

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

## 1656-98

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28. 11. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.11.95, 19.04.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/9504272, 96/9601506**

(33) Země priority: **SE, SE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 04. 99**  
(Věstník č. 4/99)

(86) PCT číslo: **PCT/SE96/01558**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/20040**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

<b>C 12 N</b>	<b>9/10</b>
<b>C 12 N</b>	<b>15/82</b>
<b>A 01 H</b>	<b>5/06</b>

(71) Přihlášovatel:

**AMYLOGENE HB C/O SVALÖF WEIBULL**  
AB, Svalöv, SE;

(72) Původce:

Ek Bo, Björklinge, SE;  
Khosnoodi Jamshid, Uppsala, SE;  
Larsson Clas-Tomas, Uppsala, SE;  
Larsson Håkan, Uppsala, SE;  
Rask Lars, Uppsala, SE;

(74) Zástupce:

Čermák Karel Dr., Národní 32, Praha 1,  
11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Enzym způsobující větvení bramborového škrobu**

(57) Anotace:

Aminokyselinová sekvence druhého enzymu způsobujícího větvení bramborového škrobu /SBE II z starch branching enzyme/, se sekvencí související fragment a korespondující DNA. Vektory skládající se z takových sekvencí DNA, které jsou použitelné k produkci transgenních brambor a k použití těchto brambor k produkci škrobu. U amylopektinu takového škrobu je změněno větvení a je také změněn poměr amylosy ku amylopektinu.

CZ 1656-98 A3

Enzym způsobující větvení bramborového škrobu

~~(Starch Branching Enzyme II)~~

#### Oblast techniky

Předkládaný vynález se vztahuje k novému enzymu brambor způsobujícímu větvení škrobu. Konkrétně se předkládaný vynález vztahuje k aminokyselinové sekvenci druhého enzymu způsobujícího větvení bramborového škrobu (SBE II z starch branching enzyme), dále s touto sekvencí souvisejícímu fragmentu a korespondujícím DNA. Dále se vynález vztahuje k vektorům skládajících se z takových sekvencí DNA, které jsou použitelné k produkci transgenních brambor a k použití těchto brambor k produkci škrobu.

#### Dosavadní stav techniky

Škrob je složitá směs rozličných molekulových forem, odlišujících se stupněm polymerizace a větvení glukosových řetězců. Škrob se skládá z amylozy a amylopektinu, přičemž amyloza je složená z v podstatě lineárního  $\alpha$ -1,4-glukanu a amylopektin je složený z  $\alpha$ -1,4-glukanů spojených vzájemně přes  $\alpha$ -1,6-můstky, takže vzniká rozvětvený polyglukan. Znamená to, že škrob není jednotný hrubý materiál.

Škrob je syntetizován v nejméně třech enzymatických reakcích, ve kterých jsou zahrnuty ADPglukozofosforyláza (EC 2.7.7.27), syntetáza škrobu (EC 2.4.1.21) a enzym větvicí škrob (větvicí faktor) (EC 2.4.1.18). Předpokládá se, že enzym větvicí škrob (SBE, také nazývaný Q-enzym či větvicí faktor) má dvě různé enzymatické aktivity. Katalyzuje jednak hydrolýzu  $\alpha$ -1,4-glykosidických vazeb a jednak vznik 1,6-glykosidických vazeb vznikajících během syntézy větvených komponent škrobu, například amylopektinu.

Rostlinný škrob je hodnotný zdroj obnovitelné suroviny, používané například v chemickém průmyslu (Visser a Jacobsen, 1993). Kvalita škrobu musí splňovat nároky průmyslových procesů, v kterých je uniformita struktury důležitým kritériem. Pro průmyslové aplikace jsou potřeba rostliny obsahující škrob složený buď jen z amylozy nebo rostliny mající škrob obsahující pouze amylopektin.

Postupy zvyšující poměr amylozy ku amylopektinu ve škrobu byly již navrženy. Například v WO95/04826 jsou popsány sekvence DNA, kódující enzymy snižující větvení tedy se schopností snížit nebo zvýšit stupeň větvení amylopektinu v traganých rostlinách, například v bramborech.

V WO92/14827 jsou popsány plazmidy mající sekvence, které po inzerci do genomu rostlin způsobují změny v koncentraci uhlohydrátů a uhlohydrátovém složení regenerovaných rostlin. Tyto změny mohou být získány pomocí sekvence větvicího enzymu, která je umístěna na těchto plazmidech. Předpokládá se, že tento větvicí enzym zvyšuje poměr amylozy ku amylopektinu v rostlinném škrobu, zvláště v komerčně využívaných rostlinách.

WO92/14827 popisuje pouze dosud známý škrobový větvicí enzym u brambor a není známo ani odborníkům, zdali jsou v procesu syntézy větveného škrobu brambor zahrnuty ještě další enzymy.

V Mol Gen Genet (1991) 225: 286-296, Visser et al., je popsána inhibice exprese genu, pomocí antisence konstruktů, pro granulově vázanou syntetázu škrobu. Inhibice enzymu u škrobu bramborových hlíz byla až 100%, což znamená, že se v těchto případech tvořil bezamylózový škrob. Předcházející způsob nebyl nicméně takto úspěšný v případě inhibice amylopektinu a alternativní metoda inhibice amylopektinu je proto stále vysoce žádoucí (Müller-Röber and Koßmann, 1994, Martin a Smith, 1995).

Podstata vynálezu

Předmětem předkládaného vynálezu je změna stupně větvení amylopektinu a poměru amylopektin/amyulóza v bramborovém škrobu. Podle předkládaného vynálezu je tento cíl dosažen objevením nově izolované sekvence DNA, kódující druhý enzym větvení škrobu brambor (SBE II), a pomocí fragmentů odvozených od této sekvence, které po inzerci do genomu rostlin způsobují změny ve stupni a poměru větvení škrobu v regenerovaných rostlinách.

V předkládaném vynálezu je též zahrnuta aminokyselinová sekvence SBE II a fragmentů od ní odvozených.

Jsou zahrnuty také varianty výše zmiňované sekvence DNA vyplývající z degenerace genetického kódu.

Nová sekvence DNA kódující SBE II, obsahující 3074 nukleotidů a také korespondující aminokyselinová sekvence obsahující 878 aminokyselin je ukázána v SEQ ID No. 1. Jeden fragment o délce 1393 nukleotidů výše uvedené sekvence DNA, korespondující s nukleotidy 1007 až 2399 DNA sekvence v SEQ ID No.1. a také korespondující aminokyselinová sekvence obsahující 464 aminokyselin jsou ukázány v SEQ ID No.2.

Dále jsou poskytovány vektory obsahující výše zmíněnou sekvenci izolované DNA a regulační části DNA aktivní v bramborách. Sekvence DNA může být vložena ve vektorech v orientaci „sense“ nebo „antisense“, (obrácené) ve vztahu k promotoru, který následuje bezprostředně před touto sekvencí DNA.

Poskytnut je také postup vedoucí k produkci transgenních brambor se sníženým stupněm větvení škrobového amylopektinu. Tento postup obsahuje následující kroky: a) přenos a vložení vektoru dle objevu do genomu buněk brambory a za b) regeneraci intaktní, celé rostliny z transformovaných buněk.

Konečně vynález poskytuje použití výše zmíněných transgenních brambor pro produkci škrobu.

V následující části je vynález popsán detailněji. V této části je popsána také experimentální část a doprovodné obrázky.

#### Přehled obrázků na výkresech

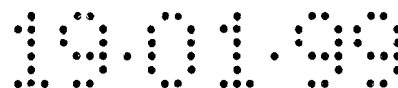
Obr.1 ukazuje SDS polyakrylamidovou elektroforézu proteinů extrahovaných ze škrobu normálních brambor (linie A) a transgenních brambor (linie B). Chybějící proteinové skvrny jsou označeny šipkami. Linie M jsou markery molekulových hmotností (kDa).

Obr.2 ukazuje 4 peptidové sekvence odvozené z naštěpených proteinů škrobu bramborových hlíz.

#### Příklady provedení vynálezu

Izolace škrobu z bramborových hlíz.

Rostliny brambor (*Solanum tuberosum*) byly pěstovány na poli. Oloupané hlízy kultivaru Early Puritan nebo transgenní linie brambor prakticky postrádající syntetázu škrobu I vázanou na granule (Svalöf Weibull AB, international application number PCT/SE91/00892) byly homogenizovány při 4°C. Do frakce zbavené hrubých částic (juice fraction), obsahující velkou část škrobu, byly ihned přidány: Tris - HCl pufr, pH 7,5 tak, aby jeho výsledná koncentrace byla 50 mM, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (Na-dithionite) tak, aby jeho výsledná koncentrace byla 30 mM a EDTA tak, aby výsledná koncentrace byla 10 mM. Škrobové granule sedimentovaly během 30 minut, poté byly 4x promyty desetinásobným množstvím promývacího pufru (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 10 mM EDTA). Škrob, který mezi každým promytím sedimentoval 30 minut při 4°C byl nakonec třikrát promyt třemi objemy acetonu, usušen přes noc volně na vzduchu a skladován při -20°C.



#### Extrakce proteinů bramborového škrobu

Skladovaný škrob (20g) byl kontinuálně smíchán s 200 ml extrakčního pufru (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 2% (hm./obj.) sodiumdodecylsulfát (SDS), 5 mM EDTA) postupným přidáváním pipetou při 85°C tak dlouho, dokud škrob neželatinoval. Vzorky byly poté na jednu hodinu zmrazeny při -70°C. Po rozmrazení při 50°C byly vzorky centrifugovány 20 minut při 12000 x g a 10°C. Supernatant byl shromažďován a znovu centrifugován 15 minut při 3000 x g. Výsledný supernatant byl zfiltrován přes filtry 0,45 µm a k němu byly následně přidány 2,25 objemy ledového acetonu. Po 30 minutách inkubace při 4°C byla sraženina proteinů oddělena centrifugací (3000 x g po 30 minut při 4°C) a rozpuštěna v 50mM Tris-HCl, pH 7,5. Část každé preparace byla analyzována pomocí SDS polyakrylamidové elektroforézy podle Laemmliho (1970) (Obr.1). Proteiny ve zbylé části preparace byly zkoncentrovány vysrážením trichloroctovou kyselinou (10%) a poté rozděleny na 8% SDS polyakrylamidovém gelu dle Laemmliho (1970). Proteiny v gelu byly obarveny Commassie Brilliant Blue R-250 (0.2% v roztoku 20% metanolu, 0,5% octové kyseliny a 79.5% H<sub>2</sub>O).

#### Štěpení proteinů v gelu a sekvenování peptidů

Obarvené proužky proteinů označené šipkami (Obr.1), korespondující s molekulovou hmotností okolo 100 kDa, byly vyříznuty a dvakrát promyty v 0,2 M roztoku NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> v 50% acetonitrilu za stálého míchání při 35°C. Doba každého promývání byla 20 minut. Po každém promytí byl roztok odstraněn a kousky gelu byly vysušeny odpařením v digestoři. Dobře vysušené kousky gelu byly poté každý zvlášť položeny na parafilm a k nim byly přidány 2 µl roztoku 0,2 M NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>, 0,02% Tween-20. Poté byly na kousky gelu nanášeny 2 µl (25 µg) modifikovaného trypsinu (Promega, Madison, WI, USA). Po jejich vsáknutí byly nanášeny 5 µl objemy 0,2 M NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub> tak dlouho,

dokud gely nenabývaly svých původních velikostí. Kousky gelů byly dále rozděleny na tři části a přeneseny do ependorfeček. Do každé bylo přidáno 200  $\mu$ l 0,2 M  $\text{NH}_4\text{CO}_3$ . Proteiny obsažené v kouscích gelu se poté rozkládaly přes noc při 37°C (Rosenfeld et al. 1992). Po úplném rozkladu byla přidána trifluoroctová kyselina tak, aby výsledná koncentrace byla 1%. Supernatant byl odebrán a uschován. Kousky gelu byly dále extrahovány dvakrát 200  $\mu$ l směsí obsahující 60% acetonitril, 0,1% trifluoroctovou kyselinu a 0,02% Tween - 20. Tyto supernatanty byly spojeny s ostatními supernatanty a jejich objem byl redukován na 50  $\mu$ l odpařením. Extrahované peptidy byly rozděleny na chromatografickém systému SMART (Pharmacia, Uppsala, Sweden) s kolonou  $\mu$ RPC C2/C18 SC2.1/10. Peptidy byly eluovány 0-60% gradientem acetonitrilu v 0,1% trifluoroctové kyselině. Separace trvala 60 min při průtoku 100  $\mu$ l/min. Peptidy byly sekvenovány na sekvenátoru Applied Biosystems 470A s plynou fází a s on-line PTH aminoanalyzátozem (120A) nebo na modelu 476A dle návodu výrobce (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Čtyři ze sekvenovaných peptidů daly jednoduše interpretovatelné sekvence (Obr.2). Prohledání databáze ukázalo, že tyto čtyři peptidy vykazují podobnost se škrobovými větvicími enzymy. Zajímavé bylo zjištění, že tyto peptidy byly více příbuzné škrobovému větvicímu enzymu II z jiných rostlinných druhů než škrobovému větvicímu enzymu I z brambor.

Konstrukce oligonukleotidů kódujících peptidy 1 a 2

Degenerované oligonukleotidy kódující peptid 1 a 2 byly syntetizovány jako primery (v obou směrech):

Oligonukleotid 1: 5' - gtaaacgacggccagt - TTYGGNGTNTGGGARATHTT  
- 3' (residua 2 až 8 peptidu 1)

Oligonukleotid 2: 5'- aattaaccctcactaaaggg -  
CKRTCRAAYTCYTG IARNCC - 3' (residua 2 až 8 peptidu 2, obrácený  
řetězec), kde

H je A, C nebo T, I je inosin, K je G nebo T. N je  
A,C,G nebo T, R je A nebo G, Y je C nebo T. Báze označené  
malými písmeny byly přidány jako připojovací (tag) sekvence.

Purifikace mRNA z bramborových hlíz , syntéza cDNA a  
PCR amplifikace cDNA fragmentů korespondujících se škrobovým  
větvicím enzymem brambor II pomocí PCR.

Celková RNA ze zralých bramborových hlíz (*S. tuberosum*  
cv. Amanda) byla izolována podle Logemanna et al. (1987).  
První řetězec cDNA byl syntetizován s použitím 2 µg celkové  
RNA a 60 pmolů oligo-dT<sub>30</sub> jako primer pro kódující řetězec.  
Primer byl připojen na polyA mRNA při 60°C po dobu 5 minut.  
Prodloužení cDNA bylo provedeno pomocí systému Riboclone cDNA  
Synthesis Systém M-MLV (H-) (Promega) dle technického manuálu  
výrobce.

cDNA kódující nový škrobový větvicí enzym II (dle  
vynálezu) byl amplifikován na přístroji Perkin-Elmer GeneAmp  
9600 PCR thermocycler (Perkin-Elmer Cetus Instruments, CT,  
USA) s použitím dvou degenerovaných primerů odvozených od  
peptidů 1 a 2 (viz výše) za následujících podmínek: 1 mM dNTP,  
1 µM primery a příslušné množství cDNA popsané výše. Celkový  
objem reakční směsi byl 20 µl a obsahoval 1 x pufr AmpliTaq a  
0,8 U AmpliTaq (Perkin-Elmer Cetus). Podmínky v cyklu byly  
následující: 96°C po dobu jedné minuty, 80°C ve chvíli, kdy  
byl enzym přidán do reakční směsi (tím byla spuštěna reakce).  
Při této teplotě byla reakce udržována po dobu cca 15 minut.  
Následoval nezamyšlený pokles teploty na 25°C, pět cyklů při  
94°C po dobu 20 sekund, 1 min při 45°C, jednodominutový vzrůst  
na 72°C, dvě minuty při 72°C, 30 cyklů: 5 sekund při 94°C, 20  
sekund při 45°C a 2 min+2sek. při 72°C. Teplota 72°C byla

nakonec udržována po následujících 10 minut před ochlazením na 4°C.

Vzorek z této reakce (0,1 µl) byl reamplifikován za následujících podmínek: 96°C po dobu 1 min., 80°C ve chvíli, kdy byl enzym přidán do reakční směsi (tím byla spuštěna reakce), při této teplotě byla reakce udržována po dobu cca 5 minut. Následovalo pět cyklů: 20 sekund při 94°C, 1 minuta při 45°C, 2 minuty při 72°C a 25 cyklů: 5 sekund při 94°C, 30 sekund při 45°C, 2 min. + 2 sek. při 72°C. Teplota 72°C byla nakonec udržována po následujících 10 minut před ochlazením na 4°C. Po dokončení PCR amplifikace byla reakce nanesena na 1,5% agarozový gel Seakem (FMC Bioproducts, Rockland, ME, USA). Po elektroforéze a obarvení gelu etidiumbromidem byl nejsilnější proužek o velikosti 1500 bp vyříznut a fragmenty byly eluovány třepáním ve vodě (200 µl) po dobu jedné hodiny. Tento fragment byl po reamplifikaci s použitím primerů korespondujících s tag sekvencemi (v oligonukleotidech 1 a 2) a purifikací pomocí elektroforézy na agarozovém gelu tak, jak byla popsána výše a následné extrakce z gelu s použitím extrakčního kitu Qiaex (DIAGEN GmbH, Hilden, Germany) dle instrukcí výrobce, použit jako templát pro sekvenování. Sekvenování bylo prováděno s použitím kitů DyeDeoxy Terminator Cycle Sequences kit (Perkin-Elmer Cetus Instruments) a s použitím tag sekvencí a interních primerů. Sekvenování bylo analyzováno na přístroji Applied Biosystem 373A DNA sequencer podle návodu výrobce. Sekvence byla poté sestavena a obsahovala 1393 bp.

K dokončení stanovení sekvence škrobového větvičího enzymu II, byly 5' a 3' konce úplné DNA amplifikovány ze stejné celkové RNA jako v předchozím případě s použitím techniky "rapid amplification of cDNA ends" (RACE) při které byly použity specifické primery odvozené ze sekvence dlouhé 1393 bp. V případě amplifikace 3'- konce byl použit primer T<sub>29</sub>G proti polyA konci a v případě 5' konce byl použit kit 5'/3' RACE kit od firmy Boehringer Mannheim (Cat. No. 1734792).

Fragmenty z těchto amplifikací byly opět stejným způsobem sekvenovány s použitím interních a koncových primerů. Sekvence z těchto dvou konců byly přidány k 1393 párům bází tak, že nám dala složenou celou délku sekvence cDNA. Z této sekvence byly odvozené primery tak, aby bylo možné amplifikovat celou kódující část v jednom kuse. Částečné osekvenování amplifikované kódující cDNA potvrdilo přítomnost cDNA korespondující se složenou sekvencí. Celková délka cDNA je 3074 bp a translaovaná sekvence se skládala z 878 aminokyselin. Protein v konečné formě obsahuje 830 aminokyselin.

Porovnání takto zjištěné sekvence s údaji v databankách EMBL a GenBank ukázalo 68% identitu se škrobovým větvicím enzymem I z brambor a asi 80% identitu se škrobovým větvicím enzymem II z jiných rostlinných druhů. Vynálezci proto pojmenovali enzym kódovaný novou sekvencí větvicího enzymu "škrobový větvicí enzym brambor II" (potato starch branching enzyme II).

#### Transformace rostlin brambor

Izolovaná úplná cDNA škrobového větvicího enzymu brambor II a další funkčně aktivní fragmenty v rozmezí 50 - 3074 párů bází byly klonovány v obrácené orientaci za promotory aktivními v bramborových hlízách. Termínem „funkčně aktivní“ jsou označovány fragmenty, které ovlivní poměr amylózy ku amylopektinu v bramborovém škrobu. Aminokyselinová sekvence a sekvence DNA SBE II a dále jeden fragment DNA a jemu odpovídající aminokyselinová sekvence, (které jsou předmětem vynálezu) jsou ukázány v SEQ ID No.1 a 2.

Jako promotory byly vybrány například: papatin promotor, promotor genu kódujícího vázanou škrobsyntázu I nebo promotory izolované z genů kódujících větvicí enzym brambor I a II.

Konstrukty byly klonovány známými technikami, buď pomocí Ti-plazmidu, vektoru vhodného pro transformaci brambor

zprostředkovanou *Agrobacterium tumefaciens*, nebo pomocí vektoru vhodného k použití balistickými technikami či elektroporací. „Sense“ i „antisense“ konstrukty obsahovaly všechny potřebné regulační elementy.

Transgenní rostliny brambor poté transkribují specificky v hlízách konstrukt - inverzní škrobový větvicí enzym II - což vede k antisence inhibici enzymu. Dále ke snížení a změně způsobu větvení amylopektinu a také ke změně poměru amylózy ku amylopektinu, což se poté projeví u jejich bramborového škrobu.

Antisence konstrukt pro škrobový větvicí enzym II byl také použit v kombinaci s antisence konstrukty pro škrobový větvicí enzym I, pro škrobsyntázu II vázanou na granule, pro rozpustnou bramborovou škrobsyntázu II a III, pro škrobový D-enzym a pro enzym způsobující snížené větvení (debranching enzyme) bramborového škrobu. Tyto konstrukty byly vytvořeny s cílem transformovat brambory a změnit stupeň větvení amylopektinu a poměr amylózy ku amylopektinu. To poskytne novou a hodnotnou surovinu pro procesy v průmyslu škrobu.

Kompletní sekvence cDNA kodující tento enzym je v odlišných konstruktech klonována v „sense“ orientaci pod jedním či více promotory výše uvedenými. Tyto konstrukty jsou přeneseny do vhodných transformačních vektorů popsanych výše a tyto jsou poté použity k transformaci brambor. Regenerované transformované brambory produkují nadbytek škrobového větvicího enzymu II v hlízách, což vede k zvýšenému stupni a změně větvení amylopektinu či inhibici transkripce endogenního škrobového větvicího enzymu II působením kosuprese. Výsledkem je poté snížení větvení amylopektinu.

## Literatura

Müller-Röber, B., Kosmann, J., (1994) Approaches to influence starch quantity and starch quality in transgenic plants. Plant Cell Environm. 17, 601-613

Martin, C., Smith, A. (1995) Starch Biosynthesis. Plant Cell 7, 971-985

Laemmli, U.K. (1979) Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-685.

Logemann, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1987). Improved method for the isolation of RNA from plant tissues. Anal. Biochem. 163, 16-20

Rosenfeld, J., Capdeville, J, Guillemont, J.C. Ferrara, P. (1992). In-gel digestion of proteins for internal sequence analysis after one - or two - dimensional gel electrophoresis. Anal. Biochem 203, 173-179.

Visser, R.G.F., Jacobsen, E. (1993) Towards modifying plants for altered starch content and composition. TibTech 11, 63-68

## SEQ ID No.1

Sekvenovaná molekula: cDNA

Jméno: beII (branching enzyme II - větvicí enzym) ze *Solanum tuberosum* (brambor)

Délka sekvence: 3074 bp

AAACCTCCTC CACTCAGTCT TTGTTTCTCT CTCTCTTCAC GCTTCTCTTG GCGCCTTGAA	60
CTCAGCAATT TGACACACAG TTAGTTACAC TNCCATCACT TATCAGATCT CTATTTTTC	120
TCTTAATTCC AACCAAGGAA TGAATAAAAA GATAGATTTG TAAAAACCCCT AAGGAGAGAA	180
GAAGAAAG ATG GTG TAT ACA CTC TCT GGA GTT CGT TTT CCT ACT GTT CCA	230
Met Val Tyr Thr Leu Ser Gly Val Arg Phe Pro Thr Val Pro	
-45 -40 -35	
TCA GTG TAC AAA TCT AAT GGA TTC AGC AGT AAT GGT GAT CGG AGG AAT	278
Ser Val Tyr Lys Ser Asn Gly Phe Ser Ser Asn Gly Asp Arg Arg Asn	
-30 -25 -20	
GCT AAT NTT TCT GTA TTC TTG AAA AAG CAC TCT CTT TCA CGG AAG ATC	326
Ala Asn Xaa Ser Val Phe Leu Lys Lys His Ser Leu Ser Arg Lys Ile	
-15 -10 -5	
TTG GCT GAA AAG TCT TCT TAC AAT TCC GAA TCC CGA CCT TCT ACA GTT	374
Leu Ala Glu Lys Ser Ser Tyr Asn Ser Glu Ser Arg Pro Ser Thr Val	
1 5 10	
GCA GCA TCG GGG AAA GTC CTT GTG CCT GGA ACC CAG AGT GAT AGC TCC	422
Ala Ala Ser Gly Lys Val Leu Val Pro Gly Thr Gln Ser Asp Ser Ser	
15 20 25 30	
TCA TCC TCA ACA GAC CAA TTT GAG TTC ACT GAG ACA TCT CCA GAA AAT	470
Ser Ser Ser Thr Asp Gln Phe Glu Phe Thr Glu Thr Ser Pro Glu Asn	
35 40 45	
TCC CCA GCA TCA ACT GAT GTA GAT AGT TCA ACA ATG GAA CAC GCT AGC	518
Ser Pro Ala Ser Thr Asp Val Asp Ser Ser Thr Met Glu His Ala Ser	
50 55 60	
CAG ATT AAA ACT GAG AAC GAT GAC GTT GAG CCG TCA AGT GAT CTT ACA	566
Gln Ile Lys Thr Glu Asn Asp Asp Val Glu Pro Ser Ser Asp Leu Thr	
65 70 75	
GGA AGT GTT GAA GAG CTG GAT TTT GCT TCA TCA CTA CAA CTA CAA GAA	614
Gly Ser Val Glu Glu Leu Asp Phe Ala Ser Ser Leu Gln Leu Gln Glu	
80 85 90	
GGT GGT AAA CTG GAG GAG TCT AAA ACA TTA AAT ACT TCT GAA GAG ACA	662
Gly Gly Lys Leu Glu Glu Ser Lys Thr Leu Asn Thr Ser Glu Glu Thr	
95 100 105 110	
ATT ATT GAT GAA TCT GAT AGG ATC AGA GAG AGG GGC ATC CCT CCA CCT	710
Ile Ile Asp Glu Ser Asp Arg Ile Arg Glu Arg Gly Ile Pro Pro Pro	
115 120 125	
GGA CTT GGT CAG ARG ATT TAT GAA ATA GAC CCC CTT TTG ACA AAC TAT	758
Gly Leu Gly Gln Lys Ile Tyr Glu Ile Asp Pro Leu Leu Thr Asn Tyr	
130 135 140	
CCT CAA CAC CTT GAT TAC AGG TAT TCA CAG TAC AAG AAA CTG AGG GAG	806
Arg Gln His Leu Asp Tyr Arg Tyr Ser Gln Tyr Lys Lys Leu Arg Glu	
145 150 155	

GCA ATT CAC AAG TAT GAG GGT GGT TTG GAA GCT TTT TCT CGT GGT TAT 854  
Ala Ile Asp Lys Tyr Glu Gly Gly Leu Glu Ala Phe Ser Arg Gly Tyr  
160 165 170

GAA AAA ATG GGT TTC ACT CGT AGT GCT ACA GGT ATC ACT TAC CGT GAG 902  
Glu Lys Met Gly Phe Thr Arg Ser Ala Thr Gly Ile Thr Tyr Arg Glu  
175 180 185 190

TGG GCT CCT GGT GCC CAG TCA GCT GGC CTC AIT GGA GAT TTC AAC AAT 950  
Trp Ala Pro Gly Ala Gln Ser Ala Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Asn  
195 200 205

TGG GAC GCA AAT GCT GAC ATT ATG ACT CGG AAT GAA TTT GGT GTC TGG 998  
Trp Asp Ala Asn Ala Asp Ile Met Thr Arg Asn Glu Phe Gly Val Trp  
210 215 220

GAG ATT TTT CTG CCA AAT AAT GTG GAT GGT TCT CCT GCA ATT CCT CAT 1046  
Glu Ile Phe Leu Pro Asn Asn Val Asp Gly Ser Pro Ala Ile Pro His  
225 230 235

GGG TCC AGA GTG AAG ATA CGT ATG GAC ACT CCA TCA GGT GTT AAG GAT 1094  
Gly Ser Arg Val Lys Ile Arg Met Asp Thr Pro Ser Gly Val Lys Asp  
240 245 250

TCC ATT OCT GCT TGG ATC AAC TAC TCT TTA CAG CTT CCT GAT GAA ATT 1142  
Ser Ile Pro Ala Trp Ile Asn Tyr Ser Leu Gln Leu Pro Asp Glu Ile  
255 260 265 270

CCA TAT AAT GGA ATA TAT TAT GAT CCA CCC GAA GAG GAG AGG TAT ATC 1190  
Pro Tyr Asn Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Arg Tyr Ile  
275 280 285

TTC CAA CAC CCA CGG CCA AAG AAA CCA AAG TCG CTG AGA ATA TAT GAA 1238  
Phe Gln His Pro Arg Pro Lys Lys Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu  
290 295 300

TCT CAT ATT GGA ATG AGT AGT CCG GAG CCT AAA ATT AAC TCA TAC GTG 1286  
Ser His Ile Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Ser Tyr Val  
305 310 315

AAT TTT AGA GAT GAA GTT CTT CCT CGC ATA AAA AAG CTT GGG TAC AAT 1334  
Asn Phe Arg Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn  
320 325 330

GGG GTG CAA ATT ATG GCT ATT CAA GAG CAT TCT TAT TAT GCT AGT TTT 1382  
Ala Val Gln Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe  
335 340 345 350

GGT TAT CAT GTC ACA AAT TTT TTN GCA CCA AGC AGC CGT TTT GGA ACN 1430  
Gly Tyr His Val Thr Asn Phe Xaa Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr  
355 360 365

CCC GAC GAC CTT AAG TCT TTG AIT GAT AAA GCT CAT GAG CTA GGA ATT 1478  
Pro Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Glu Leu Gly Ile  
370 375 380

GTT GTT CTC ATG GAC ATT GTT CAC AGC CAT GCA TCA AAT AAT ACT TTA 1526  
Val Val Leu Met Asp Ile Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr Leu  
385 390 395

GAT GCA CTG AAC ATG TTT GAC GGC ACA GAT AGT TGT TAC TTT CAC TCT 1574  
Asp Gly Leu Asn Met Phe Asp Gly Thr Asp Ser Cys Tyr Phe His Ser  
400 405 410

GGA GGT CGT GGT TAT CAT TGG ATG TGG GAT TCC CGC CTC TTT AAC TAT 1622  
 Gly Ala Arg Gly Tyr His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr  
 415 420 425 430

GGA AAC TGG GAG GTA CTT AGG TAT CTT CTC TCA AAT GCG AGA TGG TGG 1670  
 Gly Asn Trp Glu Val Leu Arg Tyr Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp  
 435 440 445

TTG GAT GAG TTC AAA TTT GAT GGA TTT AGA TTT GAT GGT GTG ACA TCA 1718  
 Leu Asp Glu Phe Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser  
 450 455 460

ATG ATG TAT ACT CAC CAC GGA TTA TCG GTG GGA TTC ACT GGG AAC TAC 1766  
 Met Met Tyr Thr His His Gly Leu Ser Val Gly Phe Thr Gly Asn Tyr  
 465 470 475

GAG GAA TAC TTT GGA CTC GCA ACT GAT GTG GAT GCT GTT GTG TAT CTG 1814  
 Glu Glu Tyr Phe Gly Leu Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu  
 480 485 490

ATG CTG GTC AAC GAT CTT ATT CAT GGG CTT TTC CCA GAT GCA ATT ACC 1862  
 Met Leu Val Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Phe Pro Asp Ala Ile Thr  
 495 500 505 510

ATT GGT GAA GAT GTT AGC GGA ATG CCG ACA TTT TMT ATT CCG GTT CAA 1910  
 Ile Gly Glu Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Xaa Ile Pro Val Gln  
 515 520 525

GAT GGG GGT GTT GGC TTT GAC TAT CCG CTG CAT ATG GCA ATT GCT GAT 1959  
 Asp Gly Gly Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Ile Ala Asp  
 530 535 540

AAA TGG ATT GAG TTG CTC AAG AAA CCG GAT GAG GAT TGG AGA GTG GGT 2006  
 Lys Trp Ile Glu Leu Leu Lys Lys Arg Asp Glu Asp Trp Arg Val Gly  
 545 550 555

GAT ATT GTT CAT ACA CTG ACA AAT AGA AGA TGG TCG GAA AAG TGT GTT 2054  
 Asp Ile Val His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Ser Glu Lys Cys Val  
 560 565 570

TCA TAC GCT GAA AGT CAT GAT CAA GCT CTA GTC GGT GAT AAA ACT ATA 2102  
 Ser Tyr Ala Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile  
 575 580 585 590

GCA TTC TGG CTG ATG GAC AAG GAT ATG TAT GAT TTT ATG GCT CTG GAT 2150  
 Ala Phe Trp Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp  
 595 600 605

AGA CCN TCA ACA TCA TTA ATA GAT CGT GGG ATA GCA TTG CAC AAG ATG 2198  
 Arg Pro Ser Thr Ser Leu Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met  
 610 615 620

ATT AGG CTT GTA ACT ATG GGA TTA GGA GGA GAA GGG TAC CTA AAT TTC 2246  
 Ile Arg Leu Val Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe  
 625 630 635

ATG GGA AAT GAA TTC GGC CAC CCT GAG TGG ATT GAT TTC CCT AGG GCT 2294  
 Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Ala  
 640 645 650

GAA CAA CAC CTC TCT GAT GGC TCA GTA ATT CCC GGA AAC CAA TTC AGT 2342  
 Glu Gln His Leu Ser Asp Gly Ser Val Ile Pro Gly Asn Gln Phe Ser  
 655 660 665 670

TAT GAT AAA TGC AGA CGG AGA TTT GAC CTG GGA GAT GCA GAA TAT TTA Tyr Asp Lys Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Glu Tyr Leu 675 680 685	2390
AGA TAC CGT GGG TTG CAA GAA TTT GAC CGG GCT ATG CAG TAT CTT GAA Arg Tyr Arg Gly Leu Gln Glu Phe Asp Arg Ala Met Gln Tyr Leu Glu 690 695 700	2438
GAT AAA TAT GAG TTT ATG ACT TCA GAA CAC CAG TTC ATA TCA CGA AAG Asp Lys Tyr Glu Phe Met Thr Ser Glu His Gln Phe Ile Ser Arg Lys 705 710 715	2486
GAT GAA GGA GAT AGG ATG ATT GTA TTT GAA AAA GGA AAC CTA GTT TTT Asp Glu Gly Asp Arg Met Ile Val Phe Glu Lys Gly Asn Leu Val Phe 720 725 730	2534
GTC TTT AAT TTT CAC TGG ACA AAA AGC TAT TCA GAC TAT CGC ATA GCC Val Phe Asn Phe His Trp Thr Lys Ser Tyr Ser Asp Tyr Arg Ile Gly 735 740 745 750	2582
TGC CTG AAG CCT GGA AAA TAC AAG GTT GCC TTG GAC TCA GAT GAT CCA Cys Leu Lys Pro Gly Lys Tyr Lys Val Ala Leu Asp Ser Asp Asp Pro 755 760 765	2630
CTT TTT GGT GGC TTC GGG AGA ATT GAT CAT AAT GCC GAA TAT TTC ACC Leu Phe Gly Gly Phe Gly Arg Ile Asp His Asn Ala Glu Tyr Phe Thr 770 775 780	2678
TTT GAA GGA TGG TAT GAT GAT CGT CCT CGT TCA ATT ATG GTG TAT GCA Phe Glu Gly Trp Tyr Asp Asp Arg Pro Arg Ser Ile Met Val Tyr Ala 785 790 795	2721
CCT AGT AGA ACA GCA GTG GTC TAT GCA CTA GTA GAC AAA GAA GAA GAA Pro Ser Arg Thr Ala Val Val Tyr Ala Leu Val Asp Lys Glu Glu Glu 800 805 810	2774
GAA GAA GAA GAA GTA GCA GTA GTA GAA GAA GTA GTA GTA GAA GAA GAA Glu Glu Glu Glu Val Ala Val Val Glu Glu Val Val Val Glu Glu Glu 815 820 825 830	2822
TGA ACGAA CTTGTGATCG CGTTGAAAGA TTTGAAGGCT ACATAGAGCT TCTTGACGTA ***	2880
TCGTGGCAATA TTGCATCAGT CTTGGCGGAA TTTGATGTGA CAAAAGGTTT GCAATTCTTT	2940
CCACTATTAG TAGTGCACAG ATATACGCAG AGATGAAGTG CTGCACAAAC ATATGTAAAA	3000
TCGATGAATT TARGTGAAT GCTGGGACGG GCTTCAGCAG GTTTGCTTA GTGAGTCTG	3060
TAAATTGICA TCIC	3074

## SEQ ID No.2

Sekvenovaná molekula: cDNA

Jméno: fragment genu beII (branching enzyme II - větvicí enzym)  
ze *Solanum tuberosum* (brambor)

Délka sekvence: 1393 bp

T CTG CCA AAT AAT GTG GAT GGT TCT CCT GCA ATT CCT CAT GGG TCC AGA	49
Leu Pro Asn Asn Val Asp Gly Ser Pro Ala Ile Pro His Gly Ser Arg	
1 5 10 15	
GTG AAG ATA CGT ATG GAC ACT CCA TCA GGT GTT AAG GAT TCC ATT CCT	97
Val Lys Ile Arg Met Asp Thr Pro Ser Gly Val Lys Asp Ser Ile Pro	
20 25 30	
GCT TGG ATC AAC TAC TCT TTA CAG CTT CCT GAT GAA ATT CCA TAT AAT	145
Ala Trp Ile Asn Tyr Ser Leu Gln Leu Pro Asp Glu Ile Pro Tyr Asn	
35 40 45	
GGA ATA TAT TAT GAT CCA CCC GAA GAG GAG AGG TAT ATC TTC CAA CAC	193
Gly Ile Tyr Tyr Asp Pro Pro Glu Glu Glu Arg Tyr Ile Phe Gln His	
50 55 60	
CCA CGG CCA AAG AAA CCA AAG TCG CTG AGA ATA TAT GAA TCT CAT ATT	241
Pro Arg Pro Lys Lys Pro Lys Ser Leu Arg Ile Tyr Glu Ser His Ile	
65 70 75 80	
GGA ATG AGT AGT CCG GAG CCT AAA ATT AAC TCA TAC GTG AAT TTT AGA	289
Gly Met Ser Ser Pro Glu Pro Lys Ile Asn Ser Tyr Val Asn Phe Arg	
85 90 95	
GAT GAA GTT CTT CCT CGC ATA AAA AAG CTT GGG TAC AAT GCG GTG CAA	337
Asp Glu Val Leu Pro Arg Ile Lys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Val Gln	
100 105 110	
ATT ATG GCT ATT CAA GAG CAT TCT TAT TAT GCT AGT TTT GGT TAT CAT	385
Ile Met Ala Ile Gln Glu His Ser Tyr Tyr Ala Ser Phe Gly Tyr His	
115 120 125	
GTC ACA AAT TTT TTN GCA CCA AGC AGC CGT TTT GGA ACN CCC GAC GAC	433
Val Thr Asn Phe Xaa Ala Pro Ser Ser Arg Phe Gly Thr Pro Asp Asp	
130 135 140	
CTT AAG TCT TTG ATT GAT AAA GCT CAT GAG CTA GGA ATT GTT GTT CTC	481
Leu Lys Ser Leu Ile Asp Lys Ala His Glu Leu Gly Ile Val Val Leu	
145 150 155 160	
ATG GAC ATT GTT CAC AGC CAT GCA TCA AAT AAT ACT TTA GAT GGA CTG	529
Met Asp Ile Val His Ser His Ala Ser Asn Asn Thr Leu Asp Gly Leu	
165 170 175	
AAC ATG TTT GAC GGC ACA GAT AGT TGT TAC TTT CAC TCT GGA GCT CGT	577
Asn Met Phe Asp Gly Thr Asp Ser Cys Tyr Phe His Ser Gly Ala Arg	
180 185 190	
GGT TAT CAT TGG ATG TGG GAT TCC CGC CTC TTT AAC TAT GGA AAC TGG	625
Gly Tyr His Trp Met Trp Asp Ser Arg Leu Phe Asn Tyr Gly Asn Trp	
195 200 205	
GAG GTA CTT AGG TAT CTT CTC TCA AAT GCG AGA TGG TGG TTG GAT GAG	673
Glu Val Leu Arg Tyr Leu Leu Ser Asn Ala Arg Trp Trp Leu Asp Glu	
210 215 220	

TTC AAA TTT GAT GGA TTT AGA TTT GAT GGT GTG ACA TCA ATG ATG TAT Phe Lys Phe Asp Gly Phe Arg Phe Asp Gly Val Thr Ser Met Met Tyr 225 230 235 240	721
ACT CAC CAC GGA TTA TCG GTG GGA TTC ACT GGG AAC TAC GAG GAA TAC Thr His His Gly Leu Ser Val Gly Phe Thr Gly Asn Tyr Glu Glu Tyr 245 250 255	769
TTT GGA CTC GCA ACT GAT GTG GAT GCT GTT GTG TAT CTG ATG CTG GTC Phe Gly Leu Ala Thr Asp Val Asp Ala Val Val Tyr Leu Met Leu Val 260 265 270	812
AAC GAT CTT ATT CAT GGG CTT TTC CCA GAT GCA ATT ACC ATT GGT GAA Asn Asp Leu Ile His Gly Leu Phe Pro Asp Ala Ile Thr Ile Gly Glu 275 280 285	865
GAT GTT AGC GGA ATG CCG ACA TTT TNT ATT CCC GTT CAA GAT GGG GGT Asp Val Ser Gly Met Pro Thr Phe Xaa Ile Pro Val Gln Asp Gly Gly 290 295 300	913
GTT GGC TTT GAC TAT CGG CTG CAT ATG GCA ATT GCT GAT AAA TGG ATT Val Gly Phe Asp Tyr Arg Leu His Met Ala Ile Ala Asp Lys Trp Ile 305 310 315 320	961
GAG TTG CTC AAG AAA CGG GAT GAG GAT TGG AGA GTG GGT GAT ATT GTT Glu Leu Leu Lys Lys Arg Asp Glu Asp Trp Arg Val Gly Asp Ile Val 325 330 335	1019
CAT ACA CTG ACA AAT AGA AGA TGG TCG GAA AAG TGT GTT TCA TAC GCT His Thr Leu Thr Asn Arg Arg Trp Ser Glu Lys Cys Val Ser Tyr Ala 340 345 350	1057
GAA AGT CAT GAT CAA GCT CTA GTC GGT GAT AAA ACT ATA GCA TTC TGG Glu Ser His Asp Gln Ala Leu Val Gly Asp Lys Thr Ile Ala Phe Trp 355 360 365	1105
CTG ATG GAC AAG GAT ATG TAT GAT TTT ATG GCT CTG GAT AGA CCN TCA Leu Met Asp Lys Asp Met Tyr Asp Phe Met Ala Leu Asp Arg Pro Ser 370 375 380	1153
ACA TCA TTA ATA GAT CGT GGG ATA GCA TTG CAC AAG ATG ATT AGG CTT Thr Ser Leu Ile Asp Arg Gly Ile Ala Leu His Lys Met Ile Arg Leu 385 390 395 400	1201
GTA ACT ATG GGA TTA GGA GGA GAA GGG TAC CTA AAT TTC ATG GGA AAT Val Thr Met Gly Leu Gly Gly Glu Gly Tyr Leu Asn Phe Met Gly Asn 405 410 415	1249
GAA TTC GGC CAC CCT GAG TGG ATT GAT TTC CCT AGG GCT GAA CAA CAC Glu Phe Gly His Pro Glu Trp Ile Asp Phe Pro Arg Ala Glu Gln His 420 425 430	1297
CTC TCT GAT GGC TCA GTA ATT CCC GGA AAC CAA TTC AGT TAT GAT AAA Leu Ser Asp Gly Ser Val Ile Pro Gly Asn Gln Phe Ser Tyr Asp Lys 435 440 445	1345
TGC AGA CGG AGA TTT GAC CTG GGA GAT GCA GAA TAT TTA AGA TAC CGT Cys Arg Arg Arg Phe Asp Leu Gly Asp Ala Glu Tyr Leu Arg Tyr Arg 450 455 460	1393

## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Aminokyselinová sekvence větvičího škrobového enzymu brambor II (SBE II) obsahující aminokyselinovou sekvenci tak, jak je ukázána na SEQ ID No.1.
2. Fragmenty aminokyselinové sekvence větvičího škrobového enzymu brambor II (SBE II), schopné ovlivnit poměr amylózy a amylopektinu v bramborovém škrobu jako též snížení nebo změna větvení amylopektinu.
3. Fragment podle nároku 1, který má aminokyselinovou sekvenci tak, jak je to ukázáno na SEQ ID No.2
4. Izolovaná sekvence DNA kodující větvičí škrobový enzym brambor II (SBE II) obsahující nukleotidovou sekvenci ukázanou na SEQ ID No.1 a varianty vyplývající z degenerovanosti genetického kódu.
5. Fragmenty izolované sekvence DNA ukázané na SEQ ID No.1 a kodující škrobový větvičí enzym brambor II (SBE II), schopné ovlivnit poměr amylózy a amylopektinu v bramborovém škrobu jako též snížení nebo změna větvení amylopektinu.
6. Fragmenty podle nároku 5 obsahující 50-3074 bp nukleotidové sekvence ukázané na SEQ ID No.1 a varianty vyplývající z degenerovanosti genetického kódu.
7. Fragmenty podle nároku 5 obsahující nukleotidové sekvence ukázané na SEQ ID No.2
8. Vektor obsahující celou nebo funkčně aktivní část izolované sekvence DNA podle nároku 4-7 a regulační oblasti aktivní v bramborách
9. Vektor podle nároku 8, v kterém je sekvence DNA v obrácené (antisense) orientaci vůči promotoru bezprostředně jí předcházejícímu.

10. Proces produkce transgenních brambor s buď zvýšeným nebo sníženým stupněm větvení škrobového amylopektinu vyznačující se zahrnutím následujících kroků: a) přenos a vnesení vektoru dle nároku 8 do genomu buněk brambor a b) regenerace intaktních, celých rostlin z transformovaných buněk.
11. Proces produkce transgenních brambor se sníženým stupněm větvení škrobového amylopektinu vyznačující se zahrnutím následujících kroků: a) přenos a vnesení vektoru dle nároku 9 do genomu buněk brambor a b) regenerace intaktních, celých rostlin z transformovaných buněk.
12. Proces podle nároku 11, v kterém vektor obsahuje také antisence konstrukt enzymu způsobujícího větvení bramborového škrobu I (Starch Branching Enzyme I, SBE I)
13. Proces podle nároku 11 nebo 12, v kterém vektor obsahuje také antisence konstrukt granulově vázané syntetázy škrobu brambor.
14. Proces podle jednoho či více nároků 11 - 13, v kterém vektor obsahuje také antisence konstrukt rozpustné syntetázy škrobu II a III brambor.
15. Proces podle jednoho či více nároků 11 - 14, v kterém vektor obsahuje také antisence konstrukt D-enzymu (disproportionating enzym) brambor.
16. Proces podle jednoho či více nároků 11 - 15, v kterém vektor obsahuje také antisence konstrukt odvětovacího škrobového enzymu brambor.
17. Transgenní brambory získatelné procesem podle jakéhokoliv z nároků 10 - 16.
18. Použití transgenních brambor podle nároku 17 k produkci škrobu.

1/2

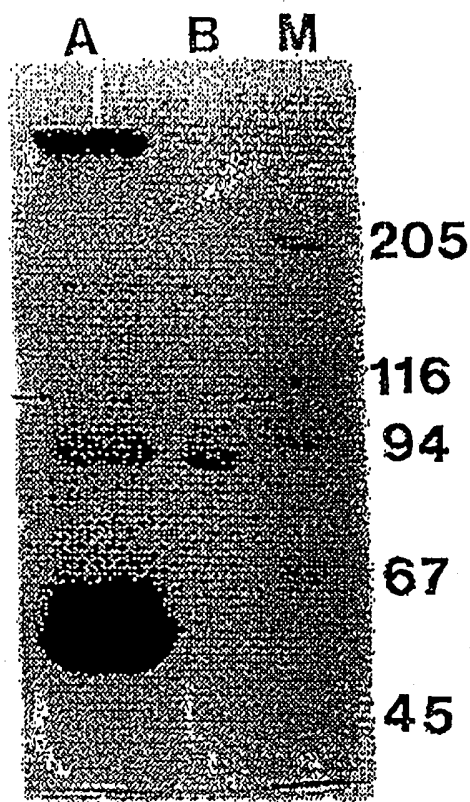


FIG 1

2/2

**FIG. 2**

Peptide 1. EFGVWEIFLPN

Peptide 2. HGLQEFDRA

Peptide 3. ENDGIAAKADE

Peptide 4. YEIDPEI/LTN