



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

218 108 B

(21) A bejelentés ügyszáma: P 92 02485
(22) A bejelentés napja: 1992. 07. 30.
(23) Módosítási elsőbbség: 1994. 07. 01.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/737,851 1991. 07. 31. US

(51) Int. Cl.⁷

C 12 N 15/60

C 12 N 15/64

C 12 N 9/88

(40) A közzététel napja: 1994. 06. 28.

(72) Feltaláló:

Dietrich, Gabriele Elfriede, Rocky Hill,
New Jersey (US)

(73) Szabadalmaz:

American Cyanamid Co., Wayne, New Jersey
(US)

(74) Képviselő:

DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,
Budapest

(54)

Imidazolinonrezisztens AHAS-mutánsok

KIVONAT

A találmány imidazolinonherbicidekkel szemben specifikusan rezisztens mutáns AHAS-enzimet kódoló egyszikű növényi génekre vonatkozik. Ilyen gének például a kukorica-DNS-szekvenciák, amelyek a vad típusú AHAS-enzim 621-es helyzetében aminosavhelyettesítést tartalmazó enzimet kódolnak. A mutáns gént egyéb

növényekben herbiciddel szembeni rezisztencia kialakítására alkalmazhatjuk, ebből a szempontból a találmány a fenti gént tartalmazó vektorokra és gazdasejtekre is vonatkozik, amely sejtek és vektorok a transzformálási eljárásban alkalmazhatók.

A találmány az acetohidroxisav-szintetáz enzim (továbbiakban AHAS) új variáns formáit kódoló új DNS-szekvenciákra vonatkozik. Az AHAS-enzim egy kritikus enzim, amelyet számos növény és a mikroorganizmusok széles köre termel. A normális AHAS-funkciót az imidazolinonherbicidek gátolják, azonban a mutáns DNS-szekvenciák által kódolt új AHAS-enzimek katalitikusan normálisan funkcionálnak még imidazolinonherbicidek jelenlétében is, ezért az azokat tartalmazó növényeknek vagy mikroorganizmusoknak herbicidek elleni rezisztenciát biztosítanak.

Az új DNS-szekvenciák kukoricából származnak, és a normális AHAS-szekvencia 621-es helyzetben tartalmaznak aminosavszubsztitúciót. Ez a szubsztitúció az AHAS-génszekvenciában teljesen funkcióképes enzimet eredményez, azonban az enzimet specifikusan rezisztenssé teszi különféle imidazolinonherbicidek gátlásával szemben. A fenti variáns szekvenciák segítségével különféle haszonnövényekbe imidazolinonherbicid elleni rezisztencia vihető be, ezenkívül ezek a szekvenciák más típusú genetikai transzformációs kísérletekben új, szelektív markerekként is alkalmazhatók.

A herbicidek mezőgazdasági alkalmazása napjainkban igen elterjedt. Noha számos olyan vegyület van, amely hatásosan elpusztítja a gyomokat, nem minden herbicid képes csak a nemkívánatos növények szelektív pusztítására a kultúrnövényekkel szemben úgy, hogy az állatokra nézve nem toxikus. Gyakran be kell érni olyan vegyületekkel, amelyek egyszerűen csak kevésbé toxikusok a kultúrnövényekre nézve, mint a gyomokra. A fenti probléma leküzdésére a mezőgazdasági kutatások fő célpontja a herbicidekkel szemben rezisztens kultúrnövények kifejlesztése lett.

A herbicidrezisztencia kifejlesztésének fő szempontja a herbicid hatáshelyének felderítése, azután az érintett biokémiai útvonal olyan módosítása a kultúrnövényben, amellyel az inhibitor hatást megkerüljük, mialatt a növény megtartja normális biológiai funkcióit. A herbicidek biokémiai hatásmechanizmusának felderítését legkorábban az imidazolinonok, a szulfonil-karbamidok és a triazolo-pirimidinek mint eltérő szerkezetű herbicid vegyületek körében végezték el. Napjainkban már ismeretes, hogy ezek a herbicidek mind a növényi növekedéshez szükséges alapvető enzim, az acetohidroxisav-szintetáz (AHAS, amelyet acetolaktát-szintetáznak vagy ALS-nek is neveznek) működésének megzavarásával gátolják a növény növekedését. [Shaner és munkatársai: *Plant Physiol.* 76, 545–546 (1984); és 4 761 373 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás]. Az AHAS az izoleucin, leucin és valin aminosavak szintéziséhez szükséges.

Az AHAS-enzim ismert módon magasabb rendű növényekben, valamint számos mikroorganizmusban, például az élesztő *Saccharomyces cerevisiae*-ben és az enterobaktériumok közül az *Escherichia coli*-ban és *Salmonella typhimurium*-ban is jelen van. A normális AHAS termelődésének genetikai alapja a fenti fajok közül számosan már jól ismert. Így például mind az *E. coli*-ban, mind az *S. typhimurium*-ban az AHAS-nak három izoenzimje létezik, ezek közül kettő érzékeny herbici-

dekre, míg a harmadik nem. A fenti izoenzimek mindegyike egy nagy és egy kis protein alegységet tartalmaz; és a géntérképen az *IlvIH*, *IlvGM* és *IlvBN* operonokhoz kötődik. Élesztőben az egyetlen AHAS izoenzim az *Ilv2* lókusztban található. Mindegyik esetben azonosították a szenzitív és rezisztens formákat, és meghatározták a különféle allélek szekvenciáit. [Friden és munkatársai: *Nucl. Acid Res.* 13, 3979–3993 (1985); Lawther és munkatársai: *PNAS USA* 78, 922–928 (1982); Squires és munkatársai: *Nucl. Acids Res.* 11, 5299–5313 (1983); Wek és munkatársai: *Nucl. Acids Res.* 13, 4011–4027 (1985); Falco és Dumas: *Genetics* 109, 21–35 (1985); Falco és munkatársai: *Nucl. Acids Res.* 13, 4011–4027 (1985)].

Dohányban az AHAS-funkciót két, egymással nem összekapcsolódó gén, a *SuRA* és *SuRB* kódolja. Alapvető azonosság van a két gén között az érett proteinben, mind az aminosavak, mind a nukleotidok szintjén, noha az N-terminális, feltehetően tranzitrégió lényegesebben különbözik [Lee és munkatársai: *EMBO J.*, 7, 1241–1248 (1988)]. Az *Arabidopsis* viszont egyetlen AHAS-génnel rendelkezik, amelyet szintén teljes egészében szekvenáltak [Mazur és munkatársai: *Plant Physiol.* 85, 1110–1117 (1987)]. A magasabb rendű növények AHAS-génjei szekvenciájának összehasonlítása a szekvencia bizonyos régióinak nagyfokú konzerválására utal, legalább tíz konzervált szekvenciaregió van. Korábban feltételezték, hogy ezek a konzervált régiók kritikusak az enzim funkciója szempontjából, és hogy a funkció megtartása az alapvető szekvencia konzerválásától függ.

Újabb kimutatták (5 013 659 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás), hogy a herbicidrezisztenciát mutató mutánsok a fenti konzervált régiók legalább egyikében, vagy többben is legalább egy aminosavmutációt hordoznak. Közelebbről, az AHAS proteinszekvenciában ezeken a specifikus helyeken a vad típusú aminosavak bizonyos aminosavval való szubsztitúciójáról kimutatták, hogy azt a növény tolerálja, és a fenti mutációt tartalmazó növény valóban herbicidrezisztenciát mutat, miközben a katalitikus funkció megmarad. A fenti irodalmi helyen leírt mutációk vagy keresztrezisztenciát kódolnak imidazolinonokra és szulfonil-karbamidokra, vagy specifikus szulfonil-karbamidrezisztenciát kódolnak, de imidazolinonspecifikus mutációkat nem ismertettek. Ezek a mutációk a vizsgálatok szerint a dohányban mind a *SuRA*, mind a *SuRB* lókuszaiban végbemennek, hasonló mutációkat kimutattak az *Arabidopsis*-ban és élesztőben is.

Imidazolinonspecifikus rezisztenciát máshol is számos növényben kimutattak. A 4 761 373 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban növényekben a herbicidrezisztencia alapjaként általánosan ismertettek egy megváltozott AHAS-t, és specifikusan ismertettek bizonyos imidazolinonrezisztens kukoricavonalakat. Haughn és munkatársai [Mol. Gen. Genet. 211, 266–271 (1988)] ismertetik egy hasonló fenotípus megjelenését *Arabidopsis*-ban. Sathasivan és munkatársai [Nucl. Acid Res. 18, 2188 (1990)] felismerték, hogy az imidazolinonspecifikus rezisztencia *Arabidopsis*-ban

a normális AHAS-szekvencia 653. helyzetében lévő mutáción alapul. A találmány értelmében izoláltuk az egyszikűekben imidazolinonspecifikus rezisztenciát kódoló gént, és kimutattuk, hogy az egyszikű vad típusú AHAS aminosavszekvencia egyetlen aminosavának szubsztitúciójához kapcsolódik.

A találmány tehát új nukleinsavszekvenciákra vonatkozik, amelyek imidazolinonherbicidekkel szemben nem érzékeny, működőképes egyszikű AHAS-enzimeket kódolnak. A találmány szerinti szekvenciák a kukorica AHAS-szekvenciájának 621. helyzetében lévő szerin aminosavat, vagy egy másik egyszikű szekvenciában az ennek megfelelő helyzetben lévő aminosavat kódoló kodonban tartalmazznak mutációt. Egyéb egyszikűk – például a búza – szintén ismert módon imidazolinon-specifikus mutációkat mutatnak (például az ATCC 40994–97 számú fajták). Kukoricában a vad típusú szekvencia szerint tartalmaz ebben a helyzetben. A találmány egyik előnyös megvalósítási módja szerint szerin helyett aszparagin van ebben a helyzetben, de a szerint azonos módon helyettesítheti például az aszparaginsav, glutaminsav, glutamin és triptofán is. Annak ellenére, hogy a találmány szerinti szekvenciák eredetileg egyszikűekből származnak, az új szekvenciák bármely típusú növényben alkalmazhatók imidazolinon-rezisztens sejtek előállítására. A fenti eljárások értelmében a kívánt növényi sejteket egy vagy több, találmány szerinti módosított szekvenciával transzformáljuk. A mutagenézis ezenkívül olyan növényi sejtek vagy magok mutánsainak előállítására is alkalmazhatjuk, amelyek imidazolinonnal szemben nem érzékeny AHAS-t kódoló nukleinsavszekvenciát tartalmazznak. Szövettenyésztésből izolált mutáns növényi sejtek esetében az imidazolinonnal szemben rezisztens vagy nem érzékeny tulajdonsággal rendelkező növényeket azután regeneráljuk. A találmány ennek megfelelően olyan növényi sejtekre, baktériumsejtekre, gombasejtekre, növényi szövettenyészetekre, felnőtt növényekre és növényi magvakra is vonatkozik, amelyek egy mutáns nukleinsavszekvenciával rendelkeznek, és amelyek imidazolinon-rezisztens, működőképes AHAS-enzimeket expresszálnak.

Az ilyen új, herbicidrezisztens növények a növénytermesztés új módszereit jelentik imidazolinonok jelenlétében. A nem rezisztens növények ültetése helyett a művelendő területeket a találmány szerinti mutáns szekvenciákkal transzformált, vagy a találmány szerinti mutációval előállított rezisztens növényekkel telepíthetjük be, majd a termőterületet szokásos módon imidazolinonherbicidekkel kezelhetjük anélkül, hogy ez a kultúr-növényekben bármiféle károsodást okozna.

A találmány szerinti mutáns nukleinsavak új szelektálható markereket is jelentenek, amelyek transzformációs kísérletekben alkalmazhatók. A rezisztens AHAS-t kódoló nukleinsavszekvenciát egy másik, kívánt génhez kötjük a gazdasejtbe való átvitel előtt, és a teljes konstrukttal transzformáljuk a gazdasejtet. A feltehetőleg transzformált sejteket ezután a herbicid inhibitor mennyiségének jelenlétében tenyésztjük, a túlélő sejtek nagy valószínűséggel sikeresen megszerezték a kívánt másik gént is. Úgy is eljárhatunk, hogy a rezisztens

AHAS-gént a kérdéses génnel egy független plazmidban kotranszformáljuk, így az összes transzformált sejtek mintegy 50%-a várhatólag rendelkezik mind a két génnel.

A leírásban alkalmazott definíciókat az alábbiak szerint értelmezzük. Funkcionális vagy normális AHAS-enzim az az enzim, amely képes az izoleucin, leucin és valin mint esszenciális aminosav biokémiai szintézisének első lépését katalizálni. Vad típusú AHAS-szekvencia az a szekvencia, amely egy adott faj imidazolinonnal szemben érzékeny tagjában jelen van. Rezisztens növény az a mutáns, de funkcionális AHAS-enzimet termelő növény, amely képes elérni az érettséget, hogyha imidazolinon egyébként inhibitor koncentrációjának jelenlétében tenyésztjük. Rezisztens alatt a leírásban a toleráns növényeket értjük, azaz azokat a növényeket, amelyek fenotípusosan reagálnak az imidazolinonra, de ez a reakció nem letális.

A leírás ábráit az alábbiakban ismertetjük röviden.

1. ábra: AHAS-enzim aktivitása 10 napos kukoricamagoncokban (A619 vagy XI12 kukoricavonalak) imazetapir (Pursuit[®], ábra A része) vagy klór-szulfuron (Oust[®], ábra B része) jelenlétében. Az AHAS-aktivitás herbicidrezisztenciáját az inhibitor távollétében mért AHAS-aktivitás százalékaként fejezzük ki. A kísérletek közötti standard hiba 10%.

2. ábra: EMBL fág genomális klónok Southern blot analízise. A 12-1A (W22-ből), 12-7A, 18-8A, 12-11 és 12-17A (XI12-ből) fágokat XbaI-gyel vagy SalI-gyel emésztjük, 1%-os agarózgélben szétválasztjuk, nitrocellulóz-szűrőre visszük és AHAS cDNS-fragmensekkel mint próbával hibridizáljuk.

3. ábra: XI12, XA17, QJ22, A188 és B73 kukoricavonalakból származó genomális DNS Southern blot analízise. A DNS-t XbaI-gyel emésztjük, 1%-os agarózgélben szétválasztjuk, nitrocellulóz-szűrőre visszük, és próbaként AHAS cDNS-fragmensekkel hibridizáljuk.

4. ábra: pCD8A plazmid restrikciós térképe. Az XI12-ből származó mutáns AHAS-gént 8 kb hosszúságú PstI fragmenseként szubklónozzuk pKS(+) vektorba. Az AHAS-gén helyét és orientációját nyíllal jelöljük. A PstI, XhoI, HindIII, XbaI és ClaI restrikciós helyeket szimbólumokkal jelöljük.

5. ábra: W22/4-4, B73/10-4 és XI12/8A AHAS-klónok nemkódoló szálának (A) és a kettős szálú DNS-szekvenciájának (B) nukleotid szekvenáló gél képe a 614–633. aminosavat kódoló régióban. A citozin → timidin átmenet helyét egy nyíl jelöli.

6. ábra: az XI12/8A mutáns AHAS-gén nukleotid-szekvenciája és az abból következtetett aminosavszekvencia.

7. ábra: az XI12/8A, B73/7-4 és W22/1A als2 génnek nukleotidszekvenciájának összehasonlító

tása. (*) jelzi a mutációt okozó báziscserét a 621. helyzetben, (#) a B73/7-4 szekvenciától való eltéréseket és (>) a néma változásokat.

8. ábra: az XI12/8A, B73/7-4 és W22/1A als2 génnek aminosavszekvenciáinak összehasonlítása. (*) jelzi a 621. helyzetben lévő mutációt, (#) jelzi a B73/7-4 szekvenciától való eltérést és (>) jelzi a néma mutációkat.

A leírást az alábbiakban részletesen ismertetjük.

A találmány szerinti gén XI12 kukoricavonalból izolálható (amelynek magját az American Type Culture Collectionnél helyeztük letétbe, letéti száma: 75051), és a pXI12/8A plazmidba van beillesztve (amelyet az American Type Culture Collectionnél 68643 számon helyeztünk letétbe). A találmány szerinti gén bármely egyéb, specifikusan imidazolinonherbicidre rezisztens mutánsból is izolálható, például a QJ22 kukoricavonalból (az American Type Culture Collectionnél 40129 számon letétbe helyezve, sejtenyészet formájában) vagy különféle búzanövényekből (amelyek magját az American Type Culture Collectionnél 40994, 40995, 40996 és 40997 számon helyeztük letétbe). A genomiális DNS-könyvtárát például EMBL-3 fágban állítjuk elő az imidazolinon-rezisztens mutánsok egyikéből kapott DNS-sel, előnyösen egy olyan mutánssal, amely a rezisztencia jellemzőre nézve homozigóta, és a vad típusú AHAS-szekvencia egészét vagy annak egy részét tartalmazó nukleinsavpróbával szűrjük.

A kukoricában az AHAS-gén két helyen, az als1 és als2 lókuszon [Burr és Burr, Trends in Genetics 7, 55-61 (1991)] található; a homológia a két lókuszt között nukleotidszinten 95%. Az XI12-ben a mutáció az als2 lókuszhhoz kötődik az 5-ös kromoszómán, míg a nemmutáns gén az als1 lókuszon van a 4-es kromoszómán [Newhouse és munkatársai: Imidazolinone-resistant crops, in The Imidazolinone Herbicides (szerk. Shaner and O'Connor) CRC Press, Boca Raton, FL, nyomdában]. Southern blot analízissel kimutathatók a mutáns als2 gént tartalmazó bizonyos klónok, és a nemmutáns als1 gént tartalmazó bizonyos klónok. Mindkét típust szekvenálóvektorokba szubklónozzuk, és dideoxi szekvenáló módszer alkalmazásával szekvenáljuk.

A vad típusú és mutáns AHAS-gének szekvenálása és összehasonlítása eredményeként megállapítható, hogy egyetlen nukleotid különbözik csak a 621. helyzetű aminosavat kódoló kodonban (5. ábra). Közelebbről, a vad típusban szerint kódoló AGT kodon változik a mutáns AHAS-ban aszparagint kódoló AAT-re (8. ábra). A mutáns AHAS-gén egyébként hasonló a vad típusú génhez, amely egy 638 aminosavból álló proteint kódol, ezekből az első 40 egy átmeneti peptidet kódol, amely minden bizonnyal a kloroplasztba való *in vivo* transzport során elhasítódik. Az XI12-ből származó als1 nem-mutáns gén szekvenciája láthatólag azonos a B73-ból származó als1 génnel.

A találmány szerinti mutáns gének imidazolinonherbicidekkel szembeni rezisztenciát biztosítanak, de szulfonil-karbamid herbicidekkel szembeni rezisztenciát nem. Azok a herbicidek, amelyekkel szemben a ta-

lálmány szerinti gén rezisztenciát biztosít, például a 4 188 487; 4 201 565; 4 221 586; 4 297 128; 4 554 013; 4 608 079; 4 638 068; 4 747 301; 4 650 514; 4 698 092; 4 701 208; 4 709 036; 4 752 323; 4 722 311 és 4 798 619 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásokban vannak ismertetve.

Szakember számára magától értetődő, hogy a 6. ábrán ismertetett nukleinsavszekvencia nem az egyetlen olyan szekvencia, amely imidazolinon-specifikus rezisztencia kialakítására alkalmazható. Azok a nukleinsavszekvenciák is a találmány tárgykörébe tartoznak, amelyek egy azonos proteint kódolnak, de amelyekben a genetikai kód degeneráltságának következtében a nukleotidszekvencia eltérő. A találmány azon génekre is vonatkozik, amelyek olyan AHAS szekvenciákat kódolnak, amelyekben a fenti mutáció jelen van, de amelyek egy vagy több néma aminosavcserét is kódolnak a molekula azon részeiben, amelyek nem játszanak szerepet a rezisztenciában vagy katalitikus funkcióban. A találmány tárgykörébe tartoznak továbbá az egyéb imidazolinon-rezisztens egyszikűekből származó génszekvenciák is, amelyek a szekvenciák megfelelő régióiban tartalmaznak mutációt.

Így például a találmány tárgykörébe tartoznak azok a változtatások is egy génszekvenciában, amelyek kémiaiailag ekvivalens aminosavak beépülését eredményezik egy adott helyre, így egy hidrofób aminosav, az alanin kodonja magától értetődően helyettesíthető egy másik hidrofób aminosavval, például glicint kódoló kodonnal, vagy egy még inkább hidrofób aminosavval, például valint, leucint vagy izoleucint kódoló kodonnal. Hasonlóképpen várhatóan biológiailag ekvivalens termékhez vezetnek azok a változtatások is, amelyek egy negatív töltésű maradék másik negatív töltésű maradékkal való helyettesítését eredményezik, például aszparaginsav cseréjét glutaminsavra, vagy egy pozitív töltésű maradék másik pozitív töltésű maradékkal való helyettesítését, például lizin cseréjét argininra. A találmány kiméra génekre is vonatkozik, amelyekben a kukorica AHAS-gén szubsztituált része más fajokból származó normális AHAS-gének változatlan részeivel vannak kombinálva. Ezért a leírásban, ahol tipikusan imidazolinonnal szemben rezisztens kukorica AHAS-gént említünk, ezek alatt értjük úgy a 6. ábra szerinti szekvenciát, mint a fent említett módokon módosított szekvenciákat.

A találmány szerinti izolált AHAS DNS-szekvenciákat a kívánt kultúrnövények transzformálására alkalmazhatjuk, ezáltal azoknak imidazolinonnal szembeni rezisztenciát biztosítunk. A magasabb rendű növények exogén DNS-sel való közvetlen vagy közvetett transzformálására jelenleg számos különféle technika ismert. A találmány tárgykörébe tartoznak mindazok a módszerek, amelyekkel az új szekvencia a gazda genomjába beépíthető úgy, hogy utódjaiban stabilan öröklődik. Az imidazolinonspecifikus rezisztencia jellemző egyetlen domináns nukleáris génként öröklődik. Az imidazolinonrezisztencia szintje növekedik, ha a gén homozigóta állapotban van jelen, ilyen kukoricánövények például mintegy 1000-szeres rezisztenciaszinttel rendel-

keznek a nemrezisztens növényekhez képest. A jellemzőre nézve heterozigóta növények azonban mintegy 50–500-szoros rezisztenciával rendelkeznek a nemrezisztens növényekhez képest.

A növényi sejtek transzformálását vektorok alkalmazásával végezhetjük. A transzformálás kivitelezésére szokásosan alkalmazott módszer szerint *Agrobacterium tumefaciens*-t használunk idegen gén bevezetésére növényi célsejtbe. Így például a mutáns AHAS-szekvenciát a Ti-plazmid T-DNS határolószekvenciáit tartalmazó plazmidvektorba inszertáljuk. A plazmidot ezután *E. coli*-ba transzformáljuk. Az így kapott törzs, az AHAS-t tartalmazó T-DNS-szekvenciák növényi célkromoszómákba való hatékony bejuttatásához szükséges virulenciafunkciókat tartalmazó gyengített Ti-plazmidot tartalmazó *Agrobacterium* törzs és egy másik, az AHAS-konstrukum *E. coli*-ból *Agrobacterium*-ba való átviteléhez szükséges szekvenciákkal rendelkező plazmidot tartalmazó *E. coli* törzs között háromszülős párosítást hajtunk végre. A levélkorongok fertőzésére a növények transzformálásához szükséges szekvenciákat tartalmazó rekombináns *Agrobacterium* törzset alkalmazzuk. A korongokat szelektációs tápközegen neveljük, és a sikeresen transzformált regeneránsokat azonosítjuk. Az így nyert növények rezisztensek a herbicid hatásával szemben, ha annak jelenlétében tenyésztjük azokat. Az exogén DNS bevitelére növényi vírusok is megfelelő eszközt jelenthetnek.

A növényi sejtek direkt felvétele szintén alkalmazható. Jellegzetes módon a célnövény protoplasztjait tenyésztetbe helyezzük a beviendő DNS és egy olyan szer jelenlétében, amely elősegíti a protoplasztok általi DNS-felvételt. A fenti célra alkalmazható szerek például a polietilén-glikol és a kalcium-foszfát.

A DNS-felvételt elektroporálással is lehet stimulálni. Ezen eljárás szerint egy elektromos pulzus alkalmazásával átmenetileg pórusokat nyitunk a protoplaszt sejtmembránon, és a körülvevő oldatban lévő DNS ezután a pórusokon keresztül bejut a sejtbe. Hasonlóképpen mikroinjektálást is alkalmazhatunk a DNS közvetlen bejuttatására a sejtbe, előnyösen közvetlenül a sejt magjába.

A fent említett módszerek mindegyikében a transzformálás a növényi sejt tenyésztésében megy végbe. A transzformálás lejártszódása után a növényi sejtet teljes növénynek kell regenerálni. A kalluszköbök vagy protoplasztokból az érett növény regenerálására vonatkozó módszerek jól ismertek számos különböző faj esetében (lásd például *Handbook of Plant Cell Culture*, 1–5. kötet, 1983–1989 McMillan, N.Y.). Ily módon abban az esetben, ha a transzformálás már végbement, szakember kötelező tudásához tartozik az érett növény regenerálása a transzformált növényi sejtekből.

Újabban már ismertek olyan módszerek is, amelyek szerint nem kell szükségszerűen izolált sejteket, és ezután növényregenerálási technikákat alkalmazni a transzformálás elérésére. Ezeket általában ballisztikus vagy részecskegyorsító módszereknek nevezik, amelyekben DNS-sel bevont fémrészecskéket juttatnak be a növényi sejtekbe, vagy puskaportöltettel [Klein és

munkatársai: *Nature* 327, 70–73 (1987)], vagy elektromos kisüléssel (270 356 számú európai szabadalmi leírás). Ily módon a tenyésztetben lévő növényi sejteket vagy növény reprodukálására szolgáló szerveket vagy sejteket – például pollent – stabilan transzformálhatjuk a kérdéses DNS-szekvenciával.

Bizonyos kétszikű és egyszikű növények esetén a transzformálás előnyös módszere a DNS direkt felvétele. Így például kukoricában a tenyésztett sejtek sejtfalát egy vagy több sejtfalat emésztő enzimet, például cellulázt, hemicellulázt vagy pektinázt tartalmazó pufferben emésztjük, és ily módon életképes protoplasztokat izolálunk. Az enzimek eltávolítására a protoplasztokat néhányszor mossuk, majd a kérdéses gént tartalmazó plazmid vektorral összekeverjük. A sejteket vagy PEG-lal (például 20%-os PEG 4000), vagy elektroporációval transzformálhatjuk. A protoplasztokat nitro-cellulóz-szűrőre helyezzük, és táptenyészetként szolgáló beágyazott kukoricasejteket tartalmazó tápközegen tenyésztjük. 2–4 hét múlva a nitro-cellulóz-szűrőn lévő tenyészeteket mintegy 0,32 $\mu\text{mol/liter}$ imidazolinont tartalmazó közegbe helyezzük, és 1–2 hónapon keresztül ebben a közegben tartjuk. A növényi sejteket tartalmazó nitro-cellulóz-szűrőket herbicideket és tápanyagsejteket tartalmazó friss közegbe visszük át hetenként. A nem transzformált sejtek növekedése megszűnik, és néhány hét után elpusztulnak.

A találmány szerinti megoldás nyilvánvalóan bármilyen típusú, mind egyszikű, mind kétszikű növény transzformálására alkalmazható. A herbiciddel szembeni rezisztencia transzformálását például az alábbi kultúrnövények esetében végezhetjük: kukorica, búza, rizs, köles, zab, árpa, cirok, napraforgó, édesburgonya, lucerna, cukorrépa, Brassica fajták, paradicsom, bors, szójabab, dohány, dinnye, sütőtök, burgonya, földimogyoró, borsó, gyapot vagy kakaó. Az új szekvenciákat dísnövényfajok, például rózsza, és fafajták, például fenyő és nyárfa transzformálására is alkalmazhatjuk.

A találmány szerinti új szekvenciák növénygenetikai kutatásokban szelektálható markerként is használhatók. Így például a növények transzformálásánál az imidazolinonrezisztenciát kódoló szekvenciákat egy kívánt génhez köthetjük, amelyet imidazonilonnal szemben érzékeny célnövénysejtek transzformálására akarunk alkalmazni. Az imidazolinonrezisztenciát biztosító szekvenciát és a kérdéses gént egyaránt tartalmazó konstruktumot a növényi sejtbe beviesszük, és a növényi sejteket ez után az imidazolinon inhibitor mennyiségének jelenlétében tenyésztjük. Úgy is eljárhatunk, hogy a kérdéses második gént egy különálló plazmidban ko-transzformáljuk a gazdasejtekbe. A kezelést túlélő növényi sejtek feltehetően megszerezték a rezisztencia-gént és a kérdéses gént egyaránt, és csak a transzformánsok élnek túl a herbiciddel végzett szelektációs eljárást. A sikeres transzformálás megerősítését és a két gén expresszálasát a genomális DNS Southern blot hibridizációjával, PCR-technikával vagy a gének fenotípusos expressziójának megfigyelésével erősíthetjük meg.

A találmányt közelebbről az alábbi példákkal ismertetjük a korlátozás szándéka nélkül.

1. példa

Teljes növény herbicidrezisztenciájának megerősítése XI12-ben

Az XI12 növényeket 10 napos koruktól a V3 leveles fejlődési szakaszig [4–5 levél, amelyek közül háromnak látható levélhártyája (ligulája) van] kezeljük a herbiciddel. Az imazetapirt 2000, 500, 250, 125 és 62,5 g/ha dózisban alkalmazzuk. A klór-szulfuront 32, 16, 8, 4 és 2 g/ha dózisban alkalmazzuk. A növényeket posztemergens módon 400 l/ha permettérfogattal kezeljük. Permetezés után a növényeket üvegházba helyezük további megfigyelés céljából.

XI12 növények nem reagáltak az imazetapir kezelésre egyetlen koncentrációban sem, azonban nem figyeltünk meg fokozott rezisztenciát klór-szulfuronnal szemben. Így az XI12 szelektív rezisztenciát mutat imidazolinonnal szemben a teljes növény szintjén (lásd 1. ábra).

Azt is kimutattuk, hogy az XI12-ben a rezisztencia egy sejtmagi gén egyetlen domináns alléljeként öröklődik. Heterozigóta rezisztens XI12-t önbeporoztunk, és a beltenyésztett utódok a sejtmaggén egyetlen domináns alléljére várt 3 rezisztens: 1 érzékeny arányban váltak szét. Ebben a vizsgálatban a szegregálódó magoncokat posztemergens módon halálos dózisú imazetapirral (125 vagy 250 g/ha) permetezzük, a fent ismertetett permetezési eljárás szerint, hogy megállapítsuk a rezisztencia szétválását.

2. példa

AHAS-extrakció

Az XI12 magjait 80 °C nappali/éjszakai hőmérsékleten és 15 órás megvilágítási periódust biztosító üvegházban vetjük a talajba. A növényeket az ültetés után 2 héttel begyűjtjük. Az AHAS extrakciójára a hajtás bazális részét használjuk. 5 g szövetet cseppfolyós nitrogénben elporítunk, majd AHAS vizsgálati pufferben homogenizáljuk, amely 10 ml/l piruvátot, 5 mmol/l magnézium-kloridot, 5 mmol/l EDTA-t, 100 µmol/l FAD-ot (flavin-adenin-dinukleotidot), 1 mmol/l valint, 1 mmol/l leucint, 10% glicerint és 10 mmol/l ciszteint tartalmazó 100 mmol/l koncentrációjú kálium-foszfát-pufferből (pH 7,5) áll. A homogenizátumot 10 000 fordulattal/perc sebességgel 10 percen keresztül centrifugáljuk, a felülülő 3 ml-et felvisszük egy ekvibrált Bio-Rad Econo-Desalting oszlopra (10 DG) és 4 ml AHAS vizsgálati pufferrel eluáljuk.

Az AHAS-aktivitást az acetolaktát termék meghatározásával mérjük, miután sav jelenlétében dekarboxilezéssel acetoinná alakítottuk. A standard reakcióelegy az enzimet 100 mmol/l nátrium-piruvátot, 10 mmol/l magnézium-kloridot, 1 mmol/l tiamin-pirofoszfátot, 10 µmol/l FAD-ot és a különböző inhibitorok megfelelő koncentrációit tartalmazó 50 mmol/l koncentrációjú kálium-foszfát-pufferben (pH 7,0) tartalmazza. Ezt az elegyet 37 °C-on 1–3 órán keresztül inkubáljuk a kísérlettől függően. Az inkubációs periódus végén a reakciót kénsav hozzáadásával állítjuk le, amellyel a reakcióelegyben 0,85% kénsav végkoncentrációt állítunk be. A reakcióterméket 60 °C-on 15 percen keresztül dekarboxilezzük. A képződött acetoint 0,17% kreatin-

nal és 1,7% l-naftol/4 n nátrium-hidroxiddal végzett inkubálással határozzuk meg. A képződött színes komplex abszorpcióját 520 nm-en mérjük.

A B73, A619 vagy egyéb vad típusú kukoricavonalból származó AHAS-aktivitás erősen érzékeny az imazetapir (PURSUIT[®]) általi gátlásra, az I₅₀ koncentráció 1 µmol/l (lásd 1. ábra). A fenti eredményekkel szemben az XI12 70–80%-os enzimaktivitást mutat még a legmagasabb (100 µmol/l) PURSUIT[®] vagy ARSENAL[®] (imazepir) koncentrációknál is, és 70% aktivitást SCEPTER[®] (imazekin) jelenlétében. Ezek az eredmények százszoros növekedést mutatnak XI12 AHAS-aktivitásának imazetapirral szembeni tűrőképességében az A619-ből származó *in vitro* AHAS-aktivitással összehasonlítva. A két vonalból származó AHAS-aktivitások érzékenysége szulfonil-karbamidokkal szemben eltérő képet mutat. OUST[®] (szulfometuron-metil) 100 nmol/l koncentrációjának jelenlétében az XI12 AHAS-aktivitása csak 15–20%. Az A619 AHAS-aktivitása OUST[®] jelenlétében 5–10% és PURSUIT[®] jelenlétében 15–20% (lásd 1. ábra).

3. példa

XI12 AHAS-gének klónozása

Imidazolinonrezisztens kukorica szövettényesztet vonalból származó XI12 mutáns magjait elvetjük; az ezekből kapott növények láthatólag a mutáns AHAS fenotípusra szegregálódnak. Homozigótarezisztens maganyag előállítására céljából az XI12 mutáns növények populációját önbeporozzuk. Három egymást követő tenyésztési szezon során herbicidrezisztencia szempontjából szelektálva, a kapott magok a mutáns AHAS-génre nézve homozigóták. A homozigóta magokat összegyűjtjük s az AHAS-gén izolálására alkalmazott magoncok nevelésére használjuk.

A DNS-t a homozigóta XI12 7 napos elszíntelenedett magoncaiból extraháljuk. 60 g növényi szövetet cseppfolyós nitrogénben porítunk, és 108 ml DNS-extrakciós puffer [1,4 mol/l nátrium-klorid, 2,0% Ctab (hexadecil-trimetil-ammónium-bromid), 100 mmol/l Tris-HCl, pH 8,0, 20 mmol/l EDTA, 2% merkaptó-
etanol] és 54 ml víz elegyében átvisszük. 50–60 °C-on 30 percen keresztül inkubáljuk a szuszpenziót, majd azonos térfogatú kloroformmal extraháljuk. A DNS-t azonos mennyiségű precipitációs puffer (1% Ctab, 50 mmol/l Tris-HCl pH 8,0, 10 mmol/l EDTA) hozzáadásával kicsapjuk. A genomiális DNS tisztítására nagy fordulatszámú centrifugálást végzünk 6,6 mol/l cézium-kloridban és etidium-bromidban (Ti80 rotor, 50 000 fordulattal/perc, 20 °C, 24 óra). A tisztított DNS-t sóval telített butanollal extraháljuk, és 25 órán keresztül dializáljuk 1 liter dialízispufferrel (10 mmol/l Tris-HCl, pH 8,0, 1 mmol/l EDTA, 0,1 mol/l nátrium-klorid) szemben, háromszori cserével. Az XI12 genomiális DNS koncentrációja spektrofotometriás meghatározás szerint 310 mg/ml. A hozam 0,93 mg.

Az XI12 genomiális DNS-t alkalmazzuk genomiális könyvtár előállítására EMBL–3 fágban. A DNS-t részlegesen emésztjük MboI-gyel, és a fragmenseket szacharózgradiens választjuk szét 8 és 22 kb közötti

méretekre az EMBL-3 BamHI helyére való klónozás előtt. $2,1 \times 10^6$ egymástól független klónt kapunk, majd a könyvtárat egyszer megsokszorozzuk. A könyvtár tite-re 9×10^{10} pfu/ml.

Az XI12 könyvtár analíziséhez próbák előállítására egy W22 (vad típus) cDNS-könyvtárat lambda-gt11-ben (forgalmazza a Clontech Inc., CA) szűrünk egy 800 nukleotid hosszúságú BamHI próbával, amelyet Arabidopsis AHAS genomiális klónból izoláltunk. A fágokat 50 000 pfu/15 cm lemez sűrűséggel szélesztjük, nitro-cellulóz-szűrőkre visszük, és 0,2% SDS-t tartalmazó $6 \times$ SSC-vel két órán keresztül előhibridizáljuk, majd az Arabidopsis AHAS-próbával hibridizáljuk 0,2% SDS-t tartalmazó $6 \times$ SSC-ben, 1 éjszakán keresztül. Egy pozitív fágot azonosítunk, amelyet tovább tisztítunk, és egy 1,1 kb hosszúságú EcoRI fragmens szubklónozására használjuk. Az 1,1 kb hosszúságú EcoRI fragmenst pGemA-4-be szubklónozzuk, és próbaként használjuk az XI12 AHAS-gének azonosítására.

Az XI12 genomiális könyvtárat 12 db 15 cm-es lemezre szélesztjük 50 000 pfu/lemez koncentrációban és W22 AHAS cDNS próbával szűrjük. A szűrőket 2 órán keresztül előhibridizáljuk, majd 1 éjszakán keresztül hibridizáljuk Church pufferben (0,5 mol/l nátrium-foszfát, 1 mmol/l EDTA, 1% BSA, 7% SDS) 65 °C-on, és 65 °C-on mossuk, 0,2% SDS-t tartalmazó $2 \times$ SSC-vel, és 0,2% SDS-t tartalmazó $0,3 \times$ SSC-vel. Összesen $7,5 \times 10^5$ megvizsgált telepből 12 pozitív plakkot kapunk, és 5 pozitív klónt tovább tisztítunk és izolálunk Chisholm [BioTechniques 7, 21–23 (1989)] módszerével. A Southern blot analízis (2. ábra) azt mutatja, hogy a fágklónok két típusú AHAS klónt képviselnek, az 1. típusú klónok egy nagy XbaI fragmenst tartalmaznak (>6,5 kb), amely az AHAS cDNS próbával hibridizál, és a 2. típusú klónok két, 2,7 és 3,7 kb hosszúságú XbaI fragmenst tartalmaznak, amelyek az AHAS cDNS próbával hibridizálnak. Az XI12 DNS genomiális Southern blotja azt bizonyítja, hogy a genomiális DNS emésztésével kapott XbaI fragmensek és az AHAS cDNS próbával való hibridizálással kapott XbaI fragmensek megfelelnek a XI12 fágklónokban azonosított XbaI fragmenseknek (lásd 3. ábra). A restriktions emésztés és Southern blot analízis azt is bizonyítja, hogy 5 AHAS-klón közül egy klón képviseli az als2 mutáns gént és 4 képviseli az als1 gént.

Az 5-ös kromoszómán elhelyezkedő mutáns lókusznak (12/8A klón) és a 4-es kromoszómán elhelyezkedő nemmutáns lókusznak (12/17A klón) megfelelő AHAS-géneket szubklónozzuk PstI fragmensként (12/8A klón) vagy XbaI fragmensként (12/17A) a pBluescript II KSml3(+) szekvenálóvektorba (pks+; Stratagene). A 12/17A fágból kapott 2,7 kb és 3,7 kb XbaI fragmensek közül mind a kettő egy teljes AHAS-gén kópiát tartalmaz, amelyeket azonosítottunk. A fragmensek szekvenciáját didezoxiszekvenálással (Pharmacia T7 szekvenálókészlet) határozzuk meg, az AHAS kódolószekvenciájával komplementer primereket alkalmazva.

A DNS extrahálását, a genomiális könyvtár klónozását és a könyvtár szűrővizsgálatát az XI12 ge-

nomiális DNS-re ismertetett módszerekkel végezzük. A B73 AHAS-géneket XbaI fragmensként szubklónozzuk a pKS+ szekvenálóvektorba és szekvenáljuk. A szekvenciát didezoxiszekvenálással határozzuk meg, az AHAS kódolószekvenciájával komplementer primerek alkalmazásával, az XI12 AHAS-génekre leírtak szerint.

Egy W22 genomiális könyvtárat EMBL3-ban (forgalmazza a Clontech Inc., CA) szűrünk. A fágokat 50 000 pfu/17,8 cm lemez sűrűséggel szélesztjük, nitro-cellulóz-szűrőkre visszük, és a W22 AHAS cDNS próbával hibridizáljuk a fent leírtak szerint (előhibridizálási és hibridizálási körülmények: $6 \times$ SSC, 0,5% SDS, $1 \times$ Denhard-féle puffer, 100 mg/ml borjú thymus DNS, 65 °C; mosási körülmények: $3 \times$ SSC, 0,2% SDS 2 órán keresztül 65 °C-on és $0,3 \times$ SSC, 0,2% SDS 2 órán keresztül). Két pozitív fágot (12/1A és 12/4-4) azonosítunk és tovább tisztítunk.

A 12/1A W22 genomiális klónt két 0,78 kb hosszúságú (pGemA-4) és 3,0 kb hosszúságú (pGemA-14; Promega) SalI fragmensként szubklónozzuk a pGemA2 vektorba, és 6,5 kb XbaI fragmensként a pKS+ vektorba (pCD200). A W22 AHAS-gén kódolószálának szekvenciáját a 12-1A fág pGem A-14 és pGem A-4 szubklónjaiból készített beillesztett deléciók didezoxiszekvenálásával határozzuk meg. Ezt a szekvenciát alkalmazzuk az AHAS nemkódoló szálával komplementer oligonukleotidszekvenciák tervezésére. A nem-kódoló szál szekvenciáját a pCD200 klón didezoxiszekvenálásával kapjuk meg a kódolószállal komplementer primerek alkalmazásával. A W22 AHAS-gén szekvenálásának kiegészítése után mindkét DNS-szál primerjeit megtervezzük, és az XI12 és B73 genomiális könyvtárakból izolált AHAS-gének szekvenálására alkalmazzuk.

4. példa

QJ22 AHAS-gének klónozása

Az imidazolinonokkal szemben szelektíven rezisztens QJ22 kukoricavonalban az AHAS-t kódoló gén szekvenciáját szintén meghatározzuk. A QJ22 genomiális könyvtárat egy EMBL3 vektorban készítjük el. 800 000 fágból álló könyvtárat szűrünk egy 850 kb hosszúságú SalI/ClaI nukleotidfragmensevel, amelyet a vad típusú W22 kukoricavonalból származó A4 AHAS-klónból izoláltunk. 5 pozitív fágot kiemelünk, és egy második szűrővizsgálatnak vetünk alá a fág részleges tisztítása céljából. A részlegesen tisztított fágot PCR-rel analizáljuk annak meghatározására, hogy van-e közöttük olyan klón, amely a QJ22 als1 gént képviseli. Ezeket a klónokat 3,7 kb hosszúságú XbaI fragmens formájában azonosítjuk, amely egyetlen génre specifikus Smal helyet tartalmaz 495-ös helyzetben. A második szűrővizsgálat azt jelzi, hogy egyetlen pozitív klón rendelkezik a fenti jellemzőkkel.

A PCR-terméket kereskedelmi forgalomban lévő készlettel (Magic PCR Preps, Promega) tisztítjuk, és a tisztított DNS-t Taq polimerázszekvenáló rendszerrel (fmol, Promega) szekvenáljuk. A QJ22 mutáns AHAS DNS mindkét szálának szekvenciaanalízise mutatja a

G → A nukleotidcserét a 621-es aminosavat kódoló kodonban. Ez a mutáció azonos az XI12-ben látható mutációval, és a szekvencia fennmaradó része az alsó génre jellemző.

A mutáns AHAS-gének szekvenciáját összehasonlítjuk a B73 és W22 vad típusú kukoricavonalakból kapott szekvenciákkal (7. ábra). Az XI12 mutáns gén (XI12/8A) és a QJ22 mutáns gén és a vad típusú gén mindenben megegyezik, kivéve a 621-es helyzetben lévő aminosav változását, melyet egyetlen nukleotid cseréje okoz, mégpedig az AGT cseréje AAT-re (lásd 8. ábrát). Az XI12 mutáns XI12/8A és a vad típusú B73/7-4 gén egy további különbséget is mutat 63-as helyzetben. Ezzel szemben az XI12/17A-ba klónozott nemmutáns XI12 AHAS-gén teljesen homológ a megfelelő B73/10-2-vel, az érett AHAS-proteint kódoló régióban (adatokat nem közölünk).

Az alábbi biológiai anyagokat az American Type Culture Collectionnél (12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland, 20857) helyeztük letétbe:

E. coli XLI Blue hordozóplazmid pX12/8A, 1991. július 3-án letétbe helyezve, letéti szám: ATCC 68643 és XI12 kukoricamag 1991. július 16-án letétbe helyezve, letéti szám: ATCC 75051.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Nukleinsavszekvencia, amely egyszikű növényekben funkcionális AHAS-enzimet kódol, *azzal jellemezve*, hogy az enzim a vad típusú egyszikű AHAS-enzimhez viszonyítva egyetlen aminosavhelyettesítést tartalmaz, amely a kukorica-AHAS-enzimben 621-es helyzetben, az egyéb egyszikű AHAS-enzimekben az ennek megfelelő helyzetben van, amely aminosavhelyettesítés az enzimnek imidazolinon-specifikus rezisztenciát biztosít.

2. Az 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvencia, *azzal jellemezve*, hogy az egyszikű növény a kukorica, és a helyettesítés a vad típusú kukorica AHAS-enzim 621-es helyzetében van.

3. A 2. igénypont szerinti nukleinsavszekvencia, *azzal jellemezve*, hogy a helyettesített aminosav az aszparagin.

4. Egyszikű növényekben funkcionális AHAS-enzim, *azzal jellemezve*, hogy a vad típusú egyszikű

AHAS-enzimhez viszonyítva egyetlen aminosavhelyettesítést tartalmaz, amely a kukorica AHAS-enzimben a 621-es helyzetben, az egyéb egyszikű AHAS-enzimekben az ennek megfelelő helyzetben van, amely aminosavhelyettesítés az enzimnek imidazolinon-specifikus rezisztenciát biztosít.

5. A 4. igénypont szerinti enzim, *azzal jellemezve*, hogy az egyszikű növény a kukorica, és a helyettesítés a vad típusú kukorica AHAS-enzim 621-es helyzetében van.

6. Az 5. igénypont szerinti enzim, *azzal jellemezve*, hogy a helyettesített aminosav az aszparagin.

7. Transzformálóvektor, *azzal jellemezve*, hogy egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciát tartalmaz.

8. Gazdasejt, *azzal jellemezve*, hogy egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciát vagy egy 7. igénypont szerinti vektort tartalmaz.

9. A 8. igénypont szerinti gazdasejt, *azzal jellemezve*, hogy az növényi sejt vagy bakteriális sejt.

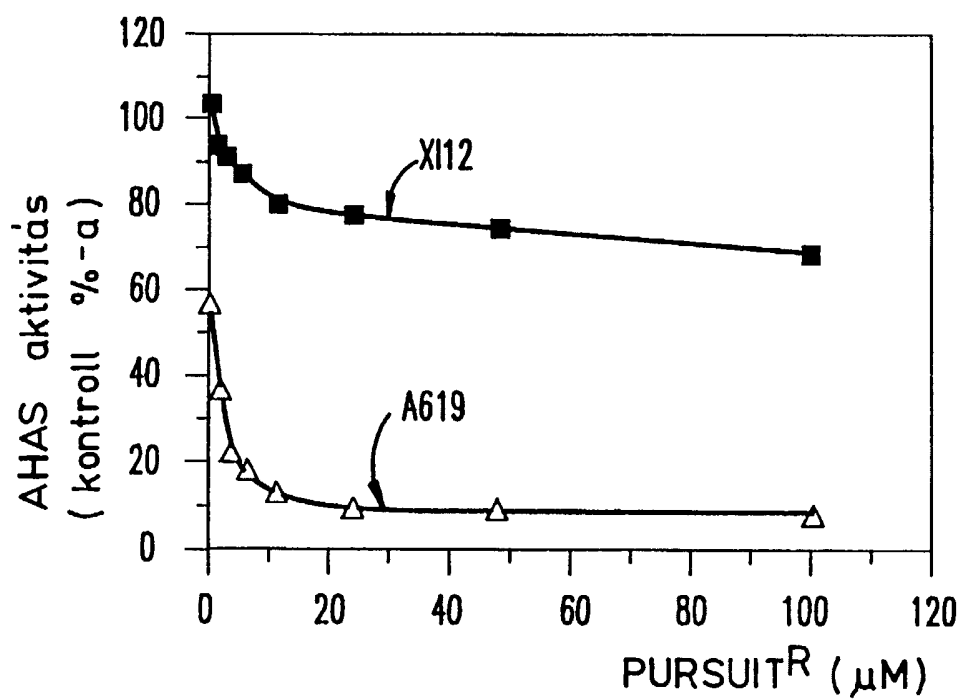
10. Specifikusan imidazolinonrezisztens transzgenikus érett növény, vagy annak magja vagy pollenje, *azzal jellemezve*, hogy egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciát tartalmaz.

11. Eljárás specifikus imidazolinonrezisztencia kialakítására növényi sejtekben, *azzal jellemezve*, hogy a növényi sejtbe egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciát viszünk be.

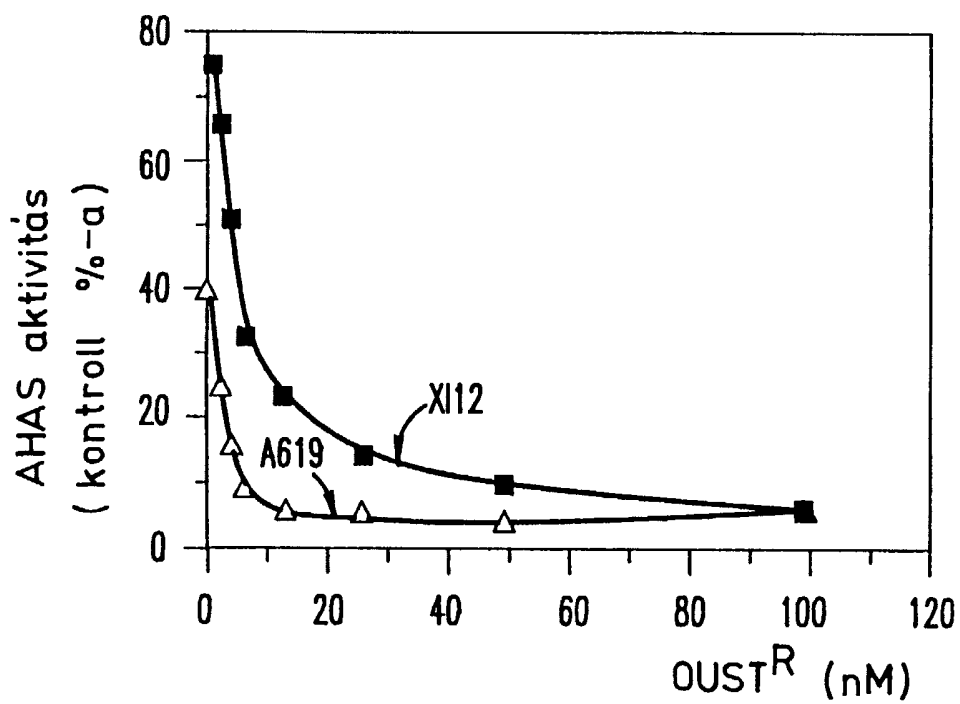
12. Eljárás specifikusan imidazolinonrezisztens transzgenikus növények tenyésztésére, *azzal jellemezve*, hogy a géntranszformációs események eredményeként a 4. igénypont szerinti enzimet termelő növényt imidazolinon inhibitor koncentrációjának jelenlétében tenyésztjük.

13. Eljárás egy kívánt génnel sikeresen transzformált gazdasejtek szelektálására, *azzal jellemezve*, hogy a gazdasejtekbe a kívánt gént egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciához kötötten, vagy ahhoz nem kötötten, de egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvencia jelenlétében transzformáljuk, a sejteket imidazolinon inhibitor koncentrációjának jelenlétében tenyésztjük, és a túlélő sejteket mint a kívánt gént tartalmazó sejteket azonosítjuk.

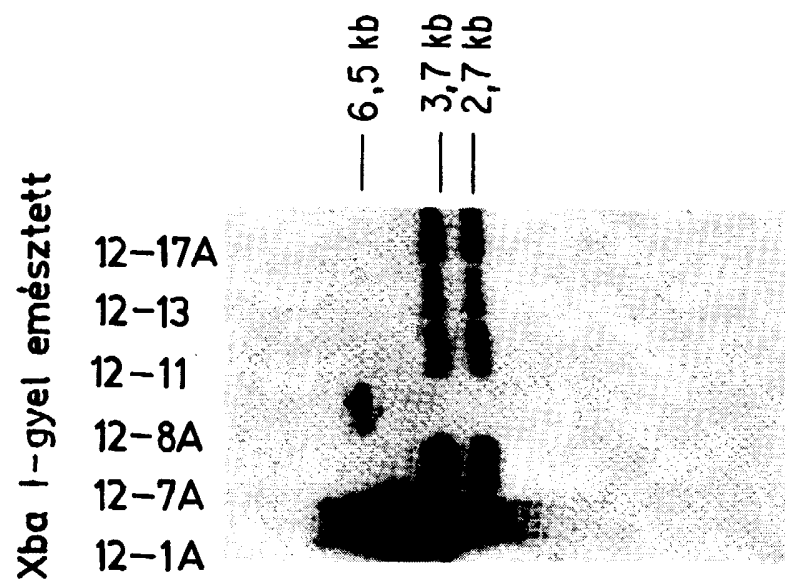
14. Nukleinsavszerkezet, *azzal jellemezve*, hogy egy 1. igénypont szerinti nukleinsavszekvenciát tartalmaz egy mezőgazdaságilag hasznos jellemzőt kódoló génhez kötve.



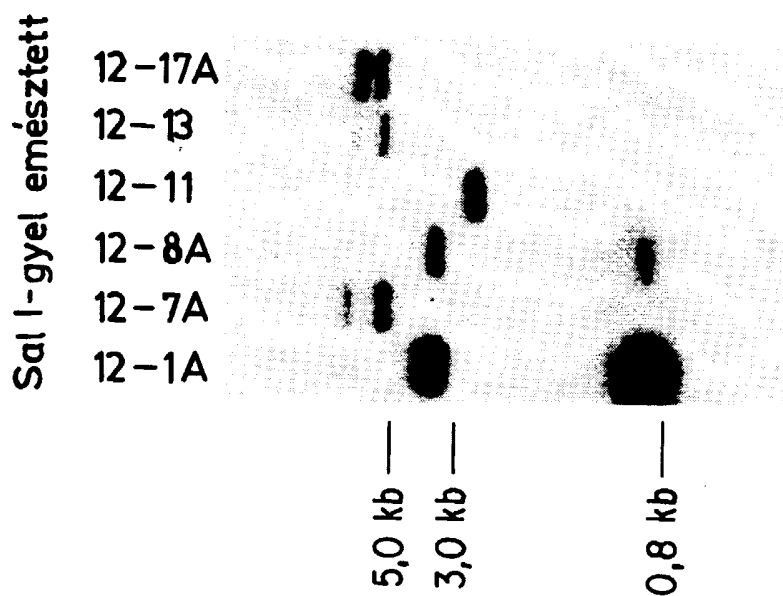
1. A ábra



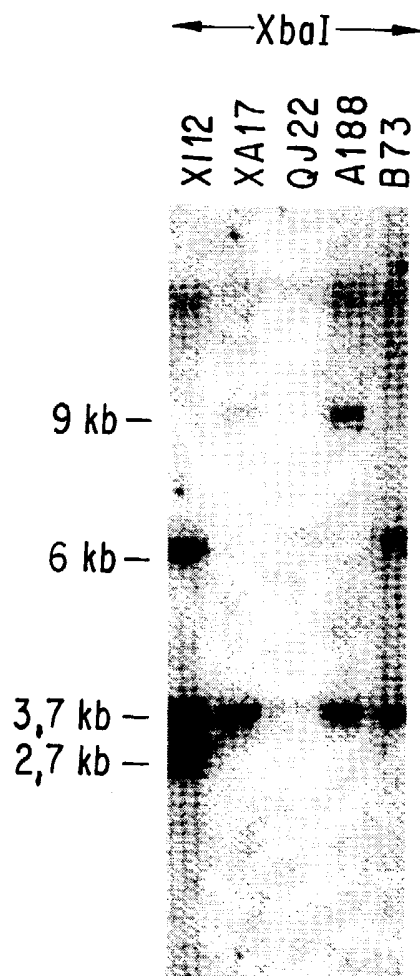
1. B ábra



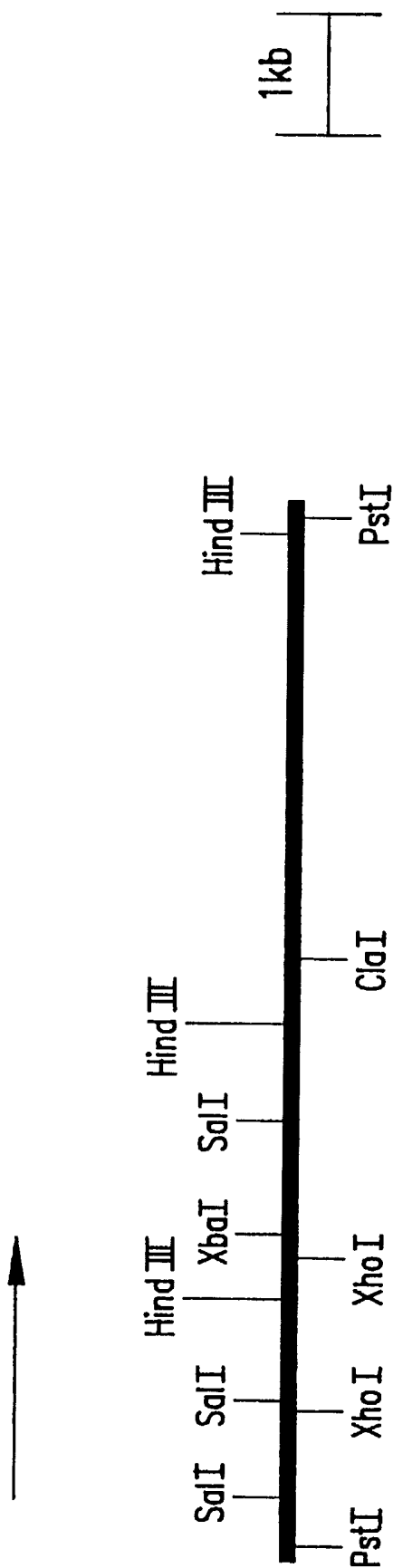
2.B ábra



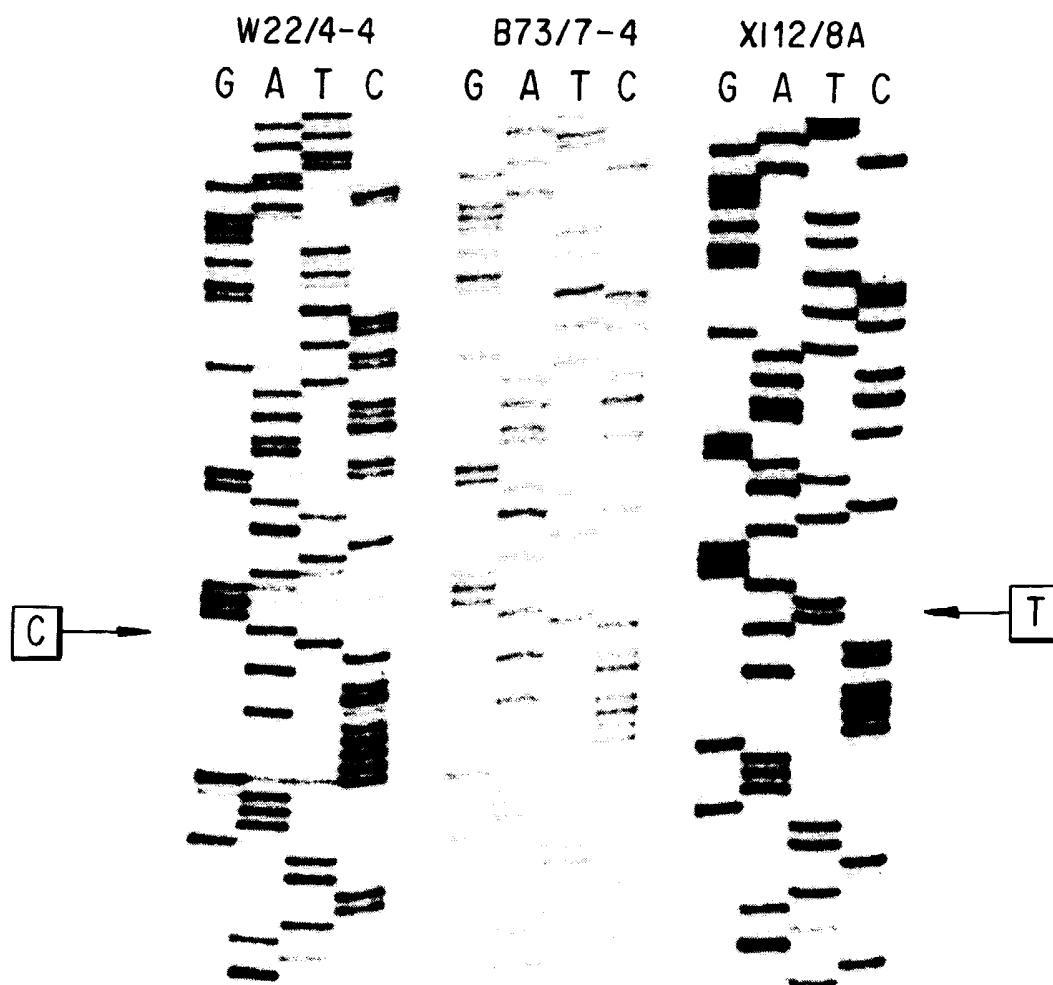
2.A ábra



3. ábra



4. ábra



5.A ábra

W22/1A és B73/7-4	5'TAGTG3'
szekvencia:	3'ATCTG5'
XI12/8A szekvencia:	5'TAATG3'
	3'AT $\bar{I}$ AC5'

5.B ábra

40	50	60	70	80	90
*	*	*	*	*	*
ATG GCC ACC GCC GCC GCC GCG TCT ACC GCG CTC ACT GGC GCC ACT ACC GCT GCG					
Met Ala Thr Ala Ala Ala Ala Ser Thr Ala Leu Thr Gly Ala Thr Thr Ala Ala					
100	110	120	130	140	
*	*	*	*	*	
CCC AAG GCG AGG CGC CGG GCG CAC CTC CTG GCC ACC CGC CGC GCC CTC GCC GCG					
Pro Lys Ala Arg Arg Arg Ala His Leu Leu Ala Thr Arg Arg Ala Leu Ala Ala					
150	160	170	180	190	
*	*	*	*	*	
CCC ATC AGG TGC TCA GCG GCG TCA CCC GCC ATG CCG ATG GCT CCC CCG GCC ACC					
Pro Ile Arg Cys Ser Ala Ala Ser Pro Ala Met Pro Met Ala Pro Pro Ala Thr					
200	210	220	230	240	250
*	*	*	*	*	*
CCG CTC CGG CCG TGG GGC CCC ACC GAT CCC CGC AAG GGC GCC GAC ATC CTC GTC					
Pro Leu Arg Pro Trp Gly Pro Thr Asp Pro Arg Lys Gly Ala Asp Ile Leu Val					
260	270	280	290	300	
*	*	*	*	*	
GAG TCC CTC GAG CGC TGC GGC GTC CGC GAC GTC TTC GCC TAC CCC GGC GGC GCG					
Glu Ser Leu Glu Arg Cys Gly Val Arg Asp Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Ala					
310	320	330	340	350	360
*	*	*	*	*	*
TCC ATG GAG ATC CAC CAG GCA CTC ACC CGC TCC CCC GTC ATC GCC AAC CAC CTC					
Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Pro Val Ile Ala Asn His Leu					
370	380	390	400	410	
*	*	*	*	*	
TTC CGC CAC GAG CAA GGG GAG GCC TTT GCG GCC TCC GGC TAC GCG CGC TCC TCG					
Phe Arg His Glu Gln Gly Glu Ala Phe Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Arg Ser Ser					

6.A ábra

420	430	440	450	460	
* * * * *					
GGC CGC GTC GGC GTC TGC ATC GCC ACC TCC GGC CCC GGC GCC ACC AAC CTT GTC					
Gly Arg Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val					
470	480	490	500	510	520
* * * * *					
TCC GCG CTC GCC GAC GCG CTG CTC GAT TCC GTC CCC ATG GTC GCC ATC ACG GGA					
Ser Ala Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp Ser Val Pro Met Val Ala Ile Thr Gly					
530	540	550	560	570	
* * * * *					
CAG GTG CCG CGA CGC ATG ATT GGC ACC GAC GCC TTC CAG GAG ACG CCC ATC GTC					
Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val					
580	590	600	610	620	630
* * * * *					
GAG GTC ACC CGC TCC ATC ACC AAG CAC AAC TAC CTG GTC CTC GAC GTC GAC GAC					
Glu Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Asp Asp					
640	650	660	670	680	
* * * * *					
ATC CCC CGC GTC GTG CAG GAG GCT TTC TTC CTC GCC TCC TCT GGT CGA CCG GGG					
Ile Pro Arg Val Val Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Ser Ser Gly Arg Pro Gly					
690	700	710	720	730	
* * * * *					
CCG GTG CTT GTC GAC ATC CCC AAG GAC ATC CAG CAG CAG ATG GCG GTG CCT GTC					
Pro Val Leu Val Asp Ile Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Met Ala Val Pro Val					
740	750	760	770	780	790
* * * * *					
TGG GAC AAG CCC ATG AGT CTG CCT GGG TAC ATT GCG CGC CTT CCC AAG CCC CCT					
Trp Asp Lys Pro Met Ser Leu Pro Gly Tyr Ile Ala Arg Leu Pro Lys Pro Pro					

6.B ábra

800	810	820	830	840	
*	*	*	*	*	
CCG ACT GAG TTG CTT GAG CAG GTG CTG CGT CTT GTT GGT GAA TCC CGG CGC CCT					
Ala Thr Glu Leu Leu Glu Gln Val Leu Arg Leu Val Gly Glu Ser Arg Arg Pro					
850	860	870	880	890	900
*	*	*	*	*	*
GTT CTT TAT GTT GGC GGT GCG TGC GCA GCA TCT GGT GAG GAG TTG CGA CGC TTT					
Val Leu Tyr Val Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ser Gly Glu Glu Leu Arg Arg Phe					
910	920	930	940	950	
*	*	*	*	*	
GTG GAG CTG ACT GGA ATC CCG GTC ACA ACT ACT CTT ATG GGC CTC GGC AAC TTC					
Val Glu Leu Thr Gly Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Met Gly Leu Gly Asn Phe					
960	970	980	990	1000	
*	*	*	*	*	
CCC AGC GAC GAC CCA CTG TCT CTG CGC ATG CTA GGT ATG CAT GGC ACG GTG TAT					
Pro Ser Asp Asp Pro Leu Ser Leu Arg Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr					
1010	1020	1030	1040	1050	1060
*	*	*	*	*	*
GCA AAT TAT GCA GTG GAT AAG GCC GAT CTG TTG CTT GCA CTT GGT GTG CGG TTT					
Ala Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Arg Phe					
1070	1080	1090	1100	1110	
*	*	*	*	*	
GAT GAT CGT GTG ACA GGG AAG ATT GAG GCT TTT GCA AGC AGG GCT AAG ATT GTG					
Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Ile Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala Lys Ile Val					
1120	1130	1140	1150	1160	1170
*	*	*	*	*	*
CAC GTT GAT ATT GAT CCG GCT GAG ATT GGC AAG AAC AAG CAG CCA CAT GTG TCC					
His Val Asp Ile Asp Pro Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys Gln Pro His Val Ser					

6.C ábra

1180	1190	1200	1210	1220	
*	*	*	*	*	
ATC TGT GCA GAT GTT AAG CTT GCT TTG CAG GGC ATG AAT GCT CTT CTT GAA GGA					
Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly Met Asn Ala Leu Leu Glu Gly					
1230	1240	1250	1260	1270	
*	*	*	*	*	
AGC ACA TCA AAG AAG AGC TTT GAC TTT GGC TCA TGG AAC GAT GAG TTG GAT CAG					
Ser Thr Ser Lys Lys Ser Phe Asp Phe Gly Ser Trp Asn Asp Glu Leu Asp Gln					
1280	1290	1300	1310	1320	1330
*	*	*	*	*	*
CAG AAG AGG GAA TTC CCC CTT GGG TAT AAA ACA TCT AAT GAG GAG ATC CAG CCA					
Gln Lys Arg Glu Phe Pro Leu Gly Tyr Lys Thr Ser Asn Glu Glu Ile Gln Pro					
1340	1350	1360	1370	1380	
*	*	*	*	*	
CAA TAT GCT ATT CAG GTT CTT GAT GAG CTG ACG AAA GGC GAG GCC ATC ATC GGC					
Gln Tyr Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu Thr Lys Gly Glu Ala Ile Ile Gly					
1390	1400	1410	1420	1430	1440
*	*	*	*	*	*
ACA GGT GTT GGG CAG CAC CAG ATG TGG GCG GCA CAG TAC TAC ACT TAC AAG CGG					
Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Tyr Tyr Thr Tyr Lys Arg					
1450	1460	1470	1480	1490	
*	*	*	*	*	
CCA AGG CAG TGG TTG TCT TCA GCT GGT CTT GGG GCT ATG GGA TTT GGT TTG CCG					
Pro Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ala Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu Pro					
1500	1510	1520	1530	1540	
*	*	*	*	*	
GCT GCT GCT GGT GCT TCT GTG GCC AAC CCA GGT GTT ACT GTT GTT GAC ATC GAT					
Ala Ala Ala Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Gly Val Thr Val Val Asp Ile Asp					
1550	1560	1570	1580	1590	1600
*	*	*	*	*	*
GGA GAT GGT AGC TTT CTC ATG AAC GTT CAG GAG CTA GCT ATG ATC CGA ATT GAG					
Gly Asp Gly Ser Phe Leu Met Asn Val Gln Glu Leu Ala Met Ile Arg Ile Glu					

6.D ábra

1610	1620	1630	1640	1650	
✱	✱	✱	✱	✱	
AAC CTC CCG GTG AAG GTC TTT GTG CTA AAC AAC CAG CAC CTG GGG ATG GTG GTG					
Asn Leu Pro Val Lys Val Phe Val Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met Val Val					
1660	1670	1680	1690	1700	1710
✱	✱	✱	✱	✱	✱
CAG TGG GAG GAC AGG TTC TAT AAG GCC AAC AGA GCG CAC ACA TAC TTG GGA AAC					
Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn					
1720	1730	1740	1750	1760	
✱	✱	✱	✱	✱	
CCA GAG AAT GAA AGT GAG ATA TAT CCA GAT TTC GTG ACG ATC GCC AAA GGG TTC					
Pro Glu Asn Glu Ser Glu Ile Tyr Pro Asp Phe Val Thr Ile Ala Lys Gly Phe					
1770	1780	1790	1800	1810	
✱	✱	✱	✱	✱	
AAC ATT CCA GCG GTC CGT GTG ACA AAG AAG AAC GAA GTC CGC GCA GCG ATA AAG					
Asn Ile Pro Ala Val Arg Val Thr Lys Lys Asn Glu Val Arg Ala Ala Ile Lys					
1820	1830	1840	1850	1860	1870
✱	✱	✱	✱	✱	✱
AAG ATG CTC GAG ACT CCA GGG CCG TAC CTC TTG GAT ATA ATC GTC CCA CAC CAG					
Lys Met Leu Glu Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Ile Ile Val Pro His Gln					
1880	1890	1900	1910	1920	
✱	✱	✱	✱	✱	
GAG CAT GTG TTG CCT ATG ATC CCT AAT GGT GGG GCT TTC AAG GAT ATG ATC CTG					
Glu His Val Leu Pro Met Ile Pro Asn Gly Gly Ala Phe Lys Asp Met Ile Leu					
1930	1940	1950	1960		
✱	✱	✱	✱		
GAT GGT GAT GGC AGG ACT GTG TAC TGATC TAAAA TCCAG CAAG					
Asp Gly Asp Gly Arg Thr Val Tyr					

6. E ábra

	10	20	30	40	50	60
XI12/8A	AACCC TCGCG CCGCC TCCGA GACAG CCGCC GCAAC CATGG CCACC GCCGC CGCCG CGTCT					
W22/1A	AACCC TCGCG CCGCC TCCGA GACAG CCGCC GCAAC CATGG CCACC GCCGC CGCCG CGTCT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	AACCC TCGCG CCGCC TCCGA GACAG CCGCC GCAAC CATGG CCACC GCCGC CGCCG CGTCT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	AACCC TCGCG CCGCC TCCGA GACAG CCGCC GCAAC CATGG CCACC GCCGC CGCCG CGTCT					
	70	80	90	100	110	120
XI12/8A	ACCGC GCTCA CTGGC GCCAC TACCG CTGCG CCCAA GGCGA GCGCG CGGGC GCACC TCCTG					
W22/1A	ACCGC GCTCA CTGGC GCCAC TACCG CTGCG CCCAA GGCGA GCGCG CGGGC GCACC TCCTG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	ACCGC GCTCA CTGGC GCCAC TACCG CTGCG CCCAA GGCGA GCGCG CGGGC GCACC TCCTG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	ACCGC GCTCA CTGGC GCCAC TACCG CTGCG CCCAA GGCGA GCGCG CGGGC GCACC TCCTG					
	130	140	150	160	170	180
XI12/8A	GCCAC CCGCC GCGCC CTCGC CGCGC CCATC AGGTG CTCAG CGGCG TCACC CGCCA TGCCG					
W22/1A	GCCAC CCGCC GCGCC CTCGC CGCGC CCATC AGGTG CTCAG CGGCG TCACC CGCCA TGCCG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GCCAC CCGCC GCGCC CTCGC CGCGC CCATC AGGTG CTCAG CGGCG TCACC CGCCA TGCCG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GCCAC CCGCC GCGCC CTCGC CGCGC CCATC AGGTG CTCAG CGGCG TCACC CGCCA TGCCG					
	190	200	210	220	230	240
XI12/8A	ATGGC TCCCC CGGCC ACCCC GCTCC GGCCG TGGGG CCCCC CCGAT CCCCC CAAGG GCGCC					
					#	> >
W22/1A	ATGGC TCCCC CGGCC ACCCC GCTCC GGCCG TGGGG CCCCC CCGAT CCCCC CAAGG GCGCC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 1 11					
B73/7-4	ATGGC TCCCC CGGCC ACCCC GCTCC GGCCG TGGGG CCCCC CCGA ₉ CCCCC CAAGG GtGct					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 1 11					
XI12/8A	ATGGC TCCCC CGGCC ACCCC GCTCC GGCCG TGGGG CCCCC CCGAT CCCCC CAAGG GCGCC					

7 A ábra

	250	260	270	280	290	300
XI12/8A	GACAT CCTCG TCGAG TCCCT CGAGC GCTGC GGCCT CCGCG ACGTC TTCGC CTACC CCGGC					
W22/1A	GACAT CCTCG TCGAG TCCCT CGAGC GCTGC GGCCT CCGCG ACGTC TTCGC CTACC CCGGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GACAT CCTCG TCGAG TCCCT CGAGC GCTGC GGCCT CCGCG ACGTC TTCGC CTACC CCGGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GACAT CCTCG TCGAG TCCCT CGAGC GCTGC GGCCT CCGCG ACGTC TTCGC CTACC CCGGC					
	310	320	330	340	350	360
XI12/8A	GGCGC GTCCA TGGAG ATCCA CCAGG CACTC ACCCG CTCCC CCGTC ATCGC CAACC ACCTC					
W22/1A	GGCGC GTCCA TGGAG ATCCA CCAGG CACTC ACCCG CTCCC CCGTC ATCGC CAACC ACCTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XB73/7-4	GGCGC GTCCA TGGAG ATCCA CCAGG CACTC ACCCG CTCCC CCGTC ATCGC CAACC ACCTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GGCGC GTCCA TGGAG ATCCA CCAGG CACTC ACCCG CTCCC CCGTC ATCGC CAACC ACCTC					
	370	380	390	400	410	420
XI12/8A	TTCCG CCACG AGCAA GGGGA GGCCT TTGCG GCCTC CGGCT ACGCG CGCTC CTCGG GCCGC					
				>		
W22/1A	TTCCG CCACG AGCAA GGGGA GGCCT TTGCG GCCTC CGGCT ACGCG CGCTC CTCGG GCCGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	TTCCG CCACG AGCAA GGGGA GGCCT TTGCG GCCTC CGGCT ACGCG CGCTC CTCGG GCCGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	TTCCG CCACG AGCAA GGGGA GGCCT TTGCG GCCTC CGGCT ACGCG CGCTC CTCGG GCCGC					
	430	440	450	460	470	480
XI12/8A	GTCGG CGTCT GCATC GCCAC CTCGG GCCCG GGGCG CACCA ACCTT GTCTC CGCGC TCGCC					
					>	
W22/1A	GTCGG CGTCT GCATC GCCAC CTCGG GCCCG GGGCG CACCA ACCTT GTCTC CGCGC TCGCC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GTCGG CGTCT GCATC GCCAC CTCGG GCCCG GGGCG CACCA ACCTT GTCTC CGCGC TCGCC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GTCGG CGTCT GCATC GCCAC CTCGG GCCCG GGGCG CACCA ACCTT GTCTC CGCGC TCGCC					

7. B ábra

	490	500	510	520	530	540
XI12/8A	GACGC GCTGC TCGAT TCCGT CCCCCA TGGTC GCCAT CACGG GACAG GTGCC GCGAC GCATG					
W22/1A	GACGC GCTGC TCGAT TCCGT CCCCCA TGGTC GCCAT CACGG GACAG GTGCC GCGAC GCATG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GACGC GCTGC TCGAT TCCGT CCCCCA TGGTC GCCAT CACGG GACAG GTGCC GCGAC GCATG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GACGC GCTGC TCGAT TCCGT CCCCCA TGGTC GCCAT CACGG GACAG GTGCC GCGAC GCATG					
	550	560	570	580	590	600
XI12/8A	ATTGG CACCG ACGCC TTCCA GGAGA CGCCC ATCGT CGAGG TCACC CGCTC CATCA CCAAG					
W22/1A	ATTGG CACCG ACGCC TTCCA GGAGA CGCCC ATCGT CGAGG TCACC CGCTC CATCA CCAAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	ATTGG CACCG ACGCC TTCCA GGAGA CGCCC ATCGT CGAGG TCACC CGCTC CATCA CCAAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	ATTGG CACCG ACGCC TTCCA GGAGA CGCCC ATCGT CGAGG TCACC CGCTC CATCA CCAAG					
	610	620	630	640	650	660
XI12/8A	CACAA CTACC TGGTC CTCGA CGTCG ACGAC ATCCC CCGCG TCGTG CAGGA GGCTT TCTTC					
W22/1A	CACAA CTACC TGGTC CTCGA CGTCG ACGAC ATCCC CCGCG TCGTG CAGGA GGCTT TCTTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CACAA CTACC TGGTC CTCGA CGTCG ACGAC ATCCC CCGCG TCGTG CAGGA GGCTT TCTTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	CACAA CTACC TGGTC CTCGA CGTCG ACGAC ATCCC CCGCG TCGTG CAGGA GGCTT TCTTC					
	670	680	690	700	710	720
XI12/8A	CTCGC CTCCT CTGGT CGACC GGGGC CGGTG CTTGT CGACA TCCCC AAGGA CATCC AGCAG					
			)			
W22/1A	CTCGC CTCCT CTGGT CGACC GGGGC CGGTG CTTGT CGACA TCCCC AAGGA CATCC AGCAG					
	11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CTCGC CTCCT CTGGT CGACC aGGGC CGGTG CTTGT CGACA TCCCC AAGGA CATCC AGCAG					
	11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	CTCGC CTCCT CTGGT CGACC GGGGC CGGTG CTTGT CGACA TCCCC AAGGA CATCC AGCAG					

7.C ábra

	730	740	750	760	770	780
XI12/8A	CAGAT GCGGG TGCCT GTCTG GGACA AGCCC ATGAG TCTGC CTGGG TACAT TGGCG GCCTT					
W22/1A	CAGAT GCGGG TGCCT GTCTG GGACA AGCCC ATGAG TCTGC CTGGG TACAT TGGCG GCCTT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CAGAT GCGGG TGCCT GTCTG GGACA AGCCC ATGAG TCTGC CTGGG TACAT TGGCG GCCTT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	CAGAT GCGGG TGCCT GTCTG GGACA AGCCC ATGAG TCTGC CTGGG TACAT TGGCG GCCTT					
	790	800	810	820	830	840
XI12/8A	CCCAA GCCCC CTGCG ACTGA GTTGC TTGAG CAGGT GCTGC GTCTT GTTGG TGAAT CCCGG					
						>
X22/1A	CCCAA GCCCC CTGCG ACTGA GTTGC TTGAG CAGGT GCTGC GTCTT GTTGG TGAAT CCCGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CCCAA GCCCC CTGCG ACTGA GTTGC TTGAG CAGGT GCTGC GTCTT GTTGG TGAAT GgCGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1 111					
XI12/8A	CCCAA GCCCC CTGCG ACTGA GTTGC TTGAG CAGGT GCTGC GTCTT GTTGG TGAAT CCCGG					
	850	860	870	880	890	900
XI12/8A	CGCCC TGTTC TTTAT GTTGG CGGTG CGTGC GCAGC ATCTG GTGAG GAGTT GCGAC GCTTT					
						>
W22/1A	CGCCC TGTTC TTTAT GTTGG CGGTG GCTGC GCAGC ATCTG GTGAG GAGTT GCGAC GCTTT					
	11111 11111 11111 11 11 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CGCCC TGTTC TTTAT GTgGG CGGTG GCTGC GCAGC ATCTG GTGAG GAGTT GCGAC GCTTT					
	11111 11111 11111 11 11 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	CGCCC TGTTC TTTAT GTTGG CGGTG GCTGC GCAGC ATCTG GTGAG GAGTT GCGAC GCTTT					
	910	920	930	940	950	960
XI12/8A	GTGGA GCTGA CTGGA ATCCC GGTCA CAACT ACTCT TATGG GCCTC GGCAA CTTC CCAGC					
W22/1A	GTGGA GCTGA CTGGA ATCCC GGTCA CAACT ACTCT TATGG GCCTC GGCAA CTTC CCAGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GTGGA GCTGA CTGGA ATCCC GGTCA CAACT ACTCT TATGG GCCTC GGCAA CTTC CCAGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GTGGA GCTGA CTGGA ATCCC GGTCA CAACT ACTCT TATGG GCCTC GGCAA CTTC CCAGC					

7.D ábra

	970	980	990	1000	1010	1020
X112/8A	GACGA CCCAC TGTCT CTGCC CATGC TAGGT ATGCA TGGCA CGGTG TATGC AAATT ATGCA					
						>
W22/1A	GACGA CCCAC TGTCT CTGCC CATGC TAGGT ATGCA TGGCA CGGTG TATGC AAATT ATGCA					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 111 1 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GACGA CCCAC TGTCT CTGCC CATGC TAGGT ATGCA TGGGA CGGTG TATGC AAATT ATGCA					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 111 1 11111 11111 11111 11111					
X112/8A	GACGA CCCAC TGTCT CTGCC CATGC TAGGT ATGCA TGGCA CGGTG TATGC AAATT ATGCA					
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
X112/8A	GTGGA TAAGG CCGAT CTGTT GCTTG CACTT GGTGT GCGGT TTGAT GATCG TGTGA CAGGG					
W22/1A	GTGGA TAAGG CCGAT CTGTT GCTTG CACTT GGTGT GCGGT TTGAT GATCG TGTGA CAGGG>					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111					
B73/7-4	GTGGA TAAGG CCGAT CTGTT GCTTG CACTT GGTGT GCGGT TTGAT GATCG cGTGA CAGGG>					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111					
X112/8A	GTGGA TAAGG CCGAT CTGTT GCTTG CACTT GGTGT GCGGT TTGAT GATCG TGTGA CAGGG					
	1090	1100	1110	1120	1130	1140
X112/8A	AAGAT TGAGG CTTTT GCAAG CAGGG CTAAG ATTGT GCACG TTGAT ATTGA TCCGG CTGAG					
W22/1A	AAGAT TGAGG CTTTT GCAAG CAGGG CTAAG ATTGT GCACG TTGAT ATTGA TCCGG CTGAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	AAGAT TGAGG CTTTT GCAAG CAGGG CTAAG ATTGT GCACG TTGAT ATTGA TCCGG CTGAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
X112/8A	AAGAT TGAGG CTTTT GCAAG CAGGG CTAAG ATTGT GCACG TTGAT ATTGA TCCGG CTGAG					
	1150	1160	1170	1180	1190	1200
X112/8A	ATTGG CAAGA ACAAG CAGCC ACATG TGTCC ATCTG TGCAG ATGTT AAGCT TGCTT TGCAG					
W22/1A	ATTGG CAAGA ACAAG CAGCC ACATG TGTCC ATCTG TGCAG ATGTT AAGCT TGCTT TGCAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	ATTGG CAAGA ACAAG CAGCC ACATG TGTCC ATCTG TGCAG ATGTT AAGCT TGCTT TGCAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
X112/8A	ATTGG CAAGA ACAAG CAGCC ACATG TGTCC ATCTG TGCAG ATGTT AAGCT TGCTT TGCAG					

7 E ábra

	1210	1220	1230	1240	1250	1260
XI12/8A	GGCAT GAATG CTCTT CTTGA AGGAA GCACA TCAAA GAAGA GCTTT GACTT TGGCT CATGG					
W22/1A	GGCAT GAATG CTCTT CTTGA AGGAA GCACA TCAAA GAAGA GCTTT GACTT TGGCT CATGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GGCAT GAATG CTCTT CTTGA AGGAA GCACA TCAAA GAAGA GCTTT GACTT TGGCT CATGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GGCAT GAATG CTCTT CTTGA AGGAA GCACA TCAAA GAAGA GCTTT GACTT TGGCT CATGG					
	1270	1280	1290	1300	1310	1320
XI12/8A	AACGA TGAGT TGGAT CAGCA GAAGA GGGAA TTCCC CCTTG GGTAT AAAAC ATCTA ATGAG					
W22/1A	AACGA TGAGT TGGAT CAGCA GAAGA GGGAA TTCCC CCTTG GGTAT AAAAC ATCTA ATGAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/65	AACGA TGAGT TGGAT CAGCA GAAGA GGGAA TTCCC CCTTG GGTAT AAAAC ATCTA ATGAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	AACGA TGAGT TGGAT CAGCA GAAGA GGGAA TTCCC CCTTG GGTAT AAAAC ATCTA ATGAG					
	1330	1340	1350	1360	1370	1380
XI12/8A	GAGAT CCAGC CACAA TATGC TATTC AGGTT CTTGA TGAGC TGACG AAAGG CGAGG CCATC					
W22/1A	GAGAT CCAGC CACAA TATGC TATTC AGGTT CTTGA TGAGC TGACG AAAGG CGAGG CCATC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GAGAT CCAGC CACAA TATGC TATTC AGGTT CTTGA TGAGC TGACG AAAGG CGAGG CCATC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GAGAT CCAGC CACAA TATGC TATTC AGGTT CTTGA TGAGC TGACG AAAGG CGAGG CCATC					
	1390	1400	1410	1420	1430	1440
XI12/8A	ATCGG CACAG GTGTT GGGCA GCACC AGATG TGGGC GGCAC AGTAC TACAC TTACA AGCGG					
W22/1A	ATCGG CACAG GTGTT GGGCA GCACC AGATG TGGGC GGCAC AGTAC TACAC TTACA AGCGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	ATCGG CACAG GTGTT GGGCA GCACC AGATG TGGGC GGCAC AGTAC TACAC TTACA AGCGG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	ATCGG CACAG GTGTT GGGCA GCACC AGATG TGGGC GGCAC AGTAC TACAC TTACA AGCGG					

7. Fàbra

	1450	1460	1470	1480	1490	1500
XI12/8A	CCAAG GCAGT GGTTC TCTTC AGCTG GTCTT GGGGC TATGG GATTT GGTTC GCCGG CTGCT					
W22/1A	CCAAG GCAGT GGTTC TCTTC AGCTG GTCTT GGGGC TATGG GATTT GGTTC GCCGG CTGCT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	CCAAG GCAGT GGTTC TCTTC AGCTG GTCTT GGGGC TATGG GATTT GGTTC GCCGG CTGCT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	CCAAG GCAGT GGTTC TCTTC AGCTG GTCTT GGGGC TATGG GATTT GGTTC GCCGG CTGCT					
	1510	1520	1530	1540	1550	1560
XI12/8A	GCTGG TGCTT CTGTG GCCAA CCCAG GTGTT ACTGT TGTTC ACATC GATGG AGATG GTAGC					
W22/1A	GCTGG TGCTT CTGTG GCCAA CCCAG GTGTT ACTGT TGTTC ACATC GATGG AGATG GTAGC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GCTGG TGCTT CTGTG GCCAA CCCAG GTGTT ACTGT TGTTC ACATC GATGG AGATG GTAGC					
	11111 11111 11111 11 11 11111 1111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GCTGG TGCTT CTGTG GCCAA CCCAG GTGTT ACTGT TGTTC ACATC GATGG AGATG GTAGC					
	1570	1580	1590	1600	1610	1620
XI12/8A	TTTCT CATGA ACGTT CAGGA GCTAG CTATG ATCCG AATTG AGAAC CTCCC GGTGA AGGTC					
W22/1A	TTTCT CATGA ACGTT CAGGA GCTAG CTATG ATCCG AATTG AGAAC CTCCC GGTGA AGGTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111					
B73/7-4	TTTCT CATGA ACGTT CAGGA GCTAG CTATG ATCCG AATTG AGAAC CTCCC GGTGA AGGTC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111 11111					
XI12/8A	TTTCT CATGA ACGTT CAGGA GCTAG CTATG ATCCG AATTG AGAAC CTCCC GGTGA AGGTC					
	1630	1640	1650	1660	1670	1680
XI12/8A	TTTGT GCTAA ACAAC CAGCA CCTGG GGATG GTGGT GCAGT GGGAG GACAG GTTCT ATAAG					
W22/1A	TTTGT GCTAA ACAAC CAGCA CCTGG GGATG GTGGT GCAGT GGGAG GACAG GTTCT ATAAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	TTTGT GCTAA ACAAC CAGCA CCTGG GGATG GTGGT GCAGT GGGAG GACAG GTTCT ATAAG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	TTTGT GCTAA ACAAC CAGCA CCTGG GGATG GTGGT GCAGT GGGAG GACAG GTTCT ATAAG					

7.6 ábra

	1690	1700	1710	1720	1730	1740
XI12/8A	GCCAA CAGAG CGCAC ACATA CTTGG GAAAC CCAGA GAATG AAAGT GAGAT ATATC CAGAT					
W22/1A	GCCAA CAGAG CGCAC ACATA CTTGG GAAAC CCAGA GAATG AAAGT GAGAT ATATC CAGAT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GCCAA CAGAG CGCAC ACATA CTTGG GAAAC CCAGA GAATG AAAGT GAGAT ATATC CAGAT					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GCCAA CAGAG CGCAC ACATA CTTGG GAAAC CCAGA GAATG AAAGT GAGAT ATATC CAGAT					
	1750	1760	1770	1780	1790	1800
XI12/8A	TTCGT GACGA TCGCC AAAGG GTTCA ACATT CCAGC GGTCC GTGTG ACAA GAAGA ACGAA					
W22/1A	TTCGT GACGA TCGCC AAAGG GTTCA ACATT CCAGC GGTCC GTGTG ACAA GAAGA ACGAA					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	TTCGT GACGA TCGCC AAAGG GTTCA ACATT CCAGC GGTCC GTGTG ACAA GAAGA ACGAA					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	TTCGT GACGA TCGCC AAAGG GTTCA ACATT CCAGC GGTCC GTGTG ACAA GAAGA ACGAA					
	1810	1820	1830	1840	1850	1860
XI12/8A	GTCCG CGCAG CGATA AAGAA GATGC TCGAG ACTCC AGGGC CGTAC CTCTT GGATA TAATC					
W22/1A	GTCCG CGCAG CGATA AAGAA GATGC TCGAG ACTCC AGGGC CGTAC CTCTT GGATA TAATC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GTCCG CGCAG CGATA AAGAA GATGC TCGAG ACTCC AGGGC CGTAC CTCTT GGATA TAATC					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GTCCG CGCAG CGATA AAGAA GATGC TCGAG ACTCC AGGGC CGTAC CTCTT GGATA TAATC					
	1870	1880	1890	1900	1910	1920
XI12/8A	GTCCC ACACC AGGAG CATGT GTTGC CTATG ATCCC TAATG GTGGG GCTTT CAAGG ATATG					
				*		
W22/1A	GTCCC ACACC AGGAG CATGT GTTGC CTATG ATCCC TA _g TG GTGGG GCTTT CAAGG ATATG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	GTCCC ACACC AGGAG CATGT GTTGC CTATG ATCCC TA _g TG GTGGG GCTTT CAAGG ATATG					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11 11 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	GTCCC ACACC AGGAG CATGT GTTGC CTATG ATCCC TAATG GTGGG GCTTT CAAGG ATATG					

7H. abra

	1930	1940	1950	1960
XI12/8A	ATCCT GGATG GTGAT GGCAG GACTG TGTAC TGATC TAAAA TCCAG CAAG			
W22/1A	ATCCT GGATG GTGAT GGCAG GACTG TGTAC TGATC TAAAA TCCAG CAAG>			
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111			
B73/7-4	ATCCT GGATG GTGAT GGCAG GACTG TGTAC TGATC TAAAA TCCAG CAAG>			
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 1111			
XI12/8A	ATCCT GGATG GTGAT GGCAG GACTG TGTAC TGATC TAAAA TCCAG CAAG			

7.1 ábra

	10	20	30	40	50	60
XI12/8A	MATAA	AASTA	LTGAT	TAAPK	ARRRA	HLLAT
	RRALA	APIRC	SAASP	AMPMA	PPATP	LRPWG
W22/1A	MATAA	AASTA	LTGAT	TAAPK	ARRRA	HLLAT
	RRALA	APIRC	SAASP	AMPMA	PPATP	LRPWG
B73/7-4	MATAA	AASTA	LTGAT	TAAPK	ARRRA	HLLAT
	RRALA	APIRC	SAASP	AMPMA	PPATP	LRPWG
XI12/8A	MATAA	AASTA	LTGAT	TAAPK	ARRRA	HLLAT
	RRALA	APIRC	SAASP	AMPMA	PPATP	LRPWG
	70	80	90	100	110	120
XI12/8A	PTDPR	KGADI	LVESL	ERCGV	RDVFA	YPGGA
	#	SMEIH	QALTR	SPVIA	NHLFR	HEQGE
W22/1A	PTDPR	KGADI	LVESL	ERCGV	RDVFA	YPGGA
	SMEIH	QALTR	SPVIA	NHLFR	HEQGE	AF AAS
B73/7-4	PTePR	KGADI	LVESL	ERCGV	RDVFA	YPGGA
	SMEIH	QALTR	SPVIA	NHLFR	HEQGE	AF AAS
XI12/8A	PTDPR	KGADI	LVESL	ERCGV	RDVFA	YPGGA
	SMEIH	QALTR	SPVIA	NHLFR	HEQGE	AF AAS
	130	140	150	160	170	180
XI12/8A	GYARS	SGRVG	VC IAT	SGPGA	TNLVS	ALADA
	LLDSV	PMVAI	TGQVP	RRMIG	TDAFQ	ETPIV
W22/1A	GYARS	SGRVG	VC IAT	SGPGA	TNLVS	ALADA
	LLDSV	PMVAI	TGQVP	RRMIG	TDAFQ	ETPIV
B73/7-4	GYARS	SGRVG	VC IAT	SGPGA	TNLVS	ALADA
	LLDSV	PMVAI	TGQVP	RRMIG	TDAFQ	ETPIV
XI12/8A	GYARS	SGRVG	VC IAT	SGPGA	TNLVS	ALADA
	LLDSV	PMVAI	TGQVP	RRMIG	TDAFQ	ETPIV
	190	200	210	220	230	240
XI12/8A	EVTRS	ITKHN	YLVLD	VDDIP	RVVQE	AFFLA
	SSGRP	GPVLV	DIPKD	IQQQM	AVPVW	DKPMS
W22/1A	EVTRS	ITKHN	YLVLD	VDDIP	RVVQE	AFFLA
	SSGRP	GPVLV	DIPKD	IQQQM	AVPVW	DKPMS
B73/7-4	EVTRS	ITKHN	YLVLD	VDDIP	RVVQE	AFFLA
	SSGRP	GPVLV	DIPKD	IQQQM	AVPVW	DKPMS
XI12/8A	EVTRS	ITKHN	YLVLD	VDDIP	RVVQE	AFFLA
	SSGRP	GPVLV	DIPKD	IQQQM	AVPVW	DKPMS

8. A ábra

	250	260	270	280	290	300
XI12/8A	LPGYI ARLPK PPATE	LLEQV LRLVG ESRRP	VLYVG GGCAA SGEEL	RRFVE LTGIP	VTTTL	
W22/1A	LPGYI ARLPK PPATE	LLEQV LRLVG ESRRP	VLYVG GGCAA SGEEL	RRFVE LTGIP	VTTTL	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
B73/7-4	LPGYI ARLPK PPATE	LLEQV LRLVG ESRRP	VLYVG GGCAA SGEEL	RRFVE LTGIP	VTTTL	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
XI12/8A	LPGYI ARLPK PPATE	LLEQV LRLVG ESRRP	VLYVG GGCAA SGEEL	RRFVE LTGIP	VTTTL	
	310	320	330	340	350	360
XI12/8A	MGLGN FPSDD PLSLR	MLGMH GTVYA NYAVD	KADLL LALGV RFDDR	VTGKI EAFAS	RAKIV	
W22/1A	MGLGN FPSDD PLSLR	MLGMH GTVYA NYAVD	KADLL LALGV RFDDR	VTGKI EAFAS	RAKIV	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
B73/7-4	MGLGN FPSDD PLSLR	MLGMH GTVYA NYAVD	KADLL LALGV RFDDR	VTGKI EAFAS	RAKIV	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
XI12/8A	MGLGN FPSDD PLSLR	MLGMH GTVYA NYAVD	KADLL LALGV RFDDR	VTGKI EAFAS	RAKIV	
	370	380	390	400	410	420
XI12/8A	HVDID PAEIG KNKQP	HVSIC ADVKL ALQGM	NALLE GSTSK KSFDG	GSWND ELDQQ	KREFP	
W22/1A	HVDID PAEIG KNKQP	HVSIC ADVKL ALQGM	NALLE GSTSK KSFDG	GSWND ELDQQ	KREFP	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
B73/7-4	HVDID PAEIG KNKQP	HVSIC ADVKL ALQGM	NALLE GSTSK KSFDG	GSWND ELDQQ	KREFP	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
XI12/8A	HVDID PAEIG KNKQP	HVSIC ADVKL ALQGM	NALLE GSTSK KSFDG	GSWND ELDQQ	KREFP	
	430	440	450	460	470	480
XI12/8A	LGYKT SNEEI QPQYA	IQVLD ELTKG EAIIG	TGVGQ HQMWA AQYYT	YKRPR QWLSS	AGLGA	
W22/1A	LGYKT SNEEI QPQYA	IQVLD ELTKG EAIIG	TGVGQ HQMWA AQYYT	YKRPR QWLSS	AGLGA	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
B73/7-4	LGYKT SNEEI QPQYA	IQVLD ELTKG EAIIG	TGVGQ HQMWA AQYYT	YKRPR QWLSS	AGLGA	
	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111 11111	11111 11111	11111
XI12/8A	LGYKT SNEEI QPQYA	IQVLD ELTKG EAIIG	TGVGQ HQMWA AQYYT	YKRPR QWLSS	AGLGA	

8. B ábra

	490	500	510	520	530	540
XI12/8A	MGFGL PAAAG ASVAN PGVTV VDIDG DGSFL MNVQE LAMIR IENLP VKVFE LNNQH LGMVV					
W22/1A	MGFGL PAAAG ASVAN PGVTV VDIDG DGSFL MNVQE LAMIR IENLP VKVFE LNNQH LGMVV					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	MGFGL PAAAG ASVAN PGVTV VDIDG DGSFL MNVQE LAMIR IENLP VKVFE LNNQH LGMVV					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	MGFGL PAAAG ASVAN PGVTV VDIDG DGSFL MNVQE LAMIR IENLP VKVFE LNNQH LGMVV					
	550	560	570	580	590	600
XI12/8A	QWEDR FYKAN RAHTY LGNPE NESEI YPDFV TIAKG FNIPA VRVTK KNEVR AAIKK MLETP					
W22/1A	QWEDR FYKAN RAHTY LGNPE NESEI YPDFV TIAKG FNIPA VRVTK KNEVR AAIKK MLETP					
	1 111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
B73/7-4	QWEDR FYKAN RAHTY LGNPE NESEI YPDFV TIAKG FNIPA VRVTK KNEVR AAIKK MLETP					
	1 111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111					
XI12/8A	QWEDR FYKAN RAHTY LGNPE NESEI YPDFV TIAKG FNIPA VRVTK KNEVR AAIKK MLETP					
	610	620	630			
XI12/8A	GPYLL DIIVP HQEHV LPMIP NGGAF KDMIL DGDGR TVY*					
			*			
W22/1A	GPYLL DIIVP HQEHV LPMIP sGGAF KDMIL DGDGR TVY>					
	11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 111					
B73/7-4	GPYLL DIIVP HQEHV LPMIP sGGAF KDMIL DGDGR TVY>					
	11111 11111 11111 11111 1111 11111 11111 111					
XI12/8A	GPYLL DIIVP HQEHV LPMIP NGGAF KDMIL DGDGR TVY					

8. C ábra