tggtcacccc gccgctggct gtttcctgat ctaaaaatga acctgcacgt	4680
	tagttggaga ggggggcgca tcagcatcag catcaccacc gatcggccaa ggcttcggcc	4740
	ctgctgccgg agcaatcagt tgatcaaaac cgaatacgt ttctgcacaa cagcttgccg	4800
	tctaaggcca tgtacaatgg tggcatatgg atacatatgt cccatgacaa aaagtaattt	4860
	gaggcaccta catttagttt ttcttcccaa ggcaaccac agtaagaaga ctcatgaaga	4920
	aatagaaaat aaaaatttta gtacacatgc atctctactt ttcacttcaa ttttttcagc	4980
	ttttgtcacc ggacttcaag caccgcctc ctggagagga tcccgcttcc ctatccgaat	5040
	ctactttacg tcatatccga tctacatgg catgtgaggc atcaccttga ggctatgcat	5100
	tgtacatgac atgagtgcgc caccgcctga gcaatcagct cgatgatcaa agcatgttat	5160
	acccgagcgc atacgcatta ccggcggcgc tgatcgtcgt cggggagcag taacttttgc	5220
[0014]	gggatgggat tggcgagag gcggcgag cagtaacttt tgcgggatgg gattggcgca	5280
	gaggcggcg gagcagtga aacctgagag gccactgctg gctggcgtgg cgcattgcca	5340
	cttctgttgg tgatttctgc ctctgcacag tgaccagcgt ggccggccgg cctatcgaaa	5400
	ctcacgcgc cgcgcggtaa aatgttctc cgttggcgcg gggcgtgggg ctgggctgca	5460
	gcacagagaa cacttaaccc gogtgcacga tcaccgccag ccagccggcc agccgcggcg	5520
	tccgtggtgt acccacggga gcttctgaca gcagtaaaaa aaacacaagg cgggtgtgtg	5580
	atgggcctg gagatctggc gtgcgtggcc gcaaactctc cccgccggtg acgtcgggcc	5640
	tgcgagcttt ttatttaacc tggcctgccc gaggcgaggc ccggcgccca atgggaggcc	5700
	gcggtagaag tttggcggg gggaaaggaa agggaaggag gtggcgcgca gcaacagctg	5760
	tccaatcggg atcaggtggc cgtgtcaggg agatgatggt ggtggggccc ggccgtcggc	5820
	ctctgcccct ccctgtcgat ccagtcaga gacacacacc gctagctagc tgtggctact	5880
	agcagctctg ggctctgac tcacctctg ctcgcccg ggacagccc gccccacgc	5940
	cgataaagaa aacggaaaaa ggagagggga aatagttcta gcgtgggtgg gggcccaac	6000
	ccagctccg ccgatccgg gccgggggt caattcgcg gtgtgtgacc ccgacggcg	6060
	cgatgatgcc gcccctgct cgtgcccg caccctctgc cgtccccg tcgcccggctc	6120
	agctccgtcg cgcgcgcgg cggcgacgtg tagcccgccc ctgctcgccc cacatgcaca	6180

```

cggaccacgc cggtagacctg acccatccaa ccgaaccgga tcctatcctc gcgtcgcggc 6240
catgccgagg gatggcggtg ttgttatcc cgcggcgcg cagaggccg gtcctatccg 6300
acggccggcg caccggcgca tggaattgtt gcgctggcg cggcgggggg acgtgtgagc 6360
gtgtccgtgc atgggtacgc gtgggattcc gtgcgattcc gctggccatt ggccacgcag 6420
ctgcaagga aggggtgttg tggttgggtg ggaggatcga ttcggtggat gtgaccgggt 6480
gtgggtgtgc gcgcacatgc gacggggtgg tgcgggtcag gggctcatcg gcggtcttgt 6540
gctcgaacca ctctctgcag gggaaatgcg ccggagcccg cgtcaactcg gcggtcacac 6600
cgatcacagg ataaggttga cggacgagat gttttctctt gtccgatata agaaagggtg 6660
gcgttaaagc gactgcacgc agaggcgta ggtctatata aagaagattt tttttttaca 6720
ttcggaaaat gtgggctagt actcctacat acatatgttt tctttttttt ttgagcatca 6780
tacatatgtt ttctttgatt tgaaggcgcg taaatatgga ttgacttatt tattggaact 6840
ggaatattga ttacgtaagt tttttattgg agctggacat gcttaccag tgcgattaat 6900
gctgcaacta cctccattct gatttattag ccccttgta tttaaggcaa aaaaaaaga 6960
aattaaggtc atagtttgac cataatttca actaataaag taaaagttaa acataggaga 7020
aataatatta tccgaaacta ttgtcaaata tgaattc 7057

```

[0015]

<210> 7

<211> 555

<212> PRT

<213> 普通小麦

<400> 7

```

Met Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Ala Gly Ala Ala Pro Asp Asp
1           5           10          15

```

```

Ser Phe Ala Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn Pro Thr
          20          25          30

```

```

Asp Leu Ser Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn Ala Pro
          35          40          45

```

```

Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ala Pro Gln Leu Asn Ala Ser Thr Ser Ser
          50          55          60

```

```

Thr Val Thr Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val Asp Ser
65          70          75          80

```

```

Ser Cys Ser Thr Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Pro Ser Pro Ala Val Ala
          85          90          95

```

[0016]

```

Pro Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Val Arg Asp Pro Lys Arg Met
    100                      105                      110

Arg Thr Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Leu
    115                      120                      125

Gly Gly Gly Gly Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro Pro Val
    130                      135                      140

Ala Ala Ala Ala Gly Ala Pro Ala Leu Pro Val Val Val Val Asp Thr
    145                      150                      155                      160

Gln Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys Ala Glu
    165                      170                      175

Ala Val Gln Gln Glu Asn Phe Ser Ala Ala Glu Ala Leu Val Lys Gln
    180                      185                      190

Ile Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg Lys Val Ala
    195                      200                      205

Ala Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg Phe Arg Pro
    210                      215                      220

Gln Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp Leu Leu His
    225                      230                      235                      240

Ala His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His Phe Thr
    245                      250                      255

Ala Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg Arg Val His
    260                      265                      270

Val Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro Ala Leu Leu
    275                      280                      285

Gln Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe Arg Leu Thr
    290                      295                      300

Gly Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu Gln Gln Val
    305                      310                      315                      320

Gly Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val Asp Phe Gln
    325                      330                      335

```

Tyr Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu Pro Phe Met
 340 345 350

Leu Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asn Pro Asn Glu Glu Pro Glu Val Ile
 355 360 365

Ala Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala Gln Pro Gly
 370 375 380

Ala Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg Pro Arg Ile
 385 390 395 400

Val Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly Thr Phe Leu
 405 410 415

Asp Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Ala Met Phe Asp Ser
 420 425 430

Leu Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser Gly Ala
 435 440 445

[0017] Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val Met Ser Glu Val
 450 455 460

Tyr Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys Glu Gly Ala Glu
 465 470 475 480

Arg Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg Asn Arg Leu Gly
 485 490 495

Asn Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn Ala Tyr Lys Gln
 500 505 510

Ala Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp Gly Tyr Lys Val
 515 520 525

Glu Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu
 530 535 540

Ile Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Ala Pro
 545 550 555

<210> 8
 <211> 3463

<212> DNA

<213> 普通小麦

<400> 8

[0018]

tatacatggt	gtggtactag	ttgtcatatt	tagctatata	tttttcaata	ttaattttta	60
tcaaccaca	tatctaggag	catgcaagca	ttaatagtta	gacttaacac	caagagatag	120
tgtgtctttc	ttaataacat	gtgtggcata	agtacacgat	ctaaaagact	tgagtcgatg	180
ataatttgtc	ctccaaaaag	aatacatttg	tgagagatag	aacacaagaa	ctccgatcac	240
attgatcaat	gatctgcattg	tgaaaaatgt	ctccagcggg	ttagaatgac	atagcgcgta	300
tttaacaaga	tatggtcaat	gacaaaataa	tagtcaactgt	acaagatgaa	tgacatagct	360
aaactgacgc	ggagcatccc	atggtcatca	ccatgcacac	accgccaaact	caagtgggtc	420
ctaattgttat	ttgctttctc	tagtttgctt	gttggatcta	acggttcttt	tgtattaaact	480
tgagttatga	gtggatattg	gtggagaata	ttattgactt	gtgcctacct	ctttttatoc	540
cccccccccg	ttttccccct	ctattcatcg	ttttgttact	tgaatccgcc	tccaatcatg	600
aattattgacc	atccctatgg	cttgaccctg	atcataaccg	tgtgtcgcat	tagctatgta	660
cgtgtcatgc	gagacaaaat	catgtagata	ggtcaaaatg	ttggttggtta	gattcgggtca	720
togatagaca	agttagggca	tctttgatcc	acatgattct	agaaacacat	gaaatgaaaa	780
gattgcaaaag	ttacgcccat	ttgaatcatg	cacggttttt	ggtttgggtg	catcgccgga	840
aaaacgtgga	tccttttcat	gaggttttca	gtggacacta	gaattccttg	gaatgaatac	900
aatgaatcc	ttggcaataa	tttgtgttgg	attcaatcct	acaaactaaa	cgaccagcac	960
ggaaaaagaa	tccccaagga	ttaaaagact	ccttcgattc	aaagaggccc	tcaacagtgc	1020
aataccttca	aagtcttgga	atccattttt	cccatgagca	ctgcaagcca	cagagagggc	1080
cacacggccg	cagcgcacgg	agaaggagtc	agacgtagca	gagcccccct	cccgcatagc	1140
atttttattt	aatttgccgg	gatttctggg	gtggtggggc	caagatttgt	aactggatgg	1200
cgaagtgtgt	ctggtgataa	agatggggcg	gacgaatccg	tccatcgatc	caacgctgtg	1260
cgcgtgttgg	cccggggccc	cgcccgccag	cgaccaccca	ctccacccag	accagatgc	1320
cttccccctc	ccatcaccog	atgcctcttc	gcaatctccc	ccctccccct	cccctacaac	1380
tactactact	cgctcccgct	gcccgtcgct	cgctcgctcg	ctgctttgct	ctctctcctt	1440
cttcttcttc	cttcttcttc	ccccaccccc	cgccccccga	ccctggatcc	aaatcccgac	1500
cctccccaga	accggaaccg	aggcaagcaa	aagcttggcg	caattattgg	ccggagatag	1560
gtagagaagc	gaggcagctc	gctcgcggtg	aggcgagatc	atgaagcgcg	agtaccagga	1620
cgcgcggcgg	agcgggtggc	ggggcgccat	gggctcgtct	gaggacaaga	tgatggtgtc	1680

[0019]	ggcggcgccg ggggaggggg aggaggtgga cgagctgctg gcgccgctcg ggtacaaggt	1740
	gcgggcctcc gacatggcgg acgtggcgca gaagctggag cagctggaga tggccatggg	1800
	gatgggcggc gtgggcggcg gcgcgcggcc cgacgacagc ttcgccaccc acctogccac	1860
	ggacaccgtg cactacaacc ccaccgacct ctctctctgg gtcgagagca tgctgtcgga	1920
	gctcaaagcg ccgcgcggcg cctcccgcc cgcccgcgag cagctcaacg cctccacctc	1980
	ctccaccgtc acggggcggtg ggtacttoga tctcccgccc tcggttgact cctcctgcag	2040
	cacctacgcc ctggggcgga tccctccccc ggccggcgcc gtccggcgcg ccgacctgtc	2100
	cgccgactcc gtgcggggacc ccaagcggtt gcgcactggc gggagcgaca cctcgtcgtc	2160
	gtcatcctcc tctcctctc tcggtggggg cgccaggagc tctgtggtgg aggtgtctcc	2220
	gccggtcgcg gccggggcca acgcgcggcg gctgccggtc gtctgtgtcg acacgcagga	2280
	ggccgggatt cggctggtgc acgcgctgct ggctgcgag gaggcgtgc agcaggagaa	2340
	cttctctgcc gcggaggcgc tggtaagca gatacccttg ctggccgctg ccaggggcgg	2400
	cgcgatgcgc aaggtcggcg cctacttcgg cgaggccctc gccgcggcg tcttcgctt	2460
	ccgcgcgag ccggacagct cctcctcga cgccgccttc gccgacctcc tccacgcga	2520
	cttctacgag tcttgcctt acctcaagtt cgcccacttc accgccaaacc aggcctcct	2580
	ggaggccttc gccggctgcc gccgcgtgca cgtcgtcgac ttcggcatca agcaggggat	2640
	gcagtggccc gccctcctcc aggcctcgc gctccgtccc ggccggccctc cctcgttccg	2700
	cctcaccggc gtccggcccc cgacgcggga cgagaccgac gccttgacg aggtgggctg	2760
	gaagctcgcc cagttcgcg acaccatccg cgtcgacttc cagtaccgag gcctcgtcgc	2820
	cgcacgctc gcggacctgg agccattcat gctgcagccg gaggggcagg aggaccogaa	2880
	cgaggagccc gagytaatcg ccgtcaactc ggtcttcgag atgcaccggc tgctcgcga	2940
	gcccgcgccc ctggagaagg tcttgggac cgtgcgcgcc gtgcggccga ggatcgtcac	3000
	cgtggtggag caggaggcca accacaactc cggcacattc ctggaccgct tcaccgagtc	3060
	tctgcactac tactccacca tgttcgattc cctcgagggc ggcagctccg gcggccctc	3120
	cgaagtctca tcgggggctg ccgtgtctcc tgccgcggc ggcacggacc aggtcatgtc	3180
	cgaggtgtac ctggcccgcc agatctgcaa cgtggtggcc tgcgaggggg cggagcgcac	3240
	agagcgccac gagaagctgg ggcagtggcg gaaccggctg ggcaacggcg ggttcgagac	3300
	cgtgcacctg ggtccaatg cctacaagca ggcgagcacg ctgctggccc tattcgccgg	3360
	cggcgacggg tacaaggtgg aggagaagga gggctgcctg actctgggtt ggcacacggc	3420
	cccgtgatc gccacctcgg catggcgccg ggcgcggcg tga	3463

<210> 9
 <211> 620
 <212> PRT
 <213> 普通小麦
 <400> 9

Met Lys Arg Glu Tyr Gln Asp Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15

Met Gly Ser Ser Glu Asp Lys Met Met Val Ser Ala Ala Ala Gly Glu
 20 25 30

Gly Glu Glu Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr Lys Val Arg
 35 40 45

Ala Ser Asp Met Ala Asp Val Ala Gln Lys Leu Glu Gln Leu Glu Met
 50 55 60

Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Ala Gly Ala Ala Pro Asp Asp Ser
 65 70 75 80

[0020]

Phe Ala Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn Pro Thr Asp
 85 90 95

Leu Ser Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn Ala Pro Pro
 100 105 110

Pro Pro Leu Pro Pro Ala Pro Gln Gln Leu Asn Ala Ser Thr Ser Ser
 115 120 125

Thr Val Thr Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val Asp Ser
 130 135 140

Ser Cys Ser Thr Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Pro Ser Pro Ala Gly Ala
 145 150 155 160

Val Gly Pro Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Arg Asp Pro Lys Arg
 165 170 175

Met Arg Thr Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
 180 185 190

Ser Leu Gly Gly Gly Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro Pro
 195 200 205

Val Ala Ala Gly Ala Asn Ala Pro Ala Leu Pro Val Val Val Val Asp
 210 215 220

Thr Gln Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys Ala
 225 230 235 240

Glu Ala Val Gln Gln Glu Asn Phe Ser Ala Ala Glu Ala Leu Val Lys
 245 250 255

Gln Ile Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg Lys Val
 260 265 270

Ala Ala Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg Phe Arg
 275 280 285

Pro Gln Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp Leu Leu
 290 295 300

His Ala His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His Phe
 305 310 315 320

[0021] Thr Ala Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg Arg Val
 325 330 335

His Val Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro Ala Leu
 340 345 350

Leu Gln Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe Arg Leu
 355 360 365

Thr Gly Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu Gln Gln
 370 375 380

Val Gly Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val Asp Phe
 385 390 395 400

Gln Tyr Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu Pro Phe
 405 410 415

Met Leu Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asp Pro Asn Glu Glu Pro Glu Val
 420 425 430

Ile Ala Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala Gln Pro
 435 440 445

[0022]

Gly Ala Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg Pro Arg
 450 455 460
 Ile Val Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly Thr Phe
 465 470 475 480
 Leu Asp Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Met Phe Asp
 485 490 495
 Ser Leu Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser Gly
 500 505 510
 Ala Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val Met Ser Glu
 515 520 525
 Val Tyr Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys Glu Gly Ala
 530 535 540
 Glu Arg Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg Asn Arg Leu
 545 550 555 560
 Gly Asn Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn Ala Tyr Lys
 565 570 575
 Gln Ala Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp Gly Tyr Lys
 580 585 590
 Val Glu Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His Thr Arg Pro
 595 600 605
 Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Ala Pro
 610 615 620

<210> 10

<211> 1872

<212> DNA

<213> 普通小麦

<400> 10

atgaagcggg agtaccagga cgccggaggg agcggcgggc gcggtggcgg catgggctcg 60
 tccgaggaca agatgatggt gtcggcgggc gcgggggagg gggaggaggt ggacgagctg 120
 ctggcgggcg tcgggtacaa ggtgcgcggc tccgacatgg cggacgtggc gcagaagctg 180
 gagcagctcg agatggccat ggggatgggc ggcgtgggcg ccggcgccgc ccccgacgac 240
 agcttcgccca ccacctcgc caccgacacc gtgcactaca accccacoga cctgtcgtct 300

[0023]	tgggtcgaga gcatgctgtc ggagctcaac gcgcgcgcgc cgcctctccc gcccgccccg	360
	cagctcaacg cctccacctc ctccaccgtc acgggcagcg gcggtactt cgatctcccc	420
	ccctccgtcg actcctccag cagcatctac gcgctgcggc cgatccccctc cccggccggc	480
	gcgacggcgc cggccgacct gtccgcgcac tccgtgcggg atcccaagcg gatgcgcaact	540
	ggcgggagca gcacctcgtc gtcactctcc tctcgtcgt ctctcggtag gggcgccagg	600
	agctctgtgg tggaggctgc cccgccggtc gcggccgcgg ccaacgcgac gcccgcgctg	660
	ccggctcgtcg tggtcgacac gcaggaggcc gggattcggc tggtcgacgc gctgctggcg	720
	tgcgcggagg ccgtgcagca ggagaacctc tccgcgcgg aggcgctggt gaagcagata	780
	cccttgcgtg ccgcgtccca gggcggcgcg atgcgcgaag tgcgcgcta cttcgccgag	840
	gccctcgcgc gccgcgtctt ccgcttcgcg ccgcagccgg acagctccct cctcgacgcc	900
	gccttcgcgc acctcctcca cgcgcacttc tacgagtct gccctacct caagttcgcg	960
	cacttcaccg ccaaccaggc catcctggag gcgttcgcgc gctgccgcgc cgtgcacgtc	1020
	gtcgacttcg gcatcaagca ggggatgcag tggccgcac ttctccaggc cctcgccctc	1080
	cgtcccgggc gccctccctc gtccgcctc accggcgctg gcccccgcga gccggacgag	1140
	accgacgccc tgcagcaggt gggctggaag ctgcgccagt tcgcgcacac catccgcgtc	1200
	gaacttcagt acccgggcct cgtgcgcgc acgctcgcgg acctggagcc gttcatgctg	1260
	cagccggagg gcgaggagga ccgaacgag gagcccgagg taatcgccgt caactcagtc	1320
	ttcgagatgc accggctgct cgcgcagccc ggcgccttg agaaggctct gggcacctg	1380
	cgcgcctg gcgccaggat cgtcacctg gtggagcagg aggcgaatca caactccggc	1440
	acattcctgg accgcttcac cgagtctctg cactactact ccaccatgtt cgattccctc	1500
	gagggcgcca gtcgcgcgc cggcccatcc gaagtctcat cgggggctgc tgcgtctct	1560
	gccgcgcgc gccacggacca ggtcatgtcc gaggtgtacc tcggccggca gatctgcaac	1620
	gtggtggcct gcgagggggc ggagcgaca gagcgccacg agacgctggg ccagtggcgg	1680
	aaccggctgg gcaacgcgcg gttcgagacc gtccacctg gctccaatgc ctacaagcag	1740
	gcgagcagc tgctggcgt cttgcgcgc gccgacggct acaagggtga ggagaaggaa	1800
	ggctgcctga cgtgggggtg gcacacgcgc ccgctgatcg ccacctcggc atggcgccctg	1860
	gccgggcccgt ga	1872

<210> 11

<211> 623

<212> FRT

<213> 普通小麦

<400> 11

Met Lys Arg Glu Tyr Gln Asp Ala Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Met Gly Ser Ser Glu Asp Lys Met Met Val Ser Ala Ala Ala Gly
20 25 30

Glu Gly Glu Glu Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr Lys Val
35 40 45

Arg Ala Ser Asp Met Ala Asp Val Ala Gln Lys Leu Glu Gln Leu Glu
50 55 60

Met Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Ala Gly Ala Ala Pro Asp Asp
65 70 75 80

Ser Phe Ala Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn Pro Thr
85 90 95

Asp Leu Ser Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn Ala Pro
100 105 110

[0024]

Pro Pro Pro Leu Pro Pro Ala Pro Gln Leu Asn Ala Ser Thr Ser Ser
115 120 125

Thr Val Thr Gly Ser Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val Asp
130 135 140

Ser Ser Ser Ser Ile Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Pro Ser Pro Ala Gly
145 150 155 160

Ala Thr Ala Pro Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Arg Asp Pro Lys
165 170 175

Arg Met Arg Thr Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro
195 200 205

Pro Val Ala Ala Ala Ala Asn Ala Thr Pro Ala Leu Pro Val Val Val
210 215 220

Val Asp Thr Gln Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala
225 230 235 240

Cys Ala Glu Ala Val Gln Gln Glu Asn Leu Ser Ala Ala Glu Ala Leu
 245 250 255
 Val Lys Gln Ile Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg
 260 265 270
 Lys Val Ala Ala Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg
 275 280 285
 Phe Arg Pro Gln Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp
 290 295 300
 Leu Leu His Ala His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala
 305 310 315 320
 His Phe Thr Ala Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg
 325 330 335
 Arg Val His Val Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro
 340 345 350
 [0025] Ala Leu Leu Gln Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe
 355 360 365
 Arg Leu Thr Gly Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu
 370 375 380
 Gln Gln Val Gly Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val
 385 390 395 400
 Asp Phe Gln Tyr Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu
 405 410 415
 Pro Phe Met Leu Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asp Pro Asn Glu Glu Pro
 420 425 430
 Glu Val Ile Ala Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala
 435 440 445
 Gln Pro Gly Ala Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg
 450 455 460
 Pro Arg Ile Val Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly
 465 470 475 480

Thr Phe Leu Asp Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Met
 485 490 495
 Phe Asp Ser Leu Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Pro Ser Glu Val
 500 505 510
 Ser Ser Gly Ala Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val
 515 520 525
 Met Ser Glu Val Tyr Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys
 530 535 540
 Glu Gly Ala Glu Arg Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg
 545 550 555 560
 Asn Arg Leu Gly Asn Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn
 565 570 575
 Ala Tyr Lys Gln Ala Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp
 580 585 590
 [0026] Gly Tyr Lys Val Glu Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His
 595 600 605
 Thr Arg Pro Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Gly Pro
 610 615 620
 <210> 12
 <211> 618
 <212> PRT
 <213> 大麦
 <400> 12
 Met Lys Arg Glu Tyr Gln Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp
 1 5 10 15
 Glu Met Gly Ser Ser Arg Asp Lys Met Met Val Ser Ser Ser Glu Ala
 20 25 30
 Gly Glu Gly Glu Glu Val Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr Lys
 35 40 45
 Val Arg Ala Ser Asp Met Ala Asp Val Ala Gln Lys Leu Glu Gln Leu
 50 55 60

Glu Met Ala Met Gly Met Gly Gly Pro Ala Pro Asp Asp Gly Phe Ala
 65 70 75 80
 Thr His Leu Ala Thr Asp Thr Val His Tyr Asn Pro Thr Asp Leu Ser
 85 90 95
 Ser Trp Val Glu Ser Met Leu Ser Glu Leu Asn Ala Pro Pro Pro Pro
 100 105 110
 Leu Pro Pro Ala Pro Pro Gln Leu Asn Ala Ser Thr Ser Ser Thr Val
 115 120 125
 Thr Gly Gly Gly Gly Tyr Phe Asp Leu Pro Pro Ser Val Asp Ser Ser
 130 135 140
 Ser Ser Thr Tyr Ala Leu Arg Pro Ile Ile Ser Pro Pro Val Ala Pro
 145 150 155 160
 Ala Asp Leu Ser Ala Asp Ser Val Arg Asp Pro Lys Arg Met Arg Thr
 165 170 175
 [0027] Gly Gly Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Gly Gly Ala Ala Arg Ser Ser Val Val Glu Ala Ala Pro Pro Val Ala
 195 200 205
 Ala Ala Ala Ala Ala Pro Ala Leu Pro Val Val Val Val Asp Thr Gln
 210 215 220
 Glu Ala Gly Ile Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys Ala Glu Ala
 225 230 235 240
 Val Gln Gln Glu Asn Leu Ser Ala Ala Glu Ala Leu Val Lys Gln Ile
 245 250 255
 Pro Leu Leu Ala Ala Ser Gln Gly Gly Ala Met Arg Lys Val Ala Ala
 260 265 270
 Tyr Phe Gly Glu Ala Leu Ala Arg Arg Val Phe Arg Phe Arg Pro Gln
 275 280 285
 Pro Asp Ser Ser Leu Leu Asp Ala Ala Phe Ala Asp Leu Leu His Ala
 290 295 300

His Phe Tyr Glu Ser Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His Phe Thr Ala
 305 310 315 320
 Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Ala Gly Cys Arg Arg Val His Val
 325 330 335
 Val Asp Phe Gly Ile Lys Gln Gly Met Gln Trp Pro Ala Leu Leu Gln
 340 345 350
 Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Ser Phe Arg Leu Thr Gly
 355 360 365
 Val Gly Pro Pro Gln Pro Asp Glu Thr Asp Ala Leu Gln Gln Val Gly
 370 375 380
 Trp Lys Leu Ala Gln Phe Ala His Thr Ile Arg Val Asp Phe Gln Tyr
 385 390 395 400
 Arg Gly Leu Val Ala Ala Thr Leu Ala Asp Leu Glu Pro Phe Met Leu
 405 410 415
 [0028] Gln Pro Glu Gly Glu Glu Asp Pro Asn Glu Glu Pro Glu Val Ile Ala
 420 425 430
 Val Asn Ser Val Phe Glu Met His Arg Leu Leu Ala Gln Pro Gly Ala
 435 440 445
 Leu Glu Lys Val Leu Gly Thr Val Arg Ala Val Arg Pro Arg Ile Val
 450 455 460
 Thr Val Val Glu Gln Glu Ala Asn His Asn Ser Gly Ser Phe Leu Asp
 465 470 475 480
 Arg Phe Thr Glu Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Met Phe Asp Ser Leu
 485 490 495
 Glu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser Gly Gly Ala
 500 505 510
 Ala Pro Ala Ala Ala Ala Gly Thr Asp Gln Val Met Ser Glu Val Tyr
 515 520 525
 Leu Gly Arg Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Cys Glu Gly Thr Glu Arg
 530 535 540

Thr Glu Arg His Glu Thr Leu Gly Gln Trp Arg Asn Arg Leu Gly Asn
545 550 555 560

Ala Gly Phe Glu Thr Val His Leu Gly Ser Asn Ala Tyr Lys Gln Ala
565 570 575

Ser Thr Leu Leu Ala Leu Phe Ala Gly Gly Asp Gly Tyr Lys Val Glu
580 585 590

Glu Lys Glu Gly Cys Leu Thr Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu Ile
595 600 605

Ala Thr Ser Ala Trp Arg Leu Ala Ala Pro
610 615

<210> 13

<211> 532

<212> PRT

<213> 拟南芥

<400> 13

[0029]

Met Lys Arg Asp His His His His His Gln Asp Lys Lys Thr Met Met
1 5 10 15

Met Asn Glu Glu Asp Asp Gly Asn Gly Met Asp Glu Leu Leu Ala Val
20 25 30

Leu Gly Tyr Lys Val Arg Ser Ser Glu Met Ala Asp Val Ala Gln Lys
35 40 45

Leu Glu Gln Leu Glu Val Met Met Ser Asn Val Gln Glu Asp Asp Leu
50 55 60

Ser Gln Leu Ala Thr Glu Thr Val His Tyr Asn Pro Ala Glu Leu Tyr
65 70 75 80

Thr Trp Leu Asp Ser Met Leu Thr Asp Leu Asn Pro Pro Ser Ser Asn
85 90 95

Ala Glu Tyr Asp Leu Lys Ala Ile Pro Gly Asp Ala Ile Leu Asn Gln
100 105 110

Phe Ala Ile Asp Ser Ala Ser Ser Ser Asn Gln Gly Gly Gly Gly Asp
115 120 125

Thr Tyr Thr Thr Asn Lys Arg Leu Lys Cys Ser Asn Gly Val Val Glu
 130 135 140
 Thr Thr Thr Ala Thr Ala Glu Ser Thr Arg His Val Val Leu Val Asp
 145 150 155 160
 Ser Gln Glu Asn Gly Val Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys Ala
 165 170 175
 Glu Ala Val Gln Lys Glu Asn Leu Thr Val Ala Glu Ala Leu Val Lys
 180 185 190
 Gln Ile Gly Phe Leu Ala Val Ser Gln Ile Gly Ala Met Arg Lys Val
 195 200 205
 Ala Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ala Arg Arg Ile Tyr Arg Leu Ser
 210 215 220
 Pro Ser Gln Ser Pro Ile Asp His Ser Leu Ser Asp Thr Leu Gln Met
 225 230 235 240
 [0030] His Phe Tyr Glu Thr Cys Pro Tyr Leu Lys Phe Ala His Phe Thr Ala
 245 250 255
 Asn Gln Ala Ile Leu Glu Ala Phe Gln Gly Lys Lys Arg Val His Val
 260 265 270
 Ile Asp Phe Ser Met Ser Gln Gly Leu Gln Trp Pro Ala Leu Met Gln
 275 280 285
 Ala Leu Ala Leu Arg Pro Gly Gly Pro Pro Val Phe Arg Leu Thr Gly
 290 295 300
 Ile Gly Pro Pro Ala Pro Asp Asn Phe Asp Tyr Leu His Glu Val Gly
 305 310 315 320
 Cys Lys Leu Ala His Leu Ala Glu Ala Ile His Val Glu Phe Glu Tyr
 325 330 335
 Arg Gly Phe Val Ala Asn Thr Leu Ala Asp Leu Asp Ala Ser Met Leu
 340 345 350
 Glu Leu Arg Pro Ser Glu Ile Glu Ser Val Ala Val Asn Ser Val Phe
 355 360 365

[0031]

Glu Leu His Lys Leu Leu Gly Arg Pro Gly Ala Ile Asp Lys Val Leu
370 375 380

Gly Val Val Asn Gln Ile Lys Pro Glu Ile Phe Thr Val Val Glu Gln
385 390 395 400

Glu Ser Asn His Asn Ser Pro Ile Phe Leu Asp Arg Phe Thr Glu Ser
405 410 415

Leu His Tyr Tyr Ser Thr Leu Phe Asp Ser Leu Glu Gly Val Pro Ser
420 425 430

Gly Gln Asp Lys Val Met Ser Glu Val Tyr Leu Gly Lys Gln Ile Cys
435 440 445

Asn Val Val Ala Cys Asp Gly Pro Asp Arg Val Glu Arg His Glu Thr
450 455 460

Leu Ser Gln Trp Arg Asn Arg Phe Gly Ser Ala Gly Phe Ala Ala Ala
465 470 475 480

His Ile Gly Ser Asn Ala Phe Lys Gln Ala Ser Met Leu Leu Ala Leu
485 490 495

Phe Asn Gly Gly Glu Gly Tyr Arg Val Glu Glu Ser Asp Gly Cys Leu
500 505 510

Met Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp Lys
515 520 525

Leu Ser Thr Asn
530

<210> 14

<211> 30

<212> PRT

<213> 普通小麦

<400> 14

Asp Ser Ala Thr Pro Pro Asp Ala Pro Leu Val Ala Ala Ala Gly Leu
1 5 10 15

Ala Ala Asn Glu Thr Thr His Ile Lys Ile Ser Ala Asn Lys
20 25 30

<210> 15

<211> 11
 <212> PRT
 <213> 普通小麦

<400> 15

Asp Glu Leu Leu Ala Ala Leu Gly Tyr Lys Val
 1 5 10

<210> 16
 <211> 4501
 <212> DNA
 <213> 普通小麦

<400> 16

atgccgtcta caactactac gctgccgctc cctcgctgct ctgctcgctc tcctccctcc 60
 ccaccccaac catccccgtc tcctcctcct tcctcctctc ccccgaccct ggatccaaat 120
 cccggcccgcc cccagagccg gaatcgaggg aagcaaaagc ttgagataga tagagagggc 180
 aggtagggag gcgagagggc agatcatgaa ggcgagtagc caggacgccg gaggagcgg 240
 cggtagcccg ggaggcatgg gctcgccga ggacaagata atgggtgctg ggtcgccggc 300
 ggccgggggag ggggaggagg tggacgagct gctggccggc ctccgggtaca aggtgtgttg 360
 ggcgcgcctc ctgcgagcgc cgttcttctt cctctcatct ctcatgaaca cacaccatgg 420
 agaaactcta caccacacac cacacaacca agaagaacac cggctgttac ttgacagag 480
 aggcccttct ccttggtgga acaagagact acattgtgtt ttccccagcc ctcttggtc 540
 acttttctca ttcattctct ccaacttaaa tagctaagta caagactgac ccaagcactt 600
 gccagccgcc actctcgag ctgctaagc ccaactaact atgcactagg ccaactaatca 660
 caactaactc atgcagcat gcaccacacc ggccactatc acatgaccgg gcgactaacc 720
 cactagctac atgcatgcaa ctagataact accttatcca tgcactccag gactcgcaa 780
 ctccaccgga cgcgccgctc gtagcagccg cgggacttgc tgctaacgaa accacgcaca 840
 tcaagattag tgctaacatt tccccctta atcttgacac gccttgccgt cgaccgtcat 900
 cttgaacgcc tgagctcgac gtcttcacac gcctccggc cggctcgac gtgccgtgg 960
 cccgcctgtc accggagttg atgcagcttg cgtcgtcgtc gtcacggccg tgaccagcc 1020
 tgccgacccg acccgacgca tcgacgcggc tcacacggcc accgacccga cctggcgac 1080
 tgacgcgggt cgcacgctgc tcctcaacga ccccgccgac atacgcgag ctctccgcc 1140
 ggcgacacac gcctggcgct cctctcgctc ccgcacgtcc cgcacgcac cgcgtgccc 1200
 gacgagcccg accgcagcag tgcgtccgc acgtcccgcg cgcattcgac gcgccgacg 1260
 agcccgacag caccagacgc tcaccagtg ccgcctccgc gtccgcatg gcagccacca 1320

[0032]

[0033]	cgccgcgcct acgtgccacg caccttcac ggctgttgc ccgagccgtc gcgacctatg	1380
	cgccaccacg caggtccttc gcgacctcct cgtctccgcg accgcctgc ccttcgcga	1440
	cactccccac gtccccgcgc tcccagcccg cgtccccgc gcgcacgtac gcggtctgcg	1500
	caaccaggtc cagcgctcg acgcggtcca ctcccgcggt cccgacgcgc tcgacacgtc	1560
	cagtgcgcgc ccataacacg caccggtcgc gtccggtcgc ccgcccgcac ttattgcct	1620
	gcaccgcgcg ggctcccatg ccgccatgca gtgcctccac gccgcacac cgtgttgac	1680
	cgttcgcga ccacgcagcg cctcggcggc ctcccggtc gccgcacgta cgcgtcacc	1740
	gcccgccgc tcgcacgcgc gctcgcgcg cgcgcagcc gatgcctcca tgcggcggc	1800
	gcctgcgcg tcgcgcgcg acgccacgc gcgccacggc cgcctccga acctgtggc	1860
	tctgaatacc aaatgttggc gccgcctcct cgcgcgcgc ttcttcttc tctcatctt	1920
	catgaacaca caccatggag aaactctaca cacacacaca cacaaccaag aagaacacg	1980
	gctgttactt tgcacgagag gcccttctcc ttggtggaac aagagactac attgtgttt	2040
	tcccagccct cttggtcac tttctcatt catcttctcc aacttaaata gctaagtaca	2100
	agactgacc aagcacttgc cagccgcac tctgcagct gctaaccgcc actaactcat	2160
	gcactaggcc actaatcaca actaactcat gcacgcagc accacaccg cactatcac	2220
	atgaccgggc gactaaccca ctagctacat gcctgcaact agataactac cttatccatg	2280
	cactccagga ctccgcaact ccaccggacg ccccgctcgt agcagccgcg ggaattgctg	2340
	ctaacgaac cagcacatc aagattagt ctaacaagg gccggcgctc gacatggcg	2400
	acgtggcgca gaagctggag cagctggaga tggccatggg gatgggggc gtgggcgcg	2460
	gcgcgcgcgc cgacgcagc ttccgccccc acctcgccac ggacaccgtg cactacaacc	2520
	ccaccgacct ctctcctgg gtccgagaca tgcgtgcga gctcaacgc ccgcgcgcgc	2580
	ccctccgcgc cgcgcgcg ctcaacgcct ccacctctc caccgtcacc ggcggcggt	2640
	acttcgatct cccgcctcc gtccgactct cctgcagcac ctacgcgctg cggccgatcc	2700
	cgtcccggc cgtcgcgcg gccgacctct ccgcgcact cgtcgtgcg gatcccaagc	2760
	ggatgcgcac tggcggcagc agcaactcgt cgtcctctc atcgtctct ctccgcggtg	2820
	gcggcgccag gagctctgt gtggaggctg cccgcgcgt gccgcgcgc gccggtgcg	2880
	ccgcgctgcc ggtcgtcgt gtccgacgc agggagccgc gattcggctg gtgcacgcgc	2940
	tgttggcgtg cgcagaggcc gtgcagcag agaactctc tgcgcggag gcgctggtga	3000
	agcagatacc cttgctggcc gcgtccagg gcggcgccat gcgcaaggc gccgctact	3060
	tcggcgaggc cctcgcgcgc cgcgtcttc gcttcgccc gcagccggac agctcctcc	3120

	tgcagccgc cttcgccgac ctctccacg cgcacttcta cgagtcctgc cctacacctca	3180
	agttogccca cttcacccgc aaccaggcca tcttgaggc gttcgccggc tgcgcccgcg	3240
	tgcacgtcgt cgacttcggc atcaagcagg ggatgcagtg gcccgccctt ctccaggccc	3300
	tggcgctccg tcccgccggc cctccctcgt tocgctcac cggcgctcggc ccccgccagc	3360
	cggacgagac cgacgccttg cagcagggtg gctggaagct cggccagttc gcgcacacca	3420
	tccggtcga cttccagtae cgcggcctcg tcgcccacac gctcgccgac ctggagccgt	3480
	tcatgctgca gccggagggc gaggaggacc cgaacgagga gcccgaggta atcgccgtca	3540
	actcggtctt cgagatgcac cggtgctcg cgcagcccg cgcctggag aaggtcctgg	3600
	gcaccgtcgc cgcgtcggc ccgaggatcg tcaccgtggt ggagcaggag gcgaaccaca	3660
	actcggcac attcctggac cgcttcaccg agtcctgca ctactactcc accatgttcg	3720
	attctctgga gggcgccagc tccggcgcc catccgaagt ctcctctggg gcggtcgtg	3780
	ctctgcccgc cgcggccagc gaccaggta tgtccgaggt gtacctcggc cggcagatct	3840
	gcaacgtggt ggcctgcgag gggcgccgag gcacagagcg gcacgagacc ctggggcagt	3900
	ggcggaaccg cctcgccaac gccgggttcg agaccgtcca cctgggtcc aatgcctaca	3960
	agcaggcgag cagctgctg gcgtcttcg caggcgccga cgggtacaag gtggaggaga	4020
[0034]	aggagggctg cctgacgtg ggggtggcaca cgcgccctg gatcgccacc tccgatggc	4080
	gcctggccgc gccgtgaccg cgagtttga acgtgttaag tacacatcgt gagcatggag	4140
	gacgacacaa ccccgccggc cgcgccgct ctccggcgca cgcacgcacg cagctcttg	4200
	aagaagaaga agaagctaaa tgtcatgtca gtgaacgtg aattgcagcg gccggccacg	4260
	atcgaccgtc cggcgtgaag agacggacga cgacgaactc cgagccgacc atcccaccg	4320
	catgtagtaa tgtaatccct tottcgtccc cagttctcca ccgcctccat gatcaccgt	4380
	aaaactccca agccctacta ctactactac tactactact actactatca tgtttaaatg	4440
	tctattattg caatgtgtaa ttctccaat cgctcatatc aaaataagcg cgggcccggc	4500
	t	4501
	<210> 17	
	<211> 24	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 17	
	ggcaagcaaa agcttgagat agat	24
	<210> 18	
	<211> 19	

[0035]	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 18	
	ggtgcagggc aataagatg	19
	<210> 19	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 19	
	gacagcacca gacgctcac	19
	<210> 20	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 20	
	gctctcgacc caggaggag	19
	<210> 21	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 21	
	tggagcagct ggagatgg	18
	<210> 22	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 22	
	taggggcagg actcgtagaa	20
	<210> 23	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 23	
	gcgctggtga agcagatac	19
	<210> 24	
	<211> 18	
	<212> DNA	
	<213> 普通小麦	
	<400> 24	
	ttcaaaactcg cggtcacg	18

[0036]	<210>	25	
	<211>	22	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	25	
		tctcctccct cccacccca ac	22
	<210>	26	
	<211>	18	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	26	
		gcgtccggtg gagttgcc	18
	<210>	27	
	<211>	20	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	27	
		gtgtttttcc cagccctett	20
[0036]	<210>	28	
	<211>	19	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	28	
		gctctcgacc caggaggag	19
	<210>	29	
	<211>	18	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	29	
		gaggtagctc gcggatca	18
	<210>	30	
	<211>	18	
	<212>	DNA	
	<213>	普通小麦	
	<400>	30	
		cgttcaaaac tcgcgaga	18

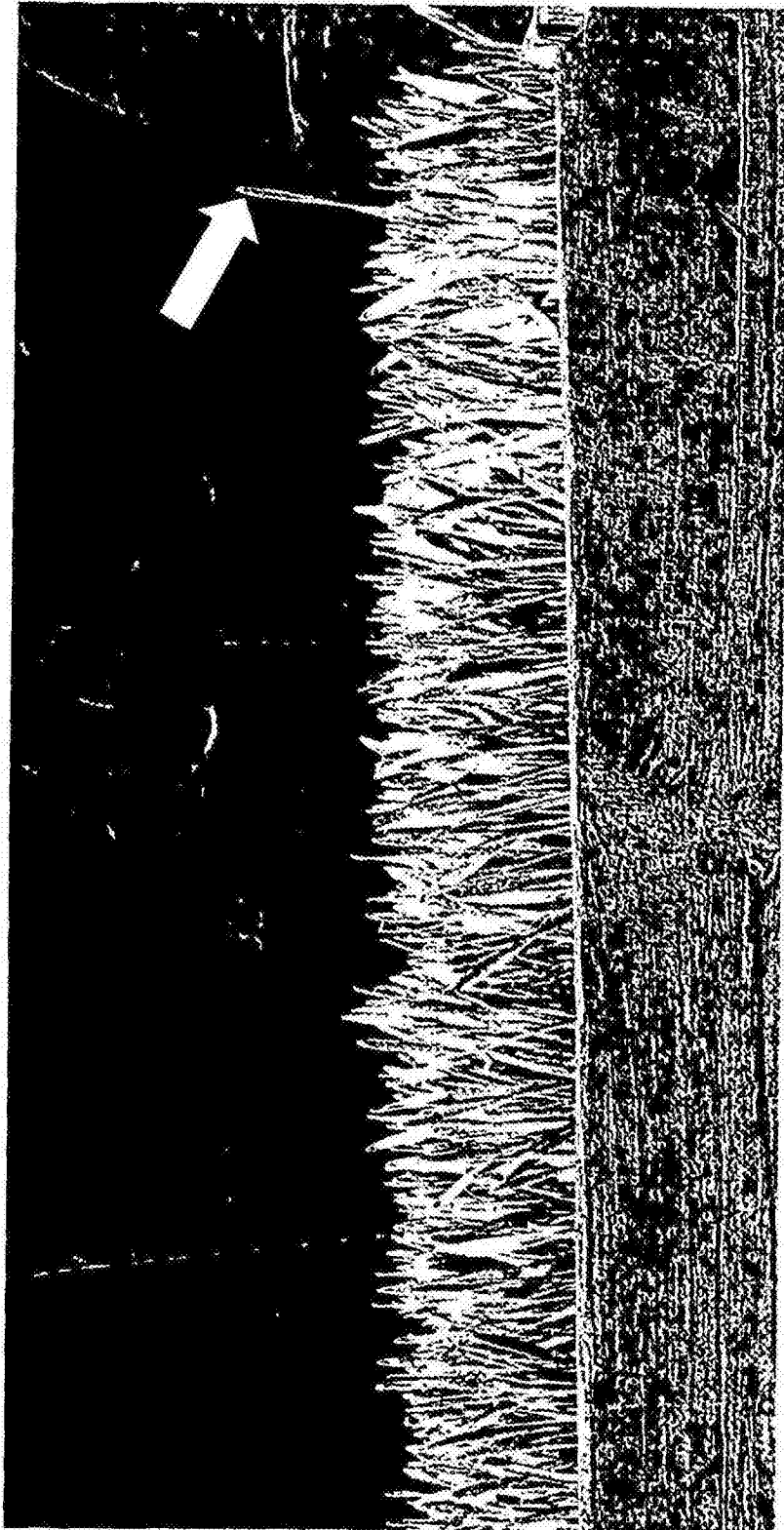


图1



图2

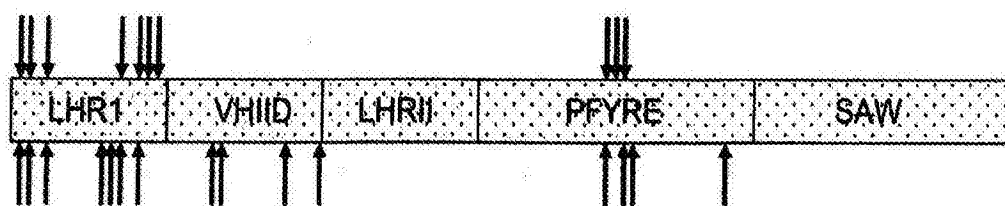


图3

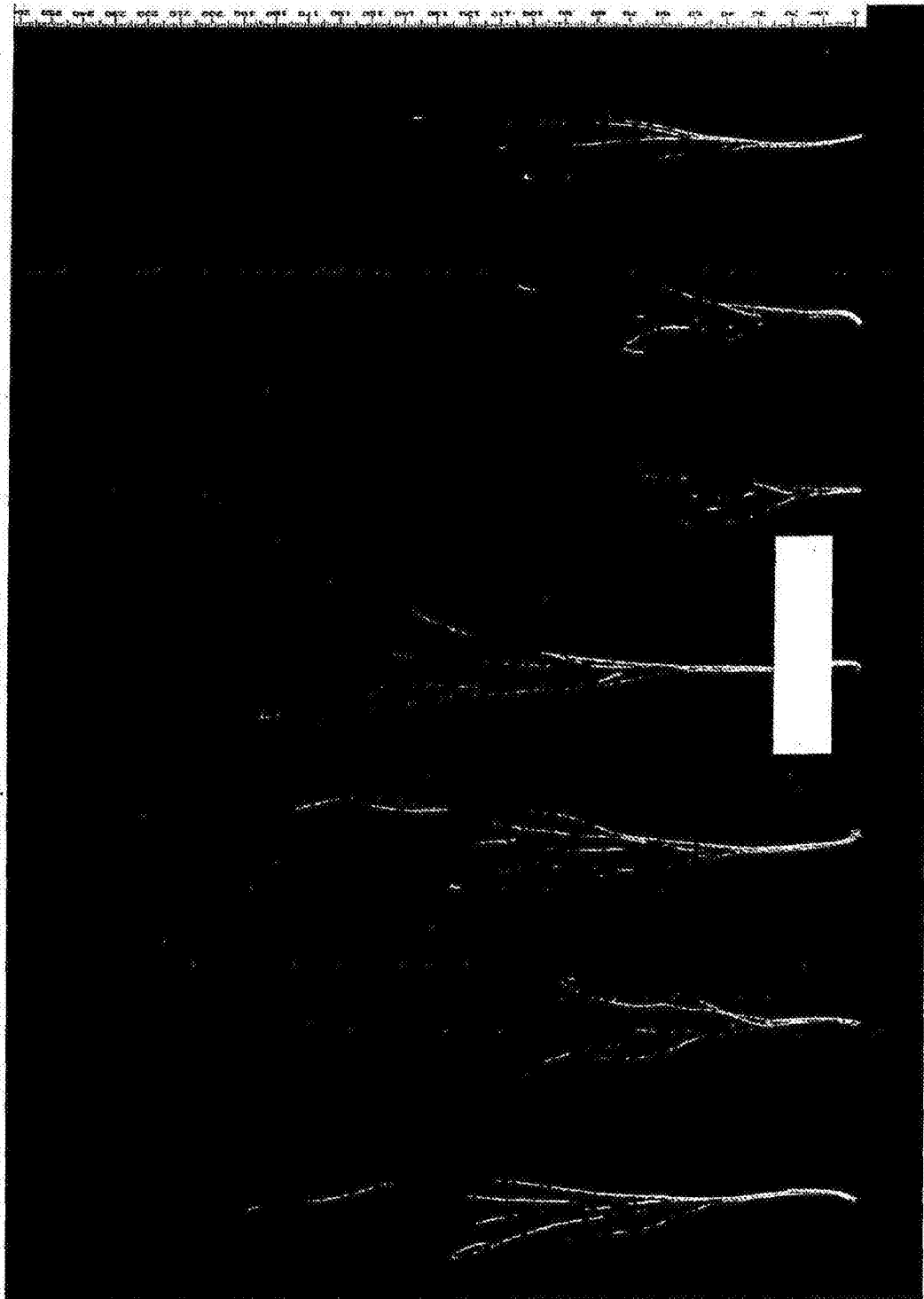


图4

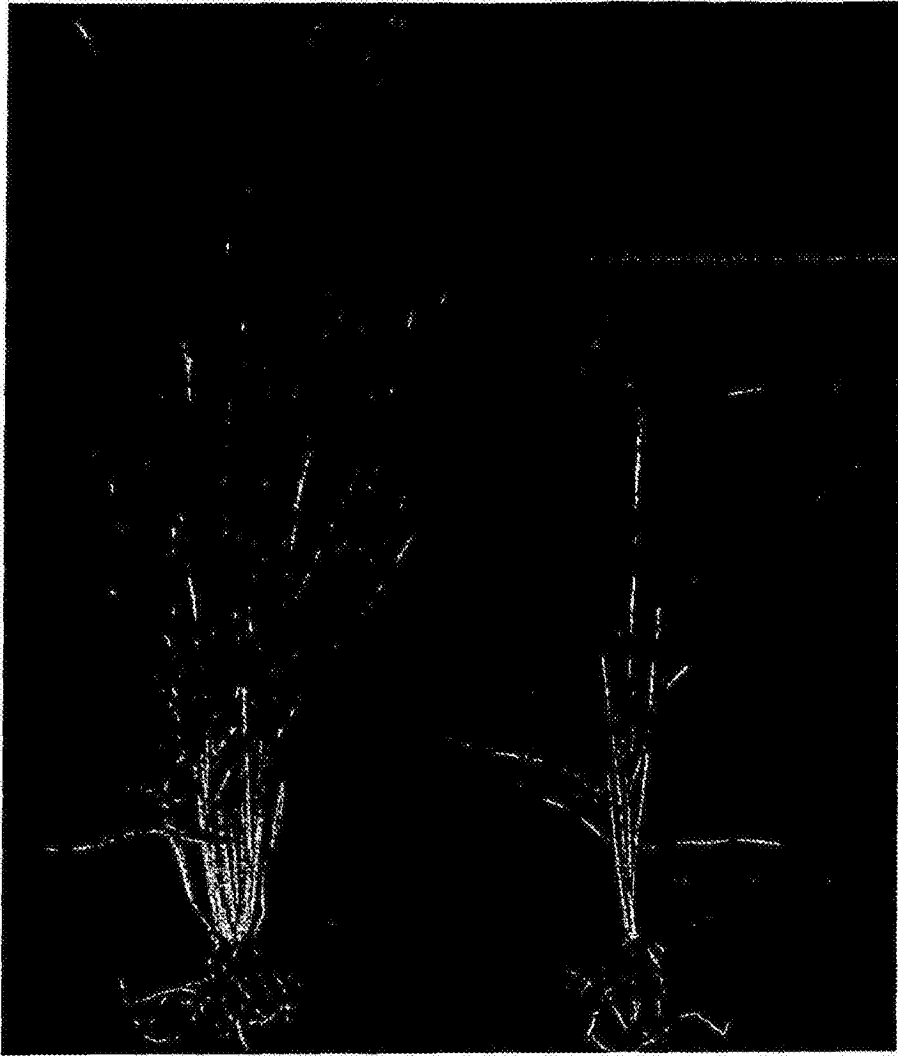


图5

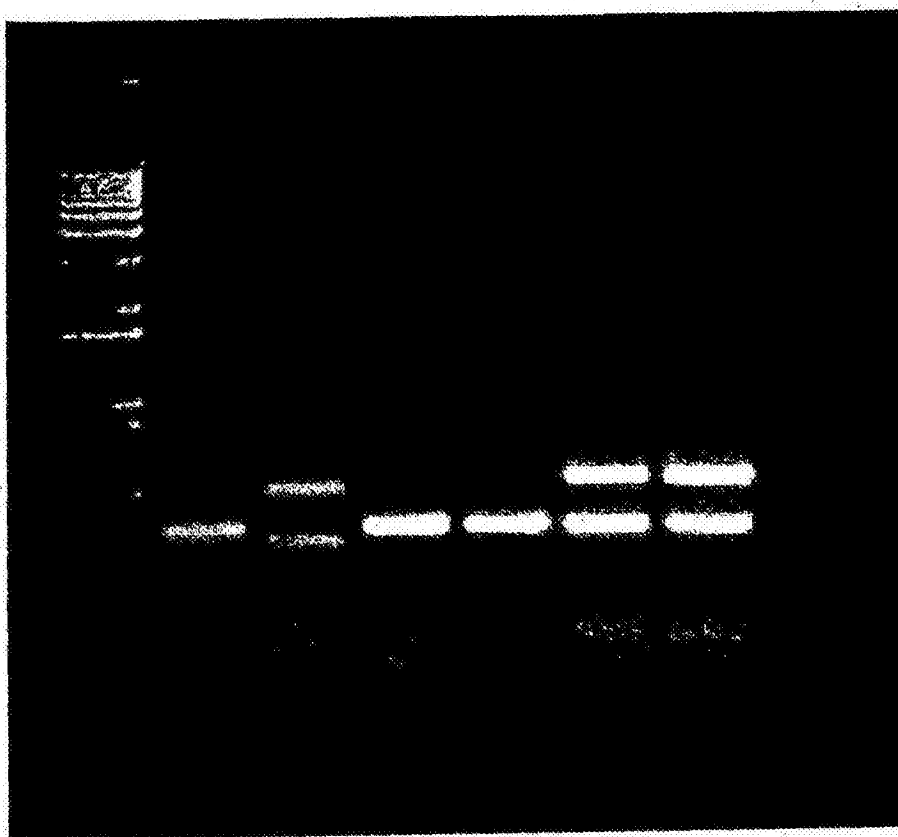


图6

一致序列	MKREYQDAGGSGGGGGMGSSSEDKMMVS--AAAGEGEEVDELLAALGYKV
JF930277_R	
JF930278_R	GS.....
JF930281_R	
一致序列	51 61 71 81 91
JF930277_R	RASDMADVAQKLEQLEMAMGMGGVGAGAAPDDSFATHLATDTVHYNPTDL
JF930278_R	
JF930281_R	
一致序列	101 111 121 131 141
JF930277_R	SSWVESMLSELNAPPPPLPPAP-QLNASTSSTVTG-GGYFDLPPSVDSSC
JF930278_R	Q.....
JF930281_R	S.....S
一致序列	151 161 171 181 191
JF930277_R	STYALRPIPPSPAGAVAPADLSADS-VRDPKRMRTGGSSTSSSSSSSSSLG
JF930278_R	G.....
JF930281_R	V.....LG. .I.....T.....
一致序列	201 211 221 231 241
JF930277_R	GGARSSVVEAAPPVAAAANA-PALFVVVVDTQEAGIRLVHALLACAEAVQ
JF930278_R	G.....
JF930281_R	G.....T.....
一致序列	251 261 271 281 291
JF930277_R	QENFSAAEALVKQIPLLAASQGGAMRKVAAYFGEALARRVFRFRPQPDSS
JF930278_R	
JF930281_R	...L.....
一致序列	301 311 321 331 341
JF930277_R	LLDAAFADLLHAHFYESCPYLKFAHFTANQAILEAFAGCRRVHVVDPGIK
JF930278_R	
JF930281_R	
一致序列	351 361 371 381 391
JF930277_R	QGMQWPALLQALALRPGGPPSFRLTGVGPPQPDETDALQQVGWKLQFAH
JF930278_R	
JF930281_R	
一致序列	401 411 421 431 441
JF930277_R	TIRVDFQYRGLVAATLADLEPFMLQPEGEEDPNEEPEVIAVNSVFEMHRL
JF930278_R	
JF930281_R	

图7a

一致序列	451	461	471	481	491
JF930277_R	LAQPGALEKVLGTVRAVRPRIVTVVEQEAHNHNSGTFLDRFTESLHYSTM				
JF930278_R					
JF930281_R					
一致序列	501	511	521	531	541
JF930277_R	FDSLEGGSSGG-PSEVSSGAAAAAPAAAGTDQVMSEVYLGRQICNVVACEG				
JF930278_R					
JF930281_R	G.....				
一致序列	551	561	571	581	591
JF930277_R	AERTERHETLGQWRNRLGNAGFETVHLGSNAYKQASTLLALFAGGDGYKV				
JF930278_R					
JF930281_R					
一致序列	601	611	621		
JF930277_R	EEKEGCLTLGWHTRPLIATSAWRLAAP				
JF930278_R					
JF930281_R	G.....				

图7b

小麦 Rht-B1a	22	EDKMVSGSAAAGEEVEDLLAALGYKVRASDNADVAQKLEQLEMAMGMGVGAGAAPD	81
CAA75492	11	DKKTMNEEDDNG--MDELLAVLGYKVRSSSENADVAQKLEQLEVM--SNVQED	62
小麦 Rht-B1a	82	DSFATHLATDTHYNPTDLSSWVESMLSELNAPPPPLPPAPQLNASTSSTVTGGYFDLP	141
CAA75492	63	D--LSQLATETVHYNPAELYTWLDSMLTDLNPP-----	93
小麦 Rht-B1a	142	PSVDSSTYALRPIPSPAVAPADLSADSVVRDPKMRGTGSGSTSSSSSSSLGGG--	198
CAA75492	94	---SSNAEYDLKAIPGDAIL-----NQFAIDSASSNQGGGDTY	130
小麦 Rht-B1a	199	--ARSSVVEAAPVAAAAGAPALPVVVVDTQEAGIRLVHALLACAEAVQQENFSAEAL	255
CAA75492	131	TINKRLKCSNGVETTITATAESTRHHVVLVDSQENGVRVHALLACAEAVQENLITVAEAL	190
小麦 Rht-B1a	256	VKQIPLLAASQGGAMRKVAAYFGEALARRVFRFPQPDSSLLDAAFADLLHAHFYSCPY	315
CAA75492	191	VKQIGFLAVSQIGAMRKVATYFAEALARRIYRL--SPSQSPIDHSLSDTLQMHFYETCPY	248
小麦 Rht-B1a	316	LKFAHFTANQAILAEAFAGCRRVHVDFGIKQGMQWPALQALALRPGPPFRLTGVGPP	375
CAA75492	249	LKFAHFTANQAILAEAFQKKRVHVIDFMSQGLQWPALMQALALRPGPPVFRLTGIGPP	308
小麦 Rht-B1a	376	QPDETDALQQVGWKLAQFAHTIRVDFQYRGLVAATLADLEPFMLQEGEDPNEEPEVIA	435
CAA75492	309	APDNFDYLHEVGCKLAHLAEAIHVEFEYRGFVANTLADLDASML---ELRPS-EIESVA	363

图 8a

小麦 Rht-B1a	436	VNSVFEMHRLLAQPGALEKVLGTVRAVRPRIVTVVQEANHNSTGFIDRFETESLHYSTM *****+*** +++++** *++* * *****+*****+*****+	495
CAA75492	364	VNSVFELHKLLGRPGAIDKVLGVVNQIKPEIFTVVBQESNHNSPFIIDRFETESLHYSTL	423
小麦 Rht-B1a	496	FDSLEGSSGGPSEVS SGA A A PAAAGT D Q V M SEV L G R Q I C N V V A C E G A E R T H E T L G ***** *	555
CAA75492	424	FDSL EGVP S-----GDQKVMS EVYL GKQI CNVVACDGPDRVERHETLS	466
小麦 Rht-B1a	556	QWNRNLGNAGFETVHLGSNAYKQASTLLALFAGDG Y KVEEKGCLTLGWHTRPLIATSA ***** +**** ++++++++* **** *++*+****+****+*****+*****	615
CAA75492	467	QWNRNFGSAGFAA AHIGSNAFKQASMLLALFNCGEGYVEESDGLM LGWHTRPLIATSA	526
小麦 Rht-B1a	616	WRLA 619 ++*	
CAA75492	527	WKLS 530	

图 8b

Maringa 等位基因系的谷粒休眠

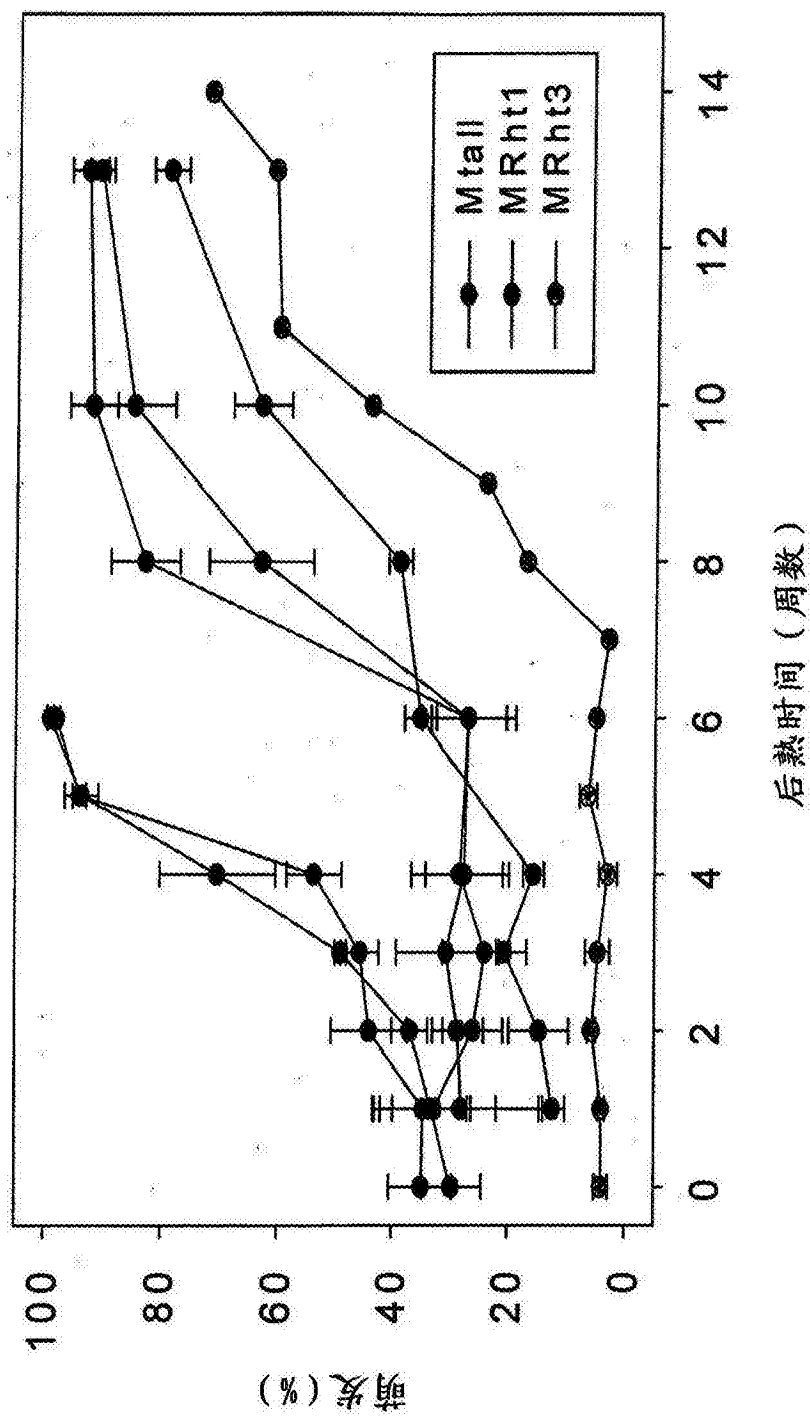


图9